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

FÁBIO DA VEIGA UED

**Homocisteína, vitaminas do complexo B e perfil de ácidos graxos em crianças e
adolescentes**

Ribeirão Preto - SP

2019

FÁBIO DA VEIGA UED

Homocisteína, vitaminas do complexo B e perfil de ácidos graxos em crianças e adolescentes

Versão Corrigida

(A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD) da USP)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Profa. Dra. Jacqueline Pontes Monteiro

Ribeirão Preto - SP

2019

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.

FICHA CATALOGRÁFICA

Ued, Fábio da Veiga

Homocisteína, vitaminas do complexo B e perfil de ácidos graxos em crianças e adolescentes. Ribeirão Preto, 2019.

163 p. : il. ; 30 cm

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

Orientador: Monteiro, Jacqueline Pontes.

1. Ácidos graxos. 2. Vitaminas hidrosolúveis. 3. Homocisteína. 4. Criança. 5. Adolescente.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Pós-graduando: Fábio da Veiga Ued

Título: Homocisteína, vitaminas do complexo B e perfil de ácidos graxos em crianças e adolescentes

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente.

Aprovado em: 03/04/2019

Banca Examinadora

Prof. Dr. Dennys Esper Correa Cintra

Instituição: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Julgamento: Aprovado

Prof. Dr. Helio Vannucchi

Instituição: Universidade de São Paulo (USP)

Julgamento: Aprovado

Prof. Dr. Raphael Del Roio Liberatore Junior

Instituição: Universidade de São Paulo (USP)

Julgamento: Aprovado

*À minha família, amigos e professores,
que admiram e acreditam
na arte de fazer ciência.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, força e inspiração.

À minha mãe Helenice, fonte de conforto, incentivo, ânimo e fé. Agradeço pelo carinho, apoio, convivência e compreensão.

Aos meus irmãos Fernando e Flávia, pelas vivências de fraternidade e amizade.

À minha namorada Franciele, sempre doce, amável e paciente. Agradeço o incentivo, o companheirismo e a amizade em todos os momentos.

À minha orientadora, Professora Dr^a. Jacqueline Pontes Monteiro, minha eterna gratidão. Obrigado por aceitar a me orientar no momento mais difícil na pós-graduação. Obrigado por me receber de braços abertos em seu grupo de pesquisa, e pela oportunidade de ampliar meus horizontes no universo da Nutrição. Agradeço ainda por todas as contribuições, pelos conhecimentos compartilhados e, acima de tudo, pelo incentivo, pela paciência e pela confiança depositada em mim.

Ao professor Dr. Luiz Antônio Del Ciampo, serei sempre grato por ter me aberto as portas da Universidade de São Paulo. Obrigado por dar início ao sonho do Doutorado, e pela parceria de sucesso ao longo da pós-graduação.

À todos os pesquisadores responsáveis pela execução do “Brazil Micronutrient Project”. Um agradecimento especial ao Dr. Jim Kaput, à Dra. Jacqueline Pontes Monteiro e à toda equipe do Nestlé Institute of Health Science, que acreditaram na realização deste projeto.

Às colegas de pós-graduação, Roberta, Tamiris, Mariana, Elaine, Roseli, Joyce, Carolina e Maria Olímpia. Mesmo não convivendo pessoalmente, agradeço por toda a dedicação e empenho, vocês foram essenciais para a coleta de dados deste belíssimo trabalho.

Às alunas de graduação, aos profissionais responsáveis pela coleta de sangue, aos médicos, aos motoristas, aos profissionais que auxiliaram nas dosagens laboratoriais, e a todos que, de alguma forma, contribuíram para que a coleta de dados fosse um sucesso.

A todas as crianças, adolescentes e pais, participantes da pesquisa, pois sem a colaboração dos mesmos este trabalho não se realizaria.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da FMRP-USP, pelos constantes conselhos e ensinamentos.

Ao Departamento de Puericultura e Pediatria, à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, ao HC-Criança e à Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Aos meus amigos e colegas de Doutorado pelo apoio, amizade e atenção.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da minha bolsa de Doutorado.

À todos que, direta ou indiretamente, permitiram que este sonho se concretizasse.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar. Mas
o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”*

(Madre Teresa de Calcutá)

Resumo

UED, Fábio da Veiga. **Homocisteína, vitaminas do complexo B e perfil de ácidos graxos em crianças e adolescentes**. 2019. 163 f. Tese (Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Introdução: Fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV) tornaram-se prevalentes em crianças e adolescentes. Ácidos graxos (AGs) ω 3 auxiliam na prevenção de DCV, porém seu consumo alimentar na infância é reduzido. Há a hipótese de que as vitaminas B2, B6, B12 e folato possam contribuir para o aumento da concentração de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) no plasma e nos eritrócitos, além de reduzir os níveis de homocisteína total (tHcy), e auxiliar na prevenção de DCV. Por essa razão, o presente estudo teve como objetivo verificar a associação entre perfil lipídico, perfil de ácidos graxos, homocisteína e biomarcadores para vitaminas do complexo B em crianças e adolescentes. **Métodos:** Este estudo transversal incluiu 249 crianças e adolescentes entre 9 e 13 anos de idade. O consumo alimentar foi avaliado por meio do questionário de frequência alimentar, recordatório de 24 horas e índice de qualidade da dieta (IQD). O perfil lipídico e os biomarcadores para vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico foram dosados no plasma. O perfil de AGs e os metabólitos do ciclo da homocisteína (metionina, SAM, SAH, tHcy, cistationina e cisteína) foram dosados nas células vermelhas do sangue. As associações foram testadas com modelos de regressão linear múltiplos, ajustados para sexo, estadiamento puberal, índice de massa corporal e IQD. **Resultados:** Não houve associação entre as vitaminas do complexo B e baixos níveis de colesterol total, triglicérides e LDL-c. Porém, houve associação positiva entre os níveis séricos de vitamina B2 e folato plasmático com PUFAs ω 3 e ω 6. O aumento de 1 nmol/L de vitamina B2 esteve associado ao aumento de 0,19 mg/dL de EPA e 0,21 mg/dL de ARA e DHA ($p<0,01$). O aumento de 1 ng/mL de folato plasmático esteve associado ao aumento de 0,14 mg/dL de EPA ($p<0,05$), 0,22 mg/dL de ARA e 0,17 mg/dL de DHA ($p<0,01$). Estas vitaminas não estiveram associadas à redução dos níveis de tHcy ($p>0,05$). As vitaminas B6 e B12 estiveram associadas à redução dos níveis de tHcy ($p<0,01$), mas não se associaram a maiores níveis de PUFAs ($p>0,05$). Houve associação negativa entre os níveis séricos de vitamina B6 com PUFAs ω 3 e ω 6. O aumento de 1 nmol/L de vitamina B6 esteve associado à redução de 0,15 mg/dL de ARA e 0,14 mg/dL de DHA ($p<0,05$). Os níveis de tHcy foram associados positivamente com os níveis de PUFAs ($p<0,01$). **Conclusão:** Maiores concentrações plasmáticas de vitamina B2 e folato estão associadas a maiores níveis de

PUFAs ω 3 e ω 6 nos eritrócitos. A via metabólica mais provável para explicar tais associações é o metabolismo de um-carbono, apesar destas vitaminas não terem se associado a menores níveis de tHcy. Estes dados sugerem que níveis plasmáticos adequados de vitamina B2 e folato podem melhorar o perfil de AGs circulantes. O equilíbrio nas concentrações séricas de AGs ω 3 e ω 6 contribui para o desenvolvimento do sistema nervoso central na infância e para a prevenção de DCV, cada vez mais comuns em decorrência do sedentarismo, má alimentação e excesso de gordura corporal, em crianças e adolescentes.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Vitaminas hidrossolúveis. Homocisteína. Criança. Adolescente.

Abstract

UED, Fábio da Veiga. **Homocysteine, B vitamins and fatty acid profile in children and adolescents**. 2019. 163 f. Tese (Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Introduction: Risk factors for cardiovascular disease (CVD) have become prevalent in children and adolescents. Fatty acids (FA) ω 3 help prevent CVD, but the intake of food sources of this FA during childhood is reduced. It is hypothesized that vitamins B2, B6, B12 and folate may contribute to the increased concentration of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in plasma and in erythrocytes, in addition to reducing total homocysteine levels (tHcy), and assisting in the prevention of CVD. For this reason, the present study aimed to verify the association between lipid profile, fatty acid profile, homocysteine and B-vitamins biomarkers in children and adolescents. **Methods:** This cross-sectional study included 249 children and adolescents, aged 9 to 13 years old. Dietary intake was assessed by the food frequency questionnaire, 24-hour recall, and healthy eating index (HEI). The lipid profile and biomarkers for vitamins B2, B6, B12 and folate were measured in plasma. The FA profile and metabolites from homocysteine cycle (methionine, SAM, SAH, tHcy, cystathionine and cysteine) were measured in red blood cells. The associations were tested with multiple linear regression models, adjusted for sex, pubertal status, body mass index and HEI. **Results:** There was no association between B vitamins and low levels of total cholesterol, triglycerides and LDL-c. However, there was a positive association between serum levels of vitamin B2 and plasma folate with PUFAs ω 3 and ω 6. An increase of 1 nmol/L in vitamin B2 was associated with an increase of 0.19 mg/dL of EPA and 0.21 mg/dL of ARA and DHA ($p < 0.01$). An increase of 1 ng/mL in plasma folate was associated with an increase of 0.14 mg/dL of EPA ($p < 0.05$), 0.22 mg/dL of ARA and 0.17 mg/dL of DHA ($p < 0.01$). These vitamins were not associated with reduced tHcy levels ($p > 0.05$). Vitamins B6 and B12 were associated with reduced tHcy levels ($p < 0.01$), but were not associated with higher levels of PUFAs ($p > 0.05$). There was a negative association between serum levels of vitamin B6 with PUFAs ω 3 and ω 6. The increase of 1 nmol/L in vitamin B6 was associated with a reduction of 0.15 mg/dL of ARA and 0.14 mg/dL of DHA ($p < 0.05$). Homocysteine levels were positively associated with PUFA levels ($p < 0.01$). **Conclusion:** Higher plasma concentrations of vitamin B2 and folate are associated with higher levels of PUFAs ω 3 and ω 6 in erythrocytes. The most likely metabolic pathway to explain such associations is the one-carbon metabolism, although these vitamins have not been associated with lower tHcy levels. These data suggest that adequate plasma levels of vitamin B2 and folate may improve the profile of circulating FA. The

balance in the serum concentrations of FA ω 3 and ω 6 contributes to the development of the central nervous system in childhood and to the prevention of CVD, increasingly common due to sedentary lifestyle, poor diet and excess body fat, in children and adolescents.

Key words: Fatty acids. B-vitamins. Homocysteine. Child. Adolescent.

Lista de Ilustrações

Figura 1:	Representação das estruturas simplificadas das moléculas de colesterol, fosfolípido, triglicerídeo e ácido graxo	32
Figura 2:	Representação das estruturas dos ácidos graxos linoleico e α -linolênico	34
Figura 3:	Representação das estruturas do ácido araquidônico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosa-hexaenoico	36
Figura 4:	Vias da biossíntese de PUFA's e produtos do metabolismo de ARA e EPA ..	37
Figura 5:	Representação da ingestão de gordura total e ácidos graxos (saturados, ω 6, ω 3 e <i>trans</i>), de acordo com o percentual de calorias que representam na dieta, ao longo dos anos	39
Figura 6:	Representação das estruturas da metionina, homocisteína e cisteína	44
Figura 7:	Distribuição das diferentes formas de Hcy circulantes no plasma humano ...	46
Figura 8:	Metabolismo da homocisteína (ciclo de um-carbono)	49
Figura 9:	Fórmula molecular da riboflavina e seus derivados FMN e FAD	51
Figura 10:	Fórmula molecular da piridoxina, piridoxal, piridoxamina e piridoxal fosfato	52
Figura 11:	Fórmula molecular da cobalamina	53
Figura 12:	Fórmula molecular do ácido fólico	54
Figura 13:	Conversão de fosfatidiletanolamina (PE) à fosfatidilcolina (PC) através da enzima fosfatidiletanolamina metiltransferase (PEMT)	57
Figura 14:	Representação da estrutura da fosfatidilcolina contendo PUFA na cadeia hidrofóbica do fosfolípido	58
Figura 15:	Metabolismo da homocisteína e interações entre biomarcadores para vitaminas do complexo B com o perfil de ácidos graxos	59
Figura 16:	Etapas da coleta de dados do projeto “Brazil Micronutrient Project”	68
Figura 17:	Fluxograma de inclusão dos participantes no presente estudo	70

Lista de Tabelas

Tabela 1:	Valores referenciais do perfil lipídico em crianças e adolescentes	41
Tabela 2:	Limites superiores de referência para tHcy ($\mu\text{mol/L}$) de acordo com a faixa etária	45
Tabela 3:	Características descritivas da população do estudo	85
Tabela 4:	Características antropométricas da população do estudo	86
Tabela 5:	Consumo alimentar diário de energia, macro e micronutrientes, segundo o QFA, e pontuação total do IQD-R	87
Tabela 6:	Concentrações séricas do perfil lipídico, perfil de AGs, homocisteína e derivados, e biomarcadores para vitaminas do complexo B	88
Tabela 7:	Associação do perfil lipídico com vitaminas do complexo B	90
Tabela 8:	Associação do perfil de ácidos graxos com vitaminas do complexo B	92
Tabela 9:	Associação entre os níveis de homocisteína e seus metabólitos, com vitaminas do complexo B	96
Tabela 10:	Associação do perfil de ácidos graxos com homocisteína e seus metabólitos	98

Lista de Quadros

Quadro 1:	Ácidos graxos saturados presentes nos alimentos	33
Quadro 2:	Ácidos graxos monoinsaturados presentes nos alimentos	34
Quadro 3:	Ácidos graxos poli-insaturados presentes nos alimentos	35
Quadro 4:	Classificação do nível de atividade física segundo o equivalente metabólico.....	72
Quadro 5:	Critérios de pontuação total e por componentes do IQD-R	78

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

ABREVIATURAS

1C	Um-carbono
5-MTHF	5-metil-tetrahidrofolato
5,10-MTHF	5,10-metileno-tetrahidrofolato
Acetil-CoA	Acetilcoenzima A
ADMA	Dimetilarginina assimétrica
AF	Atividade física
AG	Ácidos graxos
AI	Adequate intake
ARA	Ácido araquidônico
C	Citosina
CβS	Cistationina-β-sintetase
CH2	Metileno
CH3	Metil
cm	Centímetro
CT	Colesterol total
DASH	Dietary Approachs to Stop Hypertension
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças cardiovasculares
DHA	Ácido docosa-hexaenoico
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DRI	Dietary Reference Intakes
EAR	Estimated Average Requirement
ECHO	Ending Childhood Obesity
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ESI+	Positive Electrospray Ionization
FAD	Flavina adenina dinucleotídeo
FMN	Flavina mononucleotídeo
G	Guanina
g	Gram
GLC	Cromatografia gás-líquido
Gord_AA	Gordura sólida, álcool e açúcar de adição
Hcy	Homocisteína

HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
HUFA	Ácido graxo altamente poli-insaturado
IC	Intervalo de confiança
IMC	Índice de massa corporal
IQD	Índice de Qualidade da Dieta
IQD-R	Índice de Qualidade da Dieta Revisado
Kcal	Quilocaloria
Kcal/dia	Quilocaloria por dia
%/kcal	Percentual de quilocaloria
kg	Kilogramas
kg/m ²	Kilogramas por metro quadrado
kHz	Kilohertz
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LI	Limite inferior
log	Logaritmo
LS	Limite superior
LT	Leucotrieno
mg	Miligrama
mg/dia	Miligrama por dia
mg/dL	Miligrama por decilitro
mg/mL	Miligrama por mililitro
min	Minuto
mL	Mililitro
ng/mL	Nanograma por mililitro
nmol/L	Nanomol por litro
MET	Equivalente metabólico
MS	Metionina sintetase
MTHFR	5,10-metileno-tetrahidrofolato redutase
MUFA	Ácido graxo monoinsaturado
n	Número de indivíduos
p90	Percentil 90
PC	Fosfatidilcolina
PCA	Principal Component Analysis
PE	Fosfatidiletanolamina
PEMT	Fosfatidiletanolamina metiltransferase

PG	Prostaglandina
pg/mL	Picograma por mililitro
PLP	Piridoxal 5' fosfato
PUFA	Ácido graxo poli-insaturado
Q1	1º quartil
Q3	3º quartil
R ²	Coefficiente de determinação
R24h	Recordatório de 24 horas
RBC	Células vermelhas do sangue
RNA	Ácido ribonucleico
RP-UHPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa
SAM	S-adenosil-metionina
SFA	Ácido graxo saturado
SAH	S-adenosil-homocisteína
SM	Síndrome Metabólica
SNP	Polimorfismos de nucleotídeo único
T	Timina
T1	Momento basal
T2	Após seis semanas de suplementação
T3	Após seis semanas de <i>washout</i>
TG	Triglicerídeo
tHcy	Homocisteína total
THF	Tetrahydrofolato
µg	Micrograma
µg/dia	Micrograma por dia
µmol/L	Micromol por litro
µL	Microlitro
µg/mL	Microgramas por mililitro
Veveal	Vegetais Verdes-Escuros e Alaranjados e Leguminosas
VET	Valor energético total
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

SIGLAS

CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CDC	Center for Disease Control
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FMRP-USP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HCRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
NIHS	Nestlé Institute of Health Sciences
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-americana de Saúde
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences

SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Graus célsius
$\omega 3$	Ômega-3
$\omega 6$	Ômega-6
$\omega 7$	Ômega-7
$\omega 9$	Ômega-9
$<$	Menor que
$>$	Maior que
®	Marca registrada
$\pm$	Mais ou menos

Sumário

1 INTRODUÇÃO	28
1.1 Transição demográfica, epidemiológica e nutricional	29
1.2 Epidemiologia da obesidade infantil	29
1.3 Estado nutricional e risco cardiovascular	30
1.4 Perfil de ácidos graxos e saúde cardiovascular	31
1.5 Perfil lipídico e saúde cardiovascular	40
1.6 Homocisteína e saúde cardiovascular	44
1.7 Homocisteína e vitaminas do complexo B	47
1.8 Vitaminas do complexo B e perfil de ácidos graxos	56
2 HIPÓTESE	61
3 JUSTIFICATIVA	63
4 OBJETIVOS	65
4.1 Objetivo Geral	66
4.2 Objetivos Específicos	66
5 MATERIAIS E MÉTODOS	67
5.1 Apresentação do estudo	68
5.2 Delineamento e local do estudo	68
5.3 Critérios de inclusão e exclusão	69
5.4 População e tamanho amostral	69
5.5 Aspectos éticos	70
5.6 Coleta de dados	70
5.6.1 Avaliação do estado nutricional	71
5.6.2 Avaliação da atividade física	71
5.6.3 Coleta de sangue	73
5.7 Análise dos dados	73
5.7.1 Análise antropométrica	73
5.7.2 Análise da composição corporal	74
5.7.3 Análise do consumo alimentar	74
5.7.3.1 Índice de Qualidade da Dieta	75
5.7.4 Análises bioquímicas	79
5.8 Variáveis do estudo	81
5.9 Análise estatística	82
5.10 Apoio e financiamento	83

6 RESULTADOS	84
6.1 Características da população	85
6.2 Atropometria e composição corporal	85
6.3 Consumo alimentar	86
6.4 Concentrações séricas	86
6.5 Associação entre o perfil lipídico e vitaminas do complexo B	90
6.6 Associação entre o perfil de ácidos graxos e vitaminas do complexo B	91
6.7 Associação entre homocisteína e vitaminas do complexo B	96
6.8 Associação entre o perfil de ácidos graxos e homocisteína	98
7 DISCUSSÃO	100
7.1 Estado nutricional, atividade física e consumo alimentar	102
7.2 Perfil lipídico e vitaminas do complexo B	104
7.3 Perfil de ácidos graxos, homocisteína e vitaminas do complexo B	105
8 CONCLUSÕES	112
REFERÊNCIAS	114
APÊNDICES	138
APÊNDICE A	139
APÊNDICE B	143
APÊNDICE C	148
ANEXOS	151
ANEXO 1	152
ANEXO 2	153
ANEXO 3	154
ANEXO 4	155
ANEXO 5	158
ANEXO 6	159

1. Introdução

1.1 TRANSIÇÃO DEMOGRÁFICA, EPIDEMIOLÓGICA E NUTRICIONAL

Ao longo do século XX os estudos na área da saúde que visavam compreender o processo saúde-doença e seus determinantes, sofreram constante influência dos períodos de transição demográfica, epidemiológica e nutricional. Essas transições foram determinadas pelo desenvolvimento social, econômico e cultural em diversos países, e moldaram o cenário epidemiológico contemporâneo.

A transição demográfica ocorreu em virtude do êxodo rural, e culminou com a necessidade de melhorias nas condições higiênico-sanitárias nos centros urbanos. Paralelamente, o advento de vacinas e medicamentos contribuiu para melhorias na saúde e longevidade das populações. Evidenciou-se assim o período de transição epidemiológica, com redução da prevalência de doenças infecto-parasitárias e aumento das taxas de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Estes fatores impulsionaram a transição nutricional, cuja melhoria das condições de saúde e modificação dos padrões alimentares das populações, proporcionou a redução dos índices de subnutrição e aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade (KAC; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2003; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

O resultado de tais transições contribuiu para o aumento da incidência e prevalência de DCNT, tais como obesidade, diabetes, câncer, doenças cardiovasculares (DCV), entre outras. Os fatores etiológicos das DCNT envolvem determinantes biológicos como sexo, idade e perfil genético, além de fatores de risco comportamentais e ambientais como tabagismo, consumo excessivo de álcool, inatividade física e má alimentação (BRASIL, 2011).

Tais doenças são responsáveis pela elevação dos gastos com saúde, maior número de internações hospitalares e redução da qualidade de vida da população. Por isso são consideradas um problema de saúde pública, responsáveis por 71% das mortes no mundo em 2018, segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). No Brasil, em 2013, as DCNT foram responsáveis por aproximadamente 72,6% das mortes, seguindo a tendência mundial (BRASIL, 2015).

1.2 EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE INFANTIL

A epidemia de obesidade vivenciada nas últimas décadas está diretamente associada ao aumento da prevalência de DCNT, abrangendo inclusive a faixa etária pediátrica. Dados mais recentes do relatório elaborado pela Comissão sobre o Fim da Obesidade

Infantil (*Ending Childhood Obesity – ECHO*), publicados pela OMS, estimam que a prevalência de excesso de peso entre menores de cinco anos aumentou de 4,8% para 6,1% entre 1990 e 2014, passando de 31 milhões para 41 milhões de crianças afetadas durante esse período, em todo o mundo. A maior preocupação é com os registros nos países em desenvolvimento. Em números absolutos, há mais crianças com excesso de peso vivendo em países de baixa e média renda, do que em países desenvolvidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

Essas informações são comprovadas pelo relatório da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e da Organização Pan-americana de Saúde (OPAS), que apontam que na América Latina e no Caribe, 7,2% das crianças menores de cinco anos estão com sobrepeso, o que representa um total de 3,9 milhões de crianças, sendo que 2,5 milhões vivem na América do Sul. No Brasil, estima-se que 7,3% das crianças menores de cinco anos estão acima do peso (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA; ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD, 2017).

No Brasil, ao longo das últimas décadas, a prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes encontra-se em crescente aumento. Em 2008, 33,5% das crianças de cinco a nove anos apresentavam excesso de peso. Entre adolescentes de 10 a 19 anos, a prevalência de excesso de peso era de 20,5%. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) registram que o número de crianças acima do peso mais que dobrou entre 1989 e 2009, passando de 15% para 34,8%. O número de obesos aumentou mais de 300% nesse mesmo grupo etário, aumentando de 4,1% em 1989 para 16,6% em 2008-2009. Entre as meninas, essa variação foi ainda maior, de 11,9% para 32% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

1.3 ESTADO NUTRICIONAL E RISCO CARDIOVASCULAR

O estado nutricional compatível com excesso de peso contribui para o desenvolvimento significativo de comorbidades associadas à obesidade, tais como hipertensão arterial, dislipidemias, alterações no metabolismo glicídico, doença hepática gordurosa não alcoólica, entre outras. Tais comorbidades necessitam de avaliação cuidadosa, a fim de possibilitar sua detecção, diagnóstico e tratamento precoce, minimizando os efeitos deletérios à saúde infantil, que podem persistir até a vida adulta (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

As dislipidemias, a hipertensão arterial e a resistência à insulina são os principais fatores preditivos para DCV, os quais, aliados ao aumento da circunferência abdominal, compõem o diagnóstico de Síndrome Metabólica (SM) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO et al., 2005). No início do século XXI a SM tratava-se de um quadro clínico observado apenas em adultos, porém, atualmente está cada vez mais frequente em crianças e adolescentes, inclusive no Brasil, em decorrência da epidemia de obesidade (DAMIANI, 2011; SINAIKO, 2012).

O ganho de peso excessivo durante as duas primeiras décadas de vida resulta em efeito adverso no perfil de ácidos graxos (AG) e perfil lipídico, tornando-os mais aterogênicos (ANDERSON; KENDALL; JENKINS, 2003). O aumento do índice de massa corporal (IMC) está positivamente associado ao aumento das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c), triglicerídeos, colesterol total e à redução das lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) (ROMERO et al., 2014). Além disso, o IMC elevado na infância confere risco aumentado de DCV na idade adulta (BAKER; OLSEN; SØRENSEN, 2007; ATTARD et al., 2013).

No entanto, deve-se ressaltar que os indivíduos que apresentam peso e IMC adequados também estão sujeitos a desenvolver DCV no futuro (FREEDMAN, 2001), devido a hábitos de vida não saudáveis. É possível encontrar elevada prevalência de excesso de gordura corporal, dislipidemias, resistência à insulina e erros alimentares inclusive em adolescentes eutróficos (VIEIRA et al., 2005).

1.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E SAÚDE CARDIOVASCULAR

No organismo humano os lípides de maior relevância biológica são o colesterol, os fosfolipídios, os triglicerídeos e os AGs. O colesterol é um álcool policíclico de cadeia longa, precursor dos hormônios esteroidais, dos ácidos biliares e da vitamina D, além de ser constituinte das membranas celulares, atuando na fluidez destas. Já os fosfolipídios são constituídos por uma molécula de glicerol ligada a um grupo fosfato (região hidrofílica) e a dois AGs esterificados (região hidrofóbica), responsáveis por formar a estrutura básica das membranas celulares (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017).

Os triglicerídeos possuem em sua estrutura uma molécula de glicerol ligada a três moléculas de AGs, constituindo uma das formas mais importantes de armazenamento energético no organismo, estando depositados nos tecidos adiposo e muscular. Os AGs, por sua vez, são ácidos monocarboxílicos de cadeia simples, sendo os constituintes mais

importantes e de maior abundância nas frações lipídicas (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017). As estruturas dos referidos lípides estão esquematizadas na Figura 1.

Figura 1: Representação das estruturas simplificadas das moléculas de colesterol (a), fosfolipídio (b), triglicerídeo (c) e ácido graxo (d).

Embora existam mais de mil AGs descritos na literatura, aproximadamente 20 ocorrem na natureza, sendo os AGs com cadeia carbônica entre 4 e 22 carbonos os mais comuns. Além do tamanho da cadeia, os AGs podem conter duplas ligações em sua estrutura, sendo classificados como saturados ou insaturados. Os AGs insaturados subdividem-se ainda em monoinsaturados e poli-insaturados. As membranas celulares necessitam de AGs insaturados para a manutenção de suas estruturas, funções e fluidez (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017). Ainda convém citar que os AGs insaturados apresentam isomeria

geométrica *cis-trans*, sendo que o percentual de isômeros na forma *trans* é muito baixo na natureza (SANT'ANA, 2016).

Os AGs saturados (*saturated fatty acids* – SFAs) não apresentam duplas ligações em sua cadeia hidrocarbonada. Geralmente são sólidos à temperatura ambiente, e as principais fontes são as gorduras de origem animal. Os SFAs presentes com maior frequência na alimentação são os AGs láurico, mirístico, palmítico e esteárico, cujas cadeias variam de 12 a 18 átomos de carbono (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017). Quando o organismo humano necessita de SFAs em períodos que não podem ser supridos pela dieta, há a possibilidade de serem sintetizados a partir de carboidratos e aminoácidos, a partir da acetilcoenzima A (Acetil-CoA), cujo produto final será o ácido palmítico (C16:0) (CALDER, 1996). Os principais SFAs presentes nos alimentos podem ser observados no Quadro 1.

Quadro 1: Ácidos graxos saturados presentes nos alimentos.

nº de Carbonos	Fórmula	Nomenclatura IUPAC	Nomenclatura usual
4 (C4:0)	C ₄ H ₈ O ₂	Ácido butanoico	Ácido butírico
6 (C6:0)	C ₆ H ₁₂ O ₂	Ácido hexanoico	Ácido caproico
8 (C8:0)	C ₈ H ₁₆ O ₂	Ácido octanoico	Ácido caprílico
10 (C10:0)	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	Ácido decanoico	Ácido cáprico
12 (C12:0)	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Ácido dodecanoico	Ácido láurico
14 (C14:0)	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Ácido tetradecanoico	Ácido mirístico
16 (C16:0)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Ácido hexadecanoico	Ácido palmítico
18 (C18:0)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Ácido octadecanoico	Ácido esteárico
20 (C20:0)	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Ácido eicosapentanoico	Ácido araquídico

Os AGs monoinsaturados (*monounsaturated fatty acids* – MUFAs) apresentam uma única dupla ligação em sua cadeia, sendo o mais frequente na alimentação o ácido oleico, que contém 18 átomos de carbono (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017). O organismo humano é capaz de introduzir duplas ligações em SFAs, tornando-os MUFAs, em reações catalisadas por enzimas dessaturases. Há diferentes dessaturases responsáveis por introduzir duplas ligações em posições específicas na cadeia dos AGs (LOS; MURATA, 1998).

A enzima delta-9-dessaturase (ou estearoil-CoA dessaturase, ou acil-CoA dessaturase) tem a capacidade de converter ácido palmítico (C16:0) em ácido palmitoleico (C16:1), e ácido esteárico (C18:0) em ácido oleico (C18:1). A atividade dessa enzima e as taxas de

dessaturação podem ser avaliadas pela razão palmitoleico/palmitico, e pela razão oleico/esteárico. Razões elevadas significam maior atividade enzimática e de dessaturação.

Numerando-se os carbonos a partir do terminal metílico, o ácido palmitoleico terá a dupla ligação entre os carbonos 7 e 8, enquanto o ácido oleico terá a dupla ligação entre os carbonos 9 e 10. Assim, passam a ser chamados, respectivamente, de AGs ômega-7 (ω 7) e ômega-9 (ω 9) (SANT'ANA, 2016). Um estudo de revisão recente demonstrou que a substituição de SFAs por MUFAs na alimentação tem o potencial de reduzir o risco de DCV (JORIS; MENSINK, 2016), mas ainda não há um consenso sobre as recomendações dietéticas de MUFAs para a população (SCHWINGSHACKL; HOFFMANN, 2012). No Quadro 2 estão apresentados os principais MUFAs presentes nos alimentos.

Quadro 2: Ácidos graxos monoinsaturados presentes nos alimentos.

nº de Carbonos	Fórmula	Nomenclatura IUPAC	Nomenclatura usual
16 (C16:1(ω 7))	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	Ácido <i>cis</i> 9-hexadecenoico	Ácido palmitoleico
18 (C18:1(ω 9))	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	Ácido <i>cis</i> 9-octadecenoico	Ácido oleico
20 (C20:1(ω 11))	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	Ácido <i>cis</i> 9-eicosenoico	Ácido gadoleico

Quanto aos AGs poli-insaturados (*polyunsaturated fatty acids* – PUFAs), estes apresentam duas ou mais duplas ligações em suas cadeias. Podem ser classificados como pertencentes à série ômega-3 (ω 3), como o ácido α -linolênico, ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosa-hexaenoico (DHA); ou à série ômega-6 (ω 6), como o ácido linoleico e o ácido araquidônico (ARA) (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017). A distinção entre ω 3 e ω 6 é determinada segundo a localização da dupla ligação inicial entre os carbonos, se numerados a partir do terminal metílico, conforme apresentado na Figura 2. No Quadro 3 estão apresentados os principais PUFAs presentes nos alimentos.

Figura 2: Representação das estruturas dos ácidos graxos linoleico (a) e α -linolênico (b).

