**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

***O perfil metabolômico de aminoácidos como
biomarcador de consumo alimentar, estado
nutricional e alterações metabólicas***

Alexsandro Macedo Silva

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Nutrição em Saúde
Pública para a obtenção do título de
doutorado em Ciências.**

**Área de Concentração:
Nutrição em Saúde Pública**

**Orientadora:
Prof^a. Dra. Dirce Maria Lobo Marchioni**

SÃO PAULO

2018

***O perfil metabolômico de aminoácidos como
biomarcador de consumo alimentar, estado
nutricional e alterações metabólicas***

Alexsandro Macedo Silva

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de doutorado em Ciências.

**Área de Concentração:
Nutrição em Saúde Pública**

**Orientadora:
Prof^a. Dra. Dirce Maria Lobo Marchioni**

Versão Corrigida

SÃO PAULO

2018

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.

DEDICATÓRIA

Àqueles que partiram e deixaram saudades, mas que continuam vivos em minha memória e em meu coração e contribuíram para eu conquistar os meus sonhos:

à minha mãe Cidália Macedo da Silva
ao meu pai Edagard Alves da Silva e
ao meu sogro Angelo Poltronieri.

À “La mujer de mis ojos” e toda a minha vida,
ao meu eterno amor Fabiana Poltronieri.

À minha irmã Alexandra Macedo da Silva que sempre me ajuda a ver quem eu sou e acreditar que sonhar é possível.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é o momento de reconhecer aqueles que me auxiliaram e me envolveram com sentimentos de carinhos para chegar nesta etapa. Neste sentido agradeço:

À minha orientadora, Profa. Dra. Dirce Maria Lobo Marchioni por ter me dado a oportunidade de realizar o doutorado com o seu grupo de pesquisa, por depositar a sua confiança em desenvolver um tema tão intrigante.

À Bartira Gorgulho pelo companheirismo e pela paciência de compartilhar o seu conhecimento em consumo alimentar e discutir tantos temas em comuns.

À Josiane Steluti pela atenção e discussões que me ajudaram a atingir os objetivos do meu trabalho.

Às companheiras de conversas, trocas de ideias e apoio: Juliana e Roberta.

À Adélia pela companhia de todas as horas de distração e aos caros Eduardo, Andreia, Jessica, Gustavo, Stefanie, pelas conversas para aliviar as tensões.

À Cristiane Yonezaki pelo apoio, paciência e amizade eterna.

À D. Alda e Marco pela presença sempre carinhosa que nos proporcionou a paz de espírito para executar este projeto.

À Denise e Fabiano que sempre tiveram uma palavra amiga para nos confortar.

À Celia, Sonia e Marta pelas conversas que me ajudaram não perder o foco.

Ao Machado e Márcia pela amizade sempre presente que faz a vida ser mais leve com bolo, café e salada de macarrão.

Ao Arlindo, que mesmo longe, se fez presente com suas palavras de amizade e apoio de sempre.

À Alessandra, pela paciência de me esclarecer os ritos da secretaria de pós-graduação.

Enfim, a todos que estiveram presentes e fizeram este momento especial.

SILVA, A.M. **O Perfil Metabolômico de Aminoácidos como Biomarcador de Consumo Alimentar, Estado Nutricional e Alterações Metabólicas**. 2018. Tese - Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2018.

RESUMO

Introdução – A metabolômica permite determinar padrões de variação dos metabólitos entre indivíduos doentes e não doentes, com ou sem ingestão de um determinado alimento ou dieta. Compreender a relação entre metabólitos e doenças metabólicas pode ajudar a combater obesidade e doenças crônicas. **Objetivo** - Investigar a associação entre o perfil metabolômico de aminoácidos, a ingestão dietética e o estado nutricional em adultos participantes do Inquérito de Saúde no município de São Paulo, Brasil. **Métodos** - Foram avaliados dados de 168 indivíduos. A análise metabolômica para identificação de 21 aminoácidos foi realizada nas amostras de plasma, utilizando kit AbsoluteIDQ™p180 da Biocrates Life Science AG (Innsbruck, Austria). O consumo alimentar foi estimado por meio da aplicação do questionário de frequência alimentar. Os grupos de aminoácidos e de alimentos foram submetidos à análise fatorial por componente principal. A variável Metabolicamente Saudável foi construída considerando-se as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. A regressão linear múltipla foi aplicada para avaliar as associações, tendo como variáveis de ajustes: etnia, idade, renda familiar, sexo, dieta, atividade física. A comparação entre grupos foi feita por MANOVA e a confirmação da diferença significativa pelo teste de Bonferroni. **Resultados** – A porcentagem de indivíduos com obesidade foi de 24%, sendo que a média de IMC correspondeu a 26 kg/m². A população estudada apresentou média de idade de 50 anos, sendo a maioria de etnia branca (56%) e do sexo masculino (52%), com pouca adesão à atividade física (21%). Os parâmetros bioquímicos estavam, em média, abaixo das concentrações estabelecidas como normais, exceto a insulina, cuja média foi de 20,8 µUI/mL. Todavia, ao estratificar pelo estado nutricional e metabolicamente saudável, os parâmetros bioquímicos se mostraram diferentes, tais como a glicemia, triglicerídeos e colesterol total. A ingestão dietética foi igual entre os grupos estudados. O perfil de aminoácido revelou potencial de diferenciar os estados nutricional e metabólico, destacando os aminoácidos de cadeia ramificada (Leu, Ile, Val). Foram identificados dois padrões de aminoácidos relacionados a beta oxidação e aos aminoácidos glicogênicos. O primeiro teve relação positiva para os indivíduos com obesidade e metabolicamente não saudável. O segundo, apresentou relação inversa para ambos os estados. O consumo de manganês pela população foi de 2,5 mg/dia, sendo infusão de mate a principal fonte (28mg Mn/porção). Os indivíduos obesos ingeriram menor quantidade de manganês, que apresentou relação inversa ao estado nutricional e ao padrão de aminoácidos relacionado ao metabolismo não saudável. Identificaram-se três padrões alimentares: perfil saudável, tradicional e moderno. A associação com o estado nutricional e metabolicamente saudável foi positiva para o padrão saudável. **Conclusão** – Os aminoácidos de cadeia ramificada se revelaram biomarcadores para identificar o estado nutricional e metabólico de indivíduos adultos. Os indivíduos que tiveram baixo consumo de manganês apresentaram maior adesão ao perfil metabolômico de aminoácidos relacionados com beta oxidação.

Descritores: Metaboloma; Manganês; Obesidade; Aminoácidos; Metabolismo.

SILVA, A.M. [The Metabolomic Profile of Amino Acids as Biomarkers of Food Consumption, Nutritional State and Metabolic Alterations]. 2018. Thesis - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2018. Portuguese.

ABSTRACT

Introduction - The metabolomics allows to determine patterns of variation of the metabolites between people with or without illness, considering or not the food consumption. Understanding the relationship between metabolites and metabolic disorders, it is possible to deal with obesity and chronic diseases. **Objective** - To investigate the association between the metabolic profile of amino acids and dietary intake and nutritional status in adults from the household survey conducted in the city of São Paulo, Brazil. **Method** - The 21 amino acids were identified by metabolomic analysis, using Absolute IDQTMp 180 kit from Biocrates Life Science AG (Innsbruck, Austria). Food intake was estimated using the food frequency questionnaire. The amino acid and food groups were submitted to factorial analysis by main component. The Metabolically Healthy variable was constructed considering the Guidelines of the Brazilian Society of Cardiology for the diagnosis and treatment of the metabolic syndrome. Multiple linear regression was applied to evaluate the associations, adjusted by the variables: ethnicity, age, family income, sex, diet, physical activity. The comparison between groups was made by MANOVA, and the confirmation of the significant difference, by the Bonferroni test. **Results** - The percentage of people with obesity was 24%, although the mean BMI corresponded to 26 kg/m². The population studied presented a mean age of 50 years, most of them white (56%) and male (52%), with little adherence to physical activity (21%). The biochemical parameters were, on average, below the established normal concentrations, except for insulin (20,8 µUI/mL). However, when stratified by nutritional status and metabolically healthy, the biochemical parameters were statistically different. The dietary intake was the same among the groups studied. The amino acid profile revealed potential to differentiate the nutritional and metabolic states, highlighting the branched chain amino acids. Two amino acid patterns related to beta-oxidation and glycogenic amino acids had been identified. The former had a positive relationship for obese and metabolically unhealthy people. The second presented an inverse relation for both states. The manganese consumption by the population was 2.5 mg / day, and the mate infusion was the main source (28mg Mn/serving). Obese subjects consumed less manganese, which had an inverse relationship to nutritional status and to the amino acid pattern related to unhealthy metabolism. Three dietary patterns were identified: healthy, traditional and modern profiles. The association with nutritional and metabolically healthy status was positive for the healthy pattern. **Conclusion** - The branched-chain amino acids had been revealed to be biomarkers to identify the nutritional and metabolic status of adult individuals. The individuals that had low manganese consumption showed greater adhesion to the metabolic profile of amino acids related to beta-oxidation, and could be used as biomarker for the ingestion of this micronutrient.

Descriptors: Metabolome; Manganese; Obesity; Amino acids; Metabolism.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 METABOLOMA E CIÊNCIAS NUTRICIONAIS	18
2.2 CLASSIFICAÇÃO DE OBESO METABOLICAMENTE SAUDÁVEL POR MEIO DE INDICADORES METABÓLICOS	21
2.3 A OBESIDADE E O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS	24
2.4 O METABOLOMA COMO BIOMARCADOR PARA ESTUDAR O CONSUMO ALIMENTAR	27
2.5 A RELAÇÃO ENTRE MANGANES E OBESIDADE	33
3. JUSTIFICATIVA DA PESQUISA	36
4 OBJETIVOS	38
4.1 OBJETIVO GERAL	38
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
5 MATERIAL E MÉTODO	39
5.1 INQUÉRITO DE SAÚDE NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO – ISA- CAPITAL	39
5.2 COLETA DE SANGUE E ANÁLISE BIOQUÍMICA	40
5.3 A ANÁLISE METABOLÔMICA	42
5.4 INQUÉRITO ALIMENTAR	42
5.4.1 Recordatório Alimentar de 24h	42
5.4.2 Questionário de Frequência Alimentar	43

5.4.3 Determinação dos Principais Contribuintes Alimentares de Manganês	44
5.5 OBTENÇÃO DAS VARIÁVEIS	45
5.5.1 Variável “Metabolicamente Saudável e Estado Nutricional	47
5.5.2 Cálculo de HOMA-IR	50
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
5.6.1 Análise Fatorial por Componente Principal	50
5.6.2 Regressão Linear Múltipla	52
5.6.3 Comparação entre Grupos	53
5.6.4 Análise de Interação entre Variáveis	54
5.6.3 Curva ROC	54
5.7 ASPECTOS ÉTICOS	56
6 RESULTADOS	57
6.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA	57
6.2 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E DIETÉTICAS DE ACORDO COM O ESTADO NUTRICIONAL	59
6.3 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E DIETÉTICAS DE ACORDO COM O ESTADO METABÓLICO	61
6.4 PERFIL METABOLÔMICA DE AMINOÁCIDOS	62
6.5 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E DIETÉTICAS DE ACORDO COM O PADRÃO METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS	70
6.6 AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PARA DIFERENCIAR O ESTADO NUTRICIONAL E METABÓLICO	75
6.7 O CONSUMO DE MANGANÊS	81

6.8 A ASSOCIAÇÃO ENTRE O PADRÃO ALIMENTAR E O ESTADO NUTRICIONAL E METABÓLICO	83
7 DISCUSSÃO	87
7.1 O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS E AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS DO ESTADO NUTRICIONAL	87
7.2 O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS DOS INDIVÍDUOS METABOLICAMENTE SAUDÁVEL	89
7.3 BIOMARCADORES PARA O ESTADO NUTRICIONAL E METABÓLICO	91
7.4 O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS E A SUA RELAÇÃO COM O PADRÃO ALIMENTAR	93
7.5 O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS E O CONSUMO DE MANGANÊS	95
7.6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	97
8 CONCLUSÃO	99
9 REFERÊNCIAS	101
10 ANEXO 1- CICLO DE KREBS	112
11 APÊNDICE 1– PARÂMETROS FENOTÍPICOS E INGESTÃO DIETÉTICA ESTRATIFICADOS POR SEXO	113
Currículo Lattes Alexsandro Macedo Silva	114
Currículo Lattes Dirce Maria Lobo Marchioni	115

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Fluxograma de obtenção da amostra para o estudo metabólico, por número de indivíduos, em função do consumo de amins heterocíclicas. 41
- Figura 2 – Perfil metabólico de aminoácidos de acordo com o IMC. 63
- Figura 3 - Coeficiente Beta obtido pela associação da interação entre indivíduos Metabolicamente Saudável e Metabolicamente Não Saudável e IMC. E=eutrófico. S=sobrepeso. O=obeso. A associação significativa, para $\alpha=0,05$, está indicado com *. 68
- Figura 4 – Área sobre a curva, considerando a resistência insulínica em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, alanina e os padrões de aminoácidos 1, 2 e 3. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada 72
- Figura 5 – Área sobre a curva, considerando a classificação Metabolicamente Saudável em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, alanina e os padrões de aminoácidos 1, 2 e 3. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada. 78
- Figura 6 – Área sobre a curva, considerando a classificação obesidade em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, alanina e os padrões de aminoácidos 1, 2 e 3. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada. 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética.	68
Tabela 2 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Segundo o Estado Nutricional	60
Tabela 3 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Estado Metabólico	62
Tabela 4 - Perfil Metabolômico de Aminoácidos de Acordo com o IMC.	64
Tabela 5 – Perfil Metabolômico de Aminoácidos, Considerando a Classificação Metabolicamente Saudável.	65
Tabela 6 – Perfil Metabolômico de Aminoácidos Considerando o Estado Nutricional e Metabolicamente Saudável.	67
Tabela 7 - Padrões Metabolômicos de Aminoácidos	69
Tabela 8 – Associação entre Padrão Metabolômico de Aminoácidos e IMC	69
Tabela 9 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Cetogênico (F1), em Tercil	71
Tabela 10 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Glicogênicos (F2), em Tercil.	72
Tabela 11 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Cetoglutarato (F3), em Tercil.	73
Tabela 12 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Ciclo Ureia (F4), em Tercil	74
Tabela 13 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Diversos (F5), em Tercil.	78

Tabela 14 – Classificação de Acordo com as Categorias Relacionadas às Alterações Metabólicas, Considerando os Aminoácidos de Cadeia Ramificada, Valina e Padrão de Aminoácidos Cetogênicos.	80
Tabela 15 - Consumo de manganês* pela população estudada.	81
Tabela 16 - Contribuição dos Principais Alimentos na Ingestão de Manganês	82
Tabela 17 - Associação entre Consumo de Manganês e IMC e Padrão Metabolômico de Aminoácidos	83
Tabela 18 – Padrão Alimentar da População Estudada	84
Tabela 19 – Associação entre o Padrão Alimentar e o Estado Nutricional e Metabólico.	85
Tabela 20 – Associação entre o Padrão Alimentar e Aminoácidos.	86

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Metabólicos usados em pesquisa clínica.	20
Quadro 2 - Uso e Classificação de Biomarcadores em Estudo Populacional .	30
Quadro 3 – Variáveis empregadas que foram obtidas do ISA 2008	45
Quadro 4 – Parâmetros empregados para classificar os indivíduos metabolicamente saudáveis ou não, segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica (SM).	48
Quadro 5 – Classificação do Estado Nutricional segundo Índice de Massa Corporal (IMC).	49

LISTA DE ABREVIATURAS

Ala - Alanina

Arg - Argenina

Asn - Asparagina

Asp - Aspartato

Cit - Citrulina

Gln - Glutamina

Glu - Glutamato

Gly - Glicina

His - Histidina

Ile - Isoleucina

Leu - Leucina

Lys - Lisina

Met - Metionina

Orn - Ornitina

Phe - Fenilalanina

Pro - Prolina

Ser - Serina

Thr Treonina

Trp - Triptofano

Tyr - Tirosina

Val - Valina

IMC - Índice de Massa Corpórea

HOMA – IR - Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance

RI – Resistência Insulínica

AA – Aminoácidos

AACR – Aminoácidos de Cadeia Ramificada

SM – Síndrome Metabólica

MS – Metabolicamente Saudável

MNS – Metabolicamente Não Saudável

1 INTRODUÇÃO

O aumento global das taxas de obesidade tem sido expressiva nas últimas três décadas, tornando-se um dos principais problemas de saúde pública em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Estima-se que cerca de 30% da população mundial estão obesas ou com sobrepeso, sendo que entre os adultos a taxa é de 37 e 23% para o grupo das crianças e adolescentes (HEISEL, 2018). As doenças relacionadas ao aumento de IMC (Índice de Massa Corporal) vem cresceram desde 1990 e já foram registradas 4 milhões de mortes (AFSHIN et al., 2017). Mundialmente registra-se que 44% de diabetes, 23% de isquemia cardíaca, e 7 a 14% de certos tipos de câncer estão relacionados à obesidade (WHO, 2014a).

Pode-se considerar que o desenvolvimento econômico e social influenciam as escolhas alimentares da população (BATISTA-FILHO e RISSINI, 2003), bem como as políticas nas áreas de agricultura, transporte e urbanismo, ambiente, educação e produção industrial de alimentos (WHO, 2014a). As políticas, ao regular e proporem diretrizes para a saúde pública, podem contribuir para a prevenção da obesidade (SWINBURN, 2008; CHAN, WOO, 2010; FOX, HOROWITZ, 2013).

Portanto, o estabelecimento de políticas e ações que possam controlar ou prevenir o seu avanço de uma doença requer que se conheça os seus diversos aspectos fisiopatológicos e metabólicos. Neste sentido, a metabolômica é uma área que vem se desenvolvendo e gerando novos conhecimentos na tentativa de se compreender melhor a relação entre a dieta e as doenças crônicas não transmissíveis. Esse conhecimento pode melhorar a prática clínica, os métodos de diagnóstico de doença de forma precoce e prevenir efeitos adversos da alimentação inadequada (RAUSCHERT et al., 2014).

O metaboloma é o conjunto de substâncias endógenas ou exógenas de baixo peso molecular, que participam dos mecanismos metabólicos presentes em um sistema biológico como células, tecido, órgão ou organismo (ASTARITA e LANGRIDGE, 2013; DEIDDA et al., 2015). Esses compostos são denominados de metabólitos e compreendem os aminoácidos, lipídios, vitaminas, pequenos peptídeos e carboidratos, por exemplo. Estes metabólitos, sendo classificados como endógenos, representam o resultado real da expressão gênica de um processo metabólico (ROWLAND et al., 2018). Portanto, as mudanças nas suas concentrações descreveriam, de forma mais eficiente, o estado bioquímico de um sistema biológico (METALLO e HEIDEN, 2013). O metaboloma reflete com mais exatidão o fenótipo, em relação ao metabolismo, durante o período em que se realiza o estudo metabolômico, frente às alterações ambientais e genéticas (ZHANG et al., 2013; ARNOLD et al., 2015; ZAMBONI et al., 2015). A metabolômica, ou análise metabolômica, que se dedica ao estudo dos metabólitos, se configura como estratégia para investigação dos sistemas de relevância médica ou nutricional (PAVLIDIS et al., 2015).