Quadro 3: Ácidos graxos poli-insaturados presentes nos alimentos.

nº de Carbonos	Fórmula	Nomenclatura IUPAC	Nomenclatura usual
18 (C18:2(9,12)ω6)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Ácido <i>cis</i> 9, 12-octadecadienoico	Ácido linoleico
18 (C18:3(9,12,15)ω3)	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	Ácido <i>cis</i> 9, 12, 15-octadecatrienoico	Ácido α-linolênico
20 (C20:4(5,8,11,14)ω6)	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	Ácido <i>cis</i> 5, 8, 11, 14-eicosatetraenoico	Ácido araquidônico (ARA)
20* (C20:5(5,8,11,14,17)ω3)	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	Ácido <i>cis</i> 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoico	Ácido eicosa-pentaenoico (EPA)
22* (C22:6(4,7,10,13,16,19)ω3)	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	Ácido <i>cis</i> 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosa-hexaenoico	Ácido docosa-hexaenoico (DHA)

*encontrado apenas em pescados e algas.

Os PUFAs possuem funções específicas nos processos biológicos e não podem ser sintetizados pelo organismo humano, ao contrário dos SFAs e MUFAs. Assim, devem ser consumidos obrigatoriamente na dieta e, por isso, são denominados AGs essenciais (LEAF; WEBER, 1988). O ácido α-linolênico pode ser encontrado na dieta através do consumo de óleos vegetais, tais como óleo de canola e óleo de linhaça, em sementes, nozes e castanhas, e em peixes oleosos, tais como salmão, cavala e arenque. Já o ácido linoleico pode ser encontrado em óleos como o de milho, algodão, arroz, girassol e soja, e produtos produzidos com esses óleos, tais como cremes vegetais.

No organismo humano, a partir das cadeias dos AGs α-linolênico e linoleico, é possível gerar AGs altamente poli-insaturados (*highly unsaturated fatty acids* – HUFAs), como ARA, EPA e DHA. Nestes processos, os AGs linoleico e α-linolênico sofrem uma série de dessaturações (realizadas pelas enzimas delta-6 e delta-5-dessaturases) e aumento do número de carbonos (realizado pelas enzimas elongases). O ácido α-linolênico é convertido a EPA e em seguida a DHA, enquanto o ácido linoleico é convertido a ARA (SIMOPOULOS, 2008; SANT'ANA, 2016). As estruturas dos ácidos graxos ARA, EPA e DHA estão representadas na Figura 3. Na Figura 4 está demonstrada a via de biossíntese dos PUFAs.

Figura 3: Representação das estruturas do ácido araquidônico (a), ácido eicosapentaenoico (b) e ácido docosa-hexaenoico (c).

Entretanto, embora seja possível para o organismo converter o AG α -linolênico em EPA e DHA através das enzimas dessaturases e elongases, estudos sugerem que apenas uma pequena quantidade (de 2% a 20%) pode ser sintetizada no corpo a partir desse processo (GOYENS et al., 2005; HUSSEIN et al., 2005; CHIU et al., 2008; NEFF et al., 2011). Tal informação reforça a necessidade de alterações nos hábitos alimentares da população, visando a maior ingestão de alimentos fontes de EPA e DHA, como peixes (atum, sardinha, arenque, cavalinha), óleo de fígado de bacalhau e algas marinhas, ou via suplementação quando tais alimentos não forem de ingestão habitual, especialmente durante os períodos de gestação, lactação e primeira infância.

Figura 4: Vias da biossíntese de PUFA's e produtos do metabolismo de ARA e EPA

Fonte: Adaptado de Simopoulos, 2008; Sant'Ana, 2016.

A baixa ingestão de PUFA's da série ω3 através da dieta pode estar associada ao aumento de processos inflamatórios e efeitos deletérios à saúde. Estudos confirmam que EPA e DHA estão envolvidos na saúde cardiovascular e reduzem o risco de doenças como infarto do miocárdio, aterosclerose e derrame cerebral (SWANSON; BLOCK; MOUSA, 2012), por serem capazes de atuar como agentes anti-inflamatórios e reduzir o estresse oxidativo

(BLOOMER et al., 2009), além de alterar a expressão gênica de vias inflamatórias e aterogênicas (BOUWENS et al., 2009). Há também evidências de associações inversas entre o consumo de PUFA e a concentração de biomarcadores inflamatórios (BERSCH-FERREIRA et al., 2017), bem como a redução destes marcadores após a suplementação de EPA e DHA (EBRAHIMI et al., 2009).

Em pacientes com doença cardiovascular prévia, a suplementação de EPA e DHA tem sido associada a um risco reduzido de eventos cardiovasculares recorrentes e morte (MARCHIOLI et al., 2002; TAVAZZI et al., 2008). Mesmo diante de estudos controversos quanto à suplementação de $\omega 3$, autores reconhecem os benefícios desses AGs e recomendam o consumo para pacientes com histórico de problemas cardiovasculares (KIMMIG; KARALIS, 2013). Em contrapartida, alguns estudos, incluindo uma meta-análise (RIZOS et al., 2012), evidenciaram que a suplementação de PUFA $\omega 3$ não está associada à redução de risco cardiovascular (BURR et al., 2003; RAUCH et al., 2010; GALAN et al., 2010; RIZOS; ELISAF, 2017), e por isso há a necessidade de ensaios clínicos futuros continuarem avaliando o papel desses mediadores anti-inflamatórios sobre as DCV (WATANABE; TATSUNO, 2017).

Por outro lado, há consenso na literatura de que EPA e DHA são importantes para o desenvolvimento fetal, incluindo o desenvolvimento neurológico (funcionamento do cérebro e transmissão de impulsos nervosos), desenvolvimento da retina e do sistema imunológico. Na retina, o DHA encontra-se ligado aos fosfolipídios que estão associados à regeneração da rodopsina, uma proteína que interage no processo de absorção da luz. São, portanto, nutrientes de extrema importância para o desenvolvimento cognitivo e visual do feto e da criança, durante a gestação e a amamentação (MARTIN et al., 2006; SILVA; MIRANDA JUNIOR; SOARES, 2007; SWANSON; BLOCK; MOUSA, 2012).

O ARA, importante PUFA da série $\omega 6$, também sintetiza parte dos fosfolipídios das membranas celulares e é precursor para a biossíntese dos eicosanóides, mediadores do sistema nervoso central, da inflamação e do sistema imunológico. Participa do desenvolvimento do cérebro e da retina durante o período gestacional e os primeiros anos de vida, embora seja encontrado em quantidades inferiores ao DHA no cérebro. Os fosfolipídios associados aos neurônios são altamente enriquecidos com esse AG, o que sugere seu envolvimento na transmissão sináptica. Assim, também é válido o argumento sobre sua essencial importância no desenvolvimento infantil. O leite humano contém tanto DHA quanto ARA. Biologicamente, o ARA atua em conjunto com o DHA e, por esse motivo, a maioria das

fórmulas infantis contém tanto DHA quanto ARA na sua composição (MARTIN et al., 2006; SILVA; MIRANDA JUNIOR; SOARES, 2007; PERINI et al., 2010).

Contudo, apesar dos benefícios relatados quanto à ingestão de PUFA, é necessário respeitar uma proporção entre a ingestão dietética de AGs $\omega 6$ e $\omega 3$. Uma razão $\omega 6/\omega 3$ oferecida pela dieta na proporção de 5:1, fornece ótimas concentrações de $\omega 6$ por $\omega 3$. Alguns países europeus estabeleceram recomendações para a ingestão de $\omega 6$ e $\omega 3$ na razão de 5:1, enquanto o Japão estabeleceu a razão de 2:1. A FAO, por sua vez, recomenda a ingestão na razão de 5:1 até 10:1 (SANT'ANA, 2016).

Entretanto, as dietas ocidentais hoje proporcionam uma ingestão de $\omega 6$ e $\omega 3$ na razão de 15:1 até 50:1 (SIMOPOULOS, 2016). A ingestão elevada de ácido linoleico, proveniente da utilização excessiva de óleo de soja e de milho, com o advento do agronegócio e da agricultura moderna, contribui para a elevação de PUFA $\omega 6$ no organismo. Paralelamente, a ingestão de ácido α -linolênico tem diminuído, decorrente do baixo consumo de pescados e oleaginosas. O consumo atual de gorduras pela população está representado na Figura 5.

Figura 5: Representação da ingestão de gordura total e ácidos graxos (saturados, $\omega 6$, $\omega 3$ e *trans*), de acordo com o percentual de calorias que representam na dieta, ao longo dos anos.

Fonte: Adaptado de Simopoulos, 2008.

A quantidade excessiva de PUFA $\omega 6$ na dieta e uma proporção elevada da razão $\omega 6/\omega 3$ estão associados à patogênese de diversas doenças, incluindo DCV, câncer, obesidade, doenças inflamatórias e autoimunes (SIMOPOULOS, 2008; SIMOPOULOS, 2016; SANT'ANA, 2016). A explicação para tal evidência se deve ao fato dos produtos eicosanóides derivados da biossíntese de PUFA $\omega 6$ (tais como prostaglandina (PG) E2 e

leucotrieno (LT) B₄, sintetizados a partir do ARA) serem mediadores mais potentes da trombose e da inflamação do que produtos similares derivados da biossíntese de PUFA ω 3 (como PGE₃ e LTB₅, sintetizados a partir do EPA) (Figura 4). Assim, uma razão ω 6/ ω 3 desequilibrada a favor dos PUFA ω 6 é altamente pró-trombótica e pró-inflamatória, enquanto níveis aumentados de PUFA ω 3 (baixa relação ω 6/ ω 3) exercem efeitos supressivos e protetores (SIMOPOULOS, 2008; PERINI et al., 2010; SIMOPOULOS, 2016).

Estudos realizados com crianças e adolescentes também verificaram um consumo desequilibrado entre ω 3 e ω 6 na dieta. A ingestão de AGs ω 3 encontra-se abaixo das recomendações (SIOEN et al., 2007; RAMÍREZ-SILVA et al., 2011; VYNCKE et al., 2012; RAHMAWATY et al., 2013; KEIM; BRANUM, 2015), devido principalmente ao baixo consumo de peixe na dieta (RAHMAWATY et al., 2013; KEIM; BRANUM, 2015). Paralelamente, é possível observar maior ingestão de AGs ω 6 (SIOEN et al., 2007; KEIM; BRANUM, 2015) e SFAs (RAMÍREZ-SILVA et al., 2011; VYNCKE et al., 2012), o que contribui para maiores proporções na razão ω 6/ ω 3 (SIOEN et al., 2007). A alimentação na faixa etária pediátrica tem apresentado razões de ω 6/ ω 3 que variam entre as proporções de 6:1 (VYNCKE et al., 2012), 8:1 (SIOEN et al., 2007), 10:1 (KEIM; BRANUM, 2015) até 15:1 (RAMÍREZ-SILVA et al., 2011).

Pesquisas demonstram que o consumo balanceado de ω 6/ ω 3 por crianças e adolescentes impacta positivamente sobre a saúde, prevenindo a obesidade (BURROWS; COLLINS; GARG, 2011; SIMOPOULOS, 2016) e evitando graves prejuízos ao desenvolvimento cognitivo (SHEPPARD; CHEATHAM, 2013; SHEPPARD; CHEATHAM, 2017). Os hábitos alimentares atuais estão inadequados e contribuem para a instalação de um pior perfil de AGs. Tal perfil necessita ser modificado por intervenções dietoterápicas, capazes de prevenir alterações cardiovasculares e processos inflamatórios desde a infância até a idade adulta.

1.5 PERFIL LIPÍDICO E SAÚDE CARDIOVASCULAR

Após a ingestão alimentar, os lipídios da dieta são digeridos no trato gastrointestinal por enzimas que hidrolisam triacilgliceróis, fosfolipídios e ésteres de colesterol. Os produtos da hidrólise são absorvidos no lúmen intestinal após a ação dos sais biliares. Em seguida, as micelas se difundem pelos enterócitos, os lipídios são reesterificados, e inicia-se o processo de transporte pelo plasma. As lipoproteínas são responsáveis pelo transporte dos lipídios no meio aquoso plasmático. Suas camadas são formadas por fosfolipídios, colesterol livre e proteínas

(apolipoproteínas), sendo o conteúdo interno composto por triglicerídeos (TG) e ésteres de colesterol (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017).

As lipoproteínas são classificadas de acordo com sua densidade e separadas em dois grupos, sendo: (1) as ricas em TG, maiores e menos densas, representadas pelos quilomícrons e pelas lipoproteínas de densidade muito baixa (*very low density lipoprotein* – VLDL-c); e (2) as ricas em colesterol, incluindo as lipoproteínas de baixa densidade (*low density lipoprotein* – LDL-c) e as lipoproteínas de alta densidade (*high density lipoprotein* – HDL-c). A densidade das lipoproteínas é diretamente proporcional ao seu teor de proteína. (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017).

A VLDL-c transporta colesterol e TGs endógenos e, ao ser catabolizada para liberação de TGs aos tecidos periféricos, origina a LDL-c. A LDL-c é rica em colesterol e tem a função de distribuí-lo aos tecidos periféricos. A HDL-c, por sua vez, tem função inversa à LDL-c. Sua função é capturar o colesterol livre dos tecidos periféricos, o qual será esterificado, e direcioná-lo ao fígado, para produção de hormônios, síntese de membranas ou excreção (SANT'ANA, 2016; FALUDI et al., 2017).

Assim, a análise das concentrações de colesterol, TG e lipoproteínas no plasma é fundamental para identificar fatores de risco à saúde cardiovascular. Portanto, o perfil lipídico é avaliado pelas concentrações plasmáticas de colesterol total (CT), TG, VLDL-c, LDL-c e HDL-c. Os valores referenciais do perfil lipídico para crianças e adolescentes estão apresentados na Tabela 1. Alterações nesses exames configuram o quadro de dislipidemia, caracterizado por aumento dos níveis de TG, VLDL-c e LDL-c, além de queda nos níveis de HDL-c. Essas alterações lipídicas evidenciam risco cardíaco aumentado, pois favorecem a instalação do processo aterosclerótico.

Tabela 1: Valores referenciais do perfil lipídico em crianças e adolescentes.

Variáveis lipídicas	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)
Colesterol total	< 170	< 170
HDL-c	> 45	> 45
LDL-c	< 110	< 110
Triglicérides (0 - 9 anos)	< 75	< 85
Triglicérides (10 - 19 anos)	< 90	< 100

Fonte: Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents, 2011; Steiner et al., 2011; Faludi et al., 2017.

A aterosclerose é a principal DCV responsável por mortes em todo o mundo, cujos fatores de risco comportamentais (uso de tabaco, consumo de álcool, baixa ingestão de frutas e vegetais, baixa atividade física), além de excesso de peso corporal e resistência à insulina, são prevalentes inclusive em crianças (BRAMBILLA et al., 2007) e adolescentes (CALEYACHETTY et al., 2015). A formação e a progressão da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão ao endotélio vascular, sendo a aterosclerose uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibres (ROSS, 1999). A agressão ao endotélio ocorre devido a fatores de risco como dislipidemias, hipertensão arterial, tabagismo, entre outros.

Tais agressões aumentam a permeabilidade da camada íntima à LDL-c, cujo depósito na parede arterial ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma. Assim, as partículas de LDL-c retidas sofrem oxidação e atraem moléculas de adesão leucocitária, monócitos e linfócitos. No espaço subendotelial os monócitos se diferenciam em macrófagos, que por sua vez captam as LDL-c oxidadas, tornando-se células espumosas. Além disso, os macrófagos ativados são responsáveis pela progressão da placa aterosclerótica mediante a secreção de citocinas, que amplificam a inflamação. Mediadores inflamatórios estimulam a produção de matriz extracelular, que formará parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica. A placa aterosclerótica plenamente desenvolvida é constituída por um núcleo lipídico altamente trombogênico, cuja ruptura leva à aterotrombose. (FALUDI et al., 2017).

O conhecimento dos riscos cardiovasculares decorrentes das dislipidemias justifica a adequação do perfil lipídico desde a faixa etária pediátrica até a vida adulta, visando à prevenção de DCV. Para crianças e adolescentes que já apresentam fatores de risco, como obesidade e dislipidemias, o tratamento dietoterápico e/ou medicamentoso deve ser instituído. O tratamento dietoterápico auxilia na melhora do perfil lipídico, porém os estudos ainda buscam elucidar como e quais nutrientes interferem nesse processo. Ao longo das últimas décadas o consumo de colesterol e de ácidos graxos tem sido alvo constante de pesquisas que visam identificar sua associação com risco cardiovascular.

Um estudo pioneiro realizado por Bang et al. (1980) observou que a população indígena esquimó (inuíte) apresentava menor incidência de DCV quando comparados aos dinamarqueses. Entretanto, os inuítes consumiam o dobro de colesterol na dieta. Os resultados observados demonstraram que não há relação direta entre a quantidade de colesterol ingerido, com os níveis plasmáticos de CT e a incidência de doenças do coração. A explicação para tal fato foi atribuída ao consumo elevado de peixes, alimentos fontes de AGs ω 3, cuja ingestão pelos inuítes era, aproximadamente, cinco vezes superior à ingestão pelos dinamarqueses. A

partir de 2015, as recomendações dietéticas dos Departamentos de Agricultura e do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos excluíram o limite para ingestão máxima diária do colesterol (300mg/dia), evidenciando que o consumo de colesterol na dieta não apresenta riscos à saúde (UNITED STATES OF AMERICA, 2015).

Por outro lado, a ingestão e os níveis séricos dos diferentes tipos de AGs pode ter influência direta sobre o perfil lipídico, sendo muito importantes na composição das lipoproteínas. Além disso, as concentrações sanguíneas de AGs ω 3 refletem melhor a quantidade ingerida na dieta (ao contrário do colesterol), o que levou ao estabelecimento de um importante marcador: o índice de ômega-3, proposto por Williams Harris (HARRIS; VON SCHACKY, 2004)

A ingestão de AGs ω 3 parece ter efeito sobre os níveis de colesterol e lipoproteínas plasmáticas. O mecanismo compensatório e fisiológico ainda não está bem esclarecido, mas parece estar relacionado com a redução da síntese de VLDL-c (SANT'ANA, 2016). Estudos recentes verificaram que a suplementação com ω 3 foi capaz de reduzir os níveis de CT em pacientes com doença renal (BOUZIDI et al., 2010; ZHU et al., 2014; ATEYA et al., 2017), reduzir os níveis de TG (TAZIKI et al., 2007; SVENSSON et al., 2008; KOOSHKI et al., 2011) e elevar o HDL-c (TAZIKI et al., 2007; DE MATTOS et al., 2017). Contudo, há estudos que não evidenciaram melhora da suplementação sobre o perfil lipídico (KOOSHKI et al., 2011; NAINI et al., 2015; DE MATTOS et al., 2017).

Em contrapartida aos benefícios do ω 3, uma revisão sistemática observou que o consumo de AGs ω 6 parece não influenciar o perfil lipídico (AL-KHUDAIRY et al., 2015), apesar de outra meta-análise indicar que a substituição de SFAs por PUFA ω 6 na alimentação previne DCV (FARVID et al., 2014). Quanto ao consumo de MUFAs, pesquisas encontraram relação com níveis reduzidos de CT e LDL-c (VAFEIADOU et al., 2015; JORIS; MENSINK, 2016), mas ainda há dúvidas quanto à sua proteção frente aos riscos cardiovasculares (DEGIROLAMO; RUDEL, 2010). Por fim, em relação ao consumo de SFAs, estudos evidenciam associações com maiores concentrações de CT e LDL-c em jejum (JAKOBSEN et al., 2009; ASTRUP et al., 2011), e assim recomendam a substituição dietética de SFAs por PUFA para evitar a instalação de DCV (JAKOBSEN et al., 2009). Em suma, é possível constatar que o perfil de ácidos graxos é capaz de moldar o perfil lipídico.

1.6 HOMOCISTEÍNA E SAÚDE CARDIOVASCULAR

Além do perfil de ácidos graxos e do perfil lipídico, os níveis séricos de homocisteína (Hcy) também estão envolvidos com a saúde cardiovascular (NEVES; MACEDO; LOPES, 2004; VANNUCCHI; MELO, 2009). Tal relação é evidenciada por estudos que revelam que 30% a 35% dos indivíduos com DCV apresentam normocolesterolemia, enquanto mais de 40% dos pacientes com doença primária da artéria coronária, cerebrovascular ou vascular periférica, apresentam concentrações plasmáticas de Hcy elevadas, denominada hiperhomocisteinemia (NAIR et al., 2000).

A Hcy é um aminoácido não essencial, sulfurado, derivado da desmetilação da metionina proveniente da dieta ou de seu catabolismo no organismo, por remoção do grupo metil do carbono terminal (FONSECA; GUBA; FINK, 1999). É um homólogo do aminoácido natural cisteína, diferindo na sua cadeia lateral por conter um grupo metileno adicional (CH₂), antes do grupo tiol (SH). As estruturas da metionina, Hcy e cisteína estão esquematizadas na Figura 6.

Figura 6: Representação das estruturas da metionina (a), homocisteína (b) e cisteína (c).

A descoberta da Hcy ocorreu no ano de 1952 (DU VIGNEAUD, 1952), e em 1962 foram descritos os primeiros casos de homocistinúria, onde se verificou a excreção de metabólitos da Hcy na urina (CARSON; NEIL, 1962). Em 1964 foi observada a ausência da

enzima cistationina- β -sintetase (C β S) em fragmento de biópsia hepática de criança com homocistinúria (MUDD et al., 1964). Cinco anos depois, descreveu-se pela primeira vez a relação entre hiper-homocisteinemia, aterosclerose e trombose arterial e venosa em portadores de homocistinúria (McCULLY, 1969). Entretanto, apenas em 1978 foram determinados pela primeira vez os níveis de Hcy em indivíduo saudável (GUPTA; WILCKEN, 1978), enquanto no ano de 1985 foi descrita a correlação entre doença vascular e hiper-homocisteinemia em heterozigotos para a homocistinúria, com deficiência da enzima C β S (BOERS et al., 1985).

Geralmente a hiper-homocisteinemia grave está associada à presença de homocistinúria. A homocistinúria é um erro inato do metabolismo de caráter autossômico recessivo, cuja principal causa é a deficiência da enzima C β S, considerada importante fator na etiopatogenia da doença vascular, principalmente de grandes vasos (NEVES; MACEDO; LOPES, 2004; VANNUCCHI; MELO, 2009). As manifestações clínicas da hiper-homocisteinemia grave incluem aterosclerose, trombose, doenças vasculares em idade precoce, anormalidades neurológicas, retardo mental, osteoporose e esteatose hepática (GAULL, G.; STURMAN, J. A.; SCHAFFNER, 1974). Concentrações plasmáticas elevadas de Hcy também podem estar associadas a defeitos congênitos do tubo neural e do coração, abortos e outras complicações da gravidez (KANG, 1996).

A hiper-homocisteinemia pode ser classificada segundo as concentrações de Hcy plasmática total (tHcy) nas formas moderada (entre 15 e 30 $\mu\text{mol/L}$), intermediária (entre 31 e 100 $\mu\text{mol/L}$) e grave (acima de 100 $\mu\text{mol/L}$). O valor de referência para Hcy plasmática estratificado por sexo é de 6 a 12 $\mu\text{mol/L}$ para mulheres, e 8 a 14 $\mu\text{mol/L}$ para homens (UELAND; REFSUM, 1989; KANG; WONG; MALINOW, 1992). Para crianças e adolescentes até 15 anos de idade, o valor máximo de referência é 10 $\mu\text{mol/L}$ (REFSUM et al., 2004). Os limites superiores de referência para tHcy estão representados na Tabela 2.

Tabela 2: Limites superiores de referência para tHcy ($\mu\text{mol/L}$) de acordo com a faixa etária.

Hcy plasmática total em jejum ($\mu\text{mol/L}$)		
Faixa etária	Suplementação de folato	Ausência de suplementação
Gravidez	8	10
Crianças e adolescentes (< 15 anos)	8	10
Adultos (15 - 65 anos)	12	15
Idosos (> 65 anos)	16	20

Fonte: Adaptado de Refsum, 2004.

A tHcy é a soma de todas as formas livres de Hcy mais a Hcy ligada a proteínas que contenham um grupamento tiol. Dois a cinco por cento da Hcy plasmática livre está presente em sua forma reduzida, e 15 a 20% é encontrada na forma oxidada, formando dissulfetos que contém enxofre, incluindo a homocistina (dímero da Hcy) e dissulfetos mistos como homocisteína-cisteína. Já 70% a 80% circula ligado a proteínas plasmáticas, principalmente a albumina (TSAI et al., 1995; NEVES; MACEDO; LOPES, 2004), conforme demonstrado na Figura 7.

Figura 7: Distribuição das diferentes formas de Hcy circulantes no plasma humano.

Fonte: adaptado de Ueland, 1995.

Evidências epidemiológicas mostram que a hiper-homocisteinemia é um fator de risco independente para DCV, como trombose e aterosclerose, incluindo doença arterial coronariana e periférica (GRAHAM et al., 1997; NYGARD et al., 1997; DURAND et al., 2001; MAY et al., 2007; PENG et al., 2015). Além disso, pode contribuir para a manifestação precoce e para a gravidade da doença arterial coronariana (CHAO et al., 1999; YOO et al., 1999), além de representar um preditor de mortalidade, independentemente dos fatores de risco tradicionais conhecidos (ANDERSON et al., 2000; GIBELIN et al., 2006; PENG et al., 2015).

Estudos prospectivos apoiam o conceito da hiper-homocisteinemia ser considerada um fator de risco para DCV (STAMPFER et al., 1992; WALD et al., 1998; MAY et al., 2007; VEERANNA et al., 2011), e meta-análises mostram resultados similares (FRANKEN et al.,

1994; REFSUM et al., 1998; EIKELBOOM et al., 1999; WALD; LAW; MORRIS, 2002). Assim, apesar de haver alguns estudos prospectivos e revisões conflitantes que não verificaram associação entre as concentrações de Hcy e doenças cardíacas (EVANS et al., 1997; LEWIS, EBRAHIM, DAVEY SMITH, 2005; LONN et al., 2006; MARTÍ-CARVAJAL; SOLÀ; LATHYRIS, 2015), a maioria das evidências sugere que a hiper-homocisteinemia pode ser fator preditivo de DCV, e de mortalidade precoce em pacientes com a doença instalada.

Em crianças e adolescentes não portadores de homocistinúria, também é possível verificar que níveis elevados de Hcy estão associados a alterações na saúde óssea (REHACKOVA; SKALOVA; KUTILEK, 2013), obesidade (CHANG et al., 2003; PAPANDREOU et al., 2006; KUMAR et al., 2017), maior circunferência da cintura (PAPANDREOU et al., 2006; SILVA et al., 2013), maiores níveis de pressão arterial (GLOWINSKA et al., 2003; PAPANDREOU et al., 2006) e doença renal (KUNDAL et al., 2014; ORIMADEGUN et al., 2014). Porém, ainda não há consenso de que os níveis séricos de Hcy possam ser considerados fator de risco cardiovascular independente na faixa etária pediátrica (LEAL et al., 2013).

Diante das associações verificadas, estudos buscam compreender os mecanismos fisiopatológicos pelos quais a hiper-homocisteinemia favorece o desenvolvimento de doenças vasculares. Os seguintes mecanismos são sugeridos: 1) indução de lesões nas células endoteliais, mediadas pelo efeito tóxico-oxidativo da Hcy, que é auto-oxidada no plasma, originando superóxidos e peróxido de hidrogênio (EBERHARDT et al., 2000; DURAND et al., 2001); 2) aumento da trombogenicidade, decorrente da lesão endotelial inicial, que conduz ao crescimento da musculatura lisa vascular, maior agregação plaquetária e trombose (EBERHARDT et al., 2000), além de atenuar a biodisponibilidade do óxido nítrico, causando diminuição das propriedades antitrombóticas do endotélio e ocasionando a geração de trombina (OKADA et al., 1999); e 3) promoção do estresse oxidativo, capaz de induzir dano ao DNA e apoptose celular mediados pela elevação intracelular de peróxido de hidrogênio, desempenhando papel genotóxico (CROTT; FENECH, 2001). Contudo, há muito ainda a ser estudado sobre a influência da Hcy na fisiopatologia do endotélio vascular.

1.7 HOMOCISTEÍNA E VITAMINAS DO COMPLEXO B

O metabolismo da Hcy ocorre através das vias de remetilação e transulfuração (NEVES; MACEDO; LOPES, 2004; VANNUCCHI; MELO, 2009). A via de remetilação

ocorre preferencialmente no jejum, na qual a Hcy adquire um grupo metil do 5-metil-tetrahydrofolato (5-MTHF) ou da betaina para formar a metionina. A reação com 5-MTHF acontece em todos os tecidos e tem como cofator a vitamina B12, enquanto a reação com betaina ocorre principalmente no fígado e rins (SELHUB, 1999; AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000). No fígado, a metionina é catabolizada dando origem à S-adenosil-metionina (SAM), um potente doador de grupos metil (CH₃). A transferência do grupo metil produz S-adenosil-homocisteína (SAH), que é então metabolizada para Hcy, completando-se a via da remetilação (COOPER, 1983).

A via de transulfuração ocorre quando há sobrecarga de metionina. Nessa via, a Hcy se condensa com a serina para formar cistationina por meio de uma reação irreversível, dependente de piridoxal fosfato (vitamina B6), formando, ao final, a cisteína (SELHUB, 1999; AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000). Todos esses mecanismos são capazes de controlar a concentração plasmática de Hcy. Porém, quando o balanço entre a síntese e o *turnover* é interrompido por alguma disfunção na via metabólica, a Hcy e seus derivados acumulam nas células e no sangue (SAW et al., 2001), podendo gerar consequências adversas ao organismo. As vias metabólicas da Hcy estão representadas na Figura 8.

O metabolismo da Hcy estabelece uma ligação entre o ciclo da metionina e o ciclo do folato. Observa-se que várias enzimas estão envolvidas nas duas vias interconectadas do metabolismo da Hcy, entre elas as enzimas C β S, metionina sintetase (MS) e 5,10-metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR). Variações nos genes que codificam essas enzimas podem ser importantes na determinação das concentrações plasmáticas de Hcy e seus metabólitos (DEKOU et al., 2001; VANNUCCHI; MELO, 2009). A enzima C β S atua na via da transulfuração, responsável pela conversão de Hcy em cistationina, dependente de vitamina B6. As demais enzimas atuam na via da remetilação. A enzima MS é dependente de vitamina B12, e catalisa a remetilação da Hcy para metionina, através da desmetilação concorrente do 5-MTHF para tetrahydrofolato (THF). Já a enzima MTHFR é dependente de vitamina B2, e catalisa a redução da 5,10-metilenotetrahydrofolato (5,10-MTHF) para 5-MTHF, gerando, assim, a forma de folato necessária para a remetilação da Hcy à metionina (NEVES; MACEDO; LOPES, 2004; VANNUCCHI; MELO, 2009).

Figura 8: Metabolismo da homocisteína (ciclo de um-carbono).

As vias metabólicas da Hcy fazem parte do metabolismo de um-carbono (1C), representado por uma via cíclica (Figura 8), cujos componentes essenciais incluem aminoácidos que contêm enxofre e vitaminas hidrossolúveis do complexo B. A maioria das unidades de carbono (CH_3) disponíveis para o organismo são advindas do consumo alimentar de metionina ou colina, e disponibilizadas através do metabolismo de 1C durante a conversão de SAM para SAH (STEAD et al., 2006; RUBIO-ALIAGA et al., 2011; WADHWANI et al., 2015). Assim, a dieta tem sido associada à capacidade de modular as concentrações de SAM, SAH e Hcy (MONTEIRO et al., 2014).

A produção de SAM é fundamental para o organismo, pois este é o principal doador de grupos metil para as reações celulares de metilação. Os grupos metil são utilizados em uma ampla gama de processos envolvendo metiltransferases, em diversas vias metabólicas e de

sinalização, e em interações e síntese de moléculas de RNA, proteínas e DNA (STRAIN et al., 2004). Devido a esse fato, estudos recentes têm se interessado pelo conjunto de reações do metabolismo de 1C, não apenas pela sua relação com o ciclo da Hcy, mas também devido ao papel desse ciclo metabólico na regulação epigenética da expressão gênica, no desenvolvimento e envelhecimento, e na etiologia de doenças crônicas como o câncer (ANDRES et al., 2004; MONTEIRO et al., 2014; KAPUT et al., 2015; MONTEIRO; KUSSMANN; KAPUT, 2015).

Observa-se que fatores fisiológicos, genéticos e nutricionais, são capazes de influenciar a concentração de tHcy no plasma (SAW et al., 2001). Dentre os fatores nutricionais, destaca-se a importância das vitaminas do complexo B envolvidas no metabolismo da Hcy, tais como riboflavina (vitamina B2), piridoxina (vitamina B6), cobalamina (vitamina B12) e ácido fólico. Evidências comprovam que a suplementação de ácido fólico é capaz de reduzir os níveis de Hcy na maioria das populações, enquanto a suplementação de vitamina B6 e vitamina B12 é mais efetiva na prevenção da elevação da tHcy (STRAIN et al., 2004). Já a suplementação de vitamina B2 parece exercer influência apenas em indivíduos que apresentam polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) no gene MTHFR (STRAIN et al., 2004).

Quanto às demais vitaminas hidrossolúveis (vitaminas C, B1, B3 e B5), até o momento não há relatos de estudos que verificaram influência das mesmas sobre as concentrações de Hcy. Já em relação às vitaminas lipossolúveis, as vitaminas A e E também parecem estar associadas aos níveis de Hcy. Pesquisas recentes encontraram correlações entre os níveis de vitamina A e E com as concentrações de Hcy plasmática (LIMPACH et al., 2000; PARISI et al., 2003; MONTEIRO et al., 2014; RASZEWSKI et al., 2016), apesar do mecanismo fisiológico de interação entre estes metabólitos ainda não estar esclarecido. Para as vitaminas D e K, ainda não há relatos de interação na literatura.

Assim, as evidências científicas sustentam a maior importância das vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico, no controle das concentrações de Hcy. É importante ressaltar que o consumo alimentar de vitaminas do complexo B pode se apresentar deficiente em crianças e adolescentes (McLEAN; DE BENOIST; ALLEN, 2008; HERBISON et al., 2012; GUNANTI et al., 2014; PEDROZA-TOBIÁS et al., 2016). Consequentemente, a população nessa faixa etária pode apresentar níveis plasmáticos comprometidos (McLEAN; DE BENOIST; ALLEN, 2008; GUNANTI et al., 2014; BRITO et al., 2015; DUONG et al., 2015; NG'ENO et al., 2017). Essa deficiência vitamínica impacta diretamente sobre diversas reações

metabólicas no organismo, comprometendo o estado nutricional. Tal fato justifica a necessidade de melhoria dos hábitos alimentares da população pediátrica.

A vitamina B2 participa de uma série de reações redox no metabolismo humano, atuando como precursora das coenzimas flavina mononucleotídeo (FMN) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD), que agem como carreadores de elétrons. As concentrações séricas de riboflavina, FMN e FAD são úteis para a determinação do estado nutricional dos indivíduos em relação à vitamina B2 (VANNUCCHI; CARVALHO; CHIARELLO, 2016). Suas fórmulas moleculares estão representadas na Figura 9. No metabolismo da Hcy, a riboflavina participa do processo porque o FAD é um cofator para a enzima MTHFR, que metaboliza o 5,10-MTHF para a forma 5-MTHF, utilizada na remetilação da Hcy (ROBINSON, 2000; DiBELLO et al., 2010). Contudo, estudos tem verificado que os efeitos da suplementação de riboflavina são efetivos apenas em casos graves de hiper-homocisteinemia em indivíduos homozigotos para o SNP C677T do gene MTHFR (STRAIN et al., 2004; REILLY et al., 2014), com ingestão insuficiente de folato (JACQUES et al., 2002).

Figura 9: Fórmula molecular da riboflavina (a) e seus derivados FMN (b) e FAD (c).

A vitamina B6 pode ser encontrada principalmente sob as formas de piridoxina, piridoxal, piridoxamina e piridoxal 5'fosfato (PLP). Suas fórmulas moleculares estão representadas na Figura 10. A piridoxina é a forma mais utilizada para a fortificação de alimentos e preparações medicamentosas, enquanto o PLP trata-se da forma coenzimática

ativa de maior interesse biológico. A vitamina B6 está fortemente relacionada ao metabolismo de aminoácidos, atuando como coenzima nas reações de transaminação, principalmente através do PLP (MORAIS; COMINETTI; COZZOLINO, 2016). No metabolismo da Hcy, o piridoxal fosfato atua como cofator da enzima C β S, catalisando a transulfuração da Hcy para cisteína.

No estudo de Kelly et al., (2003), foi possível evidenciar associação inversa entre PLP e infarto isquêmico, com influência protetora do PLP em indivíduos com concentrações mais altas, independente da concentração de Hcy. Em estudo posterior, Kelly et al., (2004) observaram relação inversa entre as concentrações de vitamina B6 e proteína C reativa, explicando parcialmente a associação existente entre baixas concentrações de PLP, inflamação e doença vascular. Contudo, é possível verificar que a vitamina B6, quando oferecida isoladamente, não tem apresentado efeito na redução das concentrações de Hcy (UBBINK et al., 1994; BOUSHEY et al., 1995; NEVES; MACEDO; LOPES, 2004; VANNUCCHI; MELO, 2009). Estudos indicam que 50% dos indivíduos homozigotos para mutação na enzima C β S respondem ao tratamento com piridoxina, mas, para aqueles que não respondem, o tratamento deve ser combinado com folato, betaína e dieta pobre em metionina, para estímulo da remetilação (FRANKEN et al., 1994; DURAND et al., 2001; STRAIN et al., 2004; NEVES; MACEDO; LOPES, 2004).

Figura 10: Fórmula molecular da piridoxina (a), piridoxal (b), piridoxamina (c) e piridoxal fosfato (d).

A vitamina B12 refere-se à família da cobalamina, a qual apresenta anéis tetrapirrol ao redor de um átomo central de cobalto. Dependendo de outros compostos ligados à molécula, ela pode ser encontrada na forma de metilcobalamina, hidroxicobalamina, aquacobalamina, cianocobalamina e deoxiadenosilcobalamina. A fórmula molecular da cobalamina está representada na Figura 11. A cobalamina sérica é o marcador padrão para diagnóstico de deficiência em vitamina B12, e é um cofator essencial para duas enzimas, a metilmalonil-CoA mutase, e a MS (MAFRA; COZZOLINO, 2016a). No metabolismo da Hcy, a cobalamina atua como cofator da enzima MS, responsável pela remetilação da Hcy para metionina, através da desmetilação do 5-MTHF para THF.

Estudos iniciais analisaram a suplementação de vitamina B12 (acima de 400 µg/dia) em indivíduos do sexo masculino com concentrações elevadas de Hcy, e verificaram uma diminuição de 15% nas concentrações iniciais de Hcy (UBBINK et al., 1994). No estudo de Siri et al., (1998), pesquisadores observaram que as maiores concentrações séricas de vitamina B12 estavam associadas a menores níveis de Hcy e a um risco diminuído de aterosclerose. Outro estudo mais recente verificou que crianças com menor ingestão de vitamina B12 na dieta apresentam maiores níveis de Hcy plasmática (MANIOS et al., 2017). Uma meta-análise também evidenciou que a suplementação diária de vitamina B12 reduz as concentrações de Hcy no sangue (HOMOCYSTEINE LOWERING TRIALISTS COLLABORATION, 1998). Por outro lado, uma revisão sistemática demonstrou que há evidências limitadas de que a deficiência de vitamina B12 predispõe ao risco de morbimortalidade por DCV (RAFNSSON et al., 2011).

Figura 11: Fórmula molecular da cobalamina.

O ácido fólico também é uma vitamina hidrossolúvel cuja forma biologicamente ativa é o ácido tetrahydrofolato (THF), fundamental para as reações de transferência de carbono e biossíntese de nucleotídeos essenciais para a síntese de DNA e RNA. A fórmula molecular do ácido fólico está representada na Figura 12. A maior parte do folato da dieta está presente na forma de poliglutamato. Após a digestão e absorção intestinal, o folato sofre metilação e redução no interior dos enterócitos, e entra na circulação portal na forma de 5-MTHF, sendo este o principal folato circulante. Para atingir sua forma metabolicamente ativa, é necessário sofrer dimetilação pela ação da enzima MS. Neste processo, o 5-MTHF serve como doador de um grupo metil à Hcy, que dará origem ao THF e à metionina, respectivamente (MAFRA; COZZOLINO, 2016b).

Diversos estudos envolvendo a suplementação de ácido fólico verificaram reduções significativas nas concentrações plasmáticas de Hcy em modelos animais (LEE et al., 2004; LI et al., 2007) e em seres humanos (UBBINK et al., 1994; MALINOW et al., 1997; BROUWER et al., 1999; THAMBYRAJAH et al., 2001; WALD; LAW; MORRIS, 2002; MELO et al, 2006; YEGNANARAYAN et al., 2008), inclusive em crianças (PAPANDREOU et al., 2010). A suplementação com ácido fólico também foi capaz de reduzir o risco para DCV (RIMM et al., 1998; NTAIOS et al., 2010), cujas evidências são confirmadas por meta-análises (WANG et al., 2007; YANG et al., 2012). Autores sugerem que o folato deve ser considerado como suplementação de rotina para indivíduos com fatores de risco para DCV (LEE et al., 2003).

Figura 12: Fórmula molecular do ácido fólico.

As evidências científicas demonstram que o ácido fólico e as vitaminas B2, B6 e B12 diferem quanto ao seu potencial para influenciar as concentrações plasmáticas de Hcy (LEE et al., 2003). Observa-se que a suplementação de ácido fólico tem melhor resultado que a suplementação de vitaminas B2, B6 ou B12. Tal fato pode ser explicado levando-se em consideração a função de cada vitamina no ciclo da Hcy. No metabolismo da Hcy, as vitaminas B2, B6 e B12 atuam como coenzimas e, portanto, o excesso não é utilizado durante a reação na qual estão envolvidas. O ácido fólico, entretanto, é convertido em 5-MTHF pelo

organismo e funciona como doador do grupo metil para a Hcy na reação de remetilação, na presença de vitamina B12. Por essa razão, o ácido fólico age como fator limitante para tal reação, e a ausência desse doador do grupo metil (5-MTHF) não pode ser compensada pela vitamina B12 (VANNUCCHI; MELO, 2009). Assim, a vitamina B12 tem sido considerada menor determinante das concentrações plasmáticas de Hcy que o ácido fólico (HOMOCYSTEINE LOWERING TRIALISTS COLLABORATION, 1998; QUINLIVAN et al., 2002).

Dessa forma, é sugerida a suplementação combinada de vitaminas do complexo B para a prevenção e tratamento da hiper-homocisteinemia. Baseando-se nesse fato, estudos têm demonstrado melhores efeitos da suplementação combinada de ácido fólico, vitamina B12 e vitamina B6 (KANG, 1996; SCHNYDER et al., 2002; SAPOSNIK et al., 2009; GARAIOVA et al., 2013; JI et al., 2013; RAUH-PFEIFFER et al., 2014), ácido fólico e vitamina B12 (SEARCH, 2010; KESER et al., 2013), e ácido fólico, vitamina B2 e B6 (McKINLEY et al., 2001), na redução das concentrações séricas de Hcy, bem como na prevenção primária de DCV (RIMM et al., 1998; SCHNYDER et al., 2002; RIGHETTI et al., 2006; HODIS et al., 2009; RAUTIAINEN et al., 2010; JI et al., 2013; DEBRECENI; DEBRECENI, 2014). O consumo de alimentos fortificados com esse conjunto de vitaminas também tem demonstrado efeito semelhante (MALINOW et al., 1998; TUCKER et al., 2004).

Em contrapartida aos resultados mencionados acima, outras pesquisas e meta-análises verificaram que, apesar da suplementação de vitaminas do complexo B reduzir a concentração de Hcy, ela não é capaz de reduzir o risco para DCV (TOOLE et al., 2004; BØNAA et al., 2006; LONN et al., 2006; ZHANG et al., 2013; MARTÍ-CARVAJAL; SOLÀ; LATHYRIS, 2015). Os resultados recentes de grandes ensaios de intervenção levantam a suspeita de que a concentração de Hcy plasmática não é um fator de risco independente para DCV, mas apenas um preditor, que exerce o papel de biomarcador, cujo tratamento não reduz a doença. Embora a hiper-homocisteinemia esteja associada à DCV, permanece incerto o quanto a Hcy representa um fator de risco causal modificável ou forte marcador dessa doença.

Alguns autores tentam explicar a controvérsia entre os estudos. Segundo Smulders & Blom (2011) é prematuro abandonar a hipótese do fator causal atribuído à Hcy nas DCV. Os autores citam que os estudos que questionam a associação entre os níveis de Hcy e DCV apresentam limitações, tais como: 1) limitações da randomização mendeliana, onde a variante de um único gene (no caso o SNP MTHFR 677 C>T) nem sempre terá associação direta, consistente e quantificável com o fator de risco, sendo necessário investigar interações gene-gene, heterogeneidade genética e pleiotropia; 2) limitações no poder dos estudos de

intervenção, cuja duração da intervenção é limitada, não sendo capaz de prevenir DCV que levam décadas para se desenvolver; além de intervenções que são realizadas em grupos com baixos níveis de hiper-homocisteinemia, ou em indivíduos com DCV pré-existente; 3) limitação quanto à análise dos efeitos colaterais da suplementação, pois é possível que a redução da Hcy seja benéfica, porém mascarada pelas altas doses de suplementação vitamínica sobre a aterosclerose, capazes de estimular a inflamação em lesões ateroscleróticas pré-existent.

Para os autores Rodionov & Lentz (2008) a Hcy não é um fator de risco independente para DCV. Há a suspeita de que as associações positivas entre os níveis elevados de Hcy e o risco para DCV possam ser confundidas pela presença de outro fator de risco cardiovascular. Nesse caso, não surtiria efeito reduzir apenas os níveis de Hcy, sem controlar o outro fator de risco. A hiper-homocisteinemia pode estar associada ao aumento do risco vascular, não porque esteja diretamente envolvida na patogênese da doença, mas porque é um marcador de outro processo deletério, como por exemplo, a doença renal. A associação epidemiológica entre hiper-homocisteinemia e aumento do risco cardiovascular pode ser devido à função renal prejudicada. Na insuficiência renal há elevação de Hcy e acúmulo de dimetilarginina assimétrica (ADMA), responsável também pela disfunção endotelial. Assim, talvez possa se explicar porque a redução apenas dos níveis de Hcy não diminua o risco de DCV.

1.8 VITAMINAS DO COMPLEXO B E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Baseando-se na hipótese de que as associações positivas entre níveis elevados de Hcy e risco para DCV possam ser confundidas por outro fator de risco cardiovascular, autores sugerem que tais fatores de risco possam ser os baixos níveis de PUFAs da série $\omega 3$, como EPA e DHA (IGLESIA et al., 2017). Estes AGs atuam como elementos cardioprotetores, reduzindo a pressão arterial, a frequência cardíaca, TG séricos, trombogênese, inflamação e arritmias, além de melhorarem a função endotelial e a sensibilidade à insulina (HOOPER et al., 2006). Possivelmente, a redução dos níveis de Hcy acarretaria em menores riscos para DCV se o perfil de AGs também fosse melhorado.

Paralelamente a essa hipótese, estudos encontraram correlações positivas entre os níveis de vitamina B6, B12 e ácido fólico com o perfil de AGs, em especial o DHA, tanto em animais (PITA; DELGADO, 2000; BERTRANDT; KLOS; DEBSKI, et al., 2005; CABRINI et al., 2005; VAN WIJK et al., 2012), quanto em humanos (LI; MANN; SINCLAIR, 2006; UMHAU et al., 2006; ZHAO et al., 2012). Em adolescentes, apenas um estudo transversal

evidenciou que biomarcadores para vitaminas do complexo B (ácido fólico e vitamina B12) estão associados ao melhor perfil de AGs (maiores níveis de EPA e DHA) (IGLESIA et al., 2017).

Por outro lado, algumas pesquisas não conseguiram observar tais associações em idosos (DULLEMEIJER et al., 2007; CROWE et al., 2008). Por isso, é necessário compreender o mecanismo fisiológico através do qual as vitaminas do complexo B influenciam o perfil de AGs. A via metabólica específica que associa essas vitaminas às concentrações de AGs ainda não foi claramente estabelecida. Até o momento foram descritos dois caminhos fisiológicos que podem explicar tais associações (VAN WIJK et al., 2012; ZHAO et al., 2012).

Primeiramente, sabe-se as vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico estão relacionadas ao metabolismo da Hcy, e que exercem influência sobre as concentrações de SAM, um potente doador de grupos metil (CH_3). Os grupos metil são utilizados por uma ampla gama de enzimas denominadas metiltransferases, responsáveis por catalisar a transferência do grupo metil entre dois compostos. Uma das principais metiltransferases presente no organismo é a fosfatidiletanolamina metiltransferase (PEMT). Essa enzima utiliza SAM como substrato para catalisar três reações consecutivas de metilação, resultando na conversão de fosfatidiletanolamina (PE) à fosfatidilcolina (PC). A metilação de PE para PC via PEMT está representada na Figura 13 (VANCE; WALKEY; CUI, 1997; VAN WIJK et al., 2012).

Figura 13: Conversão de fosfatidiletanolamina (PE) à fosfatidilcolina (PC) através da enzima fosfatidiletanolamina metiltransferase (PEMT).

Fonte: Adaptado de Pynn et al., 2011.

A PE e a PC são fosfolípidios, fundamentais para a estabilidade das superfícies das membranas celulares, sendo que a PC pode ser constituída por uma cadeia enriquecida em PUFA, como EPA, ARA e DHA (TACCONI; WURTMAN, 1985; RICHARDSON; WURTMAN, 2007), conforme demonstrado na Figura 14. Além disso, a PC também constitui a maioria dos fosfolípidos plasmáticos (PRISCO et al., 1996), e a porcentagem de PUFA nos fosfolípidos plasmáticos é superior à porcentagem nos triacilgliceróis plasmáticos ou ésteres de colesterol (VON HOUWELINGEN et al., 1989).

Diante de tais observações, estudos comprovam que a PC originada via PEMT é crucial para o transporte de PUFA através do plasma, principalmente o DHA, a partir do fígado para os tecidos extra-hepáticos (WATKINS; ZHU; ZEISEL, 2003; PYNN et al., 2011; VAN WIJK et al., 2012). Autores sugerem que os níveis plasmáticos de PC contendo DHA possam ser utilizados como biomarcadores para a atividade da PEMT hepática (DA COSTA et al., 2011).

Figura 14: Representação da estrutura da fosfatidilcolina contendo PUFA na cadeia hidrofóbica do fosfolípido.

Assim, se as vitaminas do complexo B influenciam as concentrações de SAM, também podem interferir no processo de metilação de PE à PC, alterando as concentrações de PUFA no plasma. Possivelmente, essas vitaminas contribuem para a redução dos níveis de Hcy e aumento dos níveis de PUFA. A confirmação de tal hipótese pode possibilitar uma nova intervenção dietoterápica com vitaminas, capaz de proporcionar aumento nas concentrações de AGs ω 3 e ω 6 no plasma. O processo de interação entre os biomarcadores para vitaminas do complexo B e o perfil de AGs está representado na Figura 15.

Convém ressaltar que a metilação de PE para PC através da enzima PEMT pode ser inibida pelas concentrações de SAH (SELLEY et al., 2007). Na deficiência de vitaminas do complexo B, a elevação da Hcy acarreta em aumento dos níveis de SAH, por meio de uma

reação reversível, inibindo a enzima PEMT e reduzindo as concentrações de PC. Assim, a razão SAM/SAH em proporções reduzidas afeta a atividade de PEMT, enquanto proporções elevadas aumentam a capacidade de metilação (LOO; SMITH, 1986; SHE; HAYAKAWA; TSUGE, 1995; VAN WIJK et al., 2012). Logo, níveis elevados de Hcy podem estar associados às baixas concentrações de PUFA. A elucidação desse pressuposto pode auxiliar a compreender os resultados controversos quanto à associação entre os níveis de Hcy e o risco de DCV (IGLESIA et al., 2017).

Figura 15: Metabolismo da homocisteína e interações entre biomarcadores para vitaminas do complexo B com o perfil de ácidos graxos.

Um segundo mecanismo capaz de explicar a associação entre vitaminas do complexo B e o perfil de AGs, baseia-se no comprometimento da atividade da enzima delta-6-

dessaturase hepática. Essa enzima é dependente de PLP, além de ser necessária para o processo de conversão dos AGs α -linolênico e linoleico, em ARA, EPA e DHA (Figura 3) (ZHAO et al., 2012). Estudos iniciais verificaram redução da atividade da enzima delta-6-dessaturase hepática em ratos com deficiência de vitamina B6 (SHE; HAYAKAWA; TSUGE, 1994; BORDONI et al., 1998), bem como concentrações alteradas de AGs no plasma, na deficiência de piridoxina (SABO; FRANCESCONI; GERSHOFF, 1971; AUDET; LUPIEN, 1974; TSUGE; HOTTA; HAYAKAWA, 2000). Tal fato também foi observado em estudo *in vitro* com células cultivadas, em que a redução nos níveis de vitamina B6 levou a alterações no perfil de PUFA, paralelamente à redução dos processos de dessaturação (ZHAO et al., 2013).

As evidências quanto à associação entre biomarcadores para vitaminas do complexo B e perfil de AGs ainda não estão claras na literatura, e muitas vezes são discutíveis. Novos estudos necessitam investigar profundamente essas associações devido ao seu papel na prevenção de DCV. Estudos preliminares e atuais ressaltam a importância de se assegurar uma concentração adequada de biomarcadores para vitaminas do complexo B no plasma, pois estes podem influenciar a saúde cardiovascular ao reduzir os níveis de Hcy, aumentar os PUFA da série ω 3 como EPA e DHA, além de diminuir o índice pró-inflamatório evidenciado pela razão ω 6/ ω 3 (IGLESIA et al., 2017).

2. Hipótese

1. Maiores concentrações plasmáticas de biomarcadores para vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico estão associadas a:
 - 1.1. Melhor perfil lipídico (baixos níveis de CT, TG e LDL-c, e maiores níveis de HDL-c) no plasma;
 - 1.2. Melhor perfil de ácidos graxos (baixos níveis de SFAs, e maiores níveis de MUFAs e PUFAs) nos eritrócitos;
 - 1.3. Baixos níveis de homocisteína total nos eritrócitos.
 2. Maiores concentrações de homocisteína total estão associadas a baixos níveis de PUFAs nos eritrócitos.
-

3. Justificativa

Alterações no perfil lipídico, no perfil de AGs e nos níveis de tHcy estão associadas ao aumento do risco cardiovascular. Estes fatores de risco já são observados em crianças e adolescentes. Por esse motivo, recomendações dietéticas que visam a prevenção de DCV têm sido propostas constantemente ao longo dos anos. Entretanto, observa-se ainda que os hábitos alimentares de crianças e adolescentes condizem com um baixo consumo de MUFAs e PUFAs ω 3, e uma ingestão elevada de SFAs e PUFAs ω 6 (maior proporção ω 6/ ω 3) na dieta.

Em contrapartida, estudos recentes verificaram que algumas vitaminas do complexo B podem contribuir para a redução dos níveis de tHcy e a melhora do perfil de AGs no plasma. Supostamente, as vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico interagem com o perfil de AGs por atuarem como cofatores no ciclo da Hcy, e influenciarem a metilação da fosfatidiletanolamina à fosfatidilcolina. Esta última é crucial para o transporte de PUFAs no organismo. Logo, se essas vitaminas interagem com o perfil de AGs, supõe-se que também influenciam o perfil lipídico.

A confirmação de tal hipótese pode dar origem a uma nova opção dietoterápica capaz de melhorar o perfil lipídico e de AGs no plasma, reduzir os níveis de tHcy, e auxiliar na prevenção das DCV. Além disso, permitirá observar se a Hcy está inversamente associada aos níveis de PUFAs, o que pode reforçar o seu papel como biomarcador para DCV, ao invés de fator de risco independente.

A associação entre o perfil lipídico, perfil de AGs e biomarcadores para vitaminas do complexo B está pouco clara e inconsistente na literatura. Estudos em modelos animais e humanos são recentes e escassos. Até o momento, apenas um estudo realizou essa investigação em adolescentes. Não há pesquisas que investigaram essa interação em crianças. Por esse motivo, o presente estudo se justifica diante da escassez de resultados e da importância do tema frente à prevenção das DCV, cada vez mais comuns em decorrência do sedentarismo, má alimentação e excesso de gordura corporal, em crianças e adolescentes.

4. Objetivos

4.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a associação entre o perfil lipídico, perfil de ácidos graxos, homocisteína total e biomarcadores para vitaminas do complexo B em crianças e adolescentes.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Associar os níveis plasmáticos de CT, TG, LDL e HDL (perfil lipídico) com biomarcadores para vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico;
 - b) Associar os níveis eritrocitários de SFAs, MUFAs e PUFA (perfil de ácidos graxos) com biomarcadores para vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico;
 - c) Associar os níveis eritrocitários de homocisteína e seus metabólitos (metionina, SAM, SAH, cistationina e cisteína) com biomarcadores para vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico;
 - d) Associar os níveis eritrocitários de SFAs, MUFAs e PUFA (perfil de ácidos graxos) com os níveis de homocisteína, SAM e SAH.
-

5. Materiais e Métodos

5.1 APRESENTAÇÃO DO ESTUDO

O presente estudo é parte integrante de uma pesquisa mais abrangente intitulada “*A New Strategy to Analyze Gene-Nutrient Interaction in Children and Adolescents*” (Nova Estratégia para Analisar Interação Gene-Nutriente em Crianças e Adolescentes), cujo nome fantasia é “*Brazil Micronutrient Project*”. Essa pesquisa foi realizada no município de Ribeirão Preto - SP, entre os anos de 2013 e 2014, e trata-se de um estudo de ensaio clínico do tipo N-of-1 (MATHIAS et al., 2018). Nesse tipo de ensaio clínico, os sujeitos são submetidos a períodos de intervenção e de *washout*, sendo, portanto, analisados como seus próprios controles (LILLIE et al., 2011).

Para todos os participantes da pesquisa foram avaliados dados dietéticos, antropométricos e bioquímicos no momento basal (T1); após seis semanas de suplementação (T2) com a barra de leite de nome comercial “Nestrovit” – NESTLÉ® (ANEXO 1) contendo 12 vitaminas e 5 minerais (vitamina A, B1, B2, B3, B6, B12, C, D, E, folato, biotina, pantotenato, ferro, fósforo, cálcio, magnésio e zinco); e após seis semanas de *washout* (T3), conforme demonstrado na Figura 16.

Figura 16: Etapas da coleta de dados do projeto “*Brazil Micronutrient Project*”.

A pesquisa foi executada por pesquisadores do Departamento de Puericultura e Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), sob a coordenação da Professora Doutora Jacqueline Pontes Monteiro, e com apoio científico do Doutor Jim Kaput e sua equipe do Nestlé Institute of Health Science (*Head of Translational Unit – Nestlé Institute of Health Science, Lausanne, Suíça*).

5.2 DELINEAMENTO E LOCAL DO ESTUDO

A presente Tese de Doutorado trata-se de um estudo transversal, e utiliza apenas os dados coletados no momento basal (T1) do projeto “*Brazil Micronutrient Project*”, para evitar

a influência da suplementação de micronutrientes sobre as concentrações dos metabólitos plasmáticos e eritrocitários. Os participantes foram recrutados em duas escolas públicas (Escola Estadual Professor Rafael Leme Franco e Escola Estadual Professor Walter Ferreira) e uma particular (Colégio Viktor Frankl) da zona oeste do município de Ribeirão Preto - SP.

5.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos na pesquisa crianças e adolescentes de 9 a 13 anos, 11 meses e 29 dias de idade no início do estudo (momento basal – T1) e clinicamente estáveis (sem doença crônica que pudesse interferir na coleta de dados e nos resultados dos exames bioquímicos), após o consentimento de seus pais ou responsáveis legais. Os participantes foram incluídos independentemente de seu estado nutricional, ou seja, se estivessem magros, com peso adequado, com sobrepeso ou com obesidade, de acordo com a classificação da OMS para IMC por idade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007), e independentemente de seu estágio de maturação sexual, de acordo com os critérios de Tanner (TANNER, 1962).

Foram excluídos do estudo os indivíduos que apresentaram: um ou mais episódios de temperatura axilar superior a 37°C nos 15 dias que antecederam a coleta de sangue; três ou mais episódios de evacuações líquidas nas 24 horas anteriores à avaliação; ingestão de qualquer tipo de suplemento vitamínico ou mineral; seguimento de dieta supervisionada para redução de peso ou qualquer outro tipo de restrição dietética; diagnóstico de doença crônica que pudesse interferir na coleta de dados e nos resultados dos exames bioquímicos; participação em outro estudo nas 4 semanas que precederam este.

5.4 POPULAÇÃO E TAMANHO AMOSTRAL

A população do atual estudo compreende todos os indivíduos incluídos no projeto “*Brazil Micronutrient Project*”, sendo composta por todas as crianças e adolescentes de 9 a 13 anos de idade, matriculados em três escolas do município de Ribeirão Preto - SP. A técnica de amostragem utilizada foi a não probabilística, tratando-se de uma amostra por conveniência. Foram recrutados 151 indivíduos em 2013 e 149 indivíduos em 2014. Destes, 139 e 141 foram incluídos na pesquisa nos anos de 2013 e 2014, respectivamente, por respeitarem os critérios de inclusão, totalizando uma amostra de 280 participantes que compareceram ao T1.

Para a análise dos dados na presente Tese, foram removidos do estudo os indivíduos que possuíam graus de parentesco entre si (*siblings*) ($n=18$), e os indivíduos considerados *outliers* em relação aos níveis séricos de vitaminas ($n=6$) e ao perfil de AGs ($n=7$). Após a exclusão dos *siblings* e *outliers*, os dados de 249 participantes foram considerados adequados para as análises estatísticas. A Figura 17 descreve o fluxograma de inclusão dos participantes.

Figura 17: Fluxograma de inclusão dos participantes no presente estudo.

5.5 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto “*Brazil Micronutrient Project*” foi aprovado 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) (ANEXO 2) e pela CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Processo CAAE Nº 00969412.6.0000.5440) (ANEXO 3). O referido ensaio clínico está registrado no ClinicalTrials.gov (NCT01823744). Todos os participantes assinaram o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) e seus responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B).

5.6 COLETA DE DADOS

Para o recrutamento dos participantes, inicialmente foram contatadas cinco escolas da região, através de seus diretores e coordenadores; porém, somente três concordaram em participar da pesquisa. Após a autorização das escolas, a equipe organizadora da pesquisa

realizou reuniões com os pais dos alunos para explicar os objetivos, procedimentos e critérios de inclusão e exclusão. Logo após, foi realizado o convite aos pais para a participação dos alunos.

Os interessados compareceram à FMRP-USP em data pré-agendada, quinze dias antes do início da coleta de dados (momento zero – T0), onde foram submetidos à avaliação por um pediatra para determinar suas condições clínicas e seu estágio puberal, conforme os critérios de Tanner (TANNER, 1962). Além disso, foi solicitado o preenchimento de um questionário auto aplicado intitulado “Critério de Classificação Econômica Brasil” (ANEXO 4) para avaliação da condição socioeconômica dos participantes (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA, 2012). Também foram obtidas as assinaturas dos Termos de Consentimento e Assentimento Livre e Esclarecido.

5.6.1 Avaliação do estado nutricional

Quinze dias após o recrutamento dos participantes no momento zero (T0) foi realizada a avaliação do estado nutricional no momento basal (T1), que consistiu na avaliação antropométrica (peso, estatura, IMC e circunferência da cintura), avaliação da composição corporal (massa magra e massa gorda), avaliação do consumo alimentar (energia, macro e micronutrientes; além do cálculo do Índice de Qualidade da Dieta), e coleta de sangue para realização de análises bioquímicas (perfil lipídico, perfil de ácidos graxos, níveis de homocisteína e seus metabólitos, e biomarcadores para vitaminas do complexo B). A coleta de dados ocorreu na Sala de Coleta do Hospital das Clínicas da FMRP/USP.

A coleta aconteceu em dois dias de um final de semana (sábado e domingo), a fim de melhorar a logística de atendimento, sendo que metade dos sujeitos comparecia aos sábados, e a outra metade, aos domingos. Os indivíduos e seus pais/responsáveis legais eram transportados de e para suas casas por um serviço de transporte contratado pela equipe do presente estudo, a fim de evitar atrasos e garantir a participação de todos. Os participantes recebiam ainda uma ajuda de custo aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa, bem como café-da-manhã e almoço após a retirada de sangue.

5.6.2 Avaliação da atividade física

A avaliação da atividade física de todos os participantes foi realizada durante três dias letivos pelo aparelho *Bodybugg* (Apex Fitness®). Esse aparelho 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.

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).

Os voluntários do projeto usaram o *Bodybugg* durante dois dias letivos em que não havia aula de educação física e em um dia letivo com essa disciplina. Tanto os professores quanto os alunos receberam explicações referentes ao uso correto do aparelho. O *Bodybugg* foi fixado no braço de cada voluntário no início da aula e retirado ao final de cada dia escolar pelo pesquisador, sendo o tempo de uso e os cuidados para o bom funcionamento do aparelho monitorados pelo mesmo.