O estudo do perfil metabólico ou do metaboloma permite determinar padrões de variação entre indivíduos doentes e não doentes, com ou sem ingestão de um determinado alimento ou dieta (GIBBSON e BRENNAN, 2017; O'GORMAN e BRENNAN, 2017). A metabolômica torna-se uma ferramenta poderosa para monitorar intervenções dietéticas em populações saudáveis e não saudáveis (NICHOLSON et al., 2012; ASTARITA e LANGRIDGE, 2013).

Dos metabólitos identificados pela análise metabolômica, os aminoácidos têm se mostrado relevantes para o estudo e avaliação de problemas de saúde relacionados à alimentação. Considerando o fato de que os aminoácidos participam

de forma direta ou indireta, como substrato de enzimas, em diversas vias metabólicas, a alteração da sua concentração plasmática pode descortinar mudanças metabólicas que gerariam doenças crônicas, relacionadas ao hábito alimentar e ao estado nutricional. Neste sentido, o presente trabalho explora o metaboloma relacionado aos aminoácidos como meio de revelar um biomarcador capaz de identificar uma alteração metabólica ou o estado nutricional ou, bem como, o consumo alimentar de indivíduos ou de uma população.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 METABOLOMA E CIÊNCIAS NUTRICIONAIS

O termo metabolômica refere-se ao estudo do conjunto de metabólitos gerados por um organismo, denominado de metaboloma e, ainda, pode ser definida como o estudo sistemático de produtos endógenos de baixo peso molecular (metabólitos) ou do conjunto destes produtos (metaboloma), em amostras biológicas (ZHANG et al., 2012). Portanto, a metabolômica consiste em ferramenta de análise ampla que estuda os metabólitos oriundos de organismos vivos (GIBBONS et al., 2015).

O metaboloma pode ser influenciado por diferentes fatores, tais como: idade, doença, medicamentos, ambiente, fatores genéticos, sexo, alteração hormonal, exercício físico, estilo de vida e alimentação. Deste modo, a metabolômica tornou-se uma forma relevante para elucidar os processos bioquímicos envolvidos no metabolismo de nutrientes (GUASCH-FERRÉ et al., 2018).

A análise metabolômica avalia e quantifica os metabólitos presentes em diferentes amostras biológicas, como sangue total, soro, plasma, urina, saliva, tecidos, extratos e culturas celulares. O desenvolvimento de equipamentos e técnicas mais sensíveis e exatas, por sua vez, contribuíram para o aumento do número de metabólitos que podem ser identificados e quantificados em uma única análise, permitindo dessa forma o monitoramento de centenas de compostos ao mesmo tempo (CLAUS e SWANN, 2013).

Os materiais biológicos, tais como soro, plasma e urina, são os fluidos biológicos mais utilizados em estudos de metabolômica nutricional. Uma das principais diferenças entre o plasma e a urina é que a última contém maior

concentração de compostos que não são nem metabolitos e nem nutrientes (que representam informações ou ruídos que não contribuem para a análise). No entanto, a maioria dos metabolitos da urina são excretados mais rapidamente do que os do plasma e podem servir como marcadores agudos de alimentos consumidos com frequência. Por exemplo, o consumo de frutas cítricas pode ser identificado pela determinação da substância betaína-prolina na urina, todavia a sua excreção ocorrerá em 14h após a ingestão (HEINZMANN et al., 2010). O sangue, por outro lado, contém maior concentração de compostos metabolicamente ativos. Outra vantagem é que os metabolitos lipossolúveis estão presentes apenas no plasma, e não na urina (GUASCH-FERRÉ et al., 2018).

Na análise metabolômica de abordagem ampla e inespecífica, as amostras biológicas são submetidas a varredura, sem que se conheça quais substâncias ou metabolito serão encontrados (ASTARITA e LANGRIDGE, 2013). Este tipo de análise metabolômica é utilizada quando se deseja identificar a composição molecular dos alimentos ou caracterizar fenótipos metabólicos de um indivíduo, bem como investigar os resultados das intervenções nutricionais no metabolismo humano. Geralmente, é possível identificar novos metabolitos cujas características químicas e metabólicas devem ser confirmadas posteriormente. (CHALECKIS et al., 2014).

A análise metabolômica alvo é uma abordagem quantitativa de metabolitos conhecidos, determinados por meio de substâncias de referência, podendo utilizar bancos de dados (websites) para a sua identificação. Este tipo de análise é realizado a partir de metabolitos específicos, associados a uma determinada via metabólica já conhecida. Os exemplos desses metabolitos específicos são aminoácidos, ácidos graxos, fosfolipídeos e acilcarnitinas cujas concentrações alteradas podem revelar a modificação das vias metabólicas (Quadro 1) onde essas substâncias estão

envolvidas. (AGIN et al., 2016). Para tanto, encontra-se a disponibilidade comercial de kits para a determinação de metabólitos por meio da metabolômica alvo, tornando viável a sua aplicação em estudos populacionais e de intervenção.

Quadro 1 – Metabólicos usados em pesquisa clínica.

Biomarcadores	Mecanismos Metabólicos Envolvidos	Relevância Clínica
Acilcarnitinas	Ciclo de Krebs Beta-oxidação dos Lipídios	Podem estar associado a cetose, estresse oxidativo e apoptose
Aminoácidos	Metabolismo de aminoácidos Ciclo da Ureia Metabolismo de Neurotransmissor	Podem indicar alteração da gliconeogênese ou glicólise. Sugerem a presença de resistência à insulina, diabetes tipo 2 e obesidade.
Aminas Biogênica	Proliferação de células	Estão relacionadas às desordens neurológicas, estabilidade do DNA e estresse oxidativo.
Fosfatidilcolinas, Lisofosfatidilcolinas Esfingomielinas	Metabolismo de Lipídios	Estão relacionados à dislipidemia, alteração da atividade da enzima dessaturase e danos à membrana celular.

Fonte: Biocrates, 2018.

A partir da obtenção de dados de metabolômica, é possível a determinação de perfil metabólico, que auxilia para a compreensão sobre o estado de saúde de um indivíduo ou dos resultados de uma intervenção nutricional específica. Portanto, a metabolômica pode contribuir muito para as pesquisas na área da nutrição, e denota uma área de conhecimento denominada metaboloma nutricional (RANGEL-HUERTA e GIL, 2016).

2.2 CLASSIFICAÇÃO DE OBESO METABOLICAMENTE SAUDÁVEL POR MEIO DE INDICADORES METABÓLICOS

Obeso metabolicamente saudável é um termo usado para indicar indivíduos com índice de massa corporal (IMC) maior que 30 kg/m² e que não apresentam alterações metabólicas que desencadeiam doenças crônicas (KRAMER et al., 2013). Os indicadores fisiológicos e bioquímicos que caracterizam essas alterações são aquelas utilizadas para classificar a síndrome metabólica (MARTÍNEZ-LARRAD et al., 2014). Embora um indivíduo com obesidade possa ser classificado como metabolicamente saudável, essa condição não lhe garante ausência de alterações metabólicas futuras e o desenvolvimento de doenças (BATCH et al., 2013).

O metabolismo é um sistema complexo de reações cujas alterações podem provocar doenças. Identificar tais alterações não é uma atividade simples. Todavia, indicadores bioquímicos e fisiológicos podem revelar problemas com o metabolismo, capazes de provocar doenças (NAVARRO et al., 2015). A alteração de mais de um indicador bioquímico pode apontar desequilíbrios de vias metabólicas, que podem complicar o estado de saúde do indivíduo (KRAMER et al., 2013; MARTÍNEZ-LARRAD et al., 2014).

Os indicadores bioquímicos são uma alternativa para avaliar o estado metabólico de um indivíduo, mas não consegue estabelecer o início da alteração. A glicemia é um fator associado ao metabolismo da glicose, cuja concentração aumentada está relacionada com diabetes. O perfil lipídico, por exemplo, se mostra adequado para distinguir o estado alterado do metabolismo lipídico. A lipidemia pode variar com a alimentação consumida em 24 horas e não representar uma alteração do metabolismo por um período longo. A elevada concentração de lipídios pode

incrementar as chances de ocorrer problemas cardiovascular, como aterosclerose (GRUNDY, 2004). Porém, esse quadro metabólico não é fácil de identificar pelas análises bioquímicas atuais, pois as mudanças metabólicas ocorrem função de alterações genômicas, que refletem na concentração de metabólitos (NAVARRO et al., 2015). Neste sentido a análise metabolômica é capaz de quantificar e identificar os metabólitos alterados, gerando um perfil metabólico que pode ser usado como indicador que revela as alterações bioquímicas de forma mais precisa e com maior sensibilidade (BATCH et al., 2013).

A quantidade de indicadores para classificar um obeso metabolicamente saudável é divergente, podendo variar de 0 a 2 (KRAMER et al., 2013). É algo que pode ser questionável, uma vez que para um indivíduo ser metabolicamente saudável não deveria ter nenhuma alteração metabólica ou ter hábitos saudáveis, como por exemplo, não ser fumante. Possuir um indicador já demonstraria mudança em alguma via metabólica capaz de desenvolver uma doença crônica (VELHO et al., 2010). Por outro lado, o número de obesos metabolicamente saudáveis é baixo, correspondendo a uma frequência menor que 30% no grupo de indivíduos com obesidade (VELHO et al., 2010; BLÜHER e SCHWARZ, 2014; MARTÍNEZ-LARRAD et al., 2014). Além disso, a maioria dos indivíduos apresentam no mínimo um fator alterado, refletindo a baixa frequência de indivíduos sem nenhum tipo de alteração. Poucos estudos utilizaram um ou nenhum fator para classificar os indivíduos como metabolicamente saudáveis (ROBERSON et al., 2014).

O desenvolvimento da metabolômica foi capaz de apresentar novos marcadores ou indicadores para as alterações metabólicas. O principal metabolito que está associado a obesidade e às mudanças metabólicas é o grupo dos aminoácidos, especialmente os aminoácidos de cadeia ramificada (BATCH et al.,

2013). O ganho de peso corporal mostrou associação com esse grupo de aminoácidos, bem como a resistência à insulina. Os aminoácidos de cadeia ramificada são capazes de modular a síntese de insulina e sua atividade fisiológica. Consequentemente, estariam relacionadas com o surgimento da diabetes *melitus* e com doenças relacionadas com o metabolismo (NEWGARD et al., 2009).

Os aminoácidos de cadeia ramificada demonstraram forte associação com o o ciclo do ácido cítrico e a beta oxidação, demonstrando ser um indicador para classificar obesos metabolicamente saudáveis. Independente da fonte de classificação dos indicadores utilizados para classificar esses indivíduos, os aminoácidos de cadeia ramificada foram os mais assertivos e frequentes como marcadores capazes de diferenciar um indivíduo com alteração metabólica (BATCH et al., 2013). De certa forma, com a aplicação da metabolômica seria possível identificar a mudança metabólica em qualquer indivíduo, sendo obeso ou não. Portanto, o termo adequado seria individuo metabolicamente saudável e não, obeso metabolicamente saudável. Afinal, este último não será metabolicamente saudável, porque as manifestações metabólicas poderão acontecer em 10 anos, como indicam os estudos de coorte (KRAMER et al., 2013). Ainda, vale ressaltar, que as alterações metabólicas ocorrem independente do IMC, podendo ocorrer comorbidades. e doenças crônicas (KRAMER et al., 2013; MARTÍNEZ et al, 2014). Com os metabolitos seria possível identificar previamente uma alteração metabólica e propor medidas de prevenção para o evitar o desenvolvimento de doenças crônicas ou comorbidades.

2.3 A OBESIDADE E O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS

A obesidade tornou-se um problema epidêmico, atingindo quase todos os países do mundo. Segundo a OMS (WHO, 2014b), cerca de 2,8 milhões de pessoas morrem a cada ano em função do sobrepeso corporal ou de obesidade. Em 2008, o número de pessoas com sobrepeso no mundo era de 1,4 bilhões, sendo a metade de obesos. Já em crianças, esse número era de 40 milhões no mesmo ano (WHO, 2014b), as quais poderão se tornar adultos obesos, com risco de desenvolver diabetes e doenças cardiovasculares. Neste sentido, a sociedade e as instituições governamentais e não governamentais têm papel fundamental no seu combate e prevenção.

O índice de massa corporal, obtido pela relação entre o peso corporal (kg) e o quadrado da altura (m^2), é o indicador antropométrico mais utilizado para classificar a obesidade ($IMC \geq 30kg/m^2$) (WHO, 2014). Todavia, outros indicadores antropométricos têm sido apresentados para indicar os distúrbios metabólicos (RIBEIRO-SILVA et al., 2014). Estudos apontam que os indicadores de obesidade central, como a circunferência da cintura, razão cintura/estatura e razão cintura/quadril, são melhores para predizer os problemas metabólicos do que o IMC (ASHWELL et al., 2012). Os indicadores antropométricos, especialmente o IMC, podem sofrer variação em função da etnia, sexo e idade (CORELLA e ORDOVÁS, 2015). GOH e colaboradores (2004) demonstraram que o emprego do IMC na população asiática apresentou alto índice de falso positivo ou falso negativo para obesidade, usando o exame de densitometria óssea por absorção de raios-X de dupla energia (DXA), como referência. Os autores sugeriram que o mais adequado seria ajustar a classificação do IMC para cada população ou ter um outro método para melhor classificar o indivíduo obeso.

Os mecanismos que levam o surgimento de doenças crônicas por conta da obesidade não estão totalmente elucidados. Os estudos relacionados ao metaboloma podem ser um caminho para compreender a obesidade e propor medidas mais eficazes para combatê-la. Os aminoácidos, por exemplos, estão envolvidos em ciclos metabólicos e podem indicar o desenvolvimento de doenças, caso a sua concentração plasmáticas esteja alterada. (ZHANG et al., 2013; BADOUD et al., 2014; BOULET et al., 2015; CHEN et al., 2016).

Os aminoácidos de cadeia ramificada (isoleucina, leucina, valina) parecem ser os metabólitos mais frequentes nos distúrbios metabólicos. De acordo com o estudo de BATCH e colaboradores (2013), os aminoácidos de cadeia ramificada foram capazes de indicar os indivíduos com problemas cardiovasculares, independente do IMC. Foram estudados 1872 indivíduos, sendo 410 eutróficos (IMC < 25), 610 com sobrepeso (IMC entre 25 e 30) e 852 obesos (IMC > 30). Os indivíduos foram distribuídos em dois grupos de acordo com os indicadores bioquímicos: com riscos e sem riscos cardiovasculares. Foram avaliados 55 metabólitos, sendo que os aminoácidos de cadeia ramificada e as acilcarnitinas foram capazes de distinguir os indivíduos com riscos daqueles sem riscos cardiovasculares, independentemente do IMC. Ao realizar a análise de forma estratificada (eutrófico, sobrepeso, obeso), os aminoácidos de cadeia ramificada e as acilcarnitinas de cadeia curta mantiveram a significância estatística para diferenciar os indivíduos obesos saudáveis e não saudáveis. A alteração da concentração desses metabólitos pode indicar alteração metabólica capaz de provocar doenças relacionadas ao metabolismo, como obesidade, resistência a insulina, diabetes tipo 2 e, consequentemente, síndrome metabólica.

MORRIS e colaboradores (2012) realizaram revisão da literatura para identificar relação entre os aminoácidos, especialmente os aminoácidos de cadeia ramificada, a obesidade e a resistência a insulina. A conclusão foi que há forte relação entre os aminoácidos de cadeia ramificada, resistência à insulina e diabetes, em indivíduos obesos. Entretanto, o mecanismo que leva ao aumento de aminoácidos de cadeia ramificada circulante ainda não foi descrito. Os autores acreditam que mais pesquisas devam ser realizadas para compreender o papel dos aminoácidos de cadeia ramificada na resistência à insulina, e com isso poderão ser usados como marcadores bioquímicos para avaliar o risco do indivíduo desenvolver diabetes.

RAUSCHERT e colaboradores (2014) verificaram a associação entre o perfil de aminoácidos, lipídios e carnitinas e obesidade. Identificaram-se 4 grupos de metabólitos que poderiam ser usados como biomarcadores para obesidade, foram eles: acilcarnitinas, aminoácidos de cadeia ramificada, outros aminoácidos e lipídios. Foi possível apontar os metabólitos mais frequentes nos estudos sobre obesidade: aminoácidos de cadeia ramificada (isoleucina, leucina, valina), outros aminoácidos (glicina, fenilalanina, tirosina), carnitinas (de cadeias curtas e longas), lisofosfatidilcolina e os ácidos graxos de cadeias longas saturadas e insaturadas. Esses biomarcadores também foram capazes de indicar resistência a insulina e diabetes tipo 2. Foi possível concluir que os aminoácidos de cadeia ramificada e as carnitinas de cadeia pequena (3 a 5 carbonos) parecem aumentados nos indivíduos obesos, bem como, os metabólitos lipídicos de cadeia longa saturados e monoinsaturados.

2.4 O METABOLOMA COMO BIOMARCADOR PARA ESTUDAR O CONSUMO ALIMENTAR

A análise metabolômica é relevante para as investigações em nutrição, porque permite avaliar ou monitorar o consumo alimentar de indivíduos e populações, considerando os componentes alimentares, a qualidade alimentar e as intervenções nutricionais. A metaboloma vem estreitar a relação entre os mecanismos metabólicos e as ciências nutricionais (KOLETZKO et al., 2009). Portanto, possibilita uma compreensão das implicações e alterações no metabolismo, provocadas por padrões alimentares, alimentos, nutrientes e compostos bioativos de alimentos em diferentes condições fisiológicas ou diferentes genótipos (GIBBONS et al., 2015).

Quando se avalia o perfil metabolômico de indivíduos saudáveis e sua dieta, pode-se realizar a comparação com o perfil metabólico de indivíduos não saudáveis e, conseqüentemente, verificar a influência de intervenções nutricionais. Isto permite estabelecer padrões de alimentação que possam promover a saúde de indivíduos ou de determinadas populações (KOHLMEIER et al., 2016).

Os seres humanos consomem os metabólitos dos próprios alimentos, por exemplo, o metaboloma do tomate ou da carne bovina. Portanto, o metaboloma humano contém frações desses metabolomas, parcialmente transformados após a ingestão, e que fazem parte do metaboloma alimentar. O metaboloma alimentar é definido como a soma de todos os metabólitos diretamente derivados da digestão de alimentos, da sua absorção no intestino e da biotransformação ocasionada por reações nos órgãos e tecidos, bem como pela microbiota (CLAUS, SWANN, 2013; SCALBERT et al., 2014). Assim sendo, o perfil metabólico humano é influenciado

tanto pelo metaboloma alimentar quanto endógeno. O metaboloma endógeno inclui todos os metabólitos próprios do hospedeiro cujas variações são decorrentes dos efeitos metabólicos da dieta ou do ambiente, os quais podem influenciar a saúde humana (SCALBERT et al., 2014). O perfil metabolômico pode apontar a variabilidade intrínseca ao metabolismo por identificar e quantificar os metabólitos ou componentes específicos de alimentos, refletindo verdadeiramente a ingestão e o possível mecanismo pelo qual a alimentação influencia o estado de saúde ou de doença (GUERTIN et al., 2014).