O *Bodybugg* é um monitor de gasto energético que utiliza a associação de informações de peso, altura, gênero e idade, por meio de um processo chamado "multissensor". 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 multissensor 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. Para a classificação do nível de atividade física praticado por cada indivíduo, foi adotado o critério descrito por Pate et al. (2004), conforme quadro abaixo.

Quadro 4: Classificação do nível de atividade física segundo o equivalente metabólico

Nível de atividade física (AF)	Equivalente Metabólico
Sedentário	$\leq 1,4 \text{ METs}$
AF leve	$1,5 - 2,9 \text{ METs}$
AF moderada	$3 - 5,9 \text{ METs}$
AF vigorosa	$\geq 6 \text{ METs}$

5.6.3 Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada por flebotomistas treinados. Tal procedimento oferece risco mínimo (Categoria 2; 45 CFR 46.110) e é rotineiramente realizado 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 pesquisadores do projeto na FMRP-USP.

Para a coleta de sangue os participantes estavam em jejum de 12 horas. Foram coletados 4 mL em tubos com EDTA para a análise das vitaminas e AGs, sendo as amostras protegidas da luz. Para as demais análises, uma amostra de 4 mL foi coletada em tubos com heparina. No local da coleta de sangue, as amostras foram centrifugadas para a separação do plasma e das células vermelhas do sangue (*red blood cells* – RBC), as quais foram congeladas a -80°C. Todas as amostras de sangue foram codificadas no momento em que foram coletadas e então encaminhadas para as respectivas análises.

5.7 ANÁLISE DOS DADOS

5.7.1 Análise antropométrica

O peso e a estatura foram aferidos em jejum, imediatamente após a coleta de sangue, de acordo com os procedimentos detalhados por Jelliffe (JELLIFE, 1968). O IMC foi usado como critério para classificar o estado nutricional. Os participantes foram classificados em magreza acentuada, se $IMC < \text{percentil } 3$; magreza, se $\text{percentil } 3 \leq IMC < \text{percentil } 15$; peso adequado, se $\text{percentil } 15 \leq IMC < \text{percentil } 85$; sobrepeso, se $\text{percentil } 85 \leq IMC < \text{percentil } 97$ e obesidade se $IMC \geq \text{percentil } 97$, conforme as curvas de IMC para idade, para indivíduos de cinco a 19 anos, da OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007).

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; STOLARCZYK, 1996). Caso o participante apresentasse excesso de peso que impedisse a localização desta região, a cicatriz umbilical foi considerada como o nível da linha horizontal.

5.7.2 Análise da composição corporal

A composição corporal dos indivíduos (porcentagem de massa magra e massa gorda) foi analisada utilizando-se aparelho de Impedância Bioelétrica Tetrapolar (com quatro eletrodos), da marca Biodynamics 450®. Esse aparelho utiliza as equações de Houtkooper et al. (1992) e de Danford, Schoeller e 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. Esse 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; e posicionamento dos eletrodos no dorso da mão e do pé dos mesmos, de acordo com técnica de Lukaski et al. (1986).

5.7.3 Análise do consumo alimentar

O consumo recente de alimentos foi avaliado por meio da aplicação do recordatório de 24 horas (R24h) (ANEXO 5), seguindo-se a técnica de múltiplos passos de acordo com Johnson, Soultanakis e Matthews (1998). A técnica é composta por três etapas distintas: lista rápida, descrição detalhada e avaliação. Na etapa da lista rápida, o voluntário informa todos os alimentos e bebidas consumidos durante o dia anterior sem ser interrompido pelo entrevistador; na etapa da descrição detalhada o voluntário informa as medidas caseiras, hora e local de cada refeição. Ao final da etapa é a avaliação, onde são retomados todos os alimentos e bebidas, respectivas medidas caseiras, hora e local de cada refeição. As informações do consumo alimentar recente, coletadas pelo R24h aplicado em três dias não consecutivos, subsidiaram o cálculo do Índice de Qualidade da Dieta (IQD).

O consumo habitual de alimentos foi verificado por meio de um questionário semi-quantitativo de frequência alimentar (QFA) (FUMAGALLI et al., 2008 *adaptado para criança*) (ANEXO 6). A decisão de aplicar um QFA se deve ao fato de que, para relatarmos a

ingestão usual (últimos 30 dias) utilizando somente R24h, deveríamos aplicar pelo menos 15 R24h por indivíduo, a fim de minimizar as variações inter-individuais (PEREIRA et al., 2010). Como estamos investigando 249 indivíduos, essa abordagem se tornaria inviável. Dessa forma, o QFA tornou-se uma escolha cientificamente correta e aplicada aos objetivos 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, macro e micronutrientes e o monitoramento de possíveis alterações na dieta habitual que pudessem interferir nos resultados. O *estimated average requirement* (EAR) e a *adequate intake* (AI) da *Dietary Reference Intake* (DRI) foram utilizados para determinar se a ingestão de nutrientes da população era adequada (INSTITUTE OF MEDICINE, 1998; TRUMBO, 2002). O QFA foi aplicado 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 et al., 2007 *adaptado*) com os alimentos apresentados no QFA, bem como os tamanhos de suas porções (pequeno, médio e grande), 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 consumidas, bem como no tamanho e na quantidade das porções. O *software* de Nutrição *DietWin Profissional® versão 2011* foi utilizado para analisar o consumo alimentar dos participantes. 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). Os alimentos a serem utilizados na análise do consumo alimentar neste *software* foram padronizados, levando-se em consideração a tabela que continha mais informações sobre sua composição nutricional.

5.7.3.1 Índice de Qualidade da Dieta

O Índice de Qualidade da Dieta Revisado (IQD-R) foi calculado a partir dos dados de consumo alimentar obtidos por meio do R24h. O IQD-R utilizado neste estudo foi originalmente revisado para a população brasileira (PREVIDELLI et al., 2011) e validado para crianças e adolescentes (TOFFANO et al., 2018).

O cálculo do IQD-R foi realizado no *software* Stata® (versão 13.0) de acordo com a metodologia proposta pelo Grupo de Pesquisa de Avaliação do Consumo Alimentar (2012). Para isso, todos os alimentos e ingredientes de preparações do R24h foram classificados em seu grupo alimentar correspondente no IQD-R (APÊNDICE C). Na presente Tese foi calculada a pontuação total obtida por um indivíduo no IQD-R com a finalidade de utilizá-la como variável de controle, tendo em vista que este instrumento avalia o equilíbrio e a qualidade da dieta como um todo. O método como se calcula a pontuação total do IQD-R está descrito a seguir.

Para o cálculo dos componentes baseados no consumo de grupos de alimentos (Frutas Totais; Frutas Inteiras; Vegetais Totais e Leguminosas; Vegetais Verdes-Escuros e Alaranjados e Leguminosas (Veveal); Cereais Totais; Cereais Integrais; Leite e Derivados; e Carnes, Ovos e Leguminosas), o número de porções diárias recomendadas de cada componente por 1.000 kcal foi definido mantendo-se a correspondente preconização do Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2008). Para isso, foi aplicada a seguinte equação: $[(\text{valor total de kcal do componente} \times 1.000) / \text{valor energético total (VET)}] / \text{kcal de uma porção no guia alimentar}$. A pontuação máxima (cinco ou 10 pontos) foi atribuída para a ingestão maior ou igual às porções recomendadas dos componentes por 1.000 kcal e a pontuação mínima (zero pontos) foi atribuída para a ausência de ingestão. Os valores intermediários foram calculados proporcionalmente à quantidade consumida (PREVIDELLI et al., 2011).

Uma vez que os componentes Frutas Inteiras, Veveal e Cereais Integrais não possuem recomendações específicas no guia alimentar, esses foram calculados proporcionalmente aos componentes Frutas Totais, Vegetais Totais e Leguminosas e Cereais Totais, respectivamente. Por exemplo, o valor energético de uma porção de frutas e sucos de frutas no Guia Alimentar para a População Brasileira é 70 kcal e recomenda-se o consumo de 1,5 porções por 1.000 kcal. Assim, determinou-se como consumo ideal a ingestão de 1,0 (70 kcal) e 0,5 (35 kcal) porções de Frutas Totais e Frutas Inteiras, respectivamente, para cada 1.000 kcal ingeridas. O valor energético correspondente aos componentes Frutas Inteiras, Veveal e Cereais Integrais também são computados no cálculo dos seus respectivos grupos totais (PREVIDELLI et al., 2011).

A pontuação do componente Carnes, Ovos e Leguminosas foi calculada pela soma do valor energético de carnes e ovos com o valor energético de leguminosas até completar a pontuação máxima (190 kcal = 1 porção = 10 pontos). Valores energéticos excedentes de leguminosas no grupo de Carnes, Ovos e Leguminosas foram computados simultaneamente

nos grupos Vegetais Totais e Leguminosas e Veveal. Assim, caso o valor energético de carnes e ovos fosse o suficiente para ultrapassar 190 kcal (1 porção), o valor energético das leguminosas era integralmente computado nos grupos Vegetais Totais e Leguminosas e Veveal (PREVIDELLI et al., 2011).

Os componentes baseados no consumo de nutrientes incluem o sódio e a gordura saturada. A pontuação do componente Sódio foi calculada com base na recomendação do Institute of Medicine (2005), o qual propõe uma Ingestão Adequada (AI) de 1,5 g de sódio, e com base em uma dieta de 2.000 kcal proposta pelo Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2008). Assim, a pontuação máxima (10 pontos) foi conferida ao consumo de 0,75g/1.000 kcal, a pontuação intermediária (8 pontos) ao consumo de 1.0g/ 1000 kcal (valor máximo de consumo estipulado pelo guia alimentar) e a pontuação mínima (zero pontos) ao consumo de 2,0g/ 1.000 kcal (dobro do valor máximo de consumo estipulado pelo guia alimentar) (PREVIDELLI et al., 2011).

O cálculo do componente Gordura Saturada foi realizado a partir da contribuição em gramas de gordura saturada, transformada em kcal e em percentual de contribuição no VET, de acordo com a seguinte equação: $[(\text{gordura saturada (g)} \times 9) / \text{VET}] \times 100$. A pontuação máxima (10 pontos), baseada nas Diretrizes sobre Dislipidemia e Prevenção de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013), foi conferida ao consumo $\leq 7\%$ do VET. A pontuação intermediária (8 pontos), foi conferida ao consumo que representasse 10% do VET. E, por fim, a pontuação mínima (zero pontos) foi conferida ao consumo $\geq 15\%$ do VET (PREVIDELLI et al., 2011).

Os componentes baseados no consumo de nutrientes e itens dietéticos incluem os óleos, oleaginosas, gordura de peixe e as calorias provenientes da gordura sólida, álcool e açúcar de adição (Gord_AA). O cálculo do componente Óleos foi realizado com base na porção recomendada dos grupos Óleos, Gorduras e Sementes do Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2008). Atribuiu-se pontuação máxima (10 pontos) para o consumo de 0,5 porções / 1.000 Kcal (PREVIDELLI et al., 2011).

Considerando-se que não há recomendações específicas para a ingestão do componente Gord_AA no Guia Alimentar para a População Brasileira, os valores de consumo correspondentes aos percentis 16 e 85 da população avaliada para o desenvolvimento do método foram considerados para o estabelecimento das pontuações mínima e máxima, respectivamente. Para tanto, foram necessárias as conversões descritas a seguir:

- Gorduras (kcal) = [gordura saturada (g) + gordura trans (g)] x 9 kcal
- Etanol (kcal) = álcool (g) x 7 kcal

- Açúcar / carboidratos de bebidas alcóolicas (kcal) = carboidrato (g) x 4 kcal
- Açúcar de adição (kcal) = açúcar adicionado (g) x 4 kcal

A soma das calorias provenientes de todos os nutrientes e itens dietéticos do componente Gord_AA foi convertida em percentual calórico do VET. A pontuação máxima (20 pontos) foi atribuída a um valor $\leq 10\%$ do VET e a pontuação mínima (zero pontos) a um valor $\geq 35\%$ do VET (PREVIDELLI et al., 2011).

A pontuação total do IQD-R foi obtida pela soma de todos os componentes originais do método. O valor mínimo de zero pontos representa a dieta de pior qualidade e valor máximo de 100 pontos representa a dieta de melhor qualidade (PREVIDELLI et al., 2011). O Quadro 6 resume os critérios da pontuação total e por componentes do IQD-R.

Quadro 5: Critérios de pontuação total e por componentes do IQD-R.

Componente	Pontuação			Critérios de pontuação
	Mínima	Intermediária	Máxima	
Frutas totais ^a	0	-	5	0: não consumo 5: 1,0 porção / 1.000 Kcal
Frutas inteiras ^b	0	-	5	0: não consumo 5: 0,5 porção / 1.000 Kcal
Vegetais totais e leguminosas ^c	0	-	5	0: não consumo 5: 1,0 porção / 1.000 Kcal
Veveal ^d	0	-	5	0: não consumo 5: 0,5 porção / 1.000 Kcal
Cereais totais ^e	0	-	5	0: não consumo 5: 2,0 porção / 1.000 Kcal
Cereais integrais ^f	0	-	5	0: não consumo 5: 1,0 porção / 1.000 Kcal
Leite e derivados ^g	0	-	10	0: não consumo 10: 1,5 porção / 1.000 Kcal
Carnes, ovos e leguminosas	0	-	10	0: não consumo 10: 1,0 porção / 1.000 Kcal
Gordura saturada	0	8	10	0: $\geq 15\%$ do VET 8: $= 10\%$ do VET 10: $\leq 7\%$ do VET
Sódio	0	8	10	0: $\geq 2,0$ g / 1.000 Kcal 8: $= 1,0$ g / 1.000 Kcal 10: $\leq 0,75$ g / 1.000 Kcal
Óleos ^h	0	-	10	0: não consumo 10: 0,5 porção / 1.000 Kcal

(continua)

Quadro 5: continuação

Gord_AA	0	-	20	0: $\geq 35\%$ do VET 20: $\leq 10\%$ do VET
Pontuação total	0	-	100	0: pior qualidade de dieta 100: melhor qualidade de dieta

Gord_AA: calorias provenientes de gordura sólida, álcool e açúcar de adição; VET: valor energético total; Veveal: vegetais verde-escuros, alaranjados e leguminosas. ^a inclui frutas e sucos de frutas naturais; ^b exclui sucos de frutas naturais; ^{c,d} inclui apenas o excedente de leguminosas depois que a pontuação máxima de carnes, ovos e leguminosas for atingida; ^e representa o grupo dos cereais, raízes e tubérculos; ^f inclui grãos inteiros e preparações à base de farinhas integrais, ^g inclui leite e derivados e bebidas à base de soja; ^h inclui gordura total dos óleos vegetais e gorduras mono e poli-insaturadas de peixes e oleaginosas.

Fonte: Adaptado de Previdelli et al., 2011.

5.7.4 Análises bioquímicas

As análises bioquímicas do perfil lipídico (CT, TG, LDL-c e HDL-c) foram feitas imediatamente após a coleta de sangue, no laboratório do Hospital das Clínicas da FMRP-USP. Para a análise dos demais metabólitos (ácidos graxos, vitaminas, e homocisteína e seus derivados), todas as amostras foram enviadas através do World Courier® (World Courier do Brasil Transportes Internacionais Ltda, São Paulo, SP, Brasil) em um prazo de 48 horas, para o laboratório do *Nestlé Institute of Health Sciences*, Lausanne, Suíça. Os métodos de realização das análises bioquímicas encontram-se descritos a seguir.

Perfil lipídico: O perfil lipídico foi analisado no plasma. Os TG foram dosados 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). O CT foi dosado por método enzimático para determinação de colesterol em soro ou plasma (kit comercial Colestat enzimático AA®, linha líquida, Wiener lab. 2000 Rosario – Argentina). O HDL-c foi 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). O LDL-c plasmático foi calculado por meio da seguinte fórmula: “LDL colesterol = Colesterol Total – (VLDL colesterol + HDL colesterol)”, sendo que: “VLDL colesterol = Triglicérides / 5”.

Perfil de ácidos graxos: Os principais SFAs, MUFAs e PUFAs circulantes foram dosados em células vermelhas do sangue. 200 µl de eritrócitos peletizados foram adicionados

a 200 µl de tampão de lise, misturados dez vezes e então congelados a -80°C. O tampão de lise era [NH₄Cl 1,5 M, 120 mM NaHCO₃ 10 mM EDTA 292,2 mg/mL]. As amostras descongeladas foram processadas de acordo com o protocolo descrito por Massod et al. (2005). Os AGs derivados de éster metílico foram analisados por cromatografia gás-líquido (GLC), conforme previamente descrito (DESTAILLATS; CRUZ-HERNANDEZ, 2007).

Homocisteína e derivados: Os níveis de homocisteína e seus derivados (metionina, SAM, SAH, cistationina e cisteína) foram dosados em células vermelhas do sangue por método LC-MS/MS de alta eficiência, capaz de detectar e quantificar simultaneamente 13 principais metabólitos do metabolismo de 1C (SILVA et al., 2016).

Vitaminas B2, B6 e derivados: A vitamina B2 total, a vitamina B6 total, e seus biomarcadores riboflavina, piridoxal e piridoxal 5'fosfato, foram analisados no plasma utilizando-se método publicado por Meisser et al. (2015). Entende-se por “vitamina B2 total” e “vitamina B6 total” a concentração plasmática referente à somatória de todos os derivados e formas ativas das referidas vitaminas, identificados durante as análises de sangue. Uma alíquota de 100 µL de plasma foi transferida para um frasco de vidro ambarizado ou Eppendorf para extração. Após adição de isótopos padronizados, as proteínas foram precipitadas com metanol acidificado. Após a centrifugação o sobrenadante foi coletado e evaporado sob uma corrente de azoto. As amostras foram então reconstituídas em soluções apropriadas para análises cromatográficas. As vitaminas foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-UHPLC) com espectrometria de massa (MS) operando em *Positive Electrospray Ionization* (ESI+), à resolução unitária.

Vitamina B12 e folato: A análise da vitamina B12 e do folato foi realizada no plasma pela *Vitas Analytical Services*® (Oslo, Noruega), utilizando-se AM-396 e MonoBind ELISA (Folate/Vitamin B12 Anemia Panel VAST test system, Monobind, Lake Forest, CA 92630, USA). Uma alíquota de 100 µL de plasma humano foi pré-tratada com um agente de extração para liberar os derivados de folato das proteínas ligadoras de folato e, então, 50 µL foram pipetados em uma placa revestida com estreptavidina.

Para o folato, 50 µL de Folate Enzyme Reagent foram adicionados e a placa foi agitada suavemente por 20-30 segundos. Uma alíquota de 50 µL de Folate Biotin Reagent foi então adicionada a todos os poços, a placa foi agitada suavemente por 20-30 segundos e, então, incubada por 45 minutos em temperatura ambiente. Uma reação de competição ocorre

entre uma proteína de ligação específica, um conjugado enzima-antígeno e um antígeno nativo. Após a lavagem, 100 µL de substrato reagente foram adicionados a todos os poços e a placa foi incubada à temperatura ambiente por 20 minutos, antes de 50 µL de uma solução, para interromper a reação, ser adicionada. Posteriormente, a placa foi suavemente agitada e lida a 450nm.

Para a vitamina B12, 50 µL de Vitamin B12 Biotin Reagent foram adicionados, a placa foi agitada suavemente por 20-30 segundos e, então foi incubada por 45 minutos a temperatura ambiente. Após a incubação, uma alíquota de 50 µL de Vitamin B12 Enzyme Reagent foi adicionada, a placa foi agitada suavemente por 20-30 segundos e, então, incubada por 30 minutos em temperatura ambiente. Uma reação de competição ocorre entre um anticorpo, um conjugado enzima-antígeno e um antígeno nativo. Após a lavagem, 100 µL de substrato reagente foram adicionados a todos os poços e a placa foi incubada à temperatura ambiente por 20 minutos, antes de 50 µL de uma solução, para interromper a reação, ser adicionada. Posteriormente, a placa foi suavemente agitada e lida a 450nm.

5-metil-tetraidrofolato (5-MTHF): A dosagem de 5-MTHF foi realizada no plasma conforme método publicado por Meisser et al. (2015). Para a extração, uma alíquota de 200 µL de plasma foi transferida para uma placa Waters OSTRO™. Após adição de isótopos padronizados, as proteínas foram precipitadas com metanol acidificado e as amostras foram filtradas na placa para a remoção de proteínas e fosfolipídios. O filtrado foi recolhido em uma placa de 96 poços e evaporado sob corrente de azoto. As amostras foram então reconstituídas em soluções apropriadas para análises cromatográficas. O 5-MTHF foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-UHPLC) com espectrometria de massa (MS) operando em ESI+, à resolução unitária. A faixa analítica foi 0,5-150 nmol/L, com erros de calibração inferiores a 5%. A precisão foi igual a 100% ± 10% em três níveis da faixa analítica. As variações foram inferiores a 10% para nível de 5nmol/L e inferiores a 5% para níveis de 40 nmol/L e 100 nmol/L.

5.8 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Características da população:

- Sexo, idade, estadiamento puberal de Tanner, nível sócio-econômico, nível de atividade física, peso, estatura, IMC, circunferência da cintura e percentual de tecido adiposo.
-

Consumo alimentar:

- Ingestão de energia, carboidratos, proteínas, lipídios, colesterol total, ômega-3, ômega-6, vitaminas (B2, B6, B12 e ácido fólico) e pontuação total do IQD-R.

Metabólitos plasmáticos e eritrocitários:

- Perfil lipídico: TG, CT, LDL-c e HDL-c;
- Perfil de ácidos graxos: ácido pentadecanóico [15:0], ácido palmítico [16:0], ácido palmitoleico [16:1- ω 7], ácido esteárico [18:0], ácido elaídico [18:1- ω 9 *trans*], ácido oleico [18:1- ω 9 *cis*], ácido linoleico [18:2- ω 6], ácido α -linolênico [18:3- ω 3], ácido eicosanóico [20:0], ácido araquidônico [20:4- ω 6-ARA], ácido eicosapentaenoico [20:5- ω 3-EPA], ácido docosa-hexaenoico [22:6- ω 3-DHA], quantidade total de SFAs, MUFAs, PUFA, PUFA ω 3, PUFA ω 6 e razão ω 6/ ω 3.
- Homocisteína e derivados: tHcy, metionina, SAM, SAH, cistationina, cisteína e razão SAM/SAH.
- Biomarcadores para vitaminas do complexo B: riboflavina, vitamina B2 total, piridoxal, piridoxal 5' fosfato, vitamina B6 total, folato plasmático, 5-metil-tetrahidrofolato e vitamina B12 plasmática.

As variáveis independentes são as concentrações de biomarcadores para vitaminas do complexo B. As variáveis dependentes são o perfil lipídico, perfil de AGs e os níveis de Hcy e seus metabólitos. As variáveis de controle são sexo, estadiamento puberal, IMC e IQD-R.

5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a identificação dos *outliers* referentes aos níveis séricos de vitaminas e AGs, foi aplicada a Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis* – PCA). Os *outliers* foram definidos como “amostras que estão fora da elipse de confiança de 99%”. Seis indivíduos foram identificados como *outliers* para os níveis circulantes de vitaminas, e sete indivíduos para o perfil de AGs. Além disso, 18 indivíduos apresentavam grau de parentesco entre si. Estes sujeitos (n=31) foram excluídos das análises estatísticas.

Para descrever as características da população, as variáveis categóricas foram analisadas segundo a distribuição de frequência absoluta. As variáveis numéricas contínuas

foram apresentadas como média, desvio-padrão e mediana (1º quartil – 3º quartil). Os testes de normalidade foram realizados utilizando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov.

Os valores séricos do perfil lipídico, perfil de AGs, Hcy e biomarcadores para vitaminas do complexo B foram transformados em logaritmo (log) para se obter uma distribuição normal. As associações entre perfil lipídico, perfil de AGs, Hcy e biomarcadores para vitaminas do complexo B, foram testadas por meio do ajuste de modelos de regressão linear múltiplos, ajustando-se para variáveis como sexo, estadiamento puberal, IMC e IQD-R. Valores de β positivos indicam associação positiva, enquanto valores de β negativos indicam associação negativa. As análises estatísticas foram realizadas no *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 20.0® (IBM, New York, NY, USA). Foi adotado o nível de significância de 5%.

5.10 APOIO E FINANCIAMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), por meio da concessão de bolsa de Doutorado, processo nº 1783559.

O financiamento para o referido projeto foi concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), através do processo nº 12/20421-8, e pelo *Nestlé Institute of Health Sciences* (NIHS), concessão nº RDHS000054.

6. Resultados

6.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO

Participaram da pesquisa 249 indivíduos na faixa etária entre 9 e 13 anos de idade. A média de idade foi de $11,6 \pm 1,1$ anos, sendo 55,4% do sexo feminino. A maioria dos indivíduos pertencia ao estadiamento puberal 2 e 3 (73,9%), e aos níveis sócio-econômicos B2 e C1 (63,4%), ou seja, com renda familiar mensal entre R\$1500,00 e R\$2500,00. A intensidade da atividade física praticada foi em média $2,5 \pm 0,5$ METs por dia, o que corresponde a 85,1% das crianças e adolescentes classificados no nível de atividade física leve ou sedentário. As análises descritivas estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Características descritivas da população do estudo.

Variáveis (n=249)	n (%)
Sexo	
Masculino	111 (44,6)
Feminino	138 (55,4)
Idade (anos)	
9	6 (2,4)
10	35 (14,1)
11	65 (26,1)
12	77 (30,9)
13	66 (26,5)
Estadiamento puberal	
1	19 (7,6)
2	84 (33,7)
3	100 (40,2)
4	40 (16,1)
5	6 (2,4)
Nível de atividade física	
Sedentário	2 (8,0)
Leve	210 (77,1)
Moderado	37 (14,9)
Vigoroso	0 (0,0)

6.2 ATROPOMETRIA E COMPOSIÇÃO CORPORAL

A classificação do IMC evidenciou magreza acentuada em 2,8% dos indivíduos, magreza em 9,6%, eutrofia em 44,2%, sobrepeso em 22,1% e obesidade em 21,3%. A

circunferência da cintura esteve acima do percentil 90 (p90) em 51% dos indivíduos, enquanto o percentual de tecido adiposo foi considerado moderadamente alto ou alto em 40,6% das crianças e adolescentes. As demais análises antropométricas estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4: Características antropométricas da população do estudo.

Variáveis (n=249)	Média $\pm$ DP	Mediana	Q1 – Q3
Peso (kg)	48,5 $\pm$ 14,6	45,3	37,5 – 56,8
Estatura (cm)	153,3 $\pm$ 8,6	153,8	148,4 – 159,0
IMC (kg/m ²)	20,4 $\pm$ 4,8	19,3	16,5 – 22,9
Circunferência da cintura (cm)	72,9 $\pm$ 14,2	69,2	61,4 – 82,3
Percentual de tecido adiposo (%)	24,5 $\pm$ 6,9	23,9	19,0 – 29,9

IMC: índice de massa corporal

6.3 CONSUMO ALIMENTAR

O consumo alimentar referente à ingestão habitual dos últimos 30 dias foi avaliado pelo QFA. Observa-se na população do estudo que houve maior inadequação da ingestão de ômega-3, ômega-6 e folato. A média da pontuação total do IQD-R foi de 54,8 pontos (onde o máximo é 100 pontos), o que evidencia uma baixa qualidade da dieta, principalmente devido à ingestão reduzida de vegetais, frutas e cereais integrais (Tabela 5).

6.4 CONCENTRAÇÕES SÉRICAS

No plasma foram dosados o perfil lipídico e os biomarcadores para vitaminas do complexo B. Nos eritrócitos foram dosados o perfil de AGs e os níveis de Hcy e seus metabólitos. A análise do perfil lipídico evidenciou CT elevado em 41,8% dos indivíduos, e HDL-c baixo em 45% da população do estudo. A maioria dos participantes apresentou concentrações plasmáticas de riboflavina, piridoxal, folato, 5-MTHF e vitamina B12 abaixo dos níveis normais para a população pediátrica, baseando-se nos valores de referência disponíveis. Por outro lado, nenhum indivíduo apresentou alteração nos níveis de tHcy. Quanto aos níveis de AGs circulantes, não há valores de referência para a população pediátrica. A descrição das análises bioquímicas está apresentada na Tabela 6.

Tabela 5: Consumo alimentar diário de energia, macro e micronutrientes, segundo o QFA, e pontuação total do IQD-R.

Variáveis (n=249)	Média $\pm$ DP	Mediana	Q1 – Q3	Valor de referência	% de inadequação
Energia (kcal/dia)	1948,5 $\pm$ 766,8	1787,0	1389,0 – 2351,0	-	-
Carboidrato (%/kcal)	54,5 $\pm$ 6,2	54,9	50,7 – 58,2	45-65% kcal ^a	11,6%
Proteína (%/kcal)	14,6 $\pm$ 3,3	14,2	12,3 – 16,4	10-30% kcal ^a	5,2%
Lipídio (%/kcal)	30,8 $\pm$ 4,7	30,7	27,9 – 33,9	25-35% kcal ^a	28,9%
Gordura saturada (g/dia)	20,3 $\pm$ 9,6	18,5	13,6 – 25,1	-	-
Colesterol (mg/dia)	214,8 $\pm$ 111,6	202,7	134,0 – 272,3	-	-
Ômega-3 (%/kcal)	0,5 $\pm$ 0,2	0,5	0,3 – 0,6	0,6-1,2% kcal ^a	76,7%
Ômega-6 (%/kcal)	4,6 $\pm$ 1,9	4,3	3,3 – 5,8	5-10% kcal ^a	65,9%
Vitamina B2 (mg/dia)	1,6 $\pm$ 0,8	1,4	1,0 – 2,0	0,8 ^b	13,3%
Vitamina B6 (mg/dia)	1,3 $\pm$ 0,6	1,2	0,9 – 1,6	0,8 ^b	18,5%
Vitamina B12 (µg/dia)	2,8 $\pm$ 1,5	2,6	1,7 – 3,7	1,5 ^b	17,3%
Folato (µg/dia)	105,0 $\pm$ 74,2	91,4	60,9 – 126,7	250 ^b	96,8%
Pontuação total IQD-R	54,8 $\pm$ 10,8	53,8	47,1 – 62,5	-	-

IQD-R: índice de qualidade da dieta revisado. ^a fonte: TRUMBO et al., 2002. ^b fonte: INSTITUTE OF MEDICINE, 1998.

Tabela 6: Concentrações séricas do perfil lipídico, perfil de AGs, homocisteína e derivados, e biomarcadores para vitaminas do complexo B.