Os estudos populacionais longitudinais, são adequados para estudar o efeito da dieta nos perfis de metabólitos (GUASCH-FERRÉ et al., 2018). Um exemplo foi o estudo de PEREZ-CORNAGO e colaboradores (2014), que avaliaram as mudanças metabólicas de indivíduos adultos obesos, em função do consumo de dieta restrita em calorias, por um período de 8 semanas. Os resultados demonstraram que os sujeitos da pesquisa apresentaram diminuição do peso corporal e melhora nos indicadores de glicemia e lipidemia. A análise metabolômica demonstrou que a quantidade de ácidos graxos de cadeia saturada diminuiu significativamente com a intervenção dietética. O mesmo foi observado com a quantidade de aminoácidos de cadeia ramificada circulante. Portanto, os autores comprovaram que a perda de peso corporal, em função do consumo da dieta hipocalórica, mudou o perfil metabólico dos indivíduos adultos obesos.

Os estudos populacionais transversais são capazes de identificar metabólitos específicos de alimentos ou grupos de alimentos, diferenciando os consumidores dos não consumidores (GUASCH-FERRÉ et al., 2018). Esse tipo de estudo é mais frequente na literatura, como o de BOUCHARD-MERCIER e colaboradores (2013), que verificaram a relação entre o padrão dietético e o perfil metabólico composto por

aminoácidos e acilcarnitinas. Participaram da pesquisa 210 indivíduos adultos, de ambos os sexos, e foram identificados dois padrões alimentares: alto consumo de vegetais de frutas, produtos a base de grãos integrais, baixo consumo de gorduras hidrogenadas e produtos refinados; e alto consumo de produtos a base grãos refinados, doces, sobremesas e produtos cárneos. De acordo com os resultados, o segundo grupo de alimentos teve relação positiva e significativa com os metabólitos de aminoácidos acilcarnitinas de cadeias curtas, independentemente da idade, sexo e IMC. Neste sentido, o metabólito isolado ou perfil metabolômico pode ser usado como marcador de consumo.

Os biomarcadores, portanto, são substâncias geradas pelo metabolismo humano, e identificadas em material biológico, em função da exposição a um alimento, por exemplo, ou alteração fisiológica (Quadro 2). Neste sentido, os biomarcadores podem ser classificados como de efeito agudo, intermediário ou crônico. Escolher e padronizar um biomarcador não é uma tarefa fácil, todavia, com o desenvolvimento da metabolômica, abre-se novas possibilidades de selecionar substâncias com as características de identificar o consumo alimentar, a doença ou o estado nutricional de um indivíduo com maior precisão, exatidão, sensibilidade e especificidade (CORELLA e ORDOVÁS, 2015). O uso de biomarcadores nos estudos nutricionais tem importância quando se deseja avaliar a ingestão de alimentos, estado nutricional, exposição a nutrientes, efeitos de intervenções nutricionais nos desfechos fisiopatológicos e prover informações sobre as diferentes respostas que ocorrem entre indivíduos ao consumir uma dieta (JENAB et al., 2009). O metaboloma, obtido tanto pela análise de metabólitos alvo quanto pela não alvos, tem sido apontado como biomarcador para avaliar a exposição a dietas, podendo ser usado para validar as medidas empregadas para identificar o consumo de

alimentos, como o questionário de frequência alimentar e o recordatório de 24h (PUIGGRÒS et al., 2011). Mas, deve-se considerar que alguns biomarcadores podem vir diretamente da dieta e não simplesmente como produtos do metabolismo. Por exemplo, o grau de hidrólise, a fonte e a qualidade da proteína presente no alimento influenciam a concentração de aminoácidos no plasma (ICHIKAWA et al., 2010).

Quadro 2 - Uso e Classificação de Biomarcadores em Estudo Populacional .

Quadro 2 – Uso e Classificação de Biomarcadores em Estado Popacional.					
Classificação	Definição	Biomarcador	Mecanismo / Característica Biológica	Exemplo	Referência
Exposição à Dieta	Avalia a ingestão de diferentes de alimentos, nutrientes ou compostos bioativos.	Quinato	Produto antioxidante de ácido clorogenico	Café	Zheng et al., 2014
		Estaquidrina	Alcalóide	Suco de Fruta	
		2-metil-butirolil-carnitina	Catabolismo de AA	Nozes	
Estado Nutricional	Avalia a ingestão de nutrientes ou o seu metabolismo, podendo indicar a sua interação com outros nutrientes e compostos bioativos.	Carnitinas	Ciclo do Ácido Cítrico	Obesidade	Rauschert et al., 2014
		Aminoácidos AACR	Beta-oxidação		
		Lipídios	Alteração da síntese e oxidação lipídica		
Doença	Avalia os diferentes fenotípicos com o perfil de metabólitos relacionados com a doença	AACR	alteração do catabolismo de AA	Diabetes Tipo 2	Du et al., 2013
		Acido Eicosapentanóico	Metabolismo de ácidos graxos essenciais e de poliinsaturados	Síndrome Metabólica	
		Ácido docosahexanóico			

O'GORMAN e colaboradores (2014) investigaram, em um estudo transversal, a relação entre os padrões de lipidemia e os dados alimentares para identificar biomarcadores. O estudo identificou 6 padrões lipídicos, sendo que o padrão 1

estava associado com a ingestão de ácidos graxos saturados, poli-insaturados e monoinsaturados. Esse padrão foi capaz de discriminar os indivíduos que consumiam baixa e alta quantidade de lipídios. Os metabólitos presentes nesse padrão poderiam ser usados como biomarcadores para classificar os indivíduos quanto ao consumo de lipídios e poderia avaliar a relação entre a dieta e doenças crônicas. O padrão 4, composto basicamente por lisofosfatidilcolina-éter C18:0, foi capaz de identificar os indivíduos que ingeriram álcool. Esse metabólito apresentou mais sensibilidade e especificidade para identificar o consumo de álcool, em relação aos outros marcadores já existentes como atividade da enzima gama-glutamilttransferase, transferrina e volume corpuscular médio de eritrócitos. Foram identificados dois biomarcadores capazes de separar os consumidores de peixes, dos não consumidores: lisofosfatidiletanoamina C18:2 e fosfatidiletanoacilamina C38:4. O primeiro teve associação positiva e o segundo, negativa, para consumo de peixe.

Outro estudo transversal examinou a relação entre o consumo de carne vermelha e de pão integral nos biomarcadores relacionados ao metabolismo da glicose, estresse oxidativo, inflamação e obesidade (MONTONEN et al., 2013). Os autores verificaram que o alto consumo de carne vermelha estava associado ao aumento moderado de gama-glutamilttransferase e proteína C reativa; já o consumo elevado de pão integral diminuiu a concentração de gama-glutamilttransferas, alanina-aminotransferase e proteína C reativa. Os autores concluíram que a relação entre carne vermelha e proteína C reativa era dependente da obesidade e que o consumo de pão integral foi capaz de modificar o biomarcador proteína C reativa, aumentado pelo consumo de carne vermelha. Sugeriram, ainda, a hipótese de que

os fatores dietéticos modulam os biomarcadores, porque interferem nas reações metabólicas.

FLOEGEL e colaboradores (2013) reportaram a alteração do metaboloma em função da dieta consumida pela população de Postdam, Alemanha, que faziam parte do estudo coorte EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition). Eles foram capazes de identificar 127 metabólitos relacionados ao consumo alimentar de 45 tipos de alimentos. Foram identificados dois padrões alimentares que explicavam as variações metabólicas. No primeiro padrão foi possível verificar que a classe acilcarnitinas tinha alta associação com manteiga e baixa, com margarina. As carnitinas de cadeia carbônica saturada e insaturadas apresentavam associação alta e baixa para manteiga e margarina, respectivamente. Os aminoácidos estavam relacionados positivamente com produtos lácteos, sobremesa, cereais matinais de milho, batatas e vegetais crus e, negativamente, com sopas, refrigerantes e suco de frutas. Os aminoácidos com maior carga fatorial foram os neutros de cadeia longa (aminoácidos de cadeia ramificada, fenilalanina, tirosina, triptofano). Os metabólitos derivados de lipídios corresponderam aos de cadeia carbônica monoinsaturada (diacil-lisofosfatidilcolinas, diacil-alquil-lisofosfatidilcolinas) e poli-insaturada (lisofosfatidilcolinas e esfingomielinas). No segundo padrão, as acilcarnitinas eram de cadeia longa saturada e estavam relacionadas positivamente com cereais matinais de milho e “crisps”. Os aminoácidos relacionavam-se positivamente com frutas enlatadas, bolos, biscoitos, batatas fritas e legumes, representado principalmente pelo aminoácido serina. Quanto aos metabólitos lipídicos, destacaram-se esfingomielinas de cadeias monoinsaturadas que apenas se relacionaram negativamente com os produtos lácteos com alto teor de gordura, bolos, doces, pão branco e manteiga. De acordo

com os resultados encontrados, o padrão de consumo que mais contribuiu para a variação do metaboloma foi o que continha os alimentos: manteiga, margarina, pão integral, chá, café, carne vermelha, peixe e produtos lácteos.

2.5 A RELAÇÃO ENTRE MANGANES E OBESIDADE

O átomo manganês, cujo símbolo é Mn, pertence ao grupo 7B da tabela Periódica, com o número atômico igual a 25 e massa atômica, 55. Portanto, é um elemento de transição, metálico, com diversos estados de oxidação, que lhe permite desempenhar função de oxidante ou redutor dependendo da reação química. É 12º elemento mais encontrado na crosta terrestre, na forma de diferentes compostos químicos. No reino vegetal e animal, o Mn também está presente e tem a função de cofator enzimático. O Manganês é um mineral de importância nutricional por ser cofator de várias enzimas que participam do metabolismo, especialmente aqueles presentes nas mitocôndrias (ZHOU et al., 2016).

O corpo humano apresenta aproximadamente 12 mg do elemento manganês, sendo encontrado principalmente em vísceras como o fígado e o pâncreas, participando da estrutura de metaloenzimas dos grupos das hidrolase, oxirredutases, transferases, liases, isomerases (BURCH et al., 1975; SÁNCHEZ et al., 2010; MONTANO et al., 2009). O micronutriente apresenta uma baixa biodisponibilidade, sendo absorvido por meio do trato gastrointestinal por volta de 7% do total ingerido de uma dieta regular de 17 mg/kg corpóreo. Por apresentar diversos estados oxidativos, a sua absorção pode ser afetada pela ingestão de ferro e cálcio (ZHOU et al., 2016). A sua deficiência pode acarretar problemas no metabolismo humano e

no sistema locomotor. É transportado pela beta-globulina e metabolizado no fígado, portanto, a sua principal via de excreção é o sistema biliar. Uma vez que este sistema de excreção não funciona adequadamente, a intoxicação pelo elemento químico pode ocorrer, atuando principalmente no sistema nervoso central. Os efeitos da intoxicação podem levar a anorexia, apatia, insônia, alucinações e provocar sintomas semelhantes à síndrome de Parkinson (BAKER et al., 2017).

Em função dos vários estados de oxidação do Mn, o elemento é utilizado pelo sistema biológico para promover a oxirredução do oxigênio, inclusive para proteger o tecido contra o estresse oxidativo provocado por este último elemento. Ou seja, o Mn faz parte das enzimas superóxido dismutases que catalisam os superóxidos e peróxido de hidrogênio (MONTANO et al., 2009).

A ingestão diária recomendada de manganês é de 2,3 mg para homens acima de 19 anos e 1,8 mg, para mulheres (acima de 19 anos) segundo Instituto de Medicina (E.U.A) (Institute of Medicine, 2001). Para atingir o IDR de manganês, o consumo de alimentos vegetais é fundamental, pois estes são a principal fonte do oligoelemento em questão. Os principais grupos alimentos vegetais fonte deste mineral são os cereais, leguminosas e sementes. As frutas são os vegetais que apresentam menor concentração de manganês. As plantas cujas folhas são utilizadas para a preparação de infusões possuem concentrações consideráveis manganês, como por exemplo, o mate, podendo ser uma interessante fonte do mineral (BUCH et al., 1975).

Estudos indicam que o baixo consumo de manganês pode estar relacionado com a obesidade e síndrome metabólica, por comprometer o funcionamento das enzimas relacionadas às vias metabólicas como as do ácido cítrico e beta-oxidação

(SÁNCHEZ et al., 2010; CHOI E BAE, 2013; SALEHI-ABARGOUEI et al., 2016; ZHOU et al., 2016; MATTISON et al., 2017). Todavia, não foi reportado a associação entre manganês, perfil metabolômico de aminoácidos e consumo alimentar. A análise metabolômica tem sido empregada para avaliar a alteração metabólica em função da exposição ao manganês para estudar os seus efeitos tóxicos sobre o organismo (BAKER et al., 2017; HUI et al., 2017).

3. JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

O metabolismo humano pode sofrer influência de vários fatores intrínsecos e extrínsecos, gerando um estado de saúde ou de doença. O ganho de peso reflete o aumento de ingestão calórica e de nutrientes, bem como o baixo gasto energético decorrente do sedentarismo ou da prática insuficiente de atividade física. Este quadro altera as vias bioquímicas, estabelecendo um padrão metabólico que pode provocar doenças crônicas não degenerativas.

As mudanças metabólicas também podem ocorrer por conta do baixo consumo de um micronutrientes. Afinal, vitaminas e minerais são cofatores de enzimas que participam no anabolismo e catabolismo de metabólitos. Estudos epidemiológicos que abordam o consumo alimentar, geralmente baseados em registros ou recordatórios alimentares, podem apresentar viés por conta do método empregado e pela omissão de informações fornecidas pelos sujeitos da pesquisa. A análise por meio de estudos de metabolômica tem potencial para minimizar esses erros, identificando biomarcadores dietéticos e possibilitando a confirmação das informações coletadas.

A alteração do metabolismo pode ser avaliado pela análise dos metabólitos que participam das vias bioquímicas, como por exemplo, os aminoácidos. Estes últimos são um conjunto de metabólitos interessantes de serem estudados porque fazem parte de várias vias metabólicas, especialmente do ciclo do ácido cítrico (Anexo 1). Neste sentido, a análise metabolômica pode ajudar a esclarecer os mecanismos das doenças crônicas não degenerativas, pois se fundamenta no estudo dos produtos gerados pelo metabolismo.

Portanto, avaliar a o perfil metabolômico em função do IMC pode contribuir para o esclarecimento das alterações metabólicas que ocorrem nos indivíduos

obesos. Isso permitiria ter meios mais eficazes para o monitoramento e estabelecimento de estratégias para prevenir e diagnosticar doenças que ocorrem em função da obesidade, como por exemplo, a resistência insulínica.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Averiguar a associação entre o perfil metabolômico de aminoácidos, a ingestão dietética de manganês e o estado nutricional em adultos participantes do Inquérito de Saúde no município de São Paulo, Brasil.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Analisar o padrão metabolômico de aminoácidos como biomarcador de alterações metabólicas.
- 2) Investigar a associação entre o perfil metabolômico de aminoácidos e o estado nutricional, com ou sem alteração metabólica.
- 3) Identificar o padrão alimentar que apresenta associação com as alterações metabólicas relacionadas ao perfil metabolômico de aminoácidos.
- 4) Estabelecer a associação entre o consumo do elemento manganês e o perfil metabolômico de aminoácidos.

5 MATERIAL E MÉTODO

5.1 INQUÉRITO DE SAÚDE NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO – ISA-CAPITAL

O Inquérito de Saúde no Município foi desenvolvido para realizar diversos estudos relacionados ao estado de saúde e utilização de serviços de saúde. Os dados levantados ajudariam a definir políticas públicas na área da saúde e o melhor planejamento das ações político-administrativas no setor. O Inquérito de Saúde ISA-Capital foi realizado em 2003, 2008 e 2014, pela Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo em parceria com a Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Os dados obtidos pelo ISA-Capital 2008 foram utilizados nesta pesquisa, bem como as amostras de sangue coletadas durante o período de 2008 e 2009. Trata-se de estudo transversal de base populacional, cujos dados foram obtidos pelo inquérito domiciliar.

O tamanho da amostra do ISA-Capital foi calculado considerando a variabilidade máxima de “p” igual a 0,50, efeito de delineamento igual a 2, aceitando a precisão 95%, com erro máximo de 7%. O número estimado de indivíduos a serem entrevistados foi de 400 para cada domínio no município de São Paulo. Os domínios amostrais se constituíram pelos grupos de faixa etária e sexo. Os grupos de faixa etária foram 1 a 11 anos, 12 a 19 anos; 20 a 59 anos; 60 anos e mais. Porém, foram sorteados 500 indivíduos para cada domínio, levando em consideração a proporção de cobertura e resposta de 80%, que totalizaram 3000 indivíduos que participariam do inquérito de saúde.

O total de indivíduos que participaram do inquérito de consumo alimentar foi de 2298, sendo 813 com idades entre 12 a 19 anos; 743 entre 20 e 59 anos e 742 entre 60 e 101 anos. Os dados foram coletados entre março de 2007 e agosto de 2008.

5.2 COLETA DE SANGUE E ANÁLISE BIOQUÍMICA

As amostras de sangue foram coletadas no domicílio com agendamento prévio de acordo com a disponibilidade do participante no período de 2008 e 2009, após a coleta do segundo recordatório e da aplicação do questionário de frequência alimentar, com um intervalo de 7 dias. Foi realizada a punção venosa por profissionais de enfermagem que utilizaram procedimentos padronizados. O sangue total foi recebido em tubos secos contendo EDTA (ácido etileno-diamino-tetra-acético), totalizando um volume de 20 mL. As mostras de sangue foram transportada ao laboratório, em isopor com gelo reciclável, para obtenção do plasma, que foram enviadas ao laboratório terceirizado para a realização das análises bioquímicas. As concentrações sanguíneas de glicose, insulina, triglicerídeos, colesterol total e frações foram realizadas por meio do empregando de kits de análises enzimáticas e espectrometria, no período compreendido entre 2009 e 2014. Alíquotas de plasma foram separadas e armazenadas a -80° C para posterior análise metabolômica em 2015.

Foram coletadas 750 amostras de sangue em 2009, sendo que 561 se tratavam de indivíduos adultos (idade >18 anos) com inquérito de saúde completo, os quais foram distribuídos em quintis de acordo com o consumo de aminos

heterocíclicas, baseando-se no estudo de Carvalho e colaboradores (2016) que investigaram a relação deste composto amina com câncer. Por conveniência, foram selecionados 73 indivíduos adultos do primeiro quintil (média = 0 ng/d), 73 do último quintil (média=1537 ng/d) e 23 dos quintis intermediários, desde que os valores de consumo de aminas heterocíclicas ficassem entre os limites do Intervalo de Confiança 95% (IC 95% = 310 a 430 ng/d; média=370 ng/d). Um indivíduo foi excluído porque apresentou resultado de triglicerídeos de 1.500 mg/dL, sendo que os demais apresentaram valores abaixo de 900mg/dL. Desde modo, totalizaram-se 168 indivíduos (Figura 1) cujas características de seleção foram consideradas nas análises estatísticas.

Figura 1 – Fluxograma de obtenção da amostra para o estudo metabolômico, por número de indivíduos, em função do consumo de aminas heterocíclicas(*).

5.3 A ANÁLISE METABOLÔMICA

As amostras de sangue foram recebidas e processadas no laboratório da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, fracionadas, devidamente identificadas e armazenadas a temperatura -80° C. Uma alíquota de 10 a 20 microlitros de plasma foi submetida à análise para a identificação de 41 tipos de acilcarnitinas, 91 glicerofosfolipideo, 15 esfingomielinas, 21 aminoácidos e 20 aminas biogênicas, utilizando o kit AbsoluteIDQ™p180 da Biocrates Life Science AG (Innsbruck, Áustria). Foi utilizada a espectrometria de massa como método analítico para determinar os metabólitos em plasma sanguíneo (BOUCHARD-MERCIER et al., 2013). Os metabólitos que ficaram abaixo ou acima do limite de detecção estabelecido pelo método, foram descartados (GUERTIN et al., 2014). Os resultados foram expressos em micromol/L (μM).

5.4 INQUÉRITO ALIMENTAR

5.4.1 Recordatório Alimentar de 24h

O consumo alimentar do ISA-Capital foi estimado por meio do recordatório de 24 horas (R24h) que foi aplicado por entrevistadores treinados. As informações sobre os alimentos e bebidas foram coletadas de forma detalhada, incluindo o modo de preparo dos alimentos e a marca comercial dos alimentos industrializados consumidos, sendo utilizadas as medidas caseiras para verificar a quantidade de alimentos ingeridos. A coleta desses dados foi feita de tal forma que tivesse R24h de todos os dias da semana, todas as estações do ano. O R24h foi aplicado em 2008 e 2009, seguindo o método de *Multiple-Pass Method* (RAPER et al., 2004) . O controle

de qualidade das informações o R24h foi feito durante a coleta de dados para verificar possíveis erros de registro. Essa avaliação foi feita de forma não consecutiva em diferentes dias da semana (CASTRO et al., 2015).

As medidas caseiras indicadas no R24h foram convertidas para gramas ou mililitros conforme PINHEIROS et al. (2000) e FISBERG E VILLAR (2002). Os erros encontrados nos R24h foram corrigidos por meio de verificação com o entrevistador. Os dados foram incluídos no programa *Nutrition Data System for Research* (NDS-R, versão 2007, Nutrition Coordinating Center [NCC], University of Minnesota, Minneapolis, Mn) para a determinação de energia e nutrientes consumidos. Quando ocorria inconsistência nos dados dietéticos, os respectivos R24h eram revistos e redigitados, para a confirmação dos resultados, mas não excluídos.

A estimativa da ingestão habitual dos nutrientes foi obtida por meio do programa Multiple Source Method (MSM) que permitiu estimar as distribuições do consumo, atenuando os efeitos da variação intraindividual, tendo duas medidas dietéticas disponíveis por indivíduo (HAUBROCK et al, 2011). Os dados obtidos nesta etapa foram utilizados para determinar o alimento contribuinte de manganês. A ingestão de manganês foi ajustado pela energia, empregando o método dos resíduos (WILLETT et al., 1997).

5.4.2 Questionário de Frequência Alimentar

A investigação sobre o padrão alimentar da população estudada foi baseada no questionário de frequência alimentar para o estudo ISA, desenvolvido a partir do recordatório de 24h de 1.477 adultos de diferentes estratos sociais. Foram relatados

1040 alimentos e preparações alimentícias que foram agrupados em 67 itens homogêneos, seguindo as características e perfil de nutrientes, de acordo com a tabela de composição (FISBERG et al., 2008; SELEM et al., 2014).

Os 67 itens do questionário de frequência alimentar foram reagrupados, obtendo 38 grupos de alimentos para serem utilizados na análise fatorial para estabelecer os padrões alimentares. Os grupos de alimentos foram: (1) pão, (2) margarina/manteiga, (3) café (com açúcar), (4) leite, (5) iogurte, (6) queijos, (7) biscoito (com e sem recheio), (8) bolo, (9) arroz, (10) feijão, (11) macarrão (incluindo lasanha e nhoque), (12) carne bovina, (13) carne suína, (14) carne de frango, (15) carne de peixe, (16) linguiça fresca, (17) carne seca/carne de sol, (18) embutidos cárneos, (19) defumados, (20) salsicha, (21) hambúrguer, (22) ovo, (23) batata/mandioca/polenta frita, (24) batata/mandioca/polenta cozida, (25) farinha de mandioca/farofa (de aveia/tapioca), (26) verduras, (27) legumes (inclusive tomate), (28) frutas, (29) suco de fruta natural, (30) suco de fruta industrializado, (31) refrigerante, (32) pizza, (33) salgado frito, (34) salgado assado, (35) chocolate/doces/tortas, (36) cerveja, (37) vinho, (38) destilados.

5.4.3 Determinação dos Principais Contribuintes Alimentares de Manganês

Os principais contribuintes alimentares de manganês foi calculado pela razão da ingestão diária do micronutriente proveniente de um grupo alimentar pela ingestão total de manganês de todos os alimentos, multiplicado por 100. A quantidade do micronutriente foi também expressa em mg/100g de alimento e por

mg/porção. Utilizou-se a mediana da porção como base do cálculo da quantidade de manganês na porção.

5.5 OBTENÇÃO DAS VARIÁVEIS

As variáveis sexo, idade, etnia, renda familiar per capita, prática de atividade física e uso de medicamentos foram obtidas pelo questionário socioeconômicos e de saúde do ISA 2008 (Quadro 3). Os dados foram obtidos por meio do auto relato.

Quadro 3 – Variáveis empregadas que foram obtidas do ISA 2008.

<i>Variáveis Contínuas</i>	<i>Unidades</i>
Idade	anos
IMC	kg/m ²
Circunferência da Cintura	cm
Renda Familiar Per Capita	Reais (R\$)
Consumo de Lipídios	g/dia
Consumo de Carboidratos	g/dia
Consumo de Proteínas	g/dia
Consumo de Calorias	Kcal/dia
Glicemia	mg/dL
Trigliceridemia	mg/dL
Colesterolemia e frações	mg/dL
Insulinemia	μUI/mL
Aminoácidos	μM

Quadro 3 – Variáveis empregadas que foram obtidas do ISA 2008 (cont.).

<i>Variáveis Categóricas</i>	<i>Categorias</i>
Estado Nutricional	Eutrófico, Sobrepeso, Obeso
Etnia	Branco, não branco
Sexo	Feminino, Masculino
Atividade Física	Ativo, Insuficientemente Ativo
Medicamento	Uso, Não Uso

A dieta, o consumo calórico e de nutrientes foram obtidos pelo R24h. A variável “atividade física” foi obtida de acordo com o grau de atividade física avaliada pelo “Questionário Internacional de Atividade Física”, versão 8 (ZAITUNE et al., 2010). O instrumento utilizado permitiu mensurar o grau de atividade física global, sem discriminá-lo quanto ao contexto de trabalho, locomoção, doméstica e lazer. Neste sentido os indivíduos foram classificados como:

- a) sedentário: não realiza nenhum tipo de atividade física;
- b) insuficientemente ativo: realiza atividade física por pelo menos 10 minutos por semana;
- c) ativo: realiza três ou mais dias de atividade física por semana, de forma vigorosa por pelo menos 20 minutos por sessão; ou realiza cinco ou mais de dias da semana de atividade física moderada por sessão;
- d) muito ativo: realiza cinco ou mais dias de atividade física por semana de forma vigorosa, pelo menos 30 minutos por sessão; ou realiza três dias ou

mais por semana de atividade física vigorosa de pelo menos 20 minutos por sessão, somada a outras atividades moderadas como caminhada de 30 minutos.

Para este estudo, a variável atividade física foi empregada na forma binária de acordo com Zaitune e colaboradores (2010). Portanto, os indivíduos foram classificados como insuficientemente ativo, sendo aqueles classificados como sedentário e insuficientemente ativo; e ativo, os que foram identificados como ativo e muito ativo.

A medição da circunferência abdominal foi realizada pelo profissional enfermeiro treinado, utilizando uma fita métrica, com o indivíduo mantendo a posição em pé, com a coluna ereta, olhando para frente, sem contrair ou expandir o abdômen. As medidas foram feitas em duplicata e obtido a média aritmética.

5.5.1 Variável “Metabolicamente Saudável e Estado Nutricional

A variável “metabolicamente saudável” foi construída considerando-se as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica (SOCIEDADE..., 2018), que teve como base o documento publicado pelo *National Cholesterol Education Program* (THIRD REPORT..., 2002). O uso de medicamentos também foi usado para estabelecer esta classificação, mesmo que os indicadores bioquímicos estivessem normais. Os medicamentos considerados neste estudo foram os dos grupos de anti-hipertensivos, diuréticos, hipoglicemiantes orais, hipolipemiantes. Classificaram-se “metabolicamente

saudáveis” os indivíduos que apresentaram até dois indicadores empregados para classificar a síndrome metabólica (Quadro 4). Aqueles classificados como metabolicamente não saudável, por sua vez, exibiram 3 ou mais indicadores alterados, conforme o Quadro 4.

Quadro 4 – Parâmetros empregados para classificar os indivíduos metabolicamente saudáveis ou não, segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica (SM).

Parâmetros	Valores para classificar SM
Circunferência abdominal	Homens(>102 cm) Mulheres (>88 cm)
Triglicerídeos	(≥ 150 mg/dL)
HDL Colesterol	Homens (< 40 mg/dL) Mulheres (<50 mg/dL);
Glicemia de jejum	≥ 110 mg/dL
Pressão Arterial:	≥ 130 mmHg ou ≥ 85 mmHg

A classificação dos indivíduos pelo IMC (Quadro 5) seguiu-se o indicado pela OMS (OMS, 2014b). O IMC foi obtido a partir da avaliação antropométrica de peso e altura durante a visita em domicílio pelos enfermeiros devidamente treinados por protocolo padronizado. O peso corporal foi medido por meio de uma balança eletrônica do tipo plataforma, com capacidade para 150 kg e sensibilidade de 100 g (marca TANITA®). Os indivíduos foram pesados com roupas leves e descalços e posicionados em postura ereta, com os pés inteiramente compreendidos na plataforma da balança, de forma paralela, com braços ao longo ao longo do corpo e olhar no horizonte. A altura, por sua vez, foi aferida pelo emprego de estadiômetro com escala em milímetros, da marca Seca bodymeter 208®, fixado na parede. O indivíduo ficou em pé sem calçados, relaxado, com as costas voltadas para o

estadiômetro, encostando as costas, calcanhar, panturrilha e parte posterior da cabeça na parede. O valor do IMC foi calculado pela divisão do peso corporal (Kg) pela altura elevada ao quadrado (m^2).

Quadro 5 – Classificação do Estado Nutricional segundo Índice de Massa Corporal (IMC).

Estado Nutricional	IMC
Baixo Peso	$< 18,5 \text{ kg/m}^2$
Eutrofia	$\geq 18,5 \text{ a } < 25 \text{ kg/m}^2$
Sobrepeso	$\geq 25 \text{ a } < 30 \text{ kg/m}^2$
Obesidade	$\geq 30 \text{ kg/m}^2$

A pressão arterial foi aferida por meio de aparelho automático calibrado (Omron®, modelo HEM-712C, Health Care, Inc, EUA) durante a segunda visita domiciliar, pelo mesmo técnico de enfermagem responsável pelas medições antropométricas. Esta avaliação foi validada de acordo com os protocolos da Association for Advancement of Medical Instrumentation e Hypertesion Society (GRAVES, 2005) e seguiu as orientações propostas pelas V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (SBC, 2007). A pressão arterial foi medida após 5 minutos de repouso, com o indivíduo na posição sentada, sendo a primeira medição no braço direito e depois o esquerdo, com um intervalo de 1 minuto. A medição foi repetida no braço que apresentava maior pressão arterial, respeitando 1 minuto de intervalo. Os valores finais da pressão sistólica e diastólica foram expressados como média aritmética das duas últimas aferições (FISBERG et al., 2012)

5.5.2 Cálculo de HOMA-IR

O modelo de avaliação da homeostase da resistência insulínica (HOMA-IR) foi usado para identificar os indivíduos com resistência insulínica, levando em consideração a concentração plasmática de glicose e insulina. O HOMA-IR foi calculado pela multiplicação das concentrações de glicose (mg/dL) e insulina (μ UI/mL), com subsequente divisão do produto obtido por fator igual a 405. O valor encontrado não tem unidade. Considerou os valores acima de 2,71 para classificar os indivíduos com resistência insulínica (GENOLEZE et al., 2006).

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

5.6.1 Análise Fatorial por Componente Principal

Os grupos de aminoácidos e os grupos de alimentos foram submetidos à análise fatorial por componente principal. Os valores das variáveis foram transformados em seus respectivos logaritmos naturais, cujos fatores obtidos foram extraídos pela análise de componentes principais, que reconhece os agrupamentos e a relação entre eles pela sua distribuição espacial. O primeiro fator conteve o máximo de variância possível no conjunto de dados, o segundo, independente do primeiro, explicou o máximo possível da variância restante, e assim sucessivamente, sendo que cada componente não esteve correlacionado aos outros.

A seleção dos fatores se deu pela análise do gráfico de *eigenvalues* (*scree plot*), que mostrou a dispersão da variância total associada com cada valor. Levou-se em consideração também que os valores de *eigenvalues* estivessem acima de

1,0, garantindo que cada fator retido descrevesse mais da variabilidade dos dados analisados. Isso porque o valor pequeno de *eigenvalue* sugere pouca contribuição do fator na explicação das variações das variáveis originais. Portanto, limitou-se o número de fatores de modo que fossem obtidos aqueles com maior poder interpretação e significado para o estudo em questão.

Utilizou-se o método rotacional ortogonal *varimax* para obter os fatores, empregando o número de fatores elegidos como descrito acima. Com esta operação, permitiu-se alcançar uma estrutura mais simples, redistribuindo as variâncias explicadas entre os componentes individuais e aumentando o valor das cargas para mais alto ou mais baixo. Este resultado favoreceu uma interpretação mais simples, pois optou-se uma rotação que manteve os eixos em 90°, portanto, cada fator é tratado com independente um do outro, indicando que os fatores não estão correlacionados.

Obteve-se, assim, as cargas fatorais que representaram as medidas de correlação entre os fatores derivados e as medidas originais. As cargas negativas sugeriram que as variável estavam negativamente correlacionados com o fator e as positivas, positivamente. Quanto maior foi a carga, maior também foi a contribuição da variável para o fator, pois o quadrado da carga fatorial correspondeu ao percentual de variância da variável que foi explicada pelo fator

Para o julgamento da significância das cargas fatoriais, empregou-se o valor igual ou maior que $\pm 0,30$, pois este valor reflete 10% de explicação aproximadamente. Portanto, quanto maior foi o valor absoluto da carga fatorial, mais importante esta foi na interpretação da matriz fatorial. Assim, com este valor estabelecido atendeu-se ao grau mínimo necessário para interpretar os fatores.

Os fatores encontrados foram nomeados de acordo com a relação dos aminoácidos com a parte do ciclo metabólico envolvido: cetogênicos; glicogênicos, cetoglutarato, ciclo da ureia e diversos. Os fatores para gerar o padrão alimentar foram denominados, de acordo com a carga fatorial dos grupos de alimentos, como tradicional, prudente (ou saudável) e moderna (ou processados). Utilizou-se o programa estatístico STATA 14 para esta análise e as demais que se seguem.

5.6.2 Regressão Linear Múltipla

A concentração plasmática dos aminoácidos e os escores obtidos pela análise fatorial foram empregadas como variáveis dependentes, sendo associada com o IMC (Kg/m^2), ajustado pelas variáveis idade em anos, renda familiar, calorias em Kcal, sexo, atividade física, cor da pele, e ingestão de compostos aminados heterocíclicos (CARVALHO et al., 2016). A dieta foi representada por calorias em Kcal e a ingestão de aminos heterocíclicas, uma vez que a seleção da amostra se baseou no seu consumo.

O estudo da associação entre o consumo de manganês e o IMC e o padrão metabólico de aminoácidos foi feita empregando as mesmas variáveis de ajustes. Neste modelo o consumo de manganês foi considerado a variável independente. Os aminoácidos que apresentaram potencial como biomarcadores foram utilizados no modelo como variáveis dependentes, bem como o padrão metabólico de aminoácidos e o IMC.

Os padrões alimentares obtidos foram submetidos à associação entre os aminoácidos individualmente, considerando as variáveis de ajustes indicadas neste item. Os aminoácidos foram considerados os variáveis dependentes no modelo.

As associações entre o padrão alimentar e o estado nutricional e metabólico foram verificadas por MANOVA. As variáveis do estado metabólico testadas foram metabolicamente saudável, resistência insulina, padrão metabólico AA cetogênico (em tercil) e AACR (em tercil).

5.6.3 Comparação entre Grupos

A comparação entre grupos (estado nutricional, tercils) foi feita por MANOVA e a confirmação de diferença significativa foi feita pelo teste de Bonferroni para as variáveis eram contínuas. O teste do Qui-quadrado de Pearson foi empregado para verificar a significância estatísticas entre os grupos, cujas variáveis eram dicotômicas. Em todos os testes estatísticos considerou-se o grau de significância 5%.

O Teste t de Student foi empregado para analisar as diferenças do perfil metabólico entre os indivíduos com classificados como metabolicamente saudável e não saudável.

5.6.4 Análise de Interação entre Variáveis

Testou-se a interação entre as variáveis estado nutricional e metabolicamente saudável frente aos aminoácidos, empregando MANOVA. O modelo foi ajustado pelas mesmas variáveis discriminadas no item 5.6.2, sendo que a categoria de referencia adotada foi eutrofia x metabolicamente saudável. Os aminoácidos que diferenciaram os grupos avaliados no item 5.6.3 foram empregados nesta análise. Considerou-se o valor $p \geq 0,05$.

5.6.5 Curva ROC

A curva ROC (Receiver Operator Characteristic) foi utilizada neste estudo para avaliar a possibilidade dos aminoácidos e os padrões de aminoácidos serem aplicados como biomarcadores para identificar os desfechos resistência insulínica, metabolicamente saudável e obesidade. Foram escolhidos aqueles que foram capazes de diferenciar estatisticamente os desfechos.

Esta análise mostrou como a sensibilidade (probabilidade de identificar indivíduos verdadeiramente positivos) e a especificidade (probabilidade de identificar indivíduos verdadeiramente negativos) do biomarcador mudava de acordo com a classificação escolhida. Como a curva ROC não é dependente da prevalência do desfecho, esta retrata o desempenho do biomarcador frente a uma variedade de possíveis decisões, permitindo encontrar um ponto ótimo de especificidade e sensibilidade para o biomarcador estudado. Esta análise estatística é não-paramétrica, não necessitando conhecer a normalidade dos dados e o número de sujeito é igual entre as classificações ou se a variância é igual.

Os desfechos estudados eram variáveis dicotômicas sendo o valor zero desfecho saudável e o valor um, não saudável. A análise se baseou em calcular a sensibilidade e especificidade para cada valor do desfecho. Um gráfico foi gerado do tipo *scatter plot*, onde cada ponto correspondeu ao par sensibilidade/especificidade. A partir deste, a área sob a curva foi calculada. Esta área significou a probabilidade que o biomarcador classificaria o indivíduo randomicamente como um ou zero. Portanto, se todos fossem classificados como zero, a área sob a curva seria igual a 1,0. O valor igual a 0,5 indicaria uma classificação igual tanto para o desfecho 0 como para o desfecho 1. Portanto, um biomarcador com características interessantes para identificar o desfecho deve apresentar um valor da área sob a curva maior que 0,5. Teoricamente, há uma classificação para considerar a performance do biomarcador como excelente ou ruim (XIA et al., 2013): 0,9 – 1,0 = excelente; 0,8 – 0,9=bom; 0,7 – 0,8=justo; 0,6 – 0,7=fraco; 0,5-0,6=ruim.