Variáveis	Média ± DP	Mediana	Q1 – Q3	Valor de referência	% de inadequação
Perfil lipídico					
Colesterol total (mg/dL) [249] ^a	163,7 ± 28,8	163,0	141,5 – 184,0	< 170 ^c	41,8%
Triglicerídeos (mg/dL) [249] ^a	71,3 ± 35,3	64,0	47,0 – 85,0	< 75 (9 anos) ^c < 90 (10-13 anos) ^c	22,1%
LDL-c (mg/dL) [249] ^a	103,4 ± 25,4	102,0	84,5 – 120,0	< 110 ^c	37,3%
HDL-c (mg/dL) [249] ^a	46,0 ± 9,4	45,0	39,0 – 52,0	> 45 ^c	45,0%
Perfil de ácidos graxos					
Pentadecanóico [15:0] (mg/dL) [244] ^a	0,26 ± 0,35	0,20	0,17 – 0,23	– ^b	-
Palmítico [16:0] (mg/dL) [244] ^a	32,13 ± 2,95	31,99	30,56 – 33,48	– ^b	-
Palmitoleico [16:1- ω 7] (mg/dL) [244] ^a	0,50 ± 0,14	0,48	0,40 – 0,59	– ^b	-
Estearico [18:0] (mg/dL) [244] ^a	25,90 ± 2,31	25,83	24,66 – 27,01	– ^b	-
Elaídico [18:1- <i>trans</i>] (mg/dL) [244] ^a	0,95 ± 0,23	0,91	0,79 – 1,08	– ^b	-
Oleico [18:1- ω 9] (mg/dL) [244] ^a	15,32 ± 2,20	15,28	14,08 – 16,50	– ^b	-
Linoleico [18:2- ω 6] (mg/dL) [244] ^a	15,03 ± 4,31	15,39	11,62 – 18,27	– ^b	-
α -linolênico [18:3- ω 3] (mg/dL) [244] ^a	0,21 ± 0,07	0,20	0,15 – 0,26	– ^b	-
Eicosanóico [20:0] (mg/dL) [244] ^a	0,70 ± 0,10	0,69	0,63 – 0,77	– ^b	-
ARA [20:4- ω 6] (mg/dL) [244] ^a	17,41 ± 7,07	18,00	10,51 – 23,55	– ^b	-
EPA [20:5- ω 3] (mg/dL) [244] ^a	0,40 ± 0,20	0,37	0,26 – 0,52	– ^b	-
DHA [22:6- ω 3] (mg/dL) [244] ^a	3,97 ± 2,07	3,70	2,11 – 5,61	– ^b	-
SFA (mg/dL) [244] ^a	72,08 ± 6,35	71,85	68,83 – 74,95	– ^b	-
MUFA (mg/dL) [244] ^a	23,65 ± 3,44	23,47	21,34 – 25,83	– ^b	-
PUFA (mg/dL) [244] ^a	39,30 ± 13,77	40,36	26,72 – 51,59	– ^b	-
ω 3 PUFA (mg/dL) [244] ^a	4,59 ± 2,27	4,22	2,53 – 6,47	– ^b	-
ω 6 PUFA (mg/dL) [244] ^a	30,70 ± 11,77	35,79	23,99 – 45,15	– ^b	-

(continua)

Tabela 6: continuação

Variáveis	Média ± DP	Mediana	Q1 – Q3	Valor de referência	% de inadequação
Razão $\omega 6:\omega 3$ [244] ^a	7,81 ± 2,08	7,63	6,42 – 8,94	– ^b	-
Homocisteína e derivados					
Metionina (μmol/L) [194] ^a	23,66 ± 7,38	21,98	18,89 – 27,65	– ^b	-
SAM (μmol/L) [224] ^a	0,91 ± 0,43	0,85	0,62 – 1,00	– ^b	-
SAH (μmol/L) [248] ^a	0,88 ± 0,27	0,83	0,69 – 1,00	– ^b	-
Razão SAM/SAH [224] ^a	1,10 ± 0,59	0,97	0,71 – 1,32	– ^b	-
tHcy (μmol/L) [194] ^a	2,71 ± 0,73	2,66	2,27 – 3,12	< 10 ^d	0%
Cistationina (nmol/L) [194] ^a	46,67 ± 28,22	40,72	33,52 – 51,27	– ^b	-
Cisteína (μmol/L) [194] ^a	18,06 ± 15,78	12,99	7,41 – 23,21	– ^b	-
Biomarcadores de vitamina B					
Riboflavina (nmol/L) [218] ^a	13,8 ± 9,4	11,2	8,0 – 15,7	12,5–44,5 (10-18 anos) ^e	62,9%
Vitamina B2 total (nmol/L) [233] ^a	63,7 ± 35,5	57,3	47,2 – 71,5	– ^b	-
Piridoxal (nmol/L) [230] ^a	8,6 ± 6,8	7,7	6,1 – 9,4	8,8–58,7 (10-18 anos) ^f	65,7%
PLP (nmol/L) [184] ^a	39,1 ± 27,7	32,4	24,1 – 44,8	20,5–151 (10-18 anos) ^f	17,4%
Vitamina B6 total (nmol/L) [233] ^a	69,15 ± 90,3	53,6	37,5 – 71,4	– ^b	-
Folato plasmático (ng/mL) [222] ^a	4,9 ± 2,2	4,6	3,4 – 6,2	15,6-16,6 (6-11 anos) ^g 11,0-11,5 (12-19 anos) ^g	98,6%
5-MTHF (nmol/L) [233] ^a	22,9 ± 13,3	21,1	11,8 – 30,5	26,4-219,7 (11-16 anos) ^h	67,0%
Vitamina B12 plasmática (pg/mL) [222] ^a	435,5 ± 203,1	396,0	301,2 – 527,0	713-743 (6-11 anos) ^g 499-521 (12-19 anos) ^g	77,5%

LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; ARA: ácido araquidônico; EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosa-hexaenoico; SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados; SAM: S-adenosil-metionina; SAH: S-adenosil-homocisteína; tHcy: homocisteína total; PLP: piridoxal 5'fosfato; 5-MTHF: 5-metil-tetrahidrofolato. ^a Os valores entre colchetes são o número de indivíduos que possuíam informações disponíveis para os referidos biomarcadores. ^b Não há valor de referência para a faixa etária da população do estudo. ^c fonte: FALUDI et al., 2017. ^d fonte: REFSUM et al., 2004. ^e fonte: CAPO-CHICHI et al., 2000. ^f fonte: ALBERSEN et al., 2015. ^g fonte: CDC, 2014. ^h fonte: OPLADEN et al., 2006.

6.5 ASSOCIAÇÃO ENTRE O PERFIL LIPÍDICO E VITAMINAS DO COMPLEXO B

Nenhum biomarcador para vitaminas do complexo B esteve associado a um melhor perfil lipídico, ou seja, ao aumento de HDL-c e à redução de CT, TG e LDL-c, simultaneamente. A vitamina B2 e a vitamina B6 estiveram associadas positivamente com CT e LDL-c. O aumento de 1 nmol/L de vitamina B2 produz um aumento de 0,14 mg/dL de CT e 0,15 mg/dL de LDL-c. O aumento de 1 nmol/L de vitamina B6 produz um aumento de 0,19 mg/dL de CT, 0,15 mg/dL de LDL-c e 0,14 mg/dL de HDL-c (Tabela 7).

Tabela 7: Associação do perfil lipídico com vitaminas do complexo B.

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95%		R ²
				LI	LS	
CT	Riboflavina	0,10	0,15	-0,01 ; 0,08	0,08	
TG		0,07	0,33	-0,06 ; 0,17	0,14	
LDL-c		0,12	0,07	-0,005 ; 0,12	0,09	
HDL-c		-0,04	0,59	-0,06 ; 0,04	0,18	
CT	Vitamina B2 total	0,14	0,04*	0,002 ; 0,11	0,07	
TG		0,06	0,36	-0,07 ; 0,19	0,15	
LDL-c		0,15	0,02*	0,01 ; 0,16	0,09	
HDL-c		-0,01	0,83	-0,06 ; 0,05	0,17	
CT	Piridoxal	0,08	0,21	-0,02 ; 0,10	0,07	
TG		-0,02	0,70	-0,17 ; 0,11	0,15	
LDL-c		0,07	0,28	-0,04 ; 0,12	0,07	
HDL-c		0,06	0,33	-0,03 ; 0,09	0,18	
CT	PLP	0,10	0,19	-0,02 ; 0,08	0,07	
TG		-0,05	0,45	-0,17 ; 0,08	0,14	
LDL-c		0,08	0,30	-0,03 ; 0,11	0,08	
HDL-c		0,11	0,12	-0,01 ; 0,09	0,20	
CT	Vitamina B6 total	0,19	< 0,01*	0,02 ; 0,09	0,09	
TG		0,007	0,01	-0,08 ; 0,09	0,15	
LDL-c		0,15	0,02*	0,01 ; 0,11	0,09	
HDL-c		0,14	0,03*	0,005 ; 0,08	0,19	
CT	Folato plasmático	0,04	0,59	-0,04 ; 0,07	0,06	
TG		-0,03	0,63	-0,16 ; 0,10	0,15	
LDL-c		0,01	0,87	-0,07 ; 0,08	0,07	
HDL-c		0,09	0,14	-0,01 ; 0,10	0,17	

(continua)

Tabela 7: continuação

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
CT		0,12	0,06	-0,002 ; 0,07	0,07
TG		0,05	0,38	-0,05 ; 0,13	0,15
LDL-c	5-MTHF	0,13	0,05	0,001 ; 0,10	0,08
HDL-c		-0,006	0,92	-0,04 ; 0,04	0,17
CT		0,10	0,16	-0,02 ; 0,09	0,07
TG		-0,02	0,75	-0,16 ; 0,11	0,15
LDL-c	B12 plasmática	0,09	0,20	-0,03 ; 0,13	0,08
HDL-c		0,06	0,33	-0,03 ; 0,09	0,18

IC: intervalo de confiança; LI: limite inferior; LS: limite superior; R²: coeficiente de determinação; CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; PLP: piridoxal 5'fosfato; 5-MTHF: 5-metil-tetrahidrofolato. ^a Modelo de regressão linear múltipla, ajustado para sexo, estadiamento puberal, IMC e IQD-R. *p<0,05.

6.6 ASSOCIAÇÃO ENTRE O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E VITAMINAS DO COMPLEXO B

A vitamina B2 e o folato plasmático apresentaram associações positivas com PUFA ω 3 e ω 6 (linoleico, α -linolênico, ARA, EPA e DHA). O aumento de 1 nmol/L de vitamina B2 produz um aumento de 0,24 mg/dL de linoleico, 0,19 mg/dL de α -linolênico e EPA, e 0,21 mg/dL de ARA e DHA. O aumento de 1 ng/mL de folato plasmático produz um aumento de 0,23 mg/dL de linoleico, 0,19 mg/dL de α -linolênico, 0,22 mg/dL de ARA, 0,14 mg/dL de EPA e 0,17 mg/dL de DHA. A vitamina B2 ainda apresentou associação positiva com MUFAs (palmitoleico e oleico), e associação negativa com AG *trans* (elaídico). O aumento de 1 nmol/L de vitamina B2 produz um aumento de 0,20 mg/dL de palmitoleico e 0,19 mg/dL de oleico, além de uma redução de 0,19 mg/dL de elaídico (*trans*) (Tabela 8).

A vitamina B12 também apresentou associação positiva com MUFAs (palmitoleico e oleico), porém esteve associada positivamente com SFAs (palmítico, esteárico e eicosanóico). O aumento de 1 pg/mL de vitamina B12 plasmática produz um aumento de 0,20 mg/dL de palmitoleico, 0,18 mg/dL de oleico, 0,18 mg/dL de palmítico, 0,24 mg/dL de esteárico e 0,16 mg/dL de eicosanóico. Já a vitamina B6 apresentou associação negativa com PUFA ω 3 e ω 6 (linoleico, α -linolênico, ARA e DHA). O aumento de 1 nmol/L de vitamina B6 produz uma redução de 0,15 mg/dL de linoleico, 0,19 mg/dL de α -linolênico, 0,15 mg/dL de ARA e 0,14 mg/dL de DHA (Tabela 8).

Tabela 8: Associação do perfil de ácidos graxos com vitaminas do complexo B.

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
Pentadecanóico [15:0]	Riboflavina	0,04	0,57	-0,08 ; 0,15	0,05
Palmítico [16:0]		0,10	0,18	-0,007 ; 0,04	0,02
Palmitoleico [16:1- ω 7]		0,14	0,04*	0,004 ; 0,14	0,14
Esteárico [18:0]		0,06	0,42	-0,01 ; 0,03	0,01
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		0,04	0,61	-0,04 ; 0,07	0,06
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,06	0,38	-0,02 ; 0,05	0,05
Linoleico [18:2- ω 6]		-0,03	0,62	-0,09 ; 0,05	0,10
α -linolênico [18:3- ω 3]		0,01	0,88	-0,09 ; 0,10	0,04
Eicosanóico [20:0]		0,007	0,58	-0,04 ; 0,04	0,03
ARA [20:4- ω 6]		-0,03	0,72	-0,14 ; 0,10	0,08
EPA [20:5- ω 3]		0,07	0,27	-0,05 ; 0,19	0,12
DHA [22:6- ω 3]		0,03	0,69	-0,12 ; 0,18	0,08
SFA		0,07	0,31	-0,01 ; 0,04	0,01
MUFA		0,05	0,51	-0,03 ; 0,05	0,07
PUFA		-0,02	0,78	-0,11 ; 0,08	0,09
ω 3 PUFA		0,03	0,65	-0,11 ; 0,17	0,09
ω 6 PUFA		-0,03	0,69	-0,11 ; 0,07	0,09
Razão ω 6: ω 3		-0,11	0,12	-0,12 ; 0,01	0,10
Pentadecanóico [15:0]	Vitamina B2 total	-0,03	0,65	-0,16 ; 0,10	0,04
Palmítico [16:0]		0,07	0,33	-0,01 ; 0,04	0,02
Palmitoleico [16:1- ω 7]		0,20	< 0,01*	0,05 ; 0,20	0,17
Esteárico [18:0]		0,005	0,94	-0,02 ; 0,03	0,01
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		-0,19	< 0,01*	-0,16 ; -0,03	0,09
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,19	< 0,01*	0,02 ; 0,10	0,07
Linoleico [18:2- ω 6]		0,24	< 0,01*	0,07 ; 0,24	0,14
α -linolênico [18:3- ω 3]		0,19	< 0,01*	0,05 ; 0,26	0,07
Eicosanóico [20:0]		-0,11	0,12	-0,08 ; 0,01	0,04
ARA [20:4- ω 6]		0,21	< 0,01*	0,08 ; 0,33	0,12
EPA [20:5- ω 3]		0,19	< 0,01*	0,06 ; 0,32	0,15
DHA [22:6- ω 3]		0,21	< 0,01*	0,09 ; 0,41	0,12
SFA		0,05	0,50	-0,02 ; 0,04	0,01
MUFA		0,22	< 0,01*	0,03 ; 0,11	0,11
PUFA		0,22	< 0,01*	0,08 ; 0,29	0,13
ω 3 PUFA		0,21	< 0,01*	0,09 ; 0,39	0,12
ω 6 PUFA		0,23	< 0,01*	0,08 ; 0,28	0,13
Razão ω 6: ω 3		-0,12	0,08	-0,13 ; 0,008	0,10

(continua)

Tabela 8: continuação

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
Pentadecanóico [15:0]	Piridoxal	0,06	0,39	-0,08 ; 0,20	0,04
Palmítico [16:0]		0,10	0,14	-0,007 ; 0,05	0,02
Palmitoleico [16:1- ω 7]		0,10	0,11	-0,02 ; 0,16	0,14
Esteárico [18:0]		0,08	0,27	-0,01 ; 0,05	0,01
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		-0,09	0,16	-0,13 ; 0,02	0,07
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,007	0,92	-0,04 ; 0,05	0,04
Linoleico [18:2- ω 6]		-0,10	0,14	-0,17 ; 0,02	0,10
α -linolênico [18:3- ω 3]		-0,21	< 0,01*	-0,30 ; -0,07	0,08
Eicosanóico [20:0]		0,10	0,16	-0,01 ; 0,08	0,03
ARA [20:4- ω 6]		-0,11	0,11	-0,27 ; 0,03	0,09
EPA [20:5- ω 3]		-0,05	0,41	-0,21 ; 0,09	0,13
DHA [22:6- ω 3]		-0,10	0,13	-0,32 ; 0,04	0,09
SFA		0,09	0,36	-0,02 ; 0,05	0,01
MUFA		-0,04	0,52	-0,06 ; 0,03	0,06
PUFA		-0,11	0,10	-0,22 ; 0,02	0,10
ω 3 PUFA		-0,10	0,12	-0,31 ; 0,03	0,09
ω 6 PUFA		-0,11	0,11	-0,21 ; 0,02	0,09
Razão ω 6: ω 3		0,06	0,34	-0,04; 0,12	0,09
Pentadecanóico [15:0]	PLP	0,11	0,16	-0,04 ; 0,22	0,06
Palmítico [16:0]		0,006	0,93	-0,03 ; 0,03	0,02
Palmitoleico [16:1- ω 7]		0,20	< 0,01*	0,03 ; 0,18	0,13
Esteárico [18:0]		-0,02	0,85	-0,03 ; 0,02	0,02
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		-0,01	0,85	-0,08 ; 0,06	0,05
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,06	0,44	-0,03 ; 0,06	0,04
Linoleico [18:2- ω 6]		-0,03	0,68	-0,10 ; 0,07	0,09
α -linolênico [18:3- ω 3]		-0,10	0,21	-0,17 ; 0,04	0,05
Eicosanóico [20:0]		0,06	0,47	-0,03 ; 0,06	0,05
ARA [20:4- ω 6]		-0,01	0,89	-0,14 ; 0,12	0,07
EPA [20:5- ω 3]		0,12	0,10	-0,02 ; 0,23	0,13
DHA [22:6- ω 3]		0,04	0,61	-0,12 ; 0,20	0,07
SFA		0,03	0,73	-0,02 ; 0,03	0,01
MUFA		0,05	0,49	-0,03 ; 0,06	0,06
PUFA		-0,01	0,88	-0,12 ; 0,10	0,08
ω 3 PUFA		0,04	0,57	-0,11 ; 0,19	0,07
ω 6 PUFA		-0,02	0,79	-0,12 ; 0,09	0,08
Razão ω 6: ω 3		-0,13	0,10	-0,13 ; 0,01	0,07

(continua)

Tabela 8: continuação

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
Pentadecanóico [15:0]	Vitamina B6 total	0,14	0,04*	0,002 ; 0,17	0,05
Palmítico [16:0]		0,06	0,40	-0,01 ; 0,03	0,01
Palmitoleico [16:1- ω 7]		0,07	0,29	-0,02 ; 0,08	0,13
Esteárico [18:0]		0,05	0,44	-0,01 ; 0,02	0,01
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		0,09	0,20	-0,02 ; 0,08	0,07
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,008	0,91	-0,03 ; 0,03	0,04
Linoleico [18:2- ω 6]		-0,15	0,02*	-0,12 ; -0,01	0,11
α -linolênico [18:3- ω 3]		-0,19	< 0,01*	-0,18 ; -0,03	0,07
Eicosanóico [20:0]		0,11	0,10	-0,004 ; 0,05	0,04
ARA [20:4- ω 6]		-0,15	0,02*	-0,19 ; -0,02	0,10
EPA [20:5- ω 3]		-0,07	0,28	-0,14 ; 0,04	0,12
DHA [22:6- ω 3]		-0,14	0,03*	-0,23 ; -0,01	0,10
SFA		0,03	0,72	-0,01 ; 0,02	0,01
MUFA		-0,06	0,37	-0,04 ; 0,02	0,07
PUFA		-0,16	0,02*	-0,16 ; -0,02	0,11
ω 3 PUFA		-0,14	0,03*	-0,21 ; -0,01	0,10
ω 6 PUFA		-0,15	0,02*	-0,16 ; -0,02	0,10
Razão ω 6: ω 3		0,07	0,29	-0,02 ; 0,07	0,09
Pentadecanóico [15:0]	Folato plasmático	0,03	0,72	-0,11 ; 0,16	0,04
Palmítico [16:0]		-0,11	0,13	-0,05 ; 0,006	0,03
Palmitoleico [16:1- ω 7]		-0,08	0,20	-0,13 ; 0,03	0,14
Esteárico [18:0]		-0,09	0,18	-0,05 ; 0,009	0,02
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		-0,04	0,60	-0,09 ; 0,05	0,06
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,05	0,50	-0,03 ; 0,06	0,04
Linoleico [18:2- ω 6]		0,23	< 0,01*	0,06 ; 0,23	0,13
α -linolênico [18:3- ω 3]		0,19	< 0,01*	0,04 ; 0,26	0,06
Eicosanóico [20:0]		-0,10	0,17	-0,07 ; 0,01	0,04
ARA [20:4- ω 6]		0,22	< 0,01*	0,09 ; 0,35	0,11
EPA [20:5- ω 3]		0,14	0,04*	0,009 ; 0,28	0,13
DHA [22:6- ω 3]		0,17	0,01*	0,05 ; 0,38	0,11
SFA		-0,09	0,20	-0,05 ; 0,01	0,02
MUFA		0,08	0,22	-0,02 ; 0,07	0,07
PUFA		0,22	< 0,01*	0,07 ; 0,29	0,12
ω 3 PUFA		0,17	0,01*	0,05 ; 0,36	0,11
ω 6 PUFA		0,23	< 0,01*	0,08 ; 0,29	0,12
Razão ω 6: ω 3		-0,03	0,66	-0,09 ; 0,06	0,09

(continua)

Tabela 8: continuação

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95%		R ²
				LI	LS	
Pentadecanóico [15:0]	5-MTHF	-0,05	0,49	-0,12 ; 0,06	0,04	
Palmítico [16:0]		0,001	0,99	-0,02 ; 0,02	0,01	
Palmitoleico [16:1- ω 7]		0,002	0,97	-0,06 ; 0,06	0,13	
Esteárico [18:0]		-0,02	0,74	-0,02 ; 0,01	0,01	
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		-0,11	0,83	-0,09 ; 0,006	0,07	
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,04	0,54	-0,02 ; 0,04	0,04	
Linoleico [18:2- ω 6]		0,04	0,49	-0,04 ; 0,08	0,09	
α -linolênico [18:3- ω 3]		0,04	0,53	-0,05 ; 0,10	0,03	
Eicosanóico [20:0]		0,03	0,67	-0,02 ; 0,04	0,03	
ARA [20:4- ω 6]		0,04	0,59	-0,07 ; 0,12	0,08	
EPA [20:5- ω 3]		-0,02	0,73	-0,11 ; 0,08	0,12	
DHA [22:6- ω 3]		0,01	0,84	-0,11 ; 0,13	0,08	
SFA		-0,007	0,91	-0,02 ; 0,02	0,01	
MUFA		0,03	0,63	-0,02 ; 0,04	0,06	
PUFA		0,03	0,62	-0,06 ; 0,10	0,08	
ω 3 PUFA		0,009	0,89	-0,10 ; 0,12	0,08	
ω 6 PUFA		0,04	0,56	-0,05 ; 0,10	0,08	
Razão ω 6: ω 3		0,04	0,53	-0,04 ; 0,07	0,09	
Pentadecanóico [15:0]	B12 plasmática	0,09	0,18	-0,05 ; 0,24	0,05	
Palmítico [16:0]		0,18	0,01*	0,008 ; 0,07	0,04	
Palmitoleico [16:1- ω 7]		0,20	< 0,01*	0,05 ; 0,22	0,17	
Esteárico [18:0]		0,24	< 0,01*	0,02 ; 0,08	0,06	
Elaídico [18:1- ω 9 <i>trans</i>]		0,07	0,29	-0,03 ; 0,11	0,06	
Oleico [18:1- ω 9 <i>cis</i>]		0,18	< 0,01*	0,01 ; 0,11	0,07	
Linoleico [18:2- ω 6]		-0,10	0,16	-0,16 ; 0,03	0,09	
α -linolênico [18:3- ω 3]		-0,14	0,06	-0,23 ; 0,001	0,04	
Eicosanóico [20:0]		0,16	0,02*	0,009 ; 0,10	0,05	
ARA [20:4- ω 6]		-0,07	0,29	-0,22 ; 0,07	0,08	
EPA [20:5- ω 3]		-0,02	0,72	-0,17 ; 0,12	0,11	
DHA [22:6- ω 3]		-0,10	0,14	-0,31 ; 0,04	0,09	
SFA		0,16	0,02*	0,005 ; 0,06	0,03	
MUFA		0,12	0,07	-0,004 ; 0,09	0,08	
PUFA		-0,09	0,21	-0,20 ; 0,04	0,08	
ω 3 PUFA		-0,10	0,14	-0,29 ; 0,04	0,09	
ω 6 PUFA		-0,08	0,24	-0,19 ; 0,05	0,08	
Razão ω 6: ω 3		0,09	0,17	-0,02 ; 0,13	0,10	

(continua)

Tabela 8: continuação

IC: intervalo de confiança; LI: limite inferior; LS: limite superior; R^2 : coeficiente de determinação; ARA: ácido araquidônico; EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados; PLP: piridoxal 5'fosfato; 5-MTHF: 5-metil-tetrahidrofolato. ^a Modelo de regressão linear múltipla, ajustado para sexo, estadiamento puberal, IMC e IQD-R. * $p < 0,05$.

6.7 ASSOCIAÇÃO ENTRE HOMOCISTEÍNA E VITAMINAS DO COMPLEXO B

A vitamina B2 esteve inversamente associada às concentrações de SAM e à razão SAM/SAH. O aumento de 1 nmol/L de vitamina B2 produz uma redução de 0,18 $\mu\text{mol/L}$ de SAM e 0,19 $\mu\text{mol/L}$ na razão SAM/SAH. Somente as vitaminas B6 e B12 estiveram associadas ao aumento da razão SAM/SAH e redução dos níveis de tHcy. O aumento de 1 nmol/L de vitamina B6 produz um aumento de 0,22 $\mu\text{mol/L}$ na razão SAM/SAH, e uma redução de 0,27 $\mu\text{mol/L}$ de tHcy. O aumento de 1 pg/mL de vitamina B12 plasmática produz um aumento de 0,15 $\mu\text{mol/L}$ na razão SAM/SAH, e uma redução de 0,22 $\mu\text{mol/L}$ de tHcy (Tabela 9).

Tabela 9: Associação entre os níveis de homocisteína e seus metabólitos, com vitaminas do complexo B.

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R^2
Metionina	Riboflavina	-0,03	0,71	-0,09 ; 0,06	0,01
SAM		-0,25	< 0,01*	-0,34 ; -0,09	0,10
SAH		-0,02	0,74	-0,09 ; 0,06	0,02
Razão SAM/SAH		-0,23	< 0,01*	-0,34 ; -0,08	0,08
tHcy		-0,002	0,98	-0,08 ; 0,08	0,03
Cistationina		-0,01	0,86	-0,12 ; 0,10	0,02
Cisteína		-0,09	0,25	-0,39 ; 0,10	0,04
Metionina	Vitamina B2 total	-0,03	0,68	-0,11 ; 0,07	0,02
SAM		-0,18	< 0,01*	-0,31 ; 0,04	0,08
SAH		0,02	0,79	-0,07 ; 0,09	0,02
Razão SAM/SAH		-0,19	< 0,01*	-0,34 ; -0,06	0,07
tHcy		-0,01	0,91	-0,10 ; 0,09	0,01
Cistationina		-0,09	0,25	-0,21 ; 0,06	0,02
Cisteína		0,10	0,22	-0,11 ; 0,47	0,02

(continua)

Tabela 9: continuação

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
Metionina	Piridoxal	0,16	0,04*	0,006 ; 0,21	0,04
SAM		0,08	0,24	-0,06 ; 0,25	0,06
SAH		0,04	0,57	-0,07 ; 0,12	0,02
Razão SAM/SAH		0,07	0,34	-0,08 ; 0,24	0,04
tHcy		-0,11	0,16	-0,17 ; 0,03	0,02
Cistationina		-0,16	0,04*	-0,29 ; -0,01	0,04
Cisteína		0,13	0,08	-0,04 ; 0,59	0,03
Metionina	PLP	0,08	0,40	-0,06 ; 0,14	0,04
SAM		0,08	0,38	-0,07 ; 0,21	0,05
SAH		-0,03	0,68	-0,10 ; 0,07	0,03
Razão SAM/SAH		0,10	0,22	-0,06 ; 0,24	0,03
tHcy		-0,13	0,15	-0,15 ; 0,02	0,05
Cistationina		0,02	0,87	-0,12 ; 0,14	0,01
Cisteína		0,09	0,31	-0,14 ; 0,44	0,03
Metionina	Vitamina B6 total	0,005	0,95	-0,06 ; 0,06	0,02
SAM		0,17	0,01*	0,03 ; 0,22	0,08
SAH		-0,06	0,34	-0,08 ; 0,03	0,03
Razão SAM/SAH		0,22	< 0,01*	0,06 ; 0,26	0,08
tHcy		-0,27	< 0,01*	-0,17 ; -0,05	0,08
Cistationina		-0,11	0,15	-0,15 ; 0,02	0,02
Cisteína		-0,07	0,37	-0,28 ; 0,11	0,02
Metionina	Folato plasmático	0,02	0,79	-0,08 ; 0,11	0,02
SAM		0,11	0,13	-0,03 ; 0,26	0,05
SAH		-0,05	0,46	-0,12 ; 0,05	0,02
Razão SAM/SAH		0,12	0,11	-0,03 ; 0,28	0,04
tHcy		0,009	0,91	-0,09 ; 0,10	0,02
Cistationina		0,08	0,30	-0,07 ; 0,21	0,02
Cisteína		0,08	0,31	-0,15 ; 0,47	0,02
Metionina	5-MTHF	0,12	0,11	-0,01 ; 0,13	0,03
SAM		-0,04	0,55	-0,13 ; 0,07	0,05
SAH		0,01	0,87	-0,05 ; 0,06	0,02
Razão SAM/SAH		-0,05	0,49	-0,15 ; 0,07	0,04
tHcy		-0,03	0,71	-0,08 ; 0,05	0,01
Cistationina		-0,05	0,51	-0,13 ; 0,06	0,02
Cisteína		0,12	0,12	-0,05 ; 0,38	0,03

(continua)

Tabela 9: continuação

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
Metionina		-0,13	0,11	-0,18 ; 0,02	0,04
SAM		0,08	0,25	-0,06 ; 0,24	0,05
SAH		-0,14	0,04*	-0,18 ; -0,001	0,04
Razão SAM/SAH	B12 plasmática	0,15	0,04*	0,01 ; 0,33	0,05
tHcy		-0,22	< 0,01*	-0,24 ; -0,04	0,06
Cistationina		-0,23	< 0,01*	-0,33 ; -0,07	0,07
Cisteína		-0,03	0,72	-0,37 ; 0,25	0,02

IC: intervalo de confiança; LI: limite inferior; LS: limite superior; R²: coeficiente de determinação; SAM: S-adenosil-metionina; SAH: S-adenosil-homocisteína; tHcy: homocisteína total; PLP: piridoxal 5'fosfato; 5-MTHF: 5-metil-tetrahydrofolato. ^a Modelo de regressão linear múltipla, ajustado para sexo, estadiamento puberal, IMC e IQD-R. *p<0,05.

6.8 ASSOCIAÇÃO ENTRE O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E HOMOCISTEÍNA

Os níveis de tHcy estiveram positivamente associados às concentrações de MUFAs totais e PUFA ω 3 e ω 6 (linoleico, α -linolênico, ARA, EPA e DHA). O aumento de 1 μ mol/L de tHcy produz um aumento de 0,16 mg/dL de MUFAs, 0,22 mg/dL de linoleico, 0,17 mg/dL de α -linolênico, 0,24 mg/dL de ARA, 0,21 mg/dL de EPA e 0,25 mg/dL de DHA. Os níveis de SAH também se associaram positivamente aos níveis de DHA. O aumento de 1 μ mol/L de SAH produz um aumento de 0,13 mg/dL de DHA (Tabela 10).

Tabela 10: Associação do perfil de ácidos graxos com homocisteína e seus metabólitos.

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
Linoleico [18:2- ω 6]		-0,06	0,35	-0,12 ; 0,04	0,12
α -linolênico [18:3- ω 3]		-0,06	0,34	-0,16 ; 0,06	0,05
ARA [20:4- ω 6]		0,003	0,96	-0,13 ; 0,13	0,09
EPA [20:5- ω 3]		0,02	0,77	-0,11 ; 0,15	0,14
DHA [22:6- ω 3]	SAM	0,001	0,99	-0,16 ; 0,16	0,08
SFA		-0,12	0,07	-0,05 ; 0,003	0,03
MUFA		-0,02	0,77	-0,05 ; 0,04	0,07
PUFA		-0,02	0,79	-0,13 ; 0,09	0,10
ω 3 PUFA		-0,001	0,99	-0,15 ; 0,15	0,09
ω 6 PUFA		-0,02	0,76	-0,12 ; 0,09	0,10

(continua)

Tabela 10: continuação

Variável dependente (log)	Variável independente (log)	Estimativa (valor de β)	p-valor ^a	IC 95% LI LS	R ²
Linoleico [18:2- ω 6]	SAH	0,05	0,44	-0,08 ; 0,19	0,10
α -linolênico [18:3- ω 3]		0,009	0,88	-0,16 ; 0,18	0,04
ARA [20:4- ω 6]		0,07	0,28	-0,09 ; 0,32	0,09
EPA [20:5- ω 3]		0,05	0,38	-0,11 ; 0,30	0,13
DHA [22:6- ω 3]		0,13	0,04*	0,01 ; 0,52	0,09
SFA		-0,01	0,86	-0,05 ; 0,04	0,01
MUFA		0,08	0,21	-0,02 ; 0,11	0,06
PUFA		0,07	0,26	-0,07 ; 0,27	0,09
ω 3 PUFA		0,12	0,05	-0,002 ; 0,48	0,09
ω 6 PUFA		0,06	0,32	-0,08 ; 0,25	0,09
Linoleico [18:2- ω 6]	Razão SAM/SAH	-0,11	0,08	-0,15 ; 0,01	0,12
α -linolênico [18:3- ω 3]		-0,09	0,19	-0,17 ; 0,03	0,05
ARA [20:4- ω 6]		-0,06	0,35	-0,18 ; 0,06	0,09
EPA [20:5- ω 3]		-0,04	0,56	-0,16 ; 0,09	0,14
DHA [22:6- ω 3]		-0,11	0,11	-0,27 ; 0,03	0,10
SFA		-0,12	0,08	-0,05 ; 0,003	0,03
MUFA		-0,10	0,16	-0,07 ; 0,01	0,08
PUFA		-0,09	0,19	-0,17 ; 0,04	0,11
ω 3 PUFA		-0,10	0,13	-0,25 ; 0,03	0,10
ω 6 PUFA		-0,08	0,21	-0,16 ; 0,04	0,10
Linoleico [18:2- ω 6]	tHcy	0,22	< 0,01*	0,09 ; 0,38	0,14
α -linolênico [18:3- ω 3]		0,17	0,02*	0,05 ; 0,43	0,07
ARA [20:4- ω 6]		0,24	< 0,01*	0,16 ; 0,60	0,12
EPA [20:5- ω 3]		0,21	< 0,01*	0,13 ; 0,57	0,19
DHA [22:6- ω 3]		0,25	< 0,01*	0,22 ; 0,75	0,13
SFA		0,04	0,60	-0,03 ; 0,06	0,01
MUFA		0,16	0,03*	0,009 ; 0,16	0,08
PUFA		0,25	< 0,01*	0,15 ; 0,51	0,14
ω 3 PUFA		0,25	< 0,01*	0,21 ; 0,71	0,13
ω 6 PUFA		0,24	< 0,01*	0,13 ; 0,49	0,13

IC: intervalo de confiança; LI: limite inferior; LS: limite superior; R²: coeficiente de determinação; ARA: ácido araquidônico; EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosa-hexaenoico; SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados; SAM: S-adenosil-metionina; SAH: S-adenosil-homocisteína; tHcy: homocisteína total. ^a Modelo de regressão linear múltipla, ajustado para sexo, estadiamento puberal, IMC e IQD-R. *p<0,05.