Calculou-se o melhor ponto de corte pelo ponto vertical mais distante da linha diagonal do gráfico. Ao se determinar o ponto de sensibilidade mais distante desta linha, se identificou a especificidade correspondente. O intervalo de confiança de 95% para a curva ROC foi com calculado para descrever a faixa de valores da amostra estatística, com a probabilidade de 0,95. Ou seja, se realizar uma análise idêntica a testada, a probabilidade de encontrar os valores no intervalo indicado seria de 95%, usando indivíduos independentes de uma população semelhante a estudada.

5.7 ASPECTOS ÉTICOS

O presente trabalho utilizou os dados provenientes do projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Saúde Pública, da Universidade de São Paulo, sob o parecer número 3.012.454.

6. RESULTADOS

6.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

A população estudada foi constituída por 168 indivíduos com média de idade de 50 (± 19) anos (Tabela 1), sendo a maioria de etnia branca e do sexo masculino. Os indivíduos apresentaram em média o IMC igual a 26 (± 5), sendo que 24% dos indivíduos estavam com obesidade. Apenas 21% apresentaram atividade física que os classificasse como ativos, demonstrando pouca adesão à atividade física.

A média da renda familiar esteve acima do salário mínimo vigente em 2008-2009, que foi de R\$ 415,00, sendo que 25% da população recebiam menos que um salário mínimo. A ingestão de macronutrientes não foi discrepante, se for considerado uma dieta de 2000 kcal, exceto para os carboidratos que cuja ingestão estava abaixo de 50% da recomendação diária. Os valores médios dos indicadores bioquímicos encontraram-se abaixo dos limites indicados pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (XAVIER et al., 2013; SOCIEDADE..., 2005). Em relação a glicemia, cerca de 15% dos indivíduos apresentaram a concentração igual ou acima de 110mg de glicose/dL. Para os indicadores triglicérideos (150mg/dL), colesterol total (200mg/dL) e insulina (15 μ UI/dL), aproximadamente 25% da população possuíam concentrações acima dos limites desejados. Em torno de 10% dos sujeitos da pesquisa tinham a concentração plasmática de LDL acima de 150mg/dL. Ao analisar o indicador HDL, observou-se que mais de 50% de homens e mulheres exibiram a concentração acima dos valores recomendados por sexo, ou seja, acima de 40mg/dL e 50mg/dL, respectivamente (Apêndice 1).

Tabela 1 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética.

	%	Média	DP	Mediana	Min - Max
Características Gerais					
Idade (anos)		50	19	50	18 - 89
IMC (Kg/m ²)		26,1	5,3	25,3	17,1 – 47,3
Obesidade	24				
CC (cm)		92,7	13,5	92,0	66,0 – 136,5
Etnia (branco)	56				
Sexo (Masculino)	52				
Ativo (Sim)	21				
Medicamento (Sim)	30				
Renda Per capita (R\$)		757,74	824,86	523,75	0 – 6050,00
Ingestão Dietética					
Lipídios (g/dia)		61,6	61,6	55,7	12,4 – 198,7
Carboidratos (g/dia)		212,9	83,9	197,6	79,9 – 602,5
Proteínas (g/dia)		81,0	38,1	76,1	22,3 – 291,1
Calorias (Kcal/dia)		1.735,7	678,2	1654,0	608,5 – 4234,9
Indicadores Bioquímicos					
Glicose (mg/dL)		85,2	31,2	78,0	32,0 – 326,0
Triglicerídeos (mg/dL)		144,3	108,2	115,0	23,0 – 862,0
Colesterol Total (mg/dL)		190,1	43,3	187,0	86,0 – 301,0
HDL (mg/dL)		47,5	11,1	46,0	24,0 – 81,0
LDL (mg/dL)		114,6	34,9	113,0	30,0 – 197,0
Insulina (µUI/mL)		20,8	21,1	16,3	2,7 – 206,7
HOMA-IR		4,4	5,9	3,3	0,5 – 54,0
RI	60%				

CC= circunferência da cintura. DP= Desvio Padrão. Min= valor mínimo. Max= valor máximo .
RI=Resistência Insulínica

O índice HOMA-IR esteve elevado para a população estudada, resultando que 60% da população foram classificadas com resistência insulínica. Este mesmo percentual foi observado quando se estratificou a análise por sexo (Anexo 2). Identificou-se que 10% dos indivíduos, tanto homens como mulheres, tiveram o índice HOMA-IR abaixo de 2,71. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre homens e mulheres quando se analisou os indicadores (exceto para HDL-colesterol) e características gerais. Embora, o grupo de mulheres continham mais indivíduos de etnia branca que os homens. A diferença estatística foi observada na

ingestão dietética, demonstrando que os homens consomem mais macronutrientes que as mulheres.

Ao estratificar os dados relacionados à circunferência abdominal por sexo, percebeu-se que os valores estiveram elevados para as mulheres e não para os homens, considerando os valores máximo de 88 cm e 102 cm, respectivamente. Embora não se verificou diferença significativa entre os dois grupos, a prevalência de homens e mulheres acima dos valores de referência para a circunferência da cintura foi de 25% e 75%, respectivamente. Em relação ao IMC, em ambos os sexos, a prevalência de indivíduos eutróficos foi de 25% dos indivíduos ($IMC < 25,0$).

6.2 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E DIETÉTICAS DE ACORDO COM O ESTADO NUTRICIONAL

Ao se estratificar a população por IMC (Tabela 2), foi possível identificar que não existiu diferença estatística significativa quanto à etnia, sexo e atividade física. O mesmo foi observado para a ingestão dietética de lipídios, proteínas, calorias e para os indicadores bioquímicos de HDL e LDL. O subgrupo Sobrepeso apresentou a maior média de idade e maior proporção de uso de medicamentos. O subgrupo Eutrófico apresentou a menor renda per capita, o maior consumo de carboidratos e os melhores indicadores bioquímicos. O subgrupo Obeso exibiu os indicadores bioquímicos alterados, acima dos limites considerados normais, exceto para a glicemia. Apresentou ainda a maior proporção de indivíduos com resistência insulínica, embora, a ingestão dietética de carboidratos foi menor que a do subgrupo Eutrófico. Além disso, a renda familiar também foi mais alta neste subgrupo.

Tabela 2 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Segundo o Estado Nutricional.

Tabela 2 – Parâmetros Fisiológicos e Ingestão Dietética, Segundo o Estado Nutricional.										
Eutrófico				Sobrepeso			Obeso			
n=79				n=48			n=41			
	%	Média	DP	%	Média	DP	%	Média	DP	p
Características Gerais										
Idade (anos)		44 ^a	19,4		57 ^b	17,4		55 ^b	16,2	0,000 ¹
IMC (Kg/m²)		21,8 ^a	2,2		27,1 ^b	1,3		33,4 ^c	3,8	0,000 ¹
CC (cm)		83,5 ^a	8,9		94,6 ^b	5,8		108,3 ^c	12,1	0,000 ¹
Etnia (branco,%)	49			63			61			0,266 ²
Sexo (Masculino,%)	57			46			51			0,470 ²
Ativo (Sim,%)	24			15			22			0,606 ²
Medicamento (Sim, %)	16			44			39			0,002 ²
Renda Per capita (R\$)		625,92 ^a	594,47		755,68 ^a	782,12		1.014,15 ^b	1153,72	0,035 ¹
Ingestão Dietética										
Lipídios (g/dia)		64,3	28,8		55,9	24,1		62,9	36,9	0,290 ¹
Carboidratos (g/dia)		230,4 ^a	86,2		199,3 ^b	64,5		195,0 ^b	91,4	0,035 ¹
Proteínas (g/dia)		83,2	35,1		76,3	36,5		82,5	47,3	0,600 ¹
Calorias (Kcal/dia)		1.828,8	666,5		1.619,0	581,6		1.693,0	788,2	0,216 ¹
Indicadores Bioquímicos										
Glicose (mg/dL)		81,4 ^a	27,3		80,9 ^a	17,9		99,5 ^b	44,8	0,009 ¹
Triglicerídeos (mg/dL)		121,6 ^a	100,1		125,4 ^a	64,6		210,3 ^b	136,0	0,001 ¹
Colesterol Total (mg/dL)		181,8 ^a	44,5		192,2 ^a	42,3		203,8 ^b	39,2	0,036 ¹
HDL (mg/dL)		47,8	11,7		48,3	11,2		46,1	9,8	0,615 ¹
LDL (mg/dL)		110,2	35,4		118,9	33,8		118,1	35,1	0,302 ¹
Insulina (μUI/mL)		16,2 ^a	14,0		19,8 ^a	14,0		30,8 ^b	33,1	0,014 ¹
HOMA-IR		3,8 ^a	6,3		4,0 ^a	3,11		6,6 ^b	7,0	0,038 ¹
RI (%)	44			71			78			0,000 ²

DP=Desvio Padrão . RI=Resistência Insulínica. ¹valor de p pelo teste de MANOVA. a,b,c = diferença estatisticamente significativa pelo teste de Bonferroni (p<0,05). ²valor de p pelo teste do Chi-quadrado.

6.3 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E DIETÉTICAS DE ACORDO COM O ESTADO METABÓLICO

O subgrupo Metabolicamente Saudável (Tabela 3) foi constituído por maioria de indivíduos de etnia branca, acima de 50 anos, predominantemente com obesidade. Tiveram diferenças estatísticas significativas na concentração plasmática de glicose, triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol e do uso de medicamentos. Foi o subgrupo que apresentou maior HOMA-IR, com 75% dos indivíduos com resistência insulínica.

O subgrupo Metabolicamente Saudável apresentou uma proporção menor de indivíduos com obesidade. A idade média ficou abaixo dos 50 anos e a maioria eram indivíduos de etnia branca. Os indicadores bioquímicos foram menores que os do grupo metabolicamente não saudável. Porém, observou-se uma proporção de indivíduos com resistência insulínica acima de 50%.

Em ambos os subgrupos, os indivíduos tinham baixa adesão às atividades físicas e apresentaram uma proporção semelhante de sexo masculino. A renda familiar foi ligeiramente alta no subgrupo Metabolicamente Não Saudável, mas sem significância estatística. O mesmo foi observado quanto à ingestão dietética, embora verificou-se um consumo levemente maior de carboidratos e calorias no subgrupo Metabolicamente Saudável.

Tabela 3 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Estado Metabólico

	Metabolicamente Saudável			Metabolicamente Não Saudável			p
	n=116			n=52			
	%	Média	DP	%	Média	DP	
Características Gerais							
Idade (anos)		47	20		58	14	0,001 ¹
IMC (kg/m2)		24,5	4,7		29,8	5,0	0,000 ¹
Obeso (%)	12			52			0,000 ²
CC (cm)		88,5	11,9		102,3	11,8	0,000 ¹
Etnia (Branco, %)	51			67			0,047 ²
Sexo (Masculino,%)	56			44			0,157 ²
Ativo (Sim, %)	22			19			0,732 ²
Medicamento (Sim, %)	19			54			0,000 ²
Renda Per Capita (R\$)		682,35	773,85		925,93	914,25	0,077 ¹
Ingestão Dietética							
Lipídeos (g/dia)		61,5	27,3		61,7	35,3	0,974 ¹
Carboidratos (g/dia)		220,8	86,7		195,1	72,5	0,064 ¹
Proteína (g/dia)		79,5	34,3		84,4	45,6	0,445 ¹
Calorias (Kcal/dia)		1759,8	643,8		1682,0	753,1	0,493 ¹
Indicadores Bioquímicos							
Glicose (mg/dL)		78,6	17,6		100,2	46,6	0,000 ¹
Triglicerídeos (mg/dL)		111,2	55,5		218,2	152,7	0,000 ¹
Colesterol Total (mg/dL)		184,4	42,7		203,0	42,4	0,010 ¹
HDL (mg/dL)		49,5	11,6		43,2	8,5	0,001 ¹
LDL (mg/dL)		112,7	32,9		118,9	39,0	0,288 ¹
Insulina (µUI/mL)		19,2	22,2		24,2	18,0	0,158 ¹
HOMA-IR		3,8	4,5		6,1	7,8	0,017 ¹
RI(%)	53			75			0,008 ²
Parâmetros SM							
0	23			0			
1	40			0			
2	37			0			
3	0			58			
4	0			35			
5	0			7			

CC= circunferência da cintura. EP= Erro Padrão . RI=Resistência Insulínica. SM=Síndrome Metabólica. ¹valor de p pelo teste de MANOVA. ²valor de p pelo teste do Chi-quadrado. Foi considerando p<0,05.

6.4 PERFIL METABOLÔMICA DE AMINOÁCIDOS

O perfil metabólico de aminoácido demonstrou a possibilidade de caracterizar os indivíduos de acordo com o seu estado nutricional (Tabela 4). À medida que se aumentou o IMC a quantidade sérica da maioria dos AA aumentou,

exceto para Gln, Gly, Ser, estabelecendo um perfil metabólico diferente, especialmente para o subgrupo com obesidade. Os aminoácidos que compuseram esse perfil foram Ala, Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Phe, Ser, Tyr, Val.

Verificou-se um perfil específico de aminoácidos para cada estado nutricional. A Figura 2 ilustra a Tabela 4, evidenciando um perfil específico para cada estado nutricional. Os aminoácidos Phe, Ser, Tyr e Val apresentaram diferenças significativas entre o estado eutrófico e o sobrepeso, indicando uma alteração no ciclo cetogênico. Entre o estado nutricional sobrepeso e obeso, a diferença esteve relacionada com os aminoácidos Gln, Glu, Gly e Leu, predominando os aminoácidos do ciclo glicogênico. Entretanto, as maiores alterações das concentrações de aminoácidos foram observadas quando se compara o estado nutricional Obesidade com o Eutrofia (Tabela 4). Portanto, destacaram-se mudanças tanto nos aminoácidos cetogênicos como glicogênicos o que pôde indicar um deslocamento das vias metabólicas do ciclo de Krebs.

Figura 2 – Perfil metabólico de aminoácidos de acordo com o IMC

Obeso x Eutrófico	Obeso x Sobrepeso (Sobrepeso=Eutrófico)	Eutrófico x Sobrepeso (Sobrepeso=Obeso)
Ala Gln Glu Gly Ile Leu Phe Ser Tyr Val	Gln Glu Gly Leu	Phe Ser Tyr Val

Tabela 4 - Perfil Metabolômico de Aminoácidos de Acordo com o IMC.

Aminoácidos*	Geral n=168			Eutrófico n=79		Sobrepeso n=48		Obeso n=41	
	Média	DP	p ¹	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Ala	394,6	98,7	0,012	375,3 ^a	100,2	394,9 ^{a,b}	93,6	431,5 ^b	93,1
Arg	78,2	22,8	0,196	80,5	23,1	79,1	20,7	72,7	24,0
Asn	40,3	8,9	0,424	40,6	9,4	41,1	8,3	38,8	8,8
Asp	8,6	6,3	0,100	8,6	6,3	8,6	6,7	8,6	6,1
Cit	33,8	12,1	0,178	34,2	11,1	35,6	13,2	30,9	12,6
Gln	686,2	134,2	0,003	708,1 ^a	119,5	702,8 ^a	148,5	624,7 ^b	127,8
Glu	63,9	29,3	0,001	57,7 ^a	29,3	61,1 ^a	23,6	79,0 ^b	30,8
Gly	279,7	107,0	0,002	302,2 ^a	98,0	284,1 ^a	107,3	231,1 ^b	109,8
His	85,0	14,1	0,503	86,3	13,9	83,9	14,2	83,6	14,5
Ile	89,5	23,9	0,004	84,2 ^a	24,9	89,9 ^{a,b}	23,7	99,2 ^b	18,9
Leu	184,7	46,1	0,000	172,2 ^a	47,7	184,7 ^{a,b}	43,6	208,6 ^c	36,1
Lys	204,7	45,6	0,232	198,3	49,5	210,5	43,6	210,2	39,1
Met	26,3	6,9	0,865	26,5	7,9	26,3	6,2	25,8	5,9
Orn	65,6	21,6	0,555	66,6	20,7	66,7	24,2	62,4	20,5
Phe	65,3	11,8	0,002	62,2 ^a	11,1	66,6 ^b	11,2	69,8 ^b	12,3
Pro	199,0	67,1	0,108	194,5	73,4	190,2	57,1	218,0	63,1
Ser	111,2	32,0	0,001	120,0 ^a	34,6	107,3 ^b	26,3	98,9 ^b	28,2
Thr	129,2	34,5	0,091	135,0	39,0	126,4	28,1	121,2	30,5
Trp	61,6	12,8	0,144	60,0	13,1	61,3	13,9	64,8	10,0
Tyr	65,5	17,5	0,000	59,0 ^a	15,1	69,8 ^b	18,4	73,2 ^b	16,4
Val	274,1	66,1	0,000	252,9 ^a	68,1	280,0 ^b	62,7	308,1 ^b	49,5

¹valor de p pelo teste de MANOVA. a,b,c = diferença estatisticamente significativa pelo teste de Bonferroni (p<0,05). DP = Desvio Padrão. *µM.

O perfil metabólico de aminoácidos para a classificação Metabolicamente Saudável apresentou a composição semelhante ao perfil encontrado nos indivíduos com obesidade (Tabela 5), bem como o valor das concentrações dos aminoácidos. Os aminoácidos que apresentaram diferenças significativas estatisticamente foram Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Leu, Ser, Tyr, Val, que estão relacionados à produção de piruvato e acetil-coenzima A.

Tabela 5 – Perfil Metabólico de Aminoácidos, Considerando a Classificação Metabolicamente Saudável.

Aminoácidos*	Metabolicamente Saudável n=116		Metabolicamente Não Saudável n=52		p ¹
	Média	DP	Média	DP	
Ala	373,5	92,9	441,7	95,7	0,000
Arg	81,2	24,3	71,4	17,3	0,009
Asn	40,6	9,3	39,8	8,2	0,604
Asp	8,5	6,4	9,0	6,3	0,598
Cit	34,0	12,4	33,5	11,6	0,820
Gln	700,2	131,5	655,1	136,4	0,044
Glu	59,1	27,0	74,5	31,8	0,002
Gly	285,8	104,8	266,1	111,4	0,273
His	85,6	14,3	83,5	13,7	0,374
Ile	86,0	23,3	97,2	23,5	0,005
Leu	178,0	46,0	199,5	43,0	0,005
Lys	201,4	47,7	211,9	40,1	0,171
Met	26,7	7,6	25,2	5,2	0,197
Orn	67,1	23,4	62,2	16,8	0,178
Phe	64,5	11,8	67,0	11,6	0,211
Pro	196,9	70,8	203,7	58,6	0,543
Ser	115,4	33,2	102,1	27,3	0,012
Thr	131,5	36,3	124,1	29,8	0,199
Trp	61,2	13,1	62,3	11,9	0,607
Tyr	63,6	18,2	69,7	15,0	0,037
Val	262,2	66,9	300,7	56,3	0,000

¹valor de p pelo teste de MANOVA. DP=Desvio Padrão. *µM

Ao analisar o perfil metabólico de aminoácidos dos indivíduos com eutrofia, sobrepeso e obesidade, classificados como metabolicamente saudável e não

saudável (Tabela 6), verificou-se que não houve diferenças significativas estatisticamente de vários aminoácidos. Portanto, não foi possível obter um conjunto de aminoácidos capaz de diferenciar metabolicamente saudável dos não saudável, segundo o seu estado nutricional.

Os indivíduos com eutrofia metabolicamente saudável e os metabolicamente não saudáveis apresentaram diferenças significativas estatisticamente em indivíduos entre os aminoácidos Ala e Gly, que estão relacionados com a síntese do piruvato, no ciclo de Krebs. Em indivíduos com obesidade e classificados como metabolicamente saudáveis e não saudáveis demonstraram diferença significativa estatisticamente na concentração do aminoácido Val, que está relacionado com a beta oxidação e formação de acetil coenzima A, que é utilizada na síntese de lipídios.

Ao se realizar a associação entre os aminoácidos e a interação entre IMC e as variáveis anteriormente citadas (Figura 3), verificou-se que os aminoácidos que diferenciam os grupos foram os mesmos (Tabela 4 e 5). Tendo como base a interação entre eutrófico e metabolicamente saudável, o valor do coeficiente (beta) foram maiores quando se aumenta o IMC. Todavia, os valores de beta de todos os aminoácidos foram estatisticamente significativos na interação entre o subgrupo metabolicamente não saudável e obesidade. O valor de beta do aminoácido Ala foi estatisticamente significativo em todas interações testadas, exceto na interação entre metabolicamente saudável e sobrepeso.

Tabela 6 – Perfil Metabolômico de Aminoácidos Considerando o Estado Nutricional e Metabolicamente Saudável.

Aminoácidos*	Eutrofia					Sobrepeso					Obesidade				
	MS	n=70	MNS	n=9	p	MS	n=32	MNS	n=16	p	MS	n=14	MNS	n=27	p
	Média	DP	Média	DP		Média	DP	Média	DP		Média	DP	Média	DP	
Ala	365,1	91,6	454,	132,0	0,018	370,1	86,6	444,7	89,3	0,008	423,5	103,9	435,7	88,8	0,697
Arg	81,2	24,0	74,9	14,0	0,447	80,6	23,6	76,3	13,1	0,506	83,0	28,7	67,3	19,7	0,047
Asn	40,6	9,7	40,8	35,2	0,965	40,2	7,8	43,0	9,1	0,275	41,1	10,9	37,5	7,4	0,221
Asp	8,7	6,3	7,8	6,6	0,664	8,2	6,7	9,5	6,7	0,532	7,6	6,2	9,1	6,1	0,445
Cit	34,2	11,6	34,6	7,0	0,93	34,2	12,8	38,4	13,9	0,298	32,3	16,0	30,2	10,6	0,623
Gln	710,7	121,1	687,3	109,9	0,583	695,4	153,6	717,7	141,3	0,630	658,1	127,3	607,4	126,9	0,232
Glu	57,6	29,7	58,9	27,8	0,898	58,6	22,0	65,9	26,5	0,318	67,8	22,6	84,8	33,2	0,094
Gly	294,2	93,1	364,2	118,2	0,043	275,5	105,9	301,3	111,6	0,439	266,8	153,1	212,6	76,1	0,136
His	86,6	13,8	84,2	15,3	0,627	83,9	15,0	84,0	12,8	0,990	84,7	15,5	83,1	14,2	0,740
Ile	84,8	26,1	79,7	12,1	0,569	85,6	18,7	98,7	30,3	0,071	93,6	17,0	102,1	19,5	0,173
Leu	173,2	50,0	165,0	22,2	0,630	179,5	38,4	194,9	52,5	0,253	198,6	36,7	213,7	35,4	0,136
Lys	197,4	49,9	205,2	48,3	0,658	203,1	43,1	225,2	42,3	0,099	218,0	45,6	206,2	35,5	0,367
Met	26,7	8,3	25,3	3,8	0,634	26,4	5,5	26,1	7,5	0,890	27,9	8,2	24,7	4,0	0,097
Orn	67,4	21,1	60,2	16,3	0,331	68,0	28,3	64,1	12,9	0,598	63,5	23,4	61,8	19,3	0,801
Phe	62,7	11,5	58,4	4,8	0,276	66,9	11,9	66,0	10,2	0,813	68,5	12,0	70,4	12,7	0,632
Pro	195,9	76,1	183,7	49,5	0,639	185,2	59,1	200,1	53,2	0,399	228,4	61,9	212,6	64,2	0,455
Ser	119,7	35,0	122,7	33,7	0,809	108,6	26,0	104,7	27,6	0,637	109,2	37,2	93,6	21,2	0,094
Thr	135,1	39,6	134,4	35,5	0,963	124,2	28,7	130,9	27,2	0,437	130,1	33,5	116,6	28,3	0,179
Trp	60,9	13,5	53,5	7,2	0,114	60,3	13,2	63,4	15,4	0,481	65,2	11,0	64,7	9,6	0,885
Tyr	58,8	15,7	60,2	9,6	0,791	69,4	19,6	70,5	16,4	0,840	74,7	19,6	72,4	14,8	0,679
Val	253,7	70,9	246,8	42,8	0,777	272,3	63,2	295,5	60,6	0,231	281,7	47,8	321,7	45,3	0,012

¹valor de *p* pelo teste de MANOVA. DP=Desvio Padrão. *μM

Figura 3 - Coeficiente Beta obtido pela associação da interação entre indivíduos Metabolicamente Saudável e Metabolicamente Não Saudável e IMC. E=eutrófico. S=sobrepeso. O=obeso. A associação significativa, para $\alpha=0,05$, está indicado com *.

A análise fatorial gerou 21 padrões metabólicos de aminoácidos dos quais foram selecionados 5 (Tabela 7), conforme os critérios descritos anteriormente no item 5.6.1. Obteve-se um padrão que foi caracterizado por aminoácidos cetogênicos (Fator 1), sendo Leu, Ile, Val, Phe e Tyr que apresentaram os maiores cargas fatoriais. O Fator 2 representou os aminoácidos relacionados diretamente com o ciclo de Krebs, especialmente com a produção de piruvato, sendo que os aminoácidos Ser, Gly, Thr e Asn demonstraram os maiores cargas fatoriais. O Fator 3 foi representado pelos aminoácidos relacionados com o substrato cetoglutarato, já os aminoácidos do Fator 4 se relacionaram com o ciclo da ureia. O quinto e último fator constituiu-se de aminoácidos ligados aos outros substratos do ciclo de Krebs, não destacando uma parte específica do ciclo. Por esta razão, este fator foi denominado de AA Diversos.

Tabela 7 - Padrões Metabolômicos de Aminoácidos .

Aminoácidos	Padrões Metabolômicos				
	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5
	AA Cetogênicos	AA Glicogênico	AA Cetoglutarato	AA Ciclo Uréia	AA Diversos
Leu	0,899	0,043	-0,031	-0,093	0,226
Val	0,887	0,085	-0,131	-0,045	0,069
Ile	0,829	0,091	-0,094	-0,058	0,200
Phe	0,768	-0,054	0,287	0,204	0,155
Tyr	0,704	0,039	0,148	0,234	0,157
Trp	0,699	-0,004	0,334	-0,015	-0,074
Lys	0,602	0,297	0,382	-0,124	-0,093
Met	0,601	0,277	0,459	-0,005	0,282
His	0,381	0,269	0,542	-0,088	0,210
Glu	0,347	-0,160	-0,635	0,043	0,252
Gly	-0,329	0,687	0,007	0,319	-0,017
Asn	0,320	0,630	0,364	0,021	0,149
Ala	0,309	0,148	0,068	-0,182	0,654
Ser	0,117	0,798	0,090	0,122	0,030
Thr	0,272	0,666	0,252	0,089	0,070
Gln	-0,032	0,327	0,471	0,500	0,284
Arg	0,141	0,137	0,686	0,162	0,125
Cit	-0,168	0,004	0,126	0,828	-0,032
Orn	0,195	0,299	-0,130	0,783	0,037
Pro	0,276	0,122	0,054	0,090	0,751
Asp	0,144	-0,188	0,008	0,177	0,598

Verificou-se associação significativa entre os padrões metabolômicos de aminoácidos e o IMC (Tabela 8) exceto para o Fator 5 (AA Diversos). Somente o Fator 1 (AA cetogênicos) apresentou associação positiva, portanto, a medida que se aumentou uma unidade de IMC, ocorreu um aumento de 0,07 da adesão ao referido padrão. O poder explicativo da regressão linear variou de 10 a 31%, dependendo do fator, com destaque para os fatores 1 e 4.

Tabela 8 – Associação entre Padrão Metabolômico de Aminoácidos e IMC.

	Fator	Coef	IC 95%		p	r ²
AA Cetogênicos	F1	0,07	0,04	0,09	0,000	0,25
AA Glicogênico	F2	-0,04	-0,07	-0,01	0,004	0,17
AA Cetoglutarato	F3	-0,05	-0,08	-0,02	0,000	0,10
AA Ciclo Ureia	F4	-0,04	-0,07	-0,01	0,002	0,31
AA Diversos	F5	0,01	-0,02	0,04	0,506	0,14

6.5 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E DIETÉTICAS DE ACORDO COM O PADRÃO METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS

Ao se analisar as características gerais, os indicadores bioquímico e metabólicos por tercís dos padrões com significância estatística, verificou-se que os padrões AA cetogênicos (Tabela 9), AA glicogênicos (Tabela 10) e AA cetoglutarato (Tabela 11) apresentaram características capazes de diferenciar os tercís. O terceiro tercil do padrão AA cetogênicos revelou a maior proporção de indivíduos com obesidade, síndrome metabólica, alterações metabólicas não saudáveis e com resistência insulínica. A concentração plasmática de triglicerídeos também era maior, bem como a de aminoácidos de cadeia ramificada e a de HDL-colesterol, a menor.

O padrão AA glicogênicos (tabela 10) diferenciou o perfil lipídico, com maior proporção de obesos no primeiro tercil. Este tercil foi composto por indivíduos com maior média de idade, maior IMC, maior concentração de colesterol total, porém, sem diferenças significativas para a concentração plasmática de HDL-colesterol. Além disso, a proporção de indivíduos com síndrome metabólica não foi diferente entre os tercís, bem como a concentração de aminoácidos de cadeia ramificada. Tanto no padrão AA cetogênicos como no neste padrão, a renda familiar foi maior no tercil com maiores concentrações lipídicas e maior proporção de indivíduos com obesidade.

Tabela 9 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabólico de AA Cetogênico (F1), em Tercil.

	F1						p
	1 T		2T		3T		
	n=56		n=56		n=56		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Características Gerais							
Idade (anos)	50 ^{a,c}	20	47 ^a	19	55 ^b	16	0,047 ¹
IMC (kg/m2)	24,2 ^a	4,2	24,6 ^a	4,3	29,5 ^b	5,7	0,000 ¹
Obeso (%)	7		16		50		0,000 ²
Cintura (cm)	87,8 ^a	10,4	89,3 ^a	12,3	101,1 ^b	13,6	0,000 ¹
Etnia (Branco, %)	63		52		54		0,473 ²
Sexo (Maculino,%)	29		63		66		0,000 ²
Atividade Física (Sim, %)	18		23		21		0,777 ²
Medicamentos (Sim,%)	25		23		41		0,075 ²
Renda Familiar	493,60 ^a	419,44	747,30 ^{a,b}	773,74	1.032,35 ^b	1069,29	0,002 ¹
Ingestão Dietética							
Lipídeos (g/dia)	58,7	25,2	62,1	30,6	63,9	33,5	0,646 ¹
Carboidratos (g/dia)	215,5	84,8	223,4	95,53	199,71	66,42	0,310 ¹
Proteína (g/dia)	73,21	29,8	84,2	38,6	85,7	44,0	0,166 ¹
Calorias (Kcal/dia)	1.673,20	597,8	1.798,8	753,0	1.735,12	681,3	0,621 ¹
Indicadores Bioquímicos							
Glicose	85,2	33,8	78,4	15,2	92,1	38,6	0,067 ¹
Triglicerídeos	119,0 ^a	118,6	120,4 ^a	64,8	193,6 ^b	116,5	0,000 ¹
Colesterol Total	183,5	43,9	187,8	39,5	199,02	45,6	0,149 ¹
HDL	50,1 ^a	11,8	47,8 ^{a,b}	11,1	44,7 ^b	9,9	0,037 ¹
LDL	110,6	35,1	116,0	30,5	117,2	39,0	0,568 ¹
Insulina	17,9 ^a	13,3	17,2 ^a	12,8	27,2 ^b	30,7	0,019 ¹
HOMA-IR	4,3 ^{a,c}	7,2	3,3 ^{a,b}	2,3	5,9 ^c	6,6	0,058 ¹
RI(%)	52		55		73		0,046 ²
Parâmetros Metabólicos							
AACR	432,8 ^a	73,3	539,9 ^b	55,2	672,0 ^c	116,8	0,000 ¹
MNS	18		25		50		0,001 ²

DP= Desvio Padrão . RI=Resistência Insulínica. MNS=Metabolicamente Não Saudável ¹ valor de *p* pelo teste de MANOVA. ² valor de *p* pelo teste do Chi-quadrado Para a significância estatística foi considerando o valor de $\alpha=0,05$. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada. a,b,c = diferença estatisticamente significativa pelo teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Tabela 10 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Glicogênicos (F2), em Tercil.

	1 T		2T		3T		
	n=56				n=56		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	p
Características Gerais							
Idade (anos)	56 ^a	17	51 ^{a,b}	20	44 ^b	18	0,003
IMC (kg/m2)	28,6 ^a	6,2	25,9 ^b	4,6	23,8 ^b	4,1	0,000 ¹
Obeso (%)	39		25		9		0,001 ²
Cintura (cm)	99,3 ^a	15,1	92,0 ^b	10,8	86,9 ^{b,c}	11,4	0,000 ¹
Etnia (Branco, %)	57		54		57		0,908 ²
Sexo (Maculino,%)	57		55		45		0,358 ²
Atividade Física (Sim, %)	20		16		27		0,364 ²
Medicamentos (Sim,%)	34		34		23		0,248 ²
Renda Familiar	942,82 ^a	1.077,80	817,91 ^a	799,03	512,49 ^b	407,47	0,017 ¹
Ingestão Dietética							
Lipídeos (g/dia)	63,7	32,8	56,4	24,4	64,6	31,5	0,281 ¹
Carboidratos (g/dia)	206,3	69,8	208,9	73,4	223,4	102,9	0,503 ¹
Proteína (g/dia)	85,2	43,0	78,9	34,6	79,1	36,5	0,609 ¹
Calorias (Kcal/dia)	1.747,4	645,3	1678,0	613,7	1781,7	773,2	0,714 ¹
Indicadores Bioquímicos							
Glicose	92,2	39,2	80,5	21,6	83,1	29,7	0,113 ¹
Triglicerídeos	173,5 ^a	122,5	137,1 ^{a,b}	72,2	122,4 ^b	117,9	0,035 ¹
Colesterol Total	201,2 ^a	43,4	190,2 ^{a,b}	40,1	178,9 ^b	44,2	0,023 ¹
HDL	48,5	9,6	47,8	11,8	46,2	11,8	0,534 ¹
LDL	119,4	36,0	115,4	32,7	108,9	35,8	0,277 ¹
Insulina	20,2	11,6	25,3	31,8	16,8	12,7	0,097 ¹
HOMA-IR	4,6	3,5	4,9	6,4	4,0	7,1	0,719 ¹
RI(%)	71		61		48		0,043 ²
Parâmetros Metabólicos							
AACR	563,1	115,9	536,4	115,5	545,3	155,4	0,544 ¹
MNS	38		29		27		0,422 ²

DP= Desvio Padrão . RI=Resistência Insulínica. MNS=Metabolicamente Não Saudável ¹ valor de p pelo teste de MANOVA. ² valor de p pelo teste do Chi-quadrado Para a significância estatística foi considerando o valor de $\alpha=0,05$. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada. a,b,c = diferença estatisticamente significativa pelo teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Os participantes agrupados de acordo com a categorização do valores do padrão AA cetoglutarato em tercils tiveram as características bioquímicas e metabólicas diferentes (Tabela 11). O seu primeiro tercil foi o que exibiu a maior proporção de indivíduos com obesidade, com menor média de carboidratos e com as maiores médias de concentrações plasmáticas de glicose, triglicerídeos e insulina. A média de HOMA-IR foi a maior para este tercil e apresentou maior proporção de indivíduos com resistência insulínica. A concentração plasmática de aminoácidos de

cadeia ramificada também não foi diferente entre os grupos, todavia, o primeiro tercil apresentou maior proporção de indivíduos com metabolismo não saudável.

Tabela 11 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Cetoglutarato (F3), em tercil.

	F3						p
	1 T		2T		3T		
	n=56		n=56		n=56		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Características Gerais							
Idade (anos)	54 ^a	17	51 ^{a,b}	20	46 ^b	19	0,054 ¹
IMC (kg/m2)	28,1 ^a	5,9	25,5 ^{b,c}	4,6	24,7 ^c	5	0,001 ¹
Obeso (%)	39		14		20		0,019 ²
Cintura (cm)	97,8 ^a	14,1	91,1 ^b	11,9	89,2 ^{b,c}	13,0	0,001 ¹
Etnia (Branco, %)	55		64		48		0,229 ²
Sexo (Maculino,%)	55		43		42		0,202 ²
Atividade Física (Sim, %)	23		16		23		0,561 ²
Medicamentos (Sim, %)	39		34		16		0,019 ²
Renda Familiar	731,08	660,52	808,26	973,87	733,89	823,00	0,856 ¹
Ingestão Dietética							
Lipídeos (g/dia)	62,7	35,4	55,8	22,8	66,2	29,7	0,171 ¹
Carboidratos (g/dia)	198,3 ^a	74,9	200,8 ^a	63,9	239,5 ^b	101,2	0,012 ¹
Proteína (g/dia)	82,3	43,7	76,0	33,3	84,8	36,7	0,460 ¹
Calorias (Kcal/dia)	1.691,0 ^{a,b}	745,7	1.607,7 ^a	517,7	1.908,5 ^b	723,4	0,052 ¹
Indicadores Bioquímicos							
Glicose	98,1 ^a	47,8	79,5 ^b	18,4	78,1 ^b	9,6	0,001 ¹
Triglicerídeos	184,2 ^a	159,0	124,7 ^b	55,6	124,1 ^b	68,9	0,003 ¹
Colesterol Total	194,3	46,1	187,9	40,2	188,2	44,0	0,680 ¹
HDL	47,3	11,1	46,1	11,0	49,2	11,2	0,318 ¹
LDL	112,7	39,9	116,9	31,2	114,1	33,7	0,809 ¹
Insulina	26,4 ^a	30,7	19,1 ^{a,b}	16,5	16,8 ^b	8,9	0,041 ¹
HOMA-IR	6,5 ^a	9,1	3,9 ^b	3,5	3,2 ^b	1,6	0,006 ¹
RI(%)	70		55		55		0,204 ²
Parâmetros Metabólicos							
AACR	567,7	125,5	525,9	124,2	551,2	138,7	0,232 ¹
MNS	43		32		18		0,016 ²

DP= Desvio Padrão . RI=Resistência Insulínica. MNS=Metabolicamente Não Saudável ¹ valor de *p* pelo teste de MANOVA. ² valor de *p* pelo teste do Chi-quadrado Para a significância estatística foi considerando o valor de *p* < 0,05. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada. a,b,c = diferença estatisticamente significativa pelo teste de Bonferroni (*p*<0,05).