7. Discussão

A hipótese de que as vitaminas do complexo B são capazes de interagir com o metabolismo de AGs não está elucidada na literatura. Apesar disso, estudos sugerem que maiores concentrações plasmáticas de biomarcadores para vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico estejam associadas a maiores níveis séricos de PUFA e menores níveis de tHcy (VAN WIJK et al., 2012; ZHAO et al., 2012; IGLESIA et al., 2017). Até o momento, este é o primeiro estudo a investigar essa associação em crianças e adolescentes, na faixa etária de 9 a 13 anos.

A elucidação desse pressuposto pode dar origem a uma nova intervenção dietoterápica, capaz de proporcionar aumento nas concentrações de PUFA no plasma e auxiliar na prevenção das DCV. As DCV estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo a aterosclerose a principal causa de morte (LEVI et al., 2002; CALEYACHETTY et al., 2015). Estudos sugerem que o processo de formação da aterosclerose inicia-se na infância (NOGUEIRA-DE-ALMEIDA et al., 2016) e progride lentamente até a vida adulta.

Alterações do perfil lipídico na população pediátrica estão correlacionadas com a presença de lesões ateroscleróticas (FRONTINI et al., 2008; MCGILL Jr; McMAHAN; GIDDING, 2008). Estudos brasileiros populacionais alertam para a ascendência das dislipidemias em crianças e adolescentes, com prevalências que variam de 10 a 40% (MOURA et al., 2000; GIULIANO et al., 2005; FRANCA; ALVES, 2006; GAMA; CARVALHO; CHAVES, 2007; FARIA-NETO et al., 2016). A hiper-homocisteinemia também é considerada um fator de risco independente para DCV (PENG et al., 2015), ou um forte biomarcador da doença (RODIONOV; LENTZ, 2008), inclusive em crianças.

Assim, a prevenção destes fatores de risco para DCV (como o pior perfil de AGs, pior perfil lipídico e hiper-homocisteinemia) deve se iniciar ainda na infância, visto que os hábitos de vida são formados nesta fase. Estudos longitudinais têm demonstrado que intervenções em crianças são efetivas para a prevenção de DCV em adultos (JUONALA et al., 2011; JUONALA; VIKARI; RAITAKARI, 2013). Intervenções focadas no padrão alimentar e no estilo de vida saudável ganharam evidência em estudos epidemiológicos observacionais e de intervenção, como o DASH (*Dietary Approachs to Stop Hypertension*) (SACKS et al., 1999), o INTERHEART (YUSUF et al., 2004) e o PREDIMED (*PREvención con Dieta MEDiterránea*) (ESTRUCH et al., 2006).

O estímulo à alimentação saudável é considerado a primeira etapa para prevenção e tratamento das dislipidemias (NOGUEIRA-DE-ALMEIDA et al., 2017), da hiper-homocisteinemia (VENANCIO; BURINI; YOSHIDA, 2010) e, consequentemente, das DCV.

Entretanto, observa-se com frequência inadequações no consumo de nutrientes entre crianças e adolescentes brasileiros (VEIGA et al., 2013).

O consumo de PUFA $\omega 3$ e $\omega 6$ está associado à prevenção de DCV, respeitando-se a proporção $\omega 6/\omega 3$ (SIOEN et al., 2007). Contudo, estudos realizados com crianças e adolescentes têm verificado, ao longo dos anos, que a ingestão de AGs $\omega 3$ encontra-se abaixo das recomendações dietéticas (SIOEN et al., 2007; RAMÍREZ-SILVA et al., 2011; VYNCKE et al., 2012; RAHMAWATY et al., 2013; KEIM; BRANUM, 2015).

Dessa forma, o consumo de vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico pode se tornar uma alternativa para melhorar o perfil de AGs no organismo, por influenciar as concentrações plasmáticas de PUFA, além de reduzir os níveis séricos de tHcy. No presente estudo, buscou-se investigar a associação entre perfil lipídico, perfil de AGs e níveis de tHcy com biomarcadores para vitaminas do complexo B, em crianças e adolescentes.

Adicionalmente, avaliou-se também a existência de associação entre o perfil de AGs e os níveis de tHcy. Essa associação foi testada para investigar se os níveis de tHcy e seus metabólitos interagem com o perfil de AGs no soro. Tal confirmação pode reforçar o papel de biomarcador da tHcy, ao invés de fator de risco independente para DCV, e reforçar a via metabólica através da qual as vitaminas do complexo B interagem com o perfil de AGs.

7.1 ESTADO NUTRICIONAL, ATIVIDADE FÍSICA E CONSUMO ALIMENTAR

A avaliação do estado nutricional, por meio da antropometria, evidenciou que 43,4% dos indivíduos no presente estudo apresentavam excesso de peso, 51% possuíam circunferência da cintura acima do p90, e em 40,6% observou-se um percentual de tecido adiposo moderadamente alto ou alto. Estes dados apontam que a epidemia de obesidade continua em crescente aumento. O percentual de excesso de peso encontrado em adolescentes no Brasil era de 20,5% em 2010 (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010), e em crianças e adolescentes na América Latina era de 20% a 25%, em 2014 (RIVERA et al., 2014).

O excesso de peso na população do presente estudo pode ser explicado por hábitos de vida inadequados, como sedentarismo e má alimentação, visto que indivíduos com doenças crônicas não foram incluídos no estudo. O sedentarismo, os hábitos alimentares inadequados e o excesso de peso estão entre as principais causas de DCV, e justificam estudos como este, que visam encontrar alternativas dietéticas para a redução do risco cardiovascular. Observamos que 85,1% das crianças e adolescentes foram classificados no nível de atividade

física leve ou sedentário. Por esse motivo, a atividade física não foi utilizada como variável de controle na atual pesquisa, por não interferir nas concentrações séricas de biomarcadores.

A ausência da prática de atividade física na infância e na adolescência é elevada (MÜLLER, KHOO, LAMBERT, 2013; CORVALÁN et al., 2017), principalmente em decorrência da redução do hábito de caminhar, diminuição da atividade física ocupacional devido a processos automatizados, além do uso excessivo de equipamentos eletrônicos (CORVALÁN et al., 2017; CHA et al., 2018).

Quanto à avaliação do consumo alimentar, nossos dados sugerem que a população avaliada apresentava fome oculta, caracterizada por ingestão de energia suficiente e consumo insuficiente de micronutrientes (MUTHAYYA et al., 2013). Observamos deficiência no consumo de vitaminas B2, B6 e B12 em aproximadamente 15% da população, e deficiência no consumo de ácido fólico em mais de 90% dos indivíduos. Tal fato justifica as concentrações inadequadas dessas vitaminas no plasma. Apesar da deficiência na ingestão de vitaminas do complexo B ser uma condição rara, outros estudos também relatam um consumo inadequado dessas vitaminas por crianças e adolescentes (HERBISON et al., 2012; GUNANTI et al., 2014; PEDROZA-TOBIÁS et al., 2016; MANIOS et al., 2017), aliado a baixos níveis séricos (McLEAN; DE BENOIST; ALLEN, 2008; GUNANTI et al., 2014; BRITO et al., 2015).

Porém, em relação à inadequação do consumo de ácido fólico, é importante ressaltarmos que não foi contabilizado no atual estudo o teor de ácido fólico contido na farinha de trigo fortificada, presente em alimentos como pães, massas e biscoitos. Estes alimentos infelizmente constituem, nos dias de hoje, a base da alimentação de indivíduos na faixa etária pediátrica (LOUIE et al., 2016; VANDEVIJVERE et al., 2018). Independente disso, fica evidente o baixo consumo de vegetais folhosos verde-escuros, leguminosas e frutas por essa população.

Observamos também um consumo insuficiente de AGs ω 3 em mais de 70% dos indivíduos. A baixa ingestão de PUFA ω 3 pela população pediátrica é frequente (SIOEN et al., 2007), devido ao baixo consumo de oleaginosas e principalmente de peixes na dieta (RAHMAWATY et al., 2013; KEIM; BRANUM, 2015), inclusive no Brasil (SARTORI; AMANCIO, 2012), um país com uma vasta extensão de rios e litoral. Não foi possível avaliar se os níveis séricos de AGs ω 3 também estavam reduzidos, pois não há valores de referência para a faixa etária pediátrica.

A má alimentação pôde ser comprovada pela baixa pontuação média do IQD-R (54,8 pontos), compatível com uma baixa qualidade da dieta, principalmente devido à ingestão

reduzida de vegetais, frutas e cereais integrais. A baixa qualidade da dieta de crianças e adolescentes também tem sido descrita em países desenvolvidos (MOUBARAC et al., 2017). Por isso, no presente estudo, as associações foram ajustadas para os escores do IQD-R, para mitigar o efeito da dieta nos resultados observados. Iglesia et al. (2017) sugerem a utilização do IQD-R como covariável em estudos que avaliam o perfil lipídico, ao invés do consumo de AGs na dieta. Isso pode ser explicado pelo fato da associação entre a ingestão de AGs na dieta e o perfil de AGs no plasma não ser consistente (VYNCKE et al., 2014), devido às diferentes rotas metabólicas percorridas pelos AGs no organismo. Em adolescentes, a dieta poderia explicar uma variação de no máximo 14,2% na concentração de AGs $\omega 3$ no plasma (VYNCKE et al., 2014). Assim, a utilização do IQD-R torna-se a melhor opção por considerar o equilíbrio da dieta.

7.2 PERFIL LIPÍDICO E VITAMINAS DO COMPLEXO B

No presente estudo, nenhum biomarcador para vitaminas do complexo B esteve associado a um melhor perfil lipídico, ou seja, ao aumento de HDL-c e à redução de CT, TG e LDL-c, simultaneamente. Apenas a vitamina B6 esteve associada ao aumento de HDL-c, mas não reduziu CT, TG e LDL-c. Similar aos nossos resultados, Iglesia et al. (2017) também verificaram a associação desta vitamina com maiores níveis de HDL-c em adolescentes do sexo masculino, enquanto Zhao et al. (2012) observaram redução do HDL-c em indivíduos com dieta restrita em vitamina B6. Iglesia et al. (2017) ainda observaram associações positivas entre as concentrações de vitamina B12 plasmática e os níveis de CT, TG, LDL-c e HDL-c, fato não encontrado no presente estudo.

Contudo, ao contrário do que esperávamos, a vitamina B2 e a vitamina B6 também estiveram associadas ao aumento de CT e LDL-c. Estes achados não foram observados em outros estudos (ZHAO et al., 2012; IGLESIA et al., 2017). Em pacientes com insuficiência renal crônica que receberam suplementação de vitamina B6, Gómez Dumm et al. (2003) verificaram que a suplementação foi capaz de reduzir os níveis de CT, TG e HDL-c, além de elevar LDL-c no plasma; enquanto Ziakka et al. (2001) observaram que a suplementação reduziu LDL-c e elevou HDL-c no plasma. Já Hlais et al. (2012) relatam que a suplementação de vitamina B6 em pacientes com hipertrigliceridemia reduz os níveis séricos de CT e HDL-c.

Quanto à vitamina B2, estudo com mulheres que apresentavam colestase obstétrica também observou que as pacientes com maiores níveis de vitamina B2 apresentavam maiores concentrações de CT e LDL-c (BAŞARANOĞLU et al., 2017). Porém, os autores informam

que, possivelmente, isso ocorreu em decorrência do comprometimento do sistema de transporte hepatobiliar das lipoproteínas, e aumento do metabolismo energético no feto (que demanda maiores concentrações de vitamina B2). Logo, ainda não é possível afirmar que o aumento dessa vitamina seja responsável por um pior perfil lipídico.

Observa-se que os achados são bastante contraditórios na literatura. Por isso, ainda não é possível concluir se as vitaminas do complexo B tem o potencial de interferir positivamente ou negativamente sobre o perfil lipídico. Além disso, nenhum estudo citado acima conseguiu explicar ou determinar qual a via metabólica através da qual as vitaminas do complexo B influenciam os níveis de CT, TG, HDL-c e LDL-c.

7.3 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS, HOMOCISTEÍNA E VITAMINAS DO COMPLEXO B

A existência de associação entre as vitaminas do complexo B e o perfil de AGs também não é consenso entre os pesquisadores. Apenas um estudo investigou e constatou essa associação em adolescentes, na faixa etária de 12,5 a 17,5 anos (IGLESIA et al., 2017). Alguns estudos em adultos também verificaram a existência dessa associação (LI; MANN; SINCLAIR, 2006; UMHAU et al., 2006; ZHAO et al., 2012), enquanto outros nada observaram (DULLEMEIJER et al., 2007; CROWE et al., 2008).

Os estudos citados acima investigaram associações entre as vitaminas B6, B12 e ácido fólico com o perfil de PUFAs. Somente um estudo investigou a associação dessas vitaminas com o perfil de SFAs e MUFAs (IGLESIA et al., 2017), e não há relato de estudos que incluíssem a vitamina B2 nas investigações. Além disso, até o momento, foram descritos dois caminhos fisiológicos plausíveis, capazes de explicar tais associações (VAN WIJK et al., 2012; ZHAO et al., 2012), sendo eles: a via do metabolismo de 1C, e a via da biossíntese de PUFAs.

No metabolismo de 1C, as vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico atuam como cofatores no ciclo (Figura 8), e exercem influência sobre as concentrações de SAM, um potente doador de grupos metil. Os grupos metil são utilizados por enzimas denominadas metiltransferases. Uma das principais metiltransferases presente no organismo é a PEMT. Essa enzima utiliza SAM como substrato para catalisar três reações consecutivas de metilação, resultando na conversão de PE à PC (PYNN et al., 2011; VAN WIJK et al., 2012) (Figura 15).

A PE e a PC são fosfolípidios fundamentais para a estabilidade da superfície das membranas celulares, sendo que a PC pode ser constituída por uma cadeia enriquecida em PUFAs (TACCONI; WURTMAN, 1985). A PC originada via PEMT constitui a maioria dos

fosfolipídios plasmáticos (PRISCO et al., 1996), e é crucial para o transporte de PUFA's através do plasma, em especial o DHA, a partir do fígado para os tecidos extra-hepáticos (PYNN et al., 2011; VAN WIJK et al., 2012). Assim, se as vitaminas do complexo B influenciam as concentrações de SAM, também podem interferir no processo de metilação de PE à PC, alterando as concentrações de PUFA's no plasma ou nos eritrócitos.

O segundo caminho fisiológico descrito é a via da biossíntese de PUFA's (Figura 4), devido à atividade da enzima delta-6-dessaturase. Essa enzima é dependente de PLP, e atua diretamente no processo de conversão dos AGs α -linolênico e linoleico em ARA, EPA e DHA (ZHAO et al., 2012). Estudos relatam que há redução da atividade da enzima delta-6-dessaturase na deficiência de vitamina B6 (SHE; HAYAKAWA; TSUGE, 1994; BORDONI et al., 1998). Logo, a deficiência de vitamina B6 leva a baixas concentrações de ARA, EPA e DHA no plasma, bem como ao aumento dos AGs linoleico e α -linolênico (BORDONI et al., 1998; TSUGE, HOTTA, HAYAKAWA; 2000), devido à redução na taxa dos processos de dessaturação. Nós também observamos uma associação inversa entre os níveis de vitamina B6 e as concentrações de AGs linoleico e α -linolênico. Porém, essa associação inversa se manteve com os níveis de ARA e DHA, quando se esperava que ocorresse o contrário. Até o momento, não encontramos estudos que expliquem essa associação.

Analisando o papel da vitamina B6 na primeira via metabólica citada (metabolismo de 1C), esta vitamina esteve associada ao aumento da razão SAM/SAH e à redução dos níveis de tHcy. A partir de então, esperava-se encontrar um aumento nas reações de metilação, maior conversão de PE à PC, e maiores níveis de PUFA's nos eritrócitos. Entretanto, a vitamina B6 apresentou associação negativa com todo o perfil de PUFA's. Ainda não sabemos explicar o porquê ocorreram essas associações inversas. Talvez haja uma terceira via metabólica capaz de explicar estes resultados. Em suma, a vitamina B6 contribuiu para um pior perfil de AGs no soro. Talvez isso possa explicar a associação positiva entre vitamina B6, CT e LDL-c. Apesar disso, uma revisão sistemática recente evidenciou que o maior consumo de vitamina B6 está associado a um menor risco de DCV na população geral (JAYEDI, et al. 2018).

A vitamina B2 e o folato plasmático foram as únicas vitaminas que apresentaram associações positivas com os níveis de PUFA's nos eritrócitos. Neste caso, a via do metabolismo de 1C parece ser a mais provável para explicar nossos resultados. Contudo, ainda não é possível afirmar que essas interações ocorram exclusivamente através desta via metabólica, pois (i) não foram observadas associações entre as vitaminas B2 e folato com maiores níveis de SAM e menores níveis de SAH e tHcy, e (ii) não houve associação inversa entre tHcy e os níveis de PUFA's.

A vitamina B2 e o folato plasmático não estiveram associados ao aumento das concentrações de SAM e redução das concentrações de SAH, o que justificaria o aumento das reações de metilação e de PUFA's no plasma. Pelo contrário, a vitamina B2 esteve inversamente associada às concentrações de SAM e à razão SAM/SAH, o que é difícil de ser explicado. Por outro lado, estudos sugerem que as concentrações plasmáticas de SAH não são influenciadas pelas concentrações de vitaminas do complexo B, ao contrário das concentrações plasmáticas de tHcy (BECKER et al., 2003; LIU et al., 2008). Os níveis de SAH parecem ser melhores preditores de risco cardiovascular, comparado à tHcy (WAGNER, KOURY; 2007; XIAU et al., 2013). Apesar disso, também não verificamos associação inversa entre a vitamina B2 e o folato plasmático com os níveis de tHcy.

Além disso, pesquisas apontam que as concentrações de tHcy e SAH são inversamente correlacionadas às concentrações de PUFA's (LI; MANN; SINCLAIR, 2006; VAN WIJK et al., 2012; IGLESIA et al., 2017). Isso ocorre porque o excesso de tHcy acarreta em aumento dos níveis de SAH, por meio de uma reação reversível (Figura 15). Os níveis elevados de SAH são capazes de inibir a PEMT e, conseqüentemente, reduzir os níveis de PC e PUFA's transportados no plasma (SELLEY, 2007; VAN WIJK et al., 2012). Porém, no presente estudo, os níveis de tHcy e SAH foram associados positivamente com os níveis de PUFA's.

A provável explicação para nossos resultados controversos é o fato de não haver nenhum indivíduo com hiper-homocistemia. Possivelmente, devido aos baixos níveis de tHcy na população estudada, não houve alteração nas concentrações de SAM e SAH. Assim, os níveis de SAH não se elevaram suficientemente a ponto de inibir a PEMT. Não há um intervalo de referência para os valores plasmáticos de SAH. Neste caso, enquanto ocorre a conversão de SAM para SAH, também ocorre a conversão de PE à PC, elevando simultaneamente SAH, PC e PUFA's no plasma. Se os níveis de tHcy estivessem próximos ou superiores a 10 $\mu\text{mol/L}$, possivelmente os níveis de SAH se elevariam a ponto de bloquear a PEMT e reduzir os níveis de PUFA's. As associações inversas entre tHcy e PUFA's foram observadas em animais (VAN WIJK et al., 2012) e seres humanos (LI; MANN; SINCLAIR, 2006; SELLEY, 2007) com tHcy acima de 10 $\mu\text{mol/L}$, ou em indivíduos mais velhos (IGLESIA et al., 2017) em relação à faixa etária do presente estudo. Os níveis de tHcy na adolescência são maiores do que em crianças (LEAL et al., 2013) e tendem a aumentar com a idade (KERR et al., 2009), enquanto a concentração de vitaminas do complexo B tende a reduzir (KERR et al., 2009). Este fato potencializa a força da associação inversa entre tHcy, vitaminas do complexo B e PUFA's.

A vitamina B2 participa do metabolismo de 1C porque o FAD é um cofator para a enzima MTHFR (ROBINSON, 2000; DiBELLO et al., 2010). Porém, parece que maiores níveis de vitamina B2 não são suficientes para causar alterações nos níveis de tHcy. Estudos têm verificado que os efeitos da suplementação de vitamina B2 são efetivos apenas em casos graves de hiper-homocisteinemia em indivíduos homozigotos para o polimorfismo C677T do gene MTHFR (STRAIN et al., 2004; REILLY et al., 2014) com ingestão insuficiente de folato (JACQUES et al., 2002). O folato é considerado maior determinante das concentrações de tHcy, comparado às vitaminas B2, B6 e B12 (QUINLIVAN et al., 2002; STRAIN et al., 2004).

Isso coloca em dúvida se a vitamina B2 é capaz de influenciar os níveis de PUFA através do metabolismo de 1C. No entanto, observamos em nossa população uma elevada inadequação do consumo de folato. Neste caso, nós supomos que a vitamina B2, ao atuar como cofator da enzima MTHFR, contribuiu para maior metabolização do 5,10-MTHF para a forma 5-MTHF. Dessa forma, é possível que os maiores níveis de vitamina B2 estivessem associados a maiores concentrações de PUFA por favorecerem esse mecanismo.

Contudo, também devemos considerar a hipótese da vitamina B2 interagir com o perfil de AGs através de outra via metabólica. Uma possibilidade seria a via da beta-oxidação dos AGs, na qual o FAD atua como cofator da enzima acil-CoA desidrogenase. A suplementação de vitamina B2 é capaz de potencializar o processo de beta-oxidação (OLPIN; BATES, 1982; LEWICKA et al., 2017). Na via da biossíntese de PUFA (Figura 4), o AG tetracosahexaenoico (24:6) sofre beta-oxidação para ser convertido em DHA (22:6). Tal mecanismo explicaria a interação entre vitamina B2 e DHA, mas não entre vitamina B2, EPA e ARA, fato que precisa ser elucidado.

A vitamina B2 também esteve associada às concentrações de MUFA. A PC originada via PEMT, além de transportar PUFA no plasma, também é capaz de transportar MUFA (ZEMAN et al., 2016). Logo, as associações positivas entre vitamina B2 e MUFA também podem ser explicadas pela via do metabolismo de 1C. Porém, outra hipótese mais provável é a capacidade da vitamina B2 influenciar diretamente a atividade da enzima delta-9-dessaturase, visto que essa enzima é dependente de FAD (PATON; NTAMBI, 2009), e é responsável por introduzir duplas ligações em SFAs, tornando-os MUFA. Contudo, apesar da vitamina B2 estar associada positivamente aos níveis de AGs ω 3, ω 6 e ω 9, também houve associação positiva com os níveis de CT e LDL-c. Mais estudos são necessários para elucidar o papel da vitamina B2 no metabolismo lipídico e de AGs.

O folato é, até o momento, a principal vitamina associada positivamente às concentrações de PUFA's (PITA; DELGADO, 2000; UMHAU et al., 2006; IGLESIA et al., 2017). A via do metabolismo de 1C é o único caminho fisiológico descrito para justificar essa associação, apesar de não termos encontrado associações entre o folato e os níveis de SAM, SAH e tHcy. Conforme explicado anteriormente, provavelmente isso se deve ao fato de nenhum indivíduo no estudo apresentar níveis alterados de tHcy. Uma revisão sistemática recente apontou que o maior consumo de folato está associado a um menor risco de doença coronariana na população geral (JAYEDI, et al. 2018).

Em nosso estudo, o folato plasmático esteve associado às concentrações de PUFA's ω 3 e ω 6. Porém, as pesquisas anteriormente citadas (PITA; DELGADO, 2000; UMHAU et al., 2006; IGLESIA et al., 2017) encontraram associações positivas apenas com AGs ω 3, e não há relato de associações positivas com AGs ω 6. Sabe-se que os AGs ω 3 apresentam efeito cardioprotetor, enquanto os AGs ω 6 em excesso apresentam potencial inflamatório (SIMOPOULOS, 2008). Não encontramos associação das vitaminas do complexo B com redução do índice pró-inflamatório ω 6: ω 3. Porém, é importante ressaltar que a vitamina B2 e o folato plasmático estiveram associados a um aumento proporcional de ω 3 e ω 6 no soro, fato que não favorece o potencial inflamatório. Este equilíbrio entre as concentrações de PUFA's ω 3 e ω 6 na infância, desempenha um papel primordial no desenvolvimento e funcionamento normal do cérebro e do sistema nervoso central (SCHUCHARDT et al., 2010).

Além de reduzirem os riscos para DCV, ARA, EPA e DHA são importantes para o desenvolvimento neurológico infantil (funcionamento do cérebro e transmissão de impulsos nervosos), desenvolvimento da retina e do sistema imunológico. Os fosfolípidios associados aos neurônios são altamente enriquecidos com esses AGs, o que auxilia a transmissão sináptica. Biologicamente, o ARA atua em conjunto com o DHA, e por isso tornam-se essenciais para o desenvolvimento infantil (MARTIN et al., 2006; SILVA; MIRANDA JUNIOR; SOARES, 2007; PERINI et al., 2010; SWANSON; BLOCK; MOUSA, 2012).

A vitamina B12, assim como o folato, também tem sido associada a maiores concentrações de EPA e DHA no plasma (VAN WIJK et al., 2012; IGLESIA et al., 2017), por atuarem conjuntamente na via de remetilação no metabolismo de 1C. Porém, no presente estudo, não observamos estes resultados. A vitamina B12 associou-se apenas com SFAs e MUFA's. Neste caso, não podemos desconsiderar que a vitamina B12 plasmática possa estar refletindo uma ingestão recente de alimentos de origem animal (IGLESIA et al., 2016), os quais possuem um pior perfil de AGs, como os SFAs.

Além disso, deve-se ressaltar que, por meio do metabolismo de 1C, as vitaminas do complexo B são capazes de influenciar as concentrações de aminoácidos que contém enxofre, como a metionina, Hcy, cisteína e taurina. Esses aminoácidos parecem influenciar a atividade da enzima delta-9-dessaturase (estearoil-CoA dessaturase) (HODSON; FIELDING, 2013; POLONI; BLOM; SCHWARTZ, 2015), essencial para a conversão de ácido palmítico (C16:0) em ácido palmitoleico (C16:1), e de ácido esteárico (C18:0) em ácido oleico (C18:1). Assim, esse mecanismo pode explicar a associação positiva entre vitamina B12 e MUFAs.

Considerações finais

Os níveis plasmáticos de vitamina B2 e folato parecem influenciar as concentrações de AGs nos eritrócitos, apesar de não influenciarem os níveis de tHcy e o perfil lipídico. Se assim for, a ingestão dietética adequada destas vitaminas pode auxiliar a manter as concentrações normais de AGs ω 3 e ω 6 nos eritrócitos, e o aumento da ingestão dietética acima da faixa de recomendação pode elevar os níveis séricos de PUFAs (VAN WIJK et al., 2012). Estudos experimentais são necessários para confirmar tais associações.

Os achados do presente estudo apresentam uma nova opção dietoterápica, não tão eficiente quanto o consumo de pescado, mas capaz de proporcionar a melhoria do perfil de AGs no organismo. Apesar da ingestão de vitaminas do complexo B ser, por vezes, inadequada na infância, suas fontes alimentares são mais diversificadas e abundantes na alimentação cotidiana, em relação às fontes de EPA e DHA, e podem contribuir para a adequação das concentrações de PUFAs no plasma. Tal fato justifica a necessidade de avaliação periódica dos hábitos alimentares na população pediátrica. A prevenção de fatores de risco para DCV deve se iniciar ainda na infância, visto que os hábitos de vida são formados nesta fase.

Este estudo apresenta pontos fortes como a utilização de ferramentas para análise da qualidade da dieta e do consumo alimentar, padronizadas e validadas para crianças e adolescentes brasileiros. Outra força importante é a análise de todas as vitaminas do complexo B envolvidas no metabolismo de 1C, e seus principais biomarcadores (riboflavina, vitamina B2 total, piridoxal, PLP, vitamina B6 total, 5-MTHF, folato plasmático e vitamina B12 plasmática), que refletem com precisão o estado das vitaminas do complexo B e complementam os métodos de avaliação dietética. Além disso, também foram dosados os principais metabólitos do ciclo da Hcy (metionina, SAM, SAH, tHcy, cistationina e cisteína), essenciais para a compreensão do mecanismo de interação entre as vitaminas do complexo B

e o perfil de AGs. A maioria dos estudos que investigaram associações entre vitaminas do complexo B e perfil de AGs não dosaram as concentrações de SAM e SAH.

Por outro lado, este estudo também apresenta limitações como o baixo tamanho amostral, que impossibilitou a observação de algumas associações previamente descritas na literatura. O desenho transversal do estudo também não nos permite estabelecer relações causa-consequência a partir das variáveis de interesse. Além disso, não foi contabilizado nas análises de consumo alimentar o teor de ácido fólico contido na farinha de trigo fortificada, presente em alimentos como pães, massas e biscoitos. Por fim, a colina, que também poderia influenciar nossos resultados, assim como as concentrações de PE e PC, não foram dosados no plasma ou nos eritrócitos.

8. Conclusões

Nenhum biomarcador para vitaminas do complexo B esteve associado a um melhor perfil lipídico. As vitaminas B2 e B6 estiveram associadas a maiores níveis de CT e LDL-c. Tal fato sugere novos estudos para elucidar o mecanismo de interação entre estas vitaminas e o metabolismo de lipoproteínas, visando a prevenção de riscos cardiovasculares.

Por outro lado, houve associação entre algumas vitaminas do complexo B e um melhor perfil de AGs nos eritrócitos. As concentrações de vitamina B2 e folato plasmático foram associadas a maiores concentrações de PUFA ω 3 e ω 6. A vitamina B2 ainda esteve associada a maiores níveis de MUFA e menores níveis de AGs *trans*. A via metabólica mais provável para explicar tais associações é o metabolismo de 1C, apesar destas vitaminas não terem se associado a maiores níveis de SAM e menores níveis de tHcy.

A vitamina B12 também se associou a maiores níveis de MUFA, porém associou-se à maiores níveis de SFA e, por isso, não foi possível concluir que esta vitamina está associada a um melhor perfil de AGs. A vitamina B6, por sua vez, contribuiu para um pior perfil de AGs nos eritrócitos (baixos níveis de PUFA ω 3 e ω 6). As vitaminas B6 e B12 foram as únicas associadas à redução dos níveis de tHcy e à maior razão SAM/SAH, porém, isso não foi suficiente para se associarem a um melhor perfil lipídico ou de AGs.

Maiores concentrações séricas de tHcy estiveram associadas a maiores níveis de PUFA. A provável explicação se deve aos baixos níveis basais de tHcy na população do estudo. Este resultado não reforça o papel de biomarcador da tHcy, e dificulta a interpretação da via metabólica através da qual as vitaminas do complexo B interagem com o perfil de AGs.

Em suma, tais achados ressaltam a importância de se assegurar uma concentração adequada de vitamina B2 e ácido fólico no soro, por melhorarem o perfil de AGs. Concentrações adequadas de AGs ω 3 e ω 6 contribuem para o desenvolvimento do sistema nervoso central e para a prevenção de DCV, cada vez mais comuns em decorrência do sedentarismo, má alimentação e excesso de gordura corporal, em crianças e adolescentes.

Referências

AINSWORTH, B.E. et al. Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.25, n.1, p.71-80, 1993.

ALBERSEN, M. et al. Vitamin B6 in Plasma and Cerebrospinal Fluid of Children. **PLoS One**, v.10, e.0120972, 2015.

AL-KHUDAIRY, L. et al. Omega 6 fatty acids for the primary prevention of cardiovascular disease. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v.11, n.CD011094, 2015.

ANDERSON, J.L. et al. Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. **Circulation**, v.102, n.11, p.1227-1232, 2000.

ANDERSON, J.W.; KENDALL, C.W.; JENKINS, D.J. Importance of weight management in type 2 diabetes: review with meta-analysis of clinical studies. **Journal of the American College of Nutrition**, v.22, n.5, p.331-339, 2003.

ANDRES, E. et al. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. **Canadian Medical Association Journal**, v.171, n.3, p.251-259, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA (ABEP). **Critério de Classificação Econômica Brasil**. São Paulo: ABEP; 2012.

ASTRUP, A. et al. The role of reducing intakes of saturated fat in the prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand in 2010? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.93, n.4, p.684-688, 2011.

ATEYA, A.M. et al. Effect of Omega-3 Fatty Acids on Serum Lipid Profile and Oxidative Stress in Pediatric Patients on Regular Hemodialysis: A Randomized Placebo-Controlled Study. **Journal of Renal Nutrition**, v.27, n.3, p.169-174, 2017.

ATTARD, S.M. et al. Longitudinal trajectories of BMI and cardiovascular disease risk: the national longitudinal study of adolescent health. **Obesity**, v.21, n.11, p.2180-2188, 2013.

AUBARD, Y.; DARODES, N.; CANTALOUBE, M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy - review of four present understanding and therapeutic implications. **European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology**, v.93, n.2, p.157-165, 2000.

AUDET, A.; LUPIEN, P.J. Triglyceride metabolism in pyridoxine-deficient rats. **The Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p.91-100, 1974.

BAKER, J.L.; OLSEN, L.W.; SØRENSEN, T.I. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. **The New England Journal of Medicine**, v.357, n.23, p.2329-2337, 2007.

BANG, H.O.; DYERBERG, J.; SINCLAIR, H.M. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.33, n.12, p.2657-2661, 1980.

BAŞARANOĞLU, S. et al. The role of vitamin B1-B2 and plasma lipid profile in intrahepatic cholestasis of pregnancy. **Journal of Perinatal Medicine**, v.45, n.4, p.461-465, 2017.

BECKER, A. et al. S-adenosylhomocysteine and the ratio of S-adenosylmethionine to S-adenosylhomocysteine are not related to folate, cobalamin and vitamin B6 concentrations. **European Journal of Clinical Investigation**, v.33, p.17-25, 2003.

BERSCH-FERREIRA, A.C. et al. Association between polyunsaturated fatty acids and inflammatory markers in patients in secondary prevention of cardiovascular disease. **Nutrition**, v.37, p.30-36, 2017.

BERTRANDT, J.; KLOS, A.; DEBSKI, B. Polyunsaturated fatty acid (PUFA) changes in serum and liver of undernourished rats given dietary vitamin B6 supplementation. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v.51, n.3, p.129-134, 2005.

BLOOMER, R.J. et al. Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory and oxidative stress biomarkers: a randomized, placebo controlled, cross-over study. **Lipids in Health and Disease**, v.8, n.36, p.1-12, 2009.

BOERS, G. H. et al. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. **The New England Journal of Medicine**, v.313, n.12, p.709-715, 1985.

BØNAA, K.H. et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. **The New England Journal of Medicine**, v.354, n.15, p.1578-1588, 2006.

BORDONI, A. et al. Dual influence of aging and vitamin B6 deficiency on delta-6-desaturation of essential fatty acids in rat liver microsomes. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, v.58, n.6, p.417-420, 1998.

BOUCHARD, C.; SHEPARD, R.; STEPHENS, T. **Physical activity, fitness and health: consensus statement**. Champaign: Human Kinetics, 1993. 117p.

BOUSHEY, C.J. et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. **Journal of the American Medical Association**, v.274, n.13, p.1049-1057, 1995.

BOUWENS, M. et al. Fish-oil supplementation induces antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.90, n.2, p.415-424, 2009.

BOUZIDI, N. et al. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty-acid supplementation on redox status in chronic renal failure patients with dyslipidemia. **Journal of Renal Nutrition**, v.20, n.5, p.321-328, 2010.

BRAMBILLA, P. et al. Metabolic riskfactor clustering estimation in children: to draw a line across pediatric metabolic syndrome. **International Journal of Obesity**, v.31, n.4, p.591-600, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 210p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 160p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. **Vigitel Brasil 2014: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 152p.

BRITO, A. et al. Folate and Vitamin B12 Status in Latin America and the Caribbean: An Update. **Food and Nutrition Bulletin**, v.36 (supl.2), p.109-118, 2015.

BROUWER, I.A. et al. Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, n.1, p.99-104, 1999.

BURR, M.L. et al. Lack of benefit of dietary advice to men with angina: results of a controlled trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.57, n.2, p.193-200, 2003.

BURROWS, T.; COLLINS, C.E.; GARG, M.L. Omega-3 index, obesity and insulin resistance in children. **International Journal of Pediatric Obesity**, v.6, n.2, p.532-539, 2011.

CABRINI, L. et al. Correlation between dietary polyunsaturated fatty acids and plasma homocysteine concentration in vitamin B6-deficient rats. **Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases**, v.15, n.2, p.94-99, 2005.

CALDER, P.C. Effects of fatty acids and dietary lipids on cells of the immune system. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.55, n.1B, p.127-150, 1996.

CALEYACHETTY, R. et al. Prevalence of behavioural risk factors for cardiovascular disease in adolescents in low-income and middle-income countries: an individual participant data meta-analysis. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, v.3, n.7, p.535-544, 2015.

CAPO-CHICHI, C.D. et al. Concentrations of riboflavin and related organic acids in children with protein-energy malnutrition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, p.978-986, 2000.

CARSON, N.A.J.; NEIL, D.W. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. **Archives of Disease in Childhood**, v.37, n.195, p.505-513, 1962.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). National Center for Environmental Health. **Second National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population, 2012**. North Charleston: Createspace Independent. 2014.

Disponível em: https://www.cdc.gov/nutritionreport/pdf/nutrition_book_complete508_final.pdf. Acesso em: 22 mar 2018.

CHA, E.M. et al. Effect of Media Use on Adolescent Body Weight. **Preventing Chronic Disease**, v.15, e.141, 2018.

CHANG, J.B. et al. Determinants and distributions of plasma total homocysteine concentrations among school children in Taiwan. **European Journal of Epidemiology**, v.18, n.1, p.33-38, 2003.

CHAO, C.L. et al. The graded effect of hyperhomocysteinemia on the severity and extent of coronary atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v.147, n.2, p.379-386, 1999.

CHIU, C.C. et al. The effects of omega-3 fatty acids monotherapy in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a preliminary randomized doubleblind placebo-controlled study. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.32, n.6, p.1538-1544, 2008.

COOPER, A. J. L. Biochemistry of sulfur containing amino acids. **Annual Review of Biochemistry**, v.52, p.187-222, 1983.

CORVALÁN, C. et al. Nutrition status of children in Latin America. **Obesity Reviews**, v.18 (supl. 2), p.7-18, 2017.

CROTT, J.W.; FENECH, M. Preliminary study of the genotoxic potencial of homocysteine in human lymphocytes in vitro. **Mutagenesis**, v.16, n.3, p.213-217, 2001.

CROWE, F.L. et al. Lowering plasma homocysteine concentrations of older men and women with folate, vitamin B-12, and vitamin B-6 does not affect the proportion of (n-3) long chain polyunsaturated fatty acids in plasma phosphatidylcholine. **The Journal of Nutrition**, v.138, n.3, p.551-555, 2008.

DA COSTA, K.A. et al. Docosahexaenoic acid in plasma phosphatidylcholine may be a potential marker for in vivo phosphatidylethanolamine N-methyltransferase activity in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.93, n.5, p.968-974, 2011.

DAMIANI, D. et al. Síndrome metabólica em crianças e adolescentes: dúvidas na terminologia, mas não nos riscos cardiometabólicos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.55, n.8, p.576-582, 2011.

DANFORD, L. C.; SCHOELLER, D. A.; KUSHNER, R. F. Comparison of two bioelectrical impedance analysis models for total body water measurement in children. **Annals of Human Biology**, v.19, n.6, p.603-607, 1992.

DE MATTOS, A.M. et al. Omega-3Fatty Acid Supplementation is Associated With Oxidative Stress and Dyslipidemia, but Does not Contribute to Better Lipid and Oxidative Status on Hemodialysis Patients. **Journal of Renal Nutrition**, v.27, n.5, p.333-339, 2017.

DEBRECENI, B.; DEBRECENI, L. The role of homocysteine-lowering B-vitamins in the primary prevention of cardiovascular disease. **Cardiovascular Therapeutics**, v.32, n.3, p.130-138, 2014.

DEGIROLAMO, C.; RUDEL, L.L. Dietary monounsaturated fatty acids appear not to provide cardioprotection. **Current Atherosclerosis Reports**, v.12, n.6, p.391-396, 2010.

DEKOU, V. et al. The effect of the C677T and A1298C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene on homocysteine levels in elderly men and women from the British regional heart study. **Atherosclerosis**, v.154, n.3, p.659-666, 2001.

DESTAILLATS, F.; CRUZ-HERNANDEZ, C. Fast analysis by gas – liquid chromatography: Perspective on the resolution of complex fatty acid compositions. **Journal of Chromatography**, v.1169, v.1, p.175-178, 2007.

DiBELLO, P.M. et al. The nutrigenetics of hyperhomocysteinemia: quantitative proteomics reveals differences in the methionine cycle enzymes of gene-induced versus diet-induced hyperhomocysteinemia. **Molecular & Cellular Proteomics**, v.9, n.3, p.471-485, 2010.

DU VIGNEAUD, V. **A trail of research in sulfur chemistry and metabolism, and related fields**. Ithaca: Cornell University Press, 1952. 191p.

DULLEMEIJER, C. et al. Erythrocyte folate and plasma DHA in the FACIT study. **Lancet**, v.370, n.9583, p.1, 2007.

DUONG, M.C. et al. Vitamin B-12 Deficiency in Children Is Associated with Grade Repetition and School Absenteeism, Independent of Folate, Iron, Zinc, or Vitamin A Status Biomarkers. **The Journal of Nutrition**, v.145, n.7, p.1541-1548, 2015.

DURAND, P. et al. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. **Laboratory Investigation**, v.81, n.5, p.645-672, 2001.

EBERHARDT, R.T. et al. Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocyst(e)inemia. **The Journal of Clinical Investigation**, v.106, n.4, p.483-491, 2000.

EBRAHIMI, M. et al. Omega-3 fatty acid supplements improve the cardiovascular risk profile of subjects with metabolic syndrome, including markers of inflammation and auto-immunity. **Acta Cardiologica**, v.64, n.3, p.321-327, 2009.

EIKELBOOM, J.W. et al. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. **Annals of Internal Medicine**, v.131, n.5, p.363-375, 1999.

ESTRUCH, R. et al. PREDIMED Study Investigators. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. **Annals of Internal Medicine**, v.145, n.1, p.1-11, 2006.

EVANS, R.W. et al. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.17, n.10, p.1947-1953, 1997.

EXPERT PANEL ON INTEGRATED GUIDELINES FOR CARDIOVASCULAR HEALTH AND RISK REDUCTION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS; NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. **Pediatrics**, v.128 (supl.5), p.S213-56, 2011.

FALUDI, A.A.; IZAR, M.C.O.; SARAIVA, J.F.K. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v.109, n.2 (supl.1), p.1-76, 2017.

FARIA-NETO, J.R. et al. ERICA: prevalence of dyslipidemia in Brazilian adolescents. **Revista de Saúde Pública**, v.50 (supl. 1), 2016.

FARVID, M.S. et al. Dietary linoleic acid and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **Circulation**, v.130, n.18, p.1568-1578, 2014.

FONSECA, V.; GUBA, S. C.; FINK, L. M. Hyperhomocysteinemia and endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis. **Endocrine Reviews**, v.20, n.5, p.738-759, 1999.

FRANCA, E.; ALVES, J.G. Dyslipidemia among adolescents and children from Pernambuco. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.87, n.6, p.722-727, 2006.

FRANKEN, D.G. et al. Effect of various regimens of vitamin B6 and folic acid on mild hyperhomocysteinemia in vascular patients. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v.17, n.1, p.159-162, 1994.

FREEDMAN, D.S. et al. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. **Pediatrics**, v.108, n.3, p.712-718, 2001.

FRONTINI, M.G. et al. Usefulness of childhood nonhigh density lipoprotein cholesterol levels versus other lipoprotein measures in predicting adult subclinical atherosclerosis: the Bogalusa Heart Study. **Pediatrics**, v.121, n.5, p.924-929, 2008.

FUMAGALLI, F. et al. Validation of a food frequency questionnaire for assessing dietary nutrients in Brazilian children 5 to 10 years of age. **Nutrition**, v.24, p.427-432, 2008.

GALAN, P. et al. Effects of B vitamins and omega 3 fatty acids on cardiovascular diseases: a randomised placebo controlled trial. **British Medical Journal**, v.341, n.c6273, p.1-9, 2010.

GAMA, S.R.; CARVALHO, M. S.; CHAVES, C.R. Childhood prevalence of cardiovascular risk factors. **Cadernos de Saúde Pública**, v.23, n.9, p.2239-2245, 2007.

GARAIOVA, I. et al. Effect of a plant sterol, fish oil and B vitamin combination on cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic children and adolescents: a pilot study. **Nutrition Journal**, v.12, p.1-8, 2013.

- GAULL, G.; STURMAN, J. A; SCHAFFNER, F. Homocystinuria due to cystathionine synthase deficiency: enzymatic and ultrastructural studies. **The Journal of Pediatrics**, v.84, n.3, p.381-390, 1974.
- GIBELIN, P. et al. Prognostic value of homocysteinemia in patients with congestive heart failure. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.44, n.7, p.813-816, 2006.
- GIULIANO, I.C.B. et al. Serum lipids in school kids and adolescents from Florianopolis, SC, Brazil - Healthy Floripa 2040 study. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.85, n.2, p.85-91, 2005.
- GLOWINSKA, B. et al. New atherosclerosis risk factors in obese, hypertensive and diabetic children and adolescents. **Atherosclerosis**, v.167, n.2, p.275-286, 2003.
- GÓMEZ DUMM, N.T.; GIAMMONA, A.M.; TOUCEDA, L.A. Variations in the lipid profile of patients with chronic renal failure treated with pyridoxine. **Lipids in Health and Disease**, v.18, p.2-7, 2003.
- GOYENS, P.L. et al. Compartmental modeling to quantify alpha-linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses. **Journal of Lipid Research**, v.46, n.7, p.1474-1483, 2005.
- GRAHAM, I.M. et al. Plasma homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: The European Concerted Action Project. **Journal of the American Medical Association**, v.277, n.22, p.1775-1781, 1997.
- GRUPO DE PESQUISA DE AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR [homepage]. **Comandos para cálculo do IQD-R - Stata versão 10**; 2012. Disponível em: http://www.gac-usp.com.br/resources/Calculo%20do%20IQD-Revisado%20e%20seus%20componentes_2012.pdf. Acesso em 02 ago. 2017.
- GUNANTI, I.R. et al. Low serum vitamin B-12 and folate concentrations and low thiamin and riboflavin intakes are inversely associated with greater adiposity in Mexican American children. **The Journal of Nutrition**, v.144, n.12, p.2027-2033, 2014.
- GUPTA, V. J.; WILCKEN, D. E. L. The detection of cysteine-homocysteine mixed disulphide in plasma of normal fasting man. **European Journal of Clinical Investigation**, v.8, n.4, p.205-207, 1978.
- HARRIS, W.S.; VON SCHACKY, C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? **Preventive Medicine**, v.39, n.1, p.212-220, 2004.
- HERBISON, C.E. et al. Low intake of B-vitamins is associated with poor adolescent mental health and behaviour. **Preventive Medicine**, v.55, n.6, p.634-638, 2012.
- HEYWARD, V.H.; STOLARCZYK, L.M. **Applied body composition assessment**. Champaign, Illinois: Human Kinetics, 1996.
-

HLAIS, S. et al. Effect of lysine, vitamin B(6), and carnitine supplementation on the lipid profile of male patients with hypertriglyceridemia: a 12-week, open-label, randomized, placebo-controlled trial. **Clinical Therapeutics**, v.34, n.8, p.1674-1682, 2012.

HODIS, H.N. et al. High-dose B vitamin supplementation and progression of subclinical atherosclerosis: a randomized controlled trial. **Stroke**, v.40, n.3, p.730-736, 2009.

HODSON, L.; FIELDING, B.A. Stearoyl-CoA desaturase: rogue or innocent bystander? **Progress in Lipid Research**, v.52, p.15-42, 2013.

HOMOCYSTEINE LOWERING TRIALISTS' COLLABORATION. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. **British Medical Journal**, v.316, n.7135, p.894-898, 1998.

HOOPER, L. et al. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. **British Medical Journal**, v.332, n.7544, p.752-760, 2006.

HOUTKOOPER, L.B. et al. Bioelectrical impedance estimation of fat-free body mass in children and youth: a cross-validation study. **Journal of Applied Physiology**, v.72, n.1, p.366-373, 1992.

HUSSEIN, N. et al. Long-chain conversion of [13C]linoleic acid and alpha-linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men. **Journal of Lipid Research**, v.46, n.2, p.269-280, 2005.

IGLESIA, I. et al. Folate and vitamin B12 concentrations are associated with plasma DHA and EPA fatty acids in European adolescents: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence (HELENA) study. **The British Journal of Nutrition**, v.117, n.1, p.124-133, 2017.

IGLESIA, I. et al. Foods contributing to vitamin B6, folate, and vitamin B12 intakes and biomarkers status in European adolescents: The HELENA study. **European Journal of Nutrition**, v.56, p.1767-1782, 2016.

INSTITUTE OF MEDICINE. Panel on Dietary Reference Intakes for Electrolytes and Water. **Dietary Reference Intakes for water, potassium, sodium, chloride and sulfate**. Washington, DC: National Academies Press; 2005. 617p.

INSTITUTE OF MEDICINE. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline. **Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline**. Washington, DC: National Academies Press; 1998. 591p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos familiares, 2008-2009**. Rio de Janeiro, Brasil. 2010. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf>. Acesso em: 17 mai. 2017.

JACQUES, P.F. et al. The relationship between riboflavin and plasma total homocysteine in the Framingham Offspring cohort is influenced by folate status and the C677T transition in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. **The Journal of Nutrition**, v.132, n.2, p.283-288, 2002.

JAYEDI, A.; ZARGAR, M.S. Intake of vitamin B6, folate, and vitamin B12 and risk of coronary heart disease: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. **Critical reviews in food science and nutrition**, v.15, p.1-11, 2018

JAKOBSEN, M.U. et al. Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.89, n.5, p.1425-1432, 2009.

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

Jl, Y. et al. Vitamin B supplementation, homocysteine levels, and the risk of cerebrovascular disease: a meta-analysis. **Neurology**, v.81, n.15, p.1298-1307, 2013.

JOHNSON, R.K.; SOULTANAKIS, R.P.; MATTHEWS, D.E. Literacy and body fatness are associated with underreporting of energy intake in US low-income using the multiple-pass 24-hour recall: A doubly labeled water study. **Journal of the American Dietetic Association**, v.98, p.1136-40, 1998.

JORIS, P.J.; MENSINK, R.P. Role of cis-Monounsaturated Fatty Acids in the Prevention of Coronary Heart Disease. **Current Atherosclerosis Reports**, v.18, n.7, p.38-45, 2016.

JUONALA, M. et al. Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors. **The New England Journal of Medicine**, v.365, n.20, p.1876-1885, 2011.

JUONALA, M.; VIKARI, J.S.; RAITAKARI, O.T. Main findings from the prospective Cardiovascular Risk in Young Finns Study. **Current Opinion in Lipidology**, v.24, n.1, p.57-64, 2013.

KAC, G.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. A transição nutricional e a epidemiologia da obesidade na América Latina. **Cadernos de Saúde Pública**, v.19 (supl.1), p.S4-S5, 2003.

KANG, S.S. Treatment of hyperhomocyst(e)inemia: physiological basis. **The Journal of Nutrition**, v.126 (supl.4), p.1273-1275, 1996.

KANG, S.S.; WONG, P.W.K.; MALINOW, M.R. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. **Annual Review of Nutrition**, v.12, p.279-298, 1992.

KAPUT, J. et al. Human nutrition, environment, and health. **Genes & Nutrition**, v.10, n.5, p.1-4, 2015.

KEIM, S.A.; BRANUM, A.M. Dietary intake of polyunsaturated fatty acids and fish among US children 12-60 months of age. **Maternal and Child Nutrition**, v.11, n.4, p.987-998, 2015.

KELLY, P.J. et al. Inflammation, homocysteine, and vitamin B6 status after ischemic stroke. **Stroke**, v.35, n.1, p.12-15, 2004.

KELLY; P.J. et al. Low vitamin B6 but not homocyst(e)ine is associated with increased risk of stroke and transient ischemic attack in the era of folic acid grain fortification. **Stroke**, v.34, n.6, p.51-54, 2003.

KERR, M.A. et al. Folate, related B vitamins, and homocysteine in childhood and adolescence: potential implications for disease risk in later life. **Pediatrics**, v.123, n.2, p.627-635, 2009.

KESER, I. et al. Folic acid and vitamin B(12) supplementation lowers plasma homocysteine but has no effect on serum bone turnover markers in elderly women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutrition Research**, v.33, n.3, p.211-219, 2013.

KIMMIG, L.M.; KARALIS, D.G. Do omega-3 polyunsaturated Fatty acids prevent cardiovascular disease? A review of the randomized clinical trials. **Lipid Insights**, v.16, n.6, p.13-20, 2013.

KOOSHKI, A. et al. Effects of omega-3 fatty acids on serum lipids, lipoprotein (a), and hematologic factors in hemodialysis patients. **Renal Failure**, v.33, n.9, p.892-898, 2011.

KUMAR K.J. et al. A Prospective Study of Homocysteine and its relation to Body Mass Index and Lipid Profile in School Children. **Indian Pediatrics**, v.54, n.11, p.935-937, 2017.

KUNDAL, M. et al. Homocysteine metabolism in children with idiopathic nephrotic syndrome. **Clinical and Translational Science**, v.7, n.2, p.132-136, 2014.

LEAF, A.; WEBER, P.C. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. **The New England Journal of Medicine**, v.318, n.9, p.549-557, 1988.

LEAL, A.A.F. et al. Homocysteine: cardiovascular risk factor in children and adolescents? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.59, p.622-628, 2013.

LEE, B.J. et al. Homocysteine and risk of coronary artery disease: Folate is the important determinant of plasma homocysteine concentration. **Nutrition**, v.19, n.7-8, p.577-583, 2003.

LEE, H. et al. Effects of dietary folic acid supplementation on cerebrovascular endothelial dysfunction in rats with induced hyperhomocysteinemia. **Brain Research**, v.996, n.2, p.139-147, 2004.

LEVI, F. et al. Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world. **Heart**, v.88, n.2, p.119-124, 2002.

LEWICKA, A. et al. Influence of protein deficient diet, vitamin B2 supplementation and physical training on serum composition of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in rats. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v.24, n.2, p.185-189, 2017.

- LEWIS, S.J.; EBRAHIM, S.; DAVEY SMITH, G. Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? **British Medical Journal**, v.331, n.7524, p.1-6, 2005.
- LI, D.; MANN, N.J.; SINCLAIR, A.J. A significant inverse relationship between concentrations of plasma homocysteine and phospholipid docosahexaenoic acid in healthy male subjects. **Lipids**, v.41, n.1, p.85-89, 2006.
- LI, M. et al. Folic acid reduces chemokine MCP-1 release and expression in rats with hyperhomocystinemia. **Cardiovascular Pathology**, v.16, n.5, p.305-309, 2007.
- LILLIE, E.O. et al The n- of-1 clinical trial: the ultimate strategy for individualizing medicine? **Personalized Medicine**, v.8, n.2, p.161-173, 2011.
- LIMPACH, A. et al. Homocysteine Inhibits Retinoic Acid Synthesis: A Mechanism for Homocysteine-Induced Congenital Defects. **Experimental Cell Research**, v.260, p.166-174, 2000.
- LIU, C. et al. Plasma S-adenosylhomocysteine is a better biomarker of atherosclerosis than homocysteine in apolipoprotein E-deficient mice fed high dietary methionine. **The Journal of Nutrition**, v.138, p.311-315, 2008.
- LIVINGSTONE, M.B.; ROBSON, P.J. Measurement of dietary intake in children. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.59, p.279-293, 2000.
- LONN, E. et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. **The New England Journal of Medicine**, v.354, n.15, p.1567-1577, 2006.
- LOO, G.; SMITH, J.T. Effect of pyridoxine deficiency on phospholipid methylation in rat liver microsomes. **Lipids**, v.21, n.6, p.409-412, 1986.
- LOS, D.A.; MURATA, N. Structure and expression of fatty acid desaturases. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1394, n.1, p.3-15, 1998.
- LOUIE, J.C. et al. Intake and sources of added sugars among Australian children and adolescents. **European Journal of Nutrition**, v.55, n.8, p.2347-2355, 2016.
- LUKASKI, H.C. et al. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. **Journal of Applied Physiology**, v.60, p.1327-1332, 1986.
- MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Ácido Fólico. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 5 ed. Barueri: Manole; 2016(b). cap.19, p.511-528.
- MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Vitamina B12 (Cobalamina). In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 5 ed. Barueri: Manole; 2016(a). cap.20, p.529-542.
- MALINOW, M.R. et al. Reduction of plasma homocysteine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. **The New England Journal of Medicine**, v.338, n.15, p.1009-1015, 1998.
-

MALINOW, M.R. et al. The effects of folic acid supplementation on plasma total homocysteine are modulated by multivitamin use and methylenetetrahydrofolate reductase genotypes. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.17, n.6, p.1157-1162, 1997.

MANIOS, Y. et al. Vitamin B2, vitamin B12 and total homocysteine status in children and their associations with dietary intake of B-vitamins from different food groups: the Healthy Growth Study. **European Journal of Nutrition**, v.56, n.1, p.321-331, 2017.

MARCHIOLI, R. et al. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. **Circulation**, v.105, n.16, p.1897-1903, 2002.

MARTÍ-CARVAJAL, A.J.; SOLÀ, I.; LATHYRIS, D. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v.1, n.CD006612, 2015.

MARTIN, C.A. et al. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Revista de Nutrição**, v.19, n.6, p.761-770, 2006.

MASOOD, A.; STARK, K.D.; SALEM, N. A simplified and efficient method for the analysis of fatty acid methyl esters suitable for large clinical studies. **Journal of lipid Research**, v.46, n.10, p.2299-2305, 2005.

MATHIAS, M.G. et al. Clinical and Vitamin Response to a Short-Term Multi-Micronutrient Intervention in Brazilian Children and Teens: From Population Data to Interindividual Responses. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.62, n.6, e.1700613, 2018.

MAY, H.T. et al. Homocysteine levels are associated with increased risk of congestive heart failure in patients with and without coronary artery disease. **Cardiology**, v.107, n.3, p.178-184, 2007.

McCULLY, K. S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. **The American Journal of Pathology**, n.56, v.1, p.111-128, 1969.

McGILL Jr, H.C.; McMAHAN, C.A.; GIDDING, S.S. Preventing heart disease in the 21st century: implications of the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) study. **Circulation**, v.117, n.9, p.1216-1227, 2008.

McKINLEY, M.C. et al. Low-dose vitamin B-6 effectively lowers fasting plasma homocysteine in healthy elderly persons who are folate and riboflavin replete. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.4, p.759-764, 2001.

McLEAN, E.; DE BENOIST, B.; ALLEN, L.H. Review of the magnitude of folate and vitamin B12 deficiencies worldwide. **Food and Nutrition Bulletin**, v.29 (supl.2), p.38-51, 2008.

MEISSER, R.K. et al. Simultaneous quantification of 21 water soluble vitamin circulating forms in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography. A.**, v.1422, p.89-98, 2015.

MELO, S.S. et al. G1793A polymorphisms in the methylene-tetrahydrofolate gene: effect of folic acid on homocysteine levels. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.50, n.8, p.769-774, 2006.

MONTEIRO, J.P. et al. **Consumo Alimentar: Visualizando Porções (Food Intake and portion sizes)**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 92p.

MONTEIRO, J.P. et al. Methylation potential associated with diet, genotype, protein, and metabolite levels in the Delta Obesity Vitamin Study. **Genes & Nutrition**, v.9, n.3, p.1-19, 2014.

MONTEIRO, J.P.; KUSSMANN, M.; KAPUT, J. The genomics of micronutrient requirements. **Genes & Nutrition**, v.10, n.4, p.1-10, 2015.

MORAIS, C.C.; COMINETTI, C.; COZZOLINO, S.M.F. Vitamina B6 (Piridoxina). In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 5 ed. Barueri: Manole; 2016. cap.17, p.469-494.

MOUBARAC, J.C. et al. Consumption of ultra-processed foods predicts diet quality in Canada. **Appetite**, v.108, p.512-520, 2017.

MOURA, E.C. et al. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.34, p.499-505, 2000.

MUDD, S. H. et al. Homocystinuria: an enzymatic defect. **Science**, n.143, n.3613, p.1443-1445, 1964.

MÜLLER, A.M.; KHOO, S.; LAMBERT, R. Review of physical activity prevalence of Asian school-age children and adolescents. **Asia-Pacific Journal of Public Health**, v.25, n.3, p.227-238, 2013.

MUTHAYYA, S. et al. The Global Hidden Hunger Indices and Maps: An Advocacy Tool for Action. **PLoS One**, v.8, e.67860, 2013.

NAINI, A.E. et al. Effect of omega-3 fatty acids on blood pressure and serum lipids in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. **Journal of Research in Pharmacy Practice**, v.4, n.3, p.135-141, 2015.

NAIR, K.G. et al. The genetic basis of hiperhomocysteinemia. **Indian Heart Journal**, v.52 (supl.1), p.16-17, 2000.

NEFF, L.M. et al. Algal docosahexaenoic acid affects plasma lipoprotein particle size distribution in overweight and obese adults. **The Journal of Nutrition**, v.141, n.2, p.207-213, 2011.

NEVES, L.B.; MACEDO, D.M.; LOPES, A.C. Homocisteína. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.40, n.5, p.311-320, 2004.

NG'ENO, B.N. et al. High Prevalence of Vitamin B12 Deficiency and No Folate Deficiency in Young Children in Nepal. **Nutrients**, v.17, n.1, p.72-81, 2017.

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C.A. et al. Consenso da Associação Brasileira de Nutrologia sobre manejo da dislipidemia secundária à obesidade infanto-juvenil. **International Journal of Nutrology**, v.10, p.7-24, 2017.

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C.A. et al. Ultrasonographic Assessment of the Common Carotid Intima-Media Complex in Normal Weight Children and in Overweight/Obese Children. **The FASEB Journal**, v.30 (supl. 1), 2016.

NTAIOS, G. et al. The effect of folic acid supplementation on carotid intima-media thickness in patients with cardiovascular risk: a randomized, placebo-controlled trial. **International Journal of Cardiology**, v.143, n.1, p.16-19, 2010.

NYGARD, O. et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. **The New England Journal of Medicine**, v.337, n.4, p.230-236, 1997.

OKADA, E. et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for coronary arteriosclerosis in japanese patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.22, n.3, p.484-490, 1999.

OLPIN, S.E.; BATES, C.J. Lipid metabolism in riboflavin-deficient rats. 2. Mitochondrial fatty acid oxidation on the microsomal desaturation pathway. **The British Journal of Nutrition**, v.47, n.3, p.589-596, 1982.

OPLADEN, T. et al. Analysis of 5-methyltetrahydrofolate in serum of healthy children. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.87, p.61-65, 2006.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO). ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). **Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el Caribe**. Santiago, Chile. 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/americas/recursos/panorama/es/>. Acesso em: 17 mai. 2017.

ORIMADEGUN, B.E. et al. Plasma homocysteine and B vitamins levels in Nigerian children with nephrotic syndrome. **The Pan African Medical Journal**, v.18, p.107-114, 2014.

PAPANDREOU, D. et al. Effects of oral folate supplementation on serum total homocysteine and cholesterol levels in hyperhomocysteinemic children. **Nutrition in Clinical Practice**, v.25, n.4, p.390-393, 2010.

PAPANDREOU, D. et al. Total serum homocysteine, folate and vitamin B12 in a Greek school age population. **Clinical Nutrition**, v.25, n.5, p.797-802, 2006.

PARISI, F. et al. Treatment of Hyperhomocysteinemia in Pediatric Heart Transplant Recipients. **The Journal of Heart and Lung Transplantation**, v.22, p.778-783, 2003.

PATE, R.R. et al. Physical activity among children attending preschools. **Pediatrics**, v.114, n.5, 2004.

PATON, C.M.; NTAMBI, J.M. Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v.297, n.1, p.28-37, 2009.