O padrão AA ciclo ureia (Tabela 12) e AA diversos (Tabela 13) não apresentaram tercís diferentes estatisticamente, considerando o grau de significância estabelecido (*p* < 0,05), que possam ser destacados e relacionados com alterações metabólicas. Embora observaram-se diferenças nas diferenças estatísticas significativas para as variáveis HDL-colesterol e aminoácidos de cadeia ramificada, essa diferença não ocorreu entre os tercís extremos (1T e 3T). Quanto

ao padrão AA diversos, a circunferência da cintura e a concentração plasmática de triglicerídeos demonstraram diferenças significativas estatisticamente entre o primeiro e terceiro tercís. Todavia, essas variáveis não suficientes para explicar ou caracterizar alterações metabólicas como as que se destacaram nos padrões anteriores. Por esta razão, estes dois padrões não foram incluídos no estudo para avaliar o seu potencial como biomarcadores para classificar alterações do estado metabólico ou metabólico.

Tabela 12 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabólico de AA Ciclo Ureia (F4), em Tercil.

AA Ciclo Ureia (T4), em Perçu.							
	F4						p
	1 T		2 T		3 T		
	n=56		n=56		n=56		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Características Gerais							
Idade (anos)	42,3 ^a	17,5	47,9 ^a	18,2	61,3 ^b	16,1	0,000 ¹
IMC (kg/m2)	26,7	6,4	25,9	5,0	25,7	4,5	0,336 ¹
Obeso (%)	25		29		20		0,781 ²
Cintura (cm)	92,9	16,3	91,7	13,0	93,6	10,8	0,758 ¹
Etnia (Branco, %)	55		55		57		0,976 ²
Sexo (Masculino,%)	36		61		61		0,009 ²
Atividade Física (Sim, %)	12		29		21		0,111 ²
Medicamentos (Sim, %)	29		29		32		0,892 ²
Renda Familiar	789,61	773,79	787,30	963,80	696,32	729,73	0,794 ¹
Ingestão Dietética							
Lipídeos (g/dia)	63,2	32,2	66,1	30,6	55,4	25,9	0,144 ¹
Carboidratos (g/dia)	209,12	93,14	225,0	72,5	204,49	82,74	0,369 ¹
Proteína (g/dia)	82,54	42,82	83,6	37,4	77,00	33,94	0,619 ¹
Calorias (Kcal/dia)	1.737,2	737,6	1.828,0	653,9	1.642,0	638,2	0,351 ¹
Indicadores Bioquímicos							
Glicose	92,2	43,6	83,4	28,2	80,2	13,7	0,108 ¹
Triglicerídeos	157,1	150,4	142,5	85,3	133,5	73,2	0,511 ¹
Colesterol Total	186,5	36,3	184,5	48	199,4	44,1	0,144 ¹
HDL	48,3 ^a	10,94	43,3 ^b	8,6	51,0 ^a	12,2	0,001 ¹
LDL	108,6	29,8	113,5	38,8	121,7	35,0	0,134 ¹
Insulina	21,3	17,1	21,6	28,8	19,4	15,0	0,841 ¹
HOMA-IR	4,9	4,5	4,9	8,5	3,8	3,1	0,559 ¹
RI(%)	64		59		57		0,724 ²
Parâmetros Metabólicos							
AACR	528,4 ^a	121,4	592,0 ^b	148,9	524,4 ^a	107,2	0,008 ¹
MNS	29		39		25		0,235 ²

DP= Desvio Padrão . RI=Resistência Insulínica. MNS=Metabolicamente Não Saudável ¹ valor de *p* pelo teste de MANOVA. ² valor de *p* pelo teste do Chi-quadrado Para a significância estatística foi considerando o valor de $\alpha=0,05$. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada. a,b,c = diferença estatisticamente significativa pelo teste de Bonferroni ($p<0,05$).

Tabela 13 – Parâmetros Fenotípicos e Ingestão Dietética, Classificada pelo Padrão Metabolômico de AA Diversos (F5), em Tercil.

F5							
	1 T		2T		3 T		p
	n=56		n=56		n=56		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Características Gerais							
Idade (anos)	46 ^a	20	51 ^{a,b}	19	54 ^b	17	0,048 ¹
IMC (kg/m2)	25,7	5,6	26,7	17,1	25,9	5,4	0,621 ¹
Obeso (%)	18		34		21		0,288 ²
Cintura (cm)	89,4 ^a	13,8	93,0 ^{a,b}	11,4	95,8 ^{b,c}	14,5	0,043 ¹
Etnia (Branco, %)	52		68		48		0,083 ²
Sexo (Maculino,%)	38		46		73		0,000 ²
Atividade Física (Sim, %)	23		23		16		0,561 ²
Medicamentos (Sim, %)	27		30		32		0,819 ²
Renda Familiar	702,68	691,09	887,82	1048,75	682,73	680,00	0,351 ¹
Ingestão Dietética							
Lipídeos (g/dia)	57,9	27,0	61,8	28,5	65,0	33,8	0,455 ¹
Carboidratos (g/dia)	203,0	84,0	218,4	82,6	217,1	83,6	0,558 ¹
Proteína (g/dia)	79,2	35,1	79,4	35,1	84,5	43,8	0,714 ¹
Calorias (Kcal/dia)	1.656,2	620,4	1.756,7	695,5	1.794,2	719,4	0,540 ¹
Indicadores Bioquímicos							
Glicose	83,5	39,4	87,3	32,2	84,98	19,18	0,815 ¹
Triglicerídeos	115,8 ^a	99,2	152,2 ^{a,b}	79,0	165,0 ^b	134,6	0,004 ¹
Colesterol Total	183,3	42,6	195,5	43,5	191,5	43,8	0,316 ¹
HDL	49,1	12,9	47,6	11,0	45,9	9,0	0,315 ¹
LDL	111,5	33,8	117,9	35,3	114,3	36,1	0,627 ¹
Insulina	16,5	8,0	24,4	30,9	21,4	17,3	0,135 ¹
HOMA-IR	3,6	3,2	5,5	8,8	4,5	3,8	0,237 ¹
RI(%)	54		66		61		0,399 ²
Parâmetros Metabólicos							
AACR	527,9	106,7	553,3	106,1	563,6	167,3	0,328 ¹
MNS	21		39		32		0,120 ²

DP= Desvio Padrão . RI=Resistência Insulínica. MNS=Metabolicamente Não Saudável ¹ valor de *p* pelo teste de MANOVA. ² valor de *p* pelo teste do Chi-quadrado Para a significância estatística foi considerando o valor de $\alpha=0,05$. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada. a,b,c = diferença estatisticamente significativa pelo teste de Bonferroni ($p<0,05$).

6.6 AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES PARA DIFERENCIAR O ESTADO NUTRICIONAL E METABÓLICO

Os padrões AA cetogênicos, AA glicogênicos e AA cetoglurato foram elegidos para avaliar a possibilidade de serem usados como biomarcadores, considerando as suas características de diferenciar os indicadores bioquímicos ou metabólicos (Tabelas 9-11). Como os aminoácidos foram capazes de diferenciar os estados nutricionais e metabólicos, três foram escolhidos para serem avaliados como

biomarcadores. Foram eles: alanina, valina e os aminoácidos de cadeia ramificada. Estes aminoácidos apresentaram capazes de diferenciar indivíduos com diferentes estados nutricionais, bem como com estados metabólicos alterados (Tabelas 4-6, Figura 2).

Os aminoácidos e o padrão AA cetogênicos (F1) revelaram melhores comportamento como biomarcadores para a resistência insulínica (Figura 4), estado metabólico (Figura 5) e nutricional (Figura 6), pois apresentaram valores da área sob a curva acima de 0,5. Por outro lado, os demais padrões não apresentaram características interessantes como biomarcadores.

Os biomarcadores estudados apresentaram o poder de classificação que variou de 60 a 76%, bem como a sensibilidade e a especificidade (Tabela 14). Os pontos de corte para metabolicamente saudável e estado nutricional ficaram bem próximos, exceto para o Padrão AA cetogênico. Para a classificação da resistência insulínica, os biomarcadores tiveram os menores valores quando comparado com o estado metabólico e nutricional. Os aminoácidos de cadeia ramificada e o padrão AA cetogênicos tiveram o maior poder de classificação para o estado nutricional, distinguindo indivíduos com obesidade e sem obesidade.

Figura 4 – Área sobre a curva, considerando a resistência insulínica em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, alanina e os padrões de aminoácidos 1, 2 e 3. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada

AACR

F1

Valina

F2

Alanina

F3

Figura 5 – Área sobre a curva, considerando a classificação Metabolicamente Saudável em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, alanina e os padrões de aminoácidos 1, 2 e 3. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada.

AACR

F1

Valina

F2

Alanina

F3

Figura 6 – Área sobre a curva, considerando a classificação obesidade em relação aos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, alanina e os padrões de aminoácidos 1, 2 e 3. AACR=aminoácidos de cadeia ramificada.

AACR

F1

Valina

F2

Alanina

F3

Tabela 14 – Classificação de Acordo com as Categorias Relacionadas às Alterações Metabólicas, Considerando os Aminoácidos de Cadeia Ramificada, Valina e Padrão de Aminoácidos Cetogênicos.

Aminoácidos de Cadeia Ramificada				
Categoria	Ponto de Corte (mg)	Sensibilidade	Especificidade	Classificação Correta
Resistência Insulínica	545	60%	63%	61%
Metabolicamente Saudável	576	62%	70%	67%
Obeso	579	71%	72%	72%
Valina				
Categoria	Ponto de Corte (mg)	Sensibilidade	Especificidade	Classificação Correta
Resistência Insulínica	273	61%	63%	62%
Metabolicamente Saudável	291	63%	70%	68%
Obeso	293	63%	69%	68%
Alanina				
Categoria	Ponto de Corte (mg)	Sensibilidade	Especificidade	Classificação Correta
Resistência Insulínica	380	62%	58%	61%
Metabolicamente Saudável	404	65%	66%	66%
Obeso	404	66%	64%	64%
AA Cetogênicos (F1)				
Categoria	Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Classificação Correta
Resistência Insulínica	-0,001	60%	60%	60%
Metabolicamente Saudável	0,133	62%	62%	62%
Obeso	0,438	71%	78%	76%

6.7 O CONSUMO DE MANGANÊS

A ingestão média de manganês pela população estudada foi de 2,5 mg, sendo que a menor concentração ingerida foi de 1,2 mg e a máxima de 5,3 mg (Tabela 15). O consumo deste mineral esteve positivamente associado com sexo masculino e eutrofia. A mediana do consumo ficou acima de 2,0 mg de manganês, sendo que os indivíduos do sexo masculino e os com eutrofia tiveram os maiores consumo deste mineral (2,7 mg).

Tabela 15 - Consumo de manganês* pela população estudada.

	n	Média	DP	Mínimo	Máximo	Mediana	p ¹
Geral	168	2,5	0,7	1,2	5,3	2,5	
Sexo							0,000
Masculino	88	2,7 ^a	0,7	1,2	5,3	2,7	
Feminino	80	2,2 ^b	0,5	1,2	3,1	2,1	
IMC							0,003
Eutrofia	79	2,7 ^a	0,6	1,2	4,2	2,7	
Sobrepeso	48	2,3 ^b	0,6	1,3	3,3	2,4	
Obesidade	41	2,2 ^b	0,8	1,2	5,3	2,0	

¹ Teste t de Student. *Manganês ajustado pela energia.

O grupo de alimentos (Tabela 16) que mais contribuíram com a oferta de manganês foi o de infusões (exceto café). Além disso, foi o que apresentou maior concentração em porcentagem e da quantidade do mineral por porção. Os primeiros dez grupos de alimentos que contribuíram com a maior ingestão de alimentos foram aqueles de origem vegetal ou seus derivados, destacando os alimentos arroz, pães, feijões. O cereal trigo se destacou na classificação, bem como os seus produtos derivados, como por exemplo pães, biscoitos, macarrão.

Tabela 16- Contribuição dos Principais Alimentos na Ingestão de Manganês.

Alimentos	Contribuição (%)	Classificação	100g		Porção	
			mg	Classificação	mg	Classificação
Infusão	56,0	1	9,0	1	18,0	1
Arroz	13,0	2	0,4	17	0,6	4
Pães	6,0	3	0,6	12	0,3	12
Feijões	5,0	4	0,6	11	0,3	15
Biscoitos Tipo Agua-Sal	3,5	5	1,8	3	0,6	5
Frutas	2,0	6	0,1	38	0,2	20
Legumes	1,5	7	0,2	28	0,1	25
Cereais	1,4	8	0,8	6	0,8	2
Biscoitos Doces	1,4	8	0,5	13	0,4	8
Massas	1,2	9	0,2	33	0,3	14
Folhosos	1,0	10	0,2	31	0,1	28

O consumo de manganês apresentou associação inversa com IMC, aminoácidos de cadeia ramificada, Val e o padrão AA cetogênico, com r^2 variando de 0,13 a 0,20 (Tabela 17). Os modelos de regressão linear demonstraram que o consumo de manganês em 1 mg, diminuiu 2,23 unidades do IMC, 32,51 mg de aminoácidos de cadeia ramificada, 18,63 mg de Val e 0,26 a adesão ao padrão AA cetogênico. Em relação aos demais padrões metabólicos de AA, verificou-se associação direta com o consumo de manganês, porém, sem significância estatística, exceto para o padrão AA cetoglutarato. Todavia, o poder explicativo desse modelo ficou em 0,06, o menor das associações testadas. O aminoácido Ala não demonstrou associação significativa com o consumo de manganês.

Tabela 17 - Associação entre Consumo de Manganês e IMC e Padrão Metabolômico de Aminoácidos.

	Beta*	Erro Padrão	p	R2
IMC	-2,23	0,51	0,000	0,21
AACR	-32,51	12,84	0,012	0,15
Valina	-18,63	6,59	0,005	0,13
Alanina	-8,13	10,40	0,435	0,07
AA Cetogênicos	-0,26	0,10	0,009	0,17
AA Glicogênicos	0,15	0,10	0,126	0,14
AA Cetoglutrato	0,21	0,10	0,047	0,06
AA Ciclo Ureia	0,03	0,09	0,764	0,25
AA Diversas	0,17	0,10	0,092	0,15

*ajustado por idade, energia, sexo, cor de pele, atividade física, renda familiar
AACR=aminoácidos de cadeia ramificada.

6.8 A ASSOCIAÇÃO ENTRE O PADRÃO ALIMENTAR E O ESTADO NUTRICIONAL E METABÓLICO

A população estudada apresentou três padrões alimentares (Tabela 18), representando características *moderna* (Padrão 1) com predominância de alimento processados, rico em carboidratos; *tradicional* (Padrão 2), representando a dieta brasileira, por conter arroz, feijão, carne, pão, manteiga e café; e *saudável* (Padrão 3), por ser composta por vegetais e carnes de origem de aves e peixes. Esses três padrões foram escolhidos a partir de 38 padrões gerados pela análise fatorial, sendo considerados os critérios descritos no item 6.6.1. A variância acumulativa dos três padrões foi de 0,25. É interessante notar que os alimentos derivados de leite, salgados e bebidas alcoólicas apresentaram baixa cargas fatoriais, revelando fraca influência em cada padrão alimentar.

Tabela 18 – Padrão Alimentar da População Estudada.

Alimentos	Padrão 1 Moderno	Padrão 2 Tradicional	Padrão 3 Saudável
Hamburguer	0,87	0,03	-0,07
Salsicha	0,82	0,06	-0,13
Bolo	0,81	-0,03	0,02
Batata/Mandioca/Polenta Frita	0,70	0,10	-0,13
Ovo	0,71	-0,05	0,20
Batata/Mandioca/Polenta Cozida	0,67	-0,06	0,28
Biscoito sem recheio	0,47	-0,19	-0,07
Farinha de Mandioca/Aveia	0,44	0,20	0,03
Macarrão/Lasanha/Nhoque	0,41	0,19	0,35
Chocolate/Torta/Doces	0,36	0,13	-0,09
Feijão	0,14	0,63	0,04
Arroz	-0,00	0,55	0,02
Margarina/Manteiga	0,03	0,50	-0,09
Café com açúcar	0,06	0,46	0,08
Carne Bovina	-0,10	0,43	0,08
Pão	0,04	0,40	0,05
Linguiça	0,13	0,34	-0,07
Carne Suína	-0,03	0,32	-0,18
Legumes	-0,08	-0,06	0,75
Verduras	-0,04	0,03	0,69
Carne Seca	0,11	0,36	0,53
Suco Natural	0,00	0,13	0,46
Frutas Frescas	-0,17	-0,19	0,40
Carne de Frango	-0,09	-0,17	0,36
Carne de Peixe	-0,02	-0,19	0,34
Leite	0,04	0,09	0,29
Queijo	0,20	-0,22	0,19
Iogurte	0,16	-0,01	0,11
Salgado Assado	0,18	0,18	0,05
Vinho	0,00	0,07	0,05
Salgado Frito	0,04	0,22	0,00
Destilados	-0,08	0,16	-0,00
Refrigerante	0,19	0,22	-0,00
Embutidos	0,09	0,08	-0,05
Defumados	-0,03	0,29	-0,07
Cerveja	-0,07	0,28	-0,07
Pizza	0,12	0,00	-0,13
Suco Industrializado	0,09	0,11	-0,15

O estado nutricional e metabólico não apresentaram relação estatística significativa com o padrão alimentar *moderno* (Tabela 19), que é composto por

grupos de alimentos ricos em lipídios, carboidratos e produtos cárneos industrializados. Verificou-se a associação inversa entre o estado nutricional e o padrão alimentar tradicional, que é caracterizados pelos grupos de alimentos que estão incluídos na dieta brasileira. O padrão alimentar *saudável* apresentou a relação direta estatisticamente significativa com o estado metabolicamente não saudável. Estes resultados podem apresentar o viés de causalidade reversa, pois o presente estudo se trata de um estudo transversal que restringe algumas associações por não estabelecer relações de causalidade entre a exposição e o desfecho pela ausência de temporalidade do evento.

Tabela 19 – Associação entre o Padrão Alimentar e o Estado Nutricional e Metabólico.

		Padrão 1		Moderno	
Parâmetros	Coeficiente	EP	P*	r²	
Estado Nutricional					0,022
	Sobrepeso	-0,23	0,18	0,211	
	Obesidade	-0,35	0,19	0,070	
Estado Metabólico					
	Metabolicamente Não Saudável	-0,23	0,17	0,169	0,011
	Resistência Insulínica	-0,17	0,16	0,273	0,007
	AA Cetogênicos				0,010
	2T	0,16	0,19	0,406	
	3T	-0,08	0,19	0,688	
	AACR				0,003
	2T	0,07	0,19	0,719	
	3T	-0,05	0,19	0,775	
		Padrão 2		Tradicional	
Parâmetros	Coeficiente	EP	p	r²	
Estado Nutricional					0,119
	Sobrepeso	-0,70	0,17	0,000	
	Obesidade	-0,67	0,18	0,000	
Estado Metabólico					
	Metabolicamente Não Saudável	-0,21	0,17	0,207	0,010
	Resistência Insulínica	-0,28	0,16	0,076	0,019
	AA Cetogênicos				0,017
	2T	0,11	0,19	0,577	
	3T	-0,21	0,19	0,278	
	AACR				0,007
	2T	-0,19	0,19	0,313	
	3T	-0,17	0,19	0,371	

AACR = aminoácidos de cadeia ramificada. EP= Erro Padrão . 2T= segundo tercil. 3T= terceiro tercil.
*Análise MANOVA.

Tabela 19 – Associação entre o Padrão Alimentar e o Estado Nutricional e Metabólico. (Cont.)