PEDROZA-TOBIÁS, A. et al. Usual Vitamin Intakes by Mexican Populations. **The Journal of Nutrition**, v.146, n.9, p.1866-1873, 2016.

PEREIRA, R. A. et al. How many 24-hour recalls or food records are required to estimate usual energy and nutrient intake? **Cadernos de Saúde Pública**, v.26, n.11, p.2101-2111, 2010.

PERINI, J.A.L. et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, v.23, n.6, p.1075-1086, 2010.

PENG, H.Y. et al. Elevated homocysteine levels and risk of cardiovascular and all-cause mortality: a meta-analysis of prospective studies. **Journal of Zhejiang University. Science. B.**, v.16, n.1, p.78-86, 2015.

PITA, M.L.; DELGADO, M.J. Folate administration increases n-3 polyunsaturated fatty acids in rat plasma and tissue lipids. **Thrombosis and Haemostasis**, v.84, n.3, p.420-423, 2000.

POLONI, S.; BLOM, H.J.; SCHWARTZ, I.V. Stearoyl-CoA desaturase-1: is it the link between sulfur amino acids and lipid metabolism? **Biology**, v.4, p.383-396, 2015.

PREVIDELLI, A.N. et al. Índice de Qualidade da Dieta Revisado para população brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v.45, n.4, p.794-798, 2011.

PRISCO, D. et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid intake on phospholipid fatty acid composition in plasma and erythrocytes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.63, n.6, p.925-932, 1996.

PYNN, C.J. et al. Specificity and rate of human and mouse liver and plasma phosphatidylcholine synthesis analyzed in vivo. **Journal of Lipid Research**, v.52, n.2, p.399-407, 2011.

QUINLIVAN, E.P. et al. Importance of both folic acid and vitamin B12 in reduction of risk of vascular disease. **Lancet**, v.359, n.9302, p.227-228, 2002.

RAFNSSON, S.B. et al. Is a low blood level of vitamin B12 a cardiovascular and diabetes risk factor? A systematic review of cohort studies. **European Journal of Nutrition**, v.50, n.2, p.97-106, 2011.

RAHMAWATY, S. et al. Dietary intake and food sources of EPA, DPA and DHA in Australian children. **Lipids**, v.48, n.9, p.869-877, 2013.

RAMÍREZ-SILVA, I. et al. Fatty acids intake in the Mexican population. Results of the National Nutrition Survey 2006. **Nutrition and Metabolism**, v.8, n.1, p.33-43, 2011.

- RASZEWSKI, G. et al. Homocysteine, antioxidant vitamins and lipids as biomarkers of neurodegeneration in Alzheimers disease versus non-Alzheimers dementia. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v.32, n.1, p.193-196, 2016.
- RAUCH, B. et al. OMEGA, a randomized, placebocontrolled trial to test the effect of highly purified omega-3 fatty acids on top of modern guideline-adjusted therapy after myocardial infarction. **Circulation**, v.122, n.21, p.2152-2159, 2010.
- RAUH-PFEIFFER, A. et al. Three-month B vitamin supplementation in pre-school children affects folate status and homocysteine, but not cognitive performance. **European Journal of Nutrition**, v.53, n.7, p.1445-1456, 2014.
- RAUTIAINEN, S. et al. Multivitamin use and the risk of myocardial infarction: a population-based cohort of Swedish women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.92, n.5, p.1251-1256, 2010.
- REFSUM, H. et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. **Clinical Chemistry**, v.50, n.1, p.3-32, 2004.
- REFSUM, H. et al. Homocysteine and cardiovascular disease. **Annual Review of Medicine**, v.49, n.1, p.31-62, 1998.
- REHACKOVA, P.; SKALOVA, S.; KUTILEK, S. Serum homocysteine levels in children and adolescents with impaired bone health. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.53, n.6, p.464-468, 2013.
- REILLY, R. et al. MTHFR 677TT genotype and disease risk: is there a modulating role for B-vitamins? **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.73, n.1, p.47-56, 2014.
- RICHARDSON, U.I.; WURTMAN, R.J. Polyunsaturated fatty acids stimulate phosphatidylcholine synthesis in PC12 cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1771, n.4, p.558-563, 2007.
- RIGHETTI, M. et al. Homocysteine-lowering vitamin B treatment decreases cardiovascular events in hemodialysis patients. **Blood Purification**, v.24, n.4, p.379-386, 2006.
- RIMM, E.B. et al. Folate and vitamin B6 from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women. **Journal of the American Medical Association**, v.279, n.5, p.359-364, 1998.
- RIVERA, J.A. et al. Childhood and adolescent overweight and obesity in Latin America: a systematic review. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, v.2, n.4, p.321-332, 2014.
- RIZOS, E.C. et al. Association between omega-3 fatty acid supplementation and risk of major cardiovascular disease events: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Medical Association**, v.308, n.10, p.1024-1033, 2012.
- RIZOS, E.C.; ELISAF, M.S. Does Supplementation with Omega-3 PUFAs Add to the Prevention of Cardiovascular Disease? **Current Cardiology Reports**, v.19, n.6, p.47-55, 2017.
-

ROBINSON, K. Homocysteine, B vitamins and risk of cardiovascular disease. **Heart**, v.83, n.2, p.127-130, 2000.

RODIONOV, R.N.; LENTZ, S.R. The homocysteine paradox. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.28, n.6, p.1031-1033, 2008.

ROMERO, A. et al. Relationship between obesity and biochemical markers in Brazilian adolescents. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v.16, n.3, p.268-276, 2014.

ROSS, R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. **The New England Journal of Medicine**, v.340, n.2, p.115-126, 1999.

RUBIO-ALIAGA, I. et al. Alterations in hepatic one-carbon metabolism and related pathways following a high-fat dietary intervention. **Physiological Genomics**, v.43, n.8, p.408-416, 2011.

SABO, D.J.; FRANCESCONI, R.P.; GERSHOFF, S.N. Effect of vitamin B6 deficiency on tissue dehydrogenases and fat synthesis in rats. **The Journal of Nutrition**, v.101, n.1, p.29-34, 1971.

SACKS, F.M. et al. A dietary approach to prevent hypertension: a review of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Study. **Clinical Cardiology**, v.22 (supl. 7), p.6-10, 1999.

SANT'ANA, L.S. Biodisponibilidade de Lipídios. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 5 ed. Barueri: Manole; 2016. cap.8, p.229-252.

SAPOSNIK, G. et al. Homocysteine-lowering therapy and stroke risk, severity, and disability: additional findings from the HOPE 2 trial. **Stroke**, v.40, n.4, p.1365-1372, 2009.

SARTORI, A.G.O.; AMANCIO, R.D. Fish: nutritional relevance and consumption in Brazil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.19, n.2, p.83-93, 2012.

SAW, S.M. et al. Genetic, dietary and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and other Chinese men and women in Singapore. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.2, p.232-239, 2001.

SCHNYDER, G. et al. Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B12, and vitamin B6 on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 288, n.8, p.973-979, 2002.

SCHUCHARDT, J.P. et al. Significance of long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFAs) for the development and behaviour of children. **European Journal of Pediatrics**, v.169, p.149-64, 2010.

SCHWINGSHACKL, L.; HOFFMANN, L. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease: synopsis of the evidence available from systematic reviews and meta-analyses. **Nutrients**, v.4, n.12, p.1989-2007, 2012.

SEARCH. Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine (SEARCH) Collaborative Group. Effects of Homocysteine-Lowering With Folic Acid Plus Vitamin B12 vs Placebo on Mortality and Major Morbidity in Myocardial Infarction Survivors A Randomized Trial. **Journal of the American Medical Association**, v.303, n.24, p.2486-2494, 2010.

SELHUB, J. Homocysteine metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v.19, n.1, p.217-246, 1999.

SELLEY, M.L. A metabolic link between S-adenosylhomocysteine and polyunsaturated fatty acid metabolism in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, v.28, n.12, p.1834-1839, 2007.

SHE, Q.B.; HAYAKAWA, T.; TSUGE, H. Alteration in the phosphatidylcholine biosynthesis of rat liver microsomes caused by vitamin B-6 deficiency. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.59, n.2, p.163-167, 1995.

SHE, Q.B.; HAYAKAWA, T.; TSUGE, H. Effect of vitamin B-6 deficiency on linoleic acid desaturation in the arachidonic acid biosynthesis of rat liver microsomes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.58, n.3, p.459-463, 1994.

SHEPPARD, K.W.; CHEATHAM, C.L. Executive functions and the w-6-to-w-3 fatty acid ratio: a cross-sectional study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.105, p.32-41, 2017.

SHEPPARD, K.W.; CHEATHAM, C.L. Omega-6 to omega-3 fatty acid ratio and higher-order cognitive functions in 7- to 9-y-olds: a cross-sectional study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.98, n.3, p.659-667, 2013.

SILVA, D.R.B.; MIRANDA JUNIOR, P.F.; SOARES, E.A. The significance of long chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy and lactation. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.7, n.2, p.123-133, 2007.

SILVA, L. et al. High-throughput method for the quantitation of metabolites and co-factors from homocysteine – methionine cycle for nutritional status assessment. **Bioanalysis**, v.8, p.1937-1949, 2016.

SILVA, N.P. et al. Homocysteine and cysteine levels in prepubertal children: association with waist circumference and lipid profile. **Nutrition**, v.29, n.1, p.166-171, 2013.

SIMOPOULOS, A.P. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. **Nutrients**, v.8, n.3, p.128-145, 2016.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the omega-6/omega-3 Fatty Acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v.233, n.6, p.674-688, 2008.

SINAIKO, A.R. Síndrome metabólica em crianças. **Jornal de Pediatria**, v.88, n.4, p.286-288, 2012.

SIOEN, I. et al. n-6 and n-3 PUFA intakes of pre-school children in Flanders, Belgium. **The British Journal of Nutrition**, v.98, n.4, p.819-825, 2007.

SIRI, P.W.; VERHOEF, P.; KOK, F.J. Vitamins B6, B12, and folate: association with plasma total homocysteine and risk of coronary atherosclerosis. **Journal of the American College of Nutrition**, v.17, n.5, p.435-441, 1998.

SMULDERS, Y.M.; BLOM, H.J. The homocysteine controversy. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v.34, n.1, p.93-99, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC). V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v.101, n.4 (supl.1), 36p, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO (SBH). et al. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v.84 (supl.1), 28p, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA (SBP). **Obesidade na infância e adolescência: Manual de Orientação**. 2 ed. São Paulo: Departamento de Nutrologia, 2012, 142p.

STAMPFER, M.J. et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. **Journal of the American Medical Association**, v.268, n.7, p.877-881, 1992.

STEAD, L.M. et al. Is it time to reevaluate methyl balance in humans? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.83, n.1, p.5-10, 2006.

STEINER, M.J.; SKINNER, A.C.; PERRIN, E.M. Fasting might not be necessary before lipid screening: a nationally representative cross-sectional study. **Pediatrics**, v.218, n.3, p.463-470, 2011.

STRAIN, J.J. et al. B-vitamins, homocysteine metabolism and CVD. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.63, n.4, p.597-603, 2004.

SVENSSON, M. et al. The effect of n-3 fatty acids on lipids and lipoproteins in patients treated with chronic haemodialysis: a randomized placebo-controlled intervention study. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, v.23, n.9, p.2918-2924, 2008.

SWANSON, D.; BLOCK, R.; MOUSA, S.A. Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life. **Advances in Nutrition**, v.3, p.1-7, 2012.

TACCONI, M.; WURTMAN, R.J. Phosphatidylcholine produced in rat synaptosomes by N-methylation is enriched in polyunsaturated fatty acids. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.82, n.14, p.4828-4831, 1985.

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**. 2ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1962. 325p.

TAVAZZI, L. et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, v.372, n.9645, p.1223-1230, 2008.

TAZIKI, O.; LESSAN-PEZESHKI, M.; VASHEGHANI, F. The effect of low dose omega-3 on plasma lipids in hemodialysis patients. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, v.18, n.4, p.571-576, 2007.

THAMBYRAJAH, J. et al. A randomized double-blind placebo-controlled trial of effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v.37, n.7, p.1858-1863, 2001.

TOFFANO, R.B.D. et al. Validation of the Brazilian Healthy Eating Index-Revised Using Biomarkers in Children and Adolescents. **Nutrients**, v.10, n.2, e.154, 2018.

TOOLE, J.F. et al. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. **Journal of the American Medical Association**, v.291, n.5, p.565-575, 2004.

TRUMBO, P. et al. Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine, The National Academies. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v.102, p.1621-30, 2002.

TSAI, M. Y. et al. Amplification refractory mutation system to identify mutations in cystathionine beta-synthase deficiency. **Clinical Chemistry**, v.41, n.12, p.1775-1777, 1995.

TSUGE, H.; HOTTA, N.; HAYAKAWA, T. Effects of vitamin B-6 on (n-3) polyunsaturated fatty acid metabolism. **The Journal of Nutrition**, v.130 (supl.2S), p.333S-334S, 2000.

TUCKER, K.L. et al. Breakfast cereal fortified with folic acid, vitamin B-6, and vitamin B-12 increases vitamin concentrations and reduces homocysteine concentrations: a randomized trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.805-811, 2004.

UBBINK, J.B. et al. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. **The Journal of Nutrition**, v.124, n.10, p.1927-1933, 1994.

UELAND, P.M. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. **Clinical Chemistry**, v.41, n.3, p.340-342, 1995.

UELAND, P.M.; REFSUM, H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease, and drug therapy. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.114, n.5, p.473-501, 1989.

UMHAU, J.C. et al. The relationship between folate and docosahexaenoic acid in men. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.60, n.3, p.352-357, 2006.

UNITED STATES OF AMERICA. U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. **2015–2020 Dietary Guidelines for Americans**. 8th ed. Washington, United States of America. 2015. Disponível em: https://health.gov/dietaryguidelines/2015/resources/2015-2020_Dietary_Guidelines.pdf. Acesso em: 23 mai. 2017.

VAFEIADOU, K. et al. Replacement of saturated with unsaturated fats had no impact on vascular function but beneficial effects on lipid biomarkers, E-selectin, and blood pressure: results from the randomized, controlled Dietary Intervention and VAScular function (DIVAS) study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.102, n.1, p.40-48, 2015.

VAN WIJK, N. et al. Combined dietary folate, vitamin B-12, and vitamin B-6 intake influences plasma docosahexaenoic acid concentration in rats. **Nutrition & Metabolism**, v.9, n.1, p.1-8, 2012.

VANCE, D.E.; WALKEY, C.J.; CUI, Z. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase from liver. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1348, n.1-2, p.142-150, 1997.

VANDEVIJVERE, S. et al. Consumption of ultra-processed food products and diet quality among children, adolescents and adults in Belgium. **European Journal of Nutrition**. [Epub ahead of print], 2018.

VANNUCCHI, H.; CARVALHO, D.S.L., CHIARELLO, P.G. Vitamina B2 (Riboflavina). In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 5 ed. Barueri: Manole; 2016. cap.16, p.455-468.

VANNUCCHI, H.; MELO, S.S. Hiper-homocisteinemia e risco cardiometabólico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.53, n.5, p.540-549, 2009.

VEERANNA, V. et al. Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v.58, n.10, p.1025–1033, 2011.

VEIGA, G.V. et al. Inadequate nutrient intake in Brazilian adolescents. **Revista de Saúde Pública**, v.47, p.212-221, 2013.

VENANCIO, L.S.; BURINI, R.C.; YOSHIDA, W.B. Tratamento dietético da hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.9, n.1, p.28-41, 2010.

VIEIRA, V.C.R. et al. Alterações no padrão alimentar de adolescentes com adequação pondero-estatural e elevado percentual de gordura corporal. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.5, n.1, p.93-102, 2005.

VON HOUWELINGEN, A.C. et al. Comparison between habitual intake of polyunsaturated fatty acids and their concentrations in serum lipid fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.43, n.1, p.11-20, 1989.

VYNCKE, K.E. et al. Dietary fatty acid intake, its food sources and determinants in European adolescents: the HELENA (Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence) Study. **The British Journal of Nutrition**, v.108, n.12, p.2261-2273, 2012.

VYNCKE, K. et al. Dietary Lipid Intake only Partially Influences Variance in Serum Phospholipid Fatty Acid Composition in Adolescents: Impact of Other Dietary Factors. **Lipids**, v.49, p.881-893, 2014.

WADHWANI, N.S. et al. A prospective study of maternal fatty acids, micronutrients and homocysteine and their association with birth outcome. **Maternal & Child Nutrition**, v.11, n.4, p.559-573, 2015.

WAGNER, C.; KOURY, M.J. S-Adenosylhomocysteine: a better indicator of vascular disease than homocysteine? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.86, p.1581-1585, 2007.

WALD, D.S.; LAW, M.; MORRIS, J.K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. **British Medical Journal**, v.325, n.7374, p.1-7, 2002.

WALD, N.J. et al. Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention. **Archives of Internal Medicine**, v.158, n.8, p.862-867, 1998.

WANG, X. et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. **Lancet**, v.369, n.9576, p.1876-1882, 2007.

WATANABE, Y.; TATSUNO, I. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for cardiovascular diseases: present, past and future. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, p.1-9, 2017.

WATKINS, S.M.; ZHU, X.; ZEISEL, S.H. Phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase activity and dietary choline regulate liver-plasma lipid flux and essential fatty acid metabolism in mice. **The Journal of nutrition**, v.133, n.11, p.3386-3391, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Growth reference data for 5-19 years**. Geneva, Switzerland. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/growthref/en/>>. Acesso em: 10 mai. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Noncommunicable diseases**. Geneva, Switzerland. 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Report of the commission on ending childhood obesity**. Geneva, Switzerland. 2016. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204176/1/9789241510066_eng.pdf?ua=1&ua=1>. Acesso em: 17 mai. 2017.

XIAO, Y. et al. Plasma S-adenosylhomocysteine is associated with the risk of cardiovascular events in patients undergoing coronary angiography: a cohort study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.98, p.1162-1169, 2013.

YANG, H.T. et al. Efficacy of folic acid supplementation in cardiovascular disease prevention: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. **European Journal of Internal Medicine**, v.23, n.8, p.745-754, 2012.

YEGNANARAYAN, R. et al. A comparative study of the glycemic control of various antidiabetic agents and the role of homocysteine in the therapy of type 2 diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and its Complications**, v.22, n.2, p.104-111, 2008.

YOO, J.H. et al. Moderate hyperhomocysteinemia is associated with the presence of coronary artery disease and the severity of coronary atherosclerosis in Koreans. **Thrombosis Research**, v.94, n.1, p.45-52, 1999.

YUSUF, S. et al. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **Lancet**, v.364, n.9438, p.937-952, 2004.

ZEMAN, M. et al. Chronic pancreatitis and the composition of plasma phosphatidylcholine fatty acids. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, v.108, p.38-44, 2016.

ZHANG, C. et al. Effect of B-vitamin supplementation on stroke: a meta-analysis of randomized controlled trials. **PLoS One**, v.8, n.11, p.1-9, 2013.

ZHAO, M. et al. Marginal vitamin B-6 deficiency decreases plasma (n-3) and (n-6) PUFA concentrations in healthy men and women. **The Journal of Nutrition**, v.142, n.10, p.1791-1797, 2012.

ZHAO, M. et al. Vitamin B-6 restriction impairs fatty acid synthesis in cultured human hepatoma (HepG2) cells. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v.304, n.4, p.342-351, 2013.

ZHU, W. et al. Effects of fish oil on serum lipid profile in dialysis patients: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Lipids in Health and Disease**, v.13, n.127, p.1-11, 2014.

ZIAKKA, S. et al. The effect of vitamin B6 and folate supplements on plasma homocysteine and serum lipids levels in patients on regular hemodialysis. **International Urology and Nephrology**, v.33, n.3, p.559-62, 2001.

Apêndices

APÊNDICE A – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

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

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:

<p>Avaliação do pediatra</p>	<p>Coleta de sangue</p>	<p>Café da manhã</p>
<p>Pesar e medir</p>	<p>Circunferência da cintura</p>	<p>Responder questionários</p>
<p>Impedância bioelétrica</p>	<p>Comer a barrinha de leite por 6 semanas</p>	<p>Usar BodyBugg por 3 dias e pedômetro por 7 dias</p>

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)

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

ua 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 a 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 _____,
confirmando 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)

APÊNDICE C - Descrição dos componentes do Índice de Qualidade da Dieta Revisado e respectiva classificação dos alimentos e ingredientes de preparações utilizados para o cálculo do questionário semiquantitativo de frequência alimentar.

Frutas totais: Foram incluídas neste componente todas as frutas, com ou sem casca e sucos de frutas. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: abacate, ameixa, amora, banana, caqui, carambola, damasco seco, graviola, kiwi, laranja, maçã, mamão, manga, melancia, melão, morango, pera, pêssego, romã, suco de laranja, suco de limão, suco de uva, uva e uva passa.

Frutas inteiras: Foram incluídas neste componente somente as frutas inteiras. Todos os sucos de frutas foram excluídos.

Vegetais totais e leguminosas: Foram incluídas neste componente todas as verduras e legumes. As leguminosas foram incluídas somente quando o grupo “Carnes, ovos e leguminosas” atingiu a recomendação, sendo computado apenas o seu excedente. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: abóbora, abobrinha, acelga, agrião, alface, alho, batata doce, berinjela, beterraba, brócolis, cebola, cebolinha, cenoura, chicória, cogumelos, couve manteiga, couve-flor, escarola, espinafre, gengibre, molho de tomate, pepino, pimentão amarelo, pimentão verde, pimentão vermelho, quiabo, repolho, rúcula, salsão, salsinha e tomate.

Vegetais verdes-escuros, alaranjados e leguminosas: Foram incluídos neste componente todos os vegetais verde-escuros e alaranjados. As leguminosas foram incluídas somente quando o grupo “Carnes, ovos e leguminosas” atingiu a recomendação, sendo computado apenas o seu excedente. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: abóbora, acelga, agrião, batata doce, brócolis, cenoura, chicória, couve manteiga, escarola, espinafre, rúcula e salsinha.

Cereais totais: Foram incluídos neste componente todos os grãos, tubérculos, raízes, preparações feitas à base de farinha, além de todos os alimentos e preparações incluídos no componente “Cereais integrais”. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: amido, amido de milho, arroz parboilizado, batata inglesa, biscoito água e sal, biscoito de maisena, biscoito recheado, cereal

matinal, chocolate em pó *diet*, farinha de araruta, farinha de arroz, farinha de mandioca, farinha de trigo refinada, macarrão, mandioca, pão branco, pipoca e salgadinho tipo *chips*.

Cereais integrais: Foram incluídos neste componente os grãos inteiros (com farelo, gérmen e endosperma) e as preparações feitas à base de farinhas integrais. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: arroz integral, aveia, barra de cereal, farinha de milho, farinha de trigo integral, fubá, granola, macarrão integral e trigo para quibe.

Leite e derivados: Foram incluídos neste componente todos os tipos de leite, seus produtos derivados e bebidas à base de soja (tais como sucos). Foram excluídos deste grupo todos os produtos derivados de leite com alto teor de lipídios, tais como requeijão, creme de leite e manteiga. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: bebida à base de soja, iogurtes (integral, desnatado, frutado ou não), leite fluído (desnatado, integral ou semidesnatado), leite em pó integral e queijos (cottage, cheddar, fresco, mozzarella, parmesão e ricota).

Carnes, ovos e leguminosas: Foram incluídos neste componente todos os tipos de carnes, ovos e produtos à base de soja (com exceção do leite de soja). As leguminosas foram incluídas até este grupo atingir a pontuação máxima, sendo o excedente considerado simultaneamente nos grupos “Vegetais totais e leguminosas” e “Vegetais verde-escuros, alaranjados e leguminosas”. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: carnes (bovina, de aves, de peixes e suína), concentrado proteico de soja, linguiça, mortadela, ovos, peito de peru, presunto, proteína texturizada de soja, salsicha, soja e vísceras.

Óleos: Foram incluídas neste componente todas as gorduras líquidas à temperatura ambiente, tais como os óleos utilizados nas preparações culinárias, margarinas, molhos de salada de origem vegetal e não hidrogenados e gordura mono e poli-insaturadas de peixes e de oleaginosas. Gorduras de origem animal não foram incluídas neste componente. Os alimentos e ingredientes de preparações do QSFA classificados para o cálculo deste componente foram: óleos vegetais (azeite de oliva, óleo de canola, óleo de milho, óleo de soja), margarina, maionese, peixes e oleaginosas (castanha do Brasil, castanha de caju, amêndoas, amendoim, coco e creme de avelã).

GORD AA (calorias provenientes de gorduras sólidas, álcool e açúcar de adição): Uma vez que o *software* de cálculo de dietas *Nutrition Data System for Research (NDSR)* fornece a quantidade de gordura saturada, gordura trans, etanol, carboidratos do álcool e açúcar de adição em cada alimento, incluindo o açúcar adicionado nas preparações em domicílio e no processo industrial, foram utilizados somente seus valores em grama disponibilizados pelo *software* para o cálculo do componente.

Observação: Uma vez que as leguminosas são computadas em diversos componentes, esses alimentos foram classificados separadamente para depois serem agrupados. Os alimentos e ingredientes de preparações do questionário semiquantitativo de frequência alimentar incluídos neste grupo foram: ervilha, feijões e lentilha.

Anexos

**ANEXO 1 – Composição nutricional da barra de leite de nome comercial “Nestrovit”,
da marca NESTLÉ®.**

Composição nutricional da barra de leite “Nestrovit” (NESTLÉ®).

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

2 Barras de leite (10g) contém: 51,3kcal, 4,4g de carboidratos, 0,5g de proteína e 3,4g de lipídeos. 3 Barras de leite (15g) contém: 77kcal, 6,7g de carboidratos, 0,8g de proteína e 5,2g de lipídeos. DRIS: *Dietary Reference Intakes* (ingestão dietética de referência); UL: *Upper Intake Levels* (níveis máximos de ingestão diários recomendados).

ANEXO 2 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Ribeirão Preto, 11 de maio de 2011

Ofício nº 1606/2011
CEP/MGV

Prezadas Senhoras,

O trabalho intitulado **“NOVA ESTRATÉGIA PARA ANALISAR INTERAÇÕES GENE-NUTRIENTE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS”** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 323ª Reunião Ordinária realizada em 09/05/2011 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 14255/2010.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimas Senhoras
CRISTINA MARIA MENDES RESENDE
PROFª DRª JACQUELINE PONTES MONTEIRO (Orientadora)
Depto. de Puericultura e Pediatria

ANEXO 3 – Parecer da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

Saúde
Ministério da Saúde

Plataforma
Brasil

LOGIN

[Esqueceu a senha?](#) [Cadastre-se](#) v3.0

Você está em: Público > Confirmar Aprovação pelo CAAE ou Parecer

CONFIRMAR APROVAÇÃO PELO CAAE OU PARECER

Informe o número do CAAE ou do Parecer:

Número do CAAE:

Número do Parecer:

Pesquisar

Esta consulta retorna somente pareceres aprovados. Caso não apresente nenhum resultado, o número do parecer informado não é válido ou não corresponde a um parecer aprovado.

DETALHAMENTO

Título do Projeto de Pesquisa:

Número do CAAE:

Número do Parecer:

Quem Assinou o Parecer:

Pesquisador Responsável:

Data Início do Cronograma:

Data Fim do Cronograma:

Contato Público:

Voltar

DATASUS
Departamento de Informática da SUS

Este sistema foi desenvolvido para os navegadores Internet Explorer (versão 7 ou superior),
ou Mozilla Firefox (versão 9 ou superior).

Conselho
Nacional de Saúde

SUS+

Ministério da
Saúde

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PATRIA ENCORAJADA

ANEXO 4 - Critério de Classificação Econômica Brasil da 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/ Ginásial incompleto	Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto	1
Ginásial 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. Afirmações 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

RENDA 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

Nome: _____

Data do R24hs: __/__/__ Seg ☐ Terç ☐ Quar ☐ Quin ☐ Sex ☐ Sáb ☐ Dom ☐

RECEITAS/ TIPO DE PREPARAÇÃO

ANEXO 6 - Questionário semiquantitativo de frequência alimentar

Nome / Número de Identificação: _____

LEITE E DERIVADOS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Leite integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200 ml	240 ml	250 ml
Leite desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200 ml	240 ml	250 ml
Iogurte natural Integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	80 ml	120 ml	140 ml
Iogurte com frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	80 ml	120 ml	140 ml
Queijo fresco ou ricota	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15 g	20 g	25 g
Queijos amarelos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10 g	15 g	25 g
Requeijão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10 g	15 g	30 g
PÃES E CEREAIS MATINAIS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Pão francês, forma, outros	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25 g	50 g	75 g
Pão doce, queijo, croissant	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25 g	50 g	60 g
Biscoitos doces, salgados ou torradas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30 g	52 g	65 g
Aveia, granola, barra de cereais e sucrilhos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20 g	38 g	40 g
GORDURAS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Margarina comum	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	4 g	6 g	10 g
Manteiga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	4 g	6 g	8,5 g
Maionese	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	12 g	27 g	35 g
CEREAIS, TUBÉRCULOS E MASSAS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Arroz branco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60 g	75 g	100 g
Batata, mandioca, polenta fritas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60 g	75 g	112 g
Batata, mandioca, polenta (não fritos)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30 g	50 g	100 g
Milho verde	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	48 g	66 g	103 g
Massas: macarrão, lasanha, nhoque	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100 g	125 g	200 g
Salgados e tortas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	48 g	80 g	96 g
Pizza	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55 g	125 g	180 g
Farofa, farinha de milho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15 g	20 g	30 g
FRUTAS E SUCOS NATURAIS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Laranja, mexerica, pokan	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	90 g	107 g	180 g
Banana	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	40 g	65 g	120 g
Maçã, pêra	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60 g	80 g	110 g
Mamão, papaya	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100 g	117 g	135 g
Melancia, melão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	81 g	132 g	150 g
Uva, abacaxi, goiaba (na época)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	95 g	116 g	170 g
Manga, caqui (na época)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20 g	40 g	60 g
Outras frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10 g	25 g	60 g

Suco de laranja natural	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165 ml	200 ml	250 ml
Suco de outras frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165 ml	200 ml	250 ml
LEGUMINOSAS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Feijão roxo, carioca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	34 g	65 g	70 g
Feijoadada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55 g	125 g	240 g
VERDURAS E LEGUMES	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Alface, escarola, agrião, rúcula, almeirão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20 g	35 g	40 g
Repolho, acelga, couve, espinafre	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	23,5 g	33 g	50 g
Couve-flor, brócolis	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25 g	32 g	56 g
Cenoura, abóbora	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	11 g	20 g	30 g
Tomate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30 g	37 g	44 g
Berinjela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20 g	30 g	62,5 g
Beterraba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	18 g	30 g	48 g
Vagem, chuchu, abobrinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	12,5 g	25 g	40 g
Sopas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	182 g	290 g	325 g
CARNES E OVOS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Carne bovina s/ gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50 g	80 g	100 g
Carne bovina c/ gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50 g	80 g	100 g
Carne de Porco s/ gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50 g	80 g	100 g
Carne de Porco c/ gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50 g	80 g	100 g
Carne de frango ou de outras aves s/ pele	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	46 g	90 g	125 g
Carne de frango ou de outras aves c/ pele	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	46 g	90 g	125 g
Peixes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50 g	100 g	165 g
Lingüiça, salsicha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50 g	60 g	120 g
Ovo cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25 g	50 g	75 g
Ovo frito	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25 g	62 g	90 g
Presunto, mortadela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10 g	15 g	25 g
BEBIDAS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Café com açúcar	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50 ml	-	100 ml
Chá preto ou mate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	85 ml	165 ml	200 ml
Chá de ervas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	85 ml	165 ml	200 ml
Água	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165 ml	200 ml	240 ml
Sucos artificiais	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165 ml	200 ml	240 ml
Refrigerante diet	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100 ml	165 ml	250 ml
Refrigerante normal	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165 ml	200 ml	240 ml
Refrigerante fosfatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165 ml	200 ml	240 ml
DOCES E MISCELÂNEAS	QUANTAS VEZES?	UNIDADE	P 25	P 50	P 75
Bolo, tortas, pavês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30 g	50 g	60 g

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

1)	QUANTAS VEZES?	UNIDADE
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	PORÇÃO

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

(1) Sempre	(2) Algumas vezes	(3) Raramente ou não come

B - Quando você come carne de frango, costuma comer a pele?

(1) Sempre (2) Algumas vezes (3) Raramente ou não come

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

(1) Sempre (2) Algumas vezes (3) Raramente ou não come

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
(99) Não sabe

- Maionese / molhos

(1) Sempre (2) Algumas vezes (3) Raramente ou não come
(99) Não sabe

- Queijo / requeijão

(1) Sempre (2) Algumas vezes (3) Raramente ou não come
(99) Não sabe