Parâmetros	Padrão 3 Saudável				r ²
	Coeficiente	EP	p		
Estado Nutricional					0,026
Sobrepeso	0,35	0,18	0,057		
Obesidade	0,29	0,19	0,133		
Estado Metabólico					
Metabolicamente Não Saudável	0,42	0,16	0,012		0,037
Resistência Insulínica	0,02	0,16	0,895		0,000
AA Cetogênicos					0,003
2T	0,06	0,19	0,738		
3T	0,14	0,19	0,463		
AACR					0,017
2T	-0,21	0,19	0,256		
3T	0,10	0,19	0,607		

AACR = aminoácidos de cadeia ramificada. EP= Erro Padrão . 2T= segundo tercil. 3T= terceiro tercil.

*Análise MANOVA.

Ao se testar a associação entre os padrões alimentares obtidos e os aminoácidos isoladamente (Tabela 20), verificou-se que o padrão alimentar tradicional não apresentou relação estatisticamente significativa com nenhum deles. Por outro lado, o padrão alimentar moderno revelou associação com os aminoácidos serina, metionina, glutamina e asparagina. O padrão alimentar saudável exibiu relação estatisticamente significativa com valina, tirosina, metionina e leucina. O poder explicativo dos modelos ficou abaixo de 20%, sendo que o modelo do aminoácido asparagina foi o que revelou o menor poder explicativo.

Tabela 20- Associação entre o Padrão Alimentar e Aminoácidos.

Padrão Alimentar Moderno				
Aminoácidos	Beta*	Erro Padrão	p	R2
Asparagina	1,6	0,7	0,025	0,10
Glutamina	20,6	10,4	0,049	0,12
Metionina	1,5	0,5	0,005	0,15
Serina	10,0	2,4	0,000	0,20
Padrão Alimentar Saudável				
Aminoácidos	Beta*	Erro Padrão	p	R2
Leucina	7,6	3,4	0,028	0,16
Metionina	1,3	0,5	0,015	0,14
Tirosina	3,3	1,3	0,014	0,16
Valina	12,6	3,4	0,028	0,12

*ajustado por idade, energia, sexo, cor de pele, atividade física, renda família

7. DISCUSSÃO

7.1 O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS E AS ALTERAÇÕES METABÓLICAS DO ESTADO NUTRICIONAL

Os resultados apontaram uma associação entre IMC e a concentração de isoleucina, leucina e valina estatisticamente significativa, demonstrando uma relação direta entre IMC e os aminoácidos de cadeia ramificada em concordância com a literatura consultada (OBERBACH et al., 2011; MORRIS et al., 2012; PEREZ-CORNAGO et al., 2014). Neste sentido, o perfil metabolômico de aminoácidos pôde caracterizar o estado nutricional do indivíduo, reforçando os informações reportadas em estudos internacionais que indicam que a concentração plasmática desses aminoácidos esteve elevada nos indivíduos com obesidade (SHAHAM et al., 2008; TAI et al., 2010; WANG et al., 2011; BATCH et al., 2013; RAUSCHET et al., 2014; CORELLA e ORDOVÁS, 2015).

Com os resultados obtidos, pôde-se verificar que o estado nutricional de eutrofia e obesidade apresentaram diferenças significativas nas concentrações plasmáticas dos aminoácidos, revelando possível alteração das vias bioquímicas envolvidas com estes metabólitos. As concentrações plasmáticas de triglicerídeos e glicose demonstraram essa alteração bioquímica de acordo com o estado nutricional, sendo que os indivíduos com obesidade foram os que apresentaram valores elevados nestes indicadores bioquímicos. Este quadro bioquímico pode ser resultado do metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada que sofrem catabolismo pela via da beta oxidação, gerando acetil-coenzima A que é oxidada pelo ciclo do ácido cítrico, por meio de fornecimento de dois átomos de carbono ao composto oxaloacetado para formar citrato. O acúmulo desse grupo de aminoácido

pode estar relacionado com a baixa atividade das enzimas envolvidas no seu catabolismo ou pelo excesso de compostos lipídicos nas mitocôndrias que retardam a oxidação dos aminoácidos (PIETILAINEN et al., 2007; ZHANG et al., 2013). Esse fenômeno bioquímico ocorre por conta da alta concentração de lipídios circulante (ZHANG, et al., 2013).

Os dados deste trabalho revelaram que os indivíduos com obesidade apresentaram os maiores índices de HOMA-IR e, conseqüentemente, a maior proporção de sujeitos com resistência insulínica (78%, $p=0,000$). Este quadro pode estar relacionada com a concentração plasmática de aminoácidos de cadeia ramificados, que foi maior no grupo de indivíduos com obesidade (SHAHAM et al., 2008; TAI et al., 2010; WANG et al., 2011; RAUSCHET et al., 2014; GUERTIN et al., 2014) e, portanto, com exposição prolongada a este perfil pode levar o indivíduo a desenvolver resistência insulínica (HUFFMAN et al., 2009; LAFERRÈRE et al., 2011; MUÑOZ, 2013). Foi reportado que os aminoácidos de cadeia ramificadas estão relacionadas metabolicamente com a diminuição da sensibilidade a insulina e, conseqüentemente, com o desenvolvimento de diabetes tipo 2 (SHAHAM et al., 2008; NEWGARD et al., 2009).

A resistência insulínica pode ser também explicada pelo catabolismo incompleto dos aminoácidos de cadeia ramificada que pode aumentar a concentração de outros aminoácidos e de outros metabólitos. A concentração de glutamato aumentada, por exemplo, está relacionada com o incremento da sua síntese pela primeira etapa do catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada, o que reflete na diminuição da concentração do cetoglutarato (PIETILÄINEN et al., 2007; SHAHAM et al., 2008; NEWGARD et al., 2009). O acúmulo de glutamato

aumenta a transaminação do piruvato a alanina, que por sua vez, favorece a gluconeogênese (NEWGARD et al, 2009). Essa alteração bioquímica pode desenvolver intolerância a glicose em indivíduos com obesidade (HUFFMAN et al., 2009). Os resultados obtidos apontaram para esse desvio do metabolismo pois tanto o glutamato como alanina aumentaram com o aumento do IMC, bem como, foi observado o aumento de insulina plasmática e do índice de resistência insulínica.

7.2 O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS DOS INDIVÍDUOS METABOLICAMENTE SAUDÁVEL

De acordo com análises realizadas para avaliar os indivíduos metabolicamente saudáveis e não saudáveis, verificou-se que o perfil metabolômico de aminoácidos foi o mesmo para aqueles classificados de acordo com o IMC. Averiguou-se, ainda, alterações nas concentrações plasmáticas de glicose, triglicerídeos, colesterol insulina e resistência insulínica que podem estar relacionadas com as alterações do metabolismo de aminoácidos (BATCH et al., 2013; KRAMER, ZINMAN et al., 2013; BADOUD et al., 2014). As concentrações plasmáticas de aminoácidos (alanina, arginina, glutamina, glutarato, isoleucina, leucina, tirosina e valina) foram semelhantes aquelas observadas nos indivíduos classificados pelo seu estado nutricional,

Quando os indivíduos foram classificados de acordo com o IMC e subclassificados de acordo com estado metabólico saudável, não se verificou a diferença do perfil metabolômico de aminoácidos de cadeia ramificada entre os

indivíduos com obesidade classificados como metabolicamente saudáveis e não saudáveis, exceto para o aminoácido valina. Constataram-se diferenças estatísticas significativas apenas do aminoácido glicogênico alanina para distinguir os indivíduos metabolicamente saudável dos não saudáveis tanto com eutrofia como aqueles com sobrepeso. Portanto, ao realizar a subclassificação do estado nutricional em metabolicamente saudável ou não saudável, não foi possível identificar um perfil de aminoácidos que os distinguisse ou os caracterizasse. Outros estudos apontaram o aumento da concentração de aminoácidos cetogênicos nos indivíduos classificados com obesidade e metabolicamente não saudável, porém, quando comparados com aqueles que eram não obesos e metabolicamente saudáveis. (BATCH et al., 2013; KRAMER et al., 2013; BADOUD et al., 2014).

Por outro lado, ao se avaliar a interação do estado nutricional com a classificação de metabolicamente saudável e associá-la com os aminoácidos, constatou-se uma relação significativa estatisticamente com vários aminoácidos. O aumento do valor de beta dos aminoácidos foi verificado principalmente na interação entre metabolicamente não saudável e obesidade. Os resultados apontaram que o aumento do IMC possa ser um fator determinante para desenvolver a alteração metabólica (WAHL et al., 2015). Porém, o perfil metabolômico de aminoácido demonstrou ser eficiente em caracterizar os estados nutricional e metabólico, bem com a sua interação, podendo ser um instrumento interessante para estudos epidemiológicos (MORRIS et al., 2012; BATCH et al., 2013)

7.3 BIOMARCADORES PARA O ESTADO NUTRICIONAL E METABÓLICO

A análise fatorial por componente principal permitiu obter 5 padrões de aminoácidos, sendo que o primeiro o segundo, representam dois estados metabólicos distintos. O primeiro foi constituído principalmente pelo aminoácidos de cadeia ramificada relacionados com a beta oxidação (NEWGARD et al., 2009) e relacionados com os indivíduos com obesidade ou classificados como metabolicamente não saudáveis (ROBERSON et al., 2014). E o segundo padrão foi caracterizado pelos aminoácidos glicogênicos, que favorecem o metabolismo oxidativo do ciclo do ácido cítrico.

Ao se associar os padrões de aminoácidos obtidos com o IMC, verificou-se que à medida que o IMC aumentou, a adesão ao padrão de aminoácidos cetogênicos (Padrão 1) também foi maior, observou-se a diminuição da adesão ao padrão com aminoácidos glicogênicos (Padrão 2). Uma vez mais foi possível verificar a tendência do incremento de IMC em favorecer a alteração metabólica de aminoácido (TAI et al., 2010; WANG et al., 2011; MORRIS et al., 2012; BATCH et al., 2013; PEREZ-CORNAGO et al., 2014; RAUSCHET et al., 2014; CORELLA e ORDOVÁS, 2015).

A estratificação pelo tercil dos padrões aminoácidos permitiu reforçar essa relação com as alterações metabólicas. Os tercís extremos do primeiro padrão (aminoácidos cetogênicos) apresentaram diferenças estatísticas significativas para indicadores bioquímicos e metabólicos que favorecem o possível surgimento de diabetes tipo 2 (SHAHAM et al., 2008; NEWGARD et al., 2009), pois o terciniceiro tercil apresentou maior proporção de indivíduos com obesidade (50%), metabolicamente não saudável (50%) e com resistência a insulina (73%). Já o segundo padrão (aminoácidos glicogênicos), apresentou situação inversa ao

primeiro, reforçando que os aminoácidos cetogênicos estariam relacionados com a obesidade e o aparecimento da resistência insulínica (NEWGARD et al., 2009; OBERBACH et al., 2011; WANG et al., 2011; WHAL et al., 2015)

Neste sentido, o padrão de aminoácidos cetogênicos apresentaram características como biomarcador de alterações metabólicas relacionadas ao aumento de IMC, seguido pelo aminoácidos de cadeia ramificada, valina e alanina (OBERBACH et al., 2011; ZHANG et al., 2013; RAUSCHERT et al., 2014; WHAL et al., 2015). Esse mesmo padrão e aminoácidos também foram capazes de identificar e classificar os indivíduos com resistência insulínica (NEWGARD et al., 2009) e com metabolismo saudável (BATCH et al., 2013). Os valores de área sob a curva ficaram acima de 0,5, porém, com poder moderado para serem usados como biomarcadores, porque nenhum deles ultrapassou o limite de 0,8 (XIA et al., 2013). Entretanto, os biomarcadores estudados demonstraram sensibilidade e especificidade capazes de classificar corretamente os indivíduos em torno de 60 a 76% como resistente a insulina, com obesidade e metabolicamente saudável.

Os aminoácidos de cadeia ramificada são os principais aminoácidos que podem ser associados às alterações bioquímicas que levam ao desenvolvimento de doenças crônicas (BATCH et al., 2013; BOULET et al., 2015). Porém, trabalhar com o padrão de aminoácidos seria mais conveniente para buscar um resultado mais próximo dos fenômenos bioquímicos, pois os aminoácidos não atuam isoladamente e sim conjuntamente, um influenciando o metabolismo do outro, por conta da homeostase (NEWGARD et al., 2009).

7.4 O PERFIL METABOLÔMICA DE AMINOACÍDOS E A SUA RELAÇÃO COM O PADRÃO ALIMENTAR

Os padrões alimentares obtidos neste estudo totalizaram o número de três, caracterizados por alimentos saudáveis (legumes, verduras, suco natural, frutas frescas, carne de frango, carne de peixe), não saudáveis (hambúrguer, salsicha, produtos de panificação açucarados, alimentos fritos, pastas) e tradicionais (arroz, feijão, pão, manteiga/margarina, café com açúcar, carne vermelha), que participavam da dieta local. Embora os dados de consumo alimentar foram obtidos em uma população brasileira, as características dos padrões alimentares deste estudo apresentaram características semelhantes a outros estudos (BRENNAN et al., 2015; GUERTIN et al., 2014; BOUCHARD-MERCIER et al., 2013; FLOEGEL et al., 2013; PERÉ-TREPAT et al., 2010). Os vegetais e carne não vermelha estiveram presentes nos padrões classificados como saudável ou prudente; a carne vermelha e alimentos calóricos foram os principais constituintes dos padrões denominados não saudáveis. Os padrões que representavam a dieta da população estudada também foi caracterizada, sendo constituída por alimentos tipos dos hábitos alimentares do país (MENNI et al., 2012, ALTMAIER et al., 2011; PERÉ-TREPAT et al., 2010).

O padrão alimentar moderno (não saudável) não demonstrou associação significativa com as variáveis que indicavam o estado nutricional e metabólico da população. A associação inversa significativa estatisticamente foi verificada entre o padrão alimentar tradicional e estado nutricional, e positivamente entre o padrão alimentar saudável e sobrepeso e metabolicamente não saudável. Os resultados mostraram uma tendência dos indivíduos a aderirem a um padrão alimentar mais saudável, independente da sua classificação pelo IMC ou alteração metabólica.

Provavelmente, estes resultados estariam relacionados as características gerais da população estudada que é saudável (BOUCHARD-MERCIER et al., 2013), pois a média dos indicadores bioquímicos se encontravam dentro dos limites normais, foi composta por cerca de 26% de obesos e por indivíduos cuja idade média foi de 50 anos.

O padrão alimentar não saudável ou moderno apresentou associação estatisticamente significativa com os aminoácidos serina, metionina, glutamina e asparagina, o padrão alimentar saudável, com valina, tirosina, metionina e leucina. Esta relação positiva indicou um aumento da concentração plasmática de aminoácido devido ao consumo de alimentos proteicos (FLOEGEL et al., 2013; BOUCHARD-MERCIER et al., 2013), pois em ambos apresentam alimentos ricos em proteínas, tais como hambúrguer, salsicha, ovo, carne seca, carne de frango e de peixe. O aminoácido serina foi associado a um padrão alimentar caracterizado por alimentos calóricos e pobres em frutas e vegetais e peixe (FLOEGEL et al., 2013; BOUCHARD-MERCIER). Os aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina, isoleucina), os aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptofano), metionina, lisina, arginina, glutamina, treonina e asparagina apresentaram relação com os padrões alimentares constituídos por alimentos proteicos de origem animal e vegetal (FLOEGEL et al., 2013; PERÉ-TREPAT et al., 2010). Seria de esperar que um consumo de alimentos de origem animal aumentasse a concentração de aminoácidos circulantes quando comparado com os de origem vegetal, por estes últimos possuírem proteínas com menor biodisponibilidade, todavia, a concentração plasmática de aminoácidos varia por diversos fatores como o tipo de alimento (UHE et al., 1992) ou pelo metabolismo do indivíduo (SOUKY e LEBLANC, et al, 1998). Como as amostras de sangue foram obtidas em jejum, poderia assumir que as

variações de concentração de aminoácidos ocorram devido a uma resposta metabólica a dieta regular rica em alimentos de origem animal do que pela biodisponibilidade da proteína ou pela consumo recente de um grupo de alimentos (ALTMAIER et al., 2010).

7.5 O PERFIL METABOLÔMICO DE AMINOÁCIDOS E O CONSUMO DE MANGANÊS

A ingestão de manganês pela população estudada variou de 1,2 a 5,3 mg/dia. Baseando-se no consumo médio (2,5 mg/dia), a população estudada não teria deficiência desse mineral, pois a recomendação seria de 2,3 mg/dia para homens e 1,8mg/dia para mulheres (Institute of Medicine, 2001). Neste sentido, a atividade mitocondrial estaria normal, sem alterações metabólicas, em função do manganês fazer parte das enzimas presentes nas mitocôndrias, responsáveis pelas reações de oxirredução de nutrientes (BURCH et al., 1975; SÁNCHEZ et al., 2010; ZHOU et al., 2016). Todavia, foi encontrada associação inversa do consumo de manganês com o índice de massa corporal, com o padrão metabólico de aminoácidos e com aminoácidos isolados, especialmente os de cadeia ramificada, refletindo alteração do catabolismo de aminoácidos (HUFFMAN et al., 2009). Os indivíduos com obesidade apresentaram menor ingestão de manganês e mostraram uma associação inversa à ingestão deste mineral (SALEHI-ABARGOUEI et al., 2016). A baixa ingestão de manganês pode estar relacionada com a mudança de hábito alimentar em reduzir o consumo de alimentos de origem vegetal (SANCHEZ et al., 2010). O baixo consumo do mineral pode explicar a concentração elevada de

aminoácidos e de triglicerídeos circulantes (BURCH et al., 1975; ZHOU et al., 2016), uma vez que a baixa concentração de manganês pode levar à diminuição da atividade enzimática nas mitocôndrias (BURCH et al., 1975; SÁNCHEZ et al., 2010; ZHOU et al., 2016). Consequentemente, a diminuição da atividade mitocondrial levaria o aumento de triglicérides e o seu depósito nas células adiposas. (NEWGARD et al., 2009)

O hábito de beber infusão de mate e café pode proporcionar a ingestão maior de manganês (NHMRC, 2006), por apresentar concentrações elevada do mineral quando se compara com os demais grupos de alimentos. Os dados indicam, ainda, a importância de consumir cereais, leguminosas e folhosos como fonte de manganês. Contudo, o hábito brasileiro de consumir arroz e feijão é constituído por um padrão alimentar capaz de oferecer a quantidade de manganês suficiente para atender a recomendação diária de ingestão deste mineral. O consumo de 3 a 4 porções de arroz ou 6 a 8 de feijão, atingiriam as necessidades diárias do micronutriente. Portanto, a indicação de 2,5 porções de arroz e 0,5 de feijão forneceria a quantidade de manganês suficiente para as necessidades diárias para as mulheres e 3,5 porções de arroz e 1 de feijão, para os homens. Consequentemente, com esse padrão alimentar seria possível manter a atividade enzimáticas dos processos metabólicos das mitocôndrias, principalmente as enzimas do grupo MnSOD, diminuindo o risco de ocorrer alterações bioquímicas capazes de gerar doenças a longo prazo (MONTANO et al., 2009).

7.6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O presente estudo teve como limitação a identificação de dos metabólitos incluídos no kit obtido. Seria possível identificar outros metabólitos que poderiam estar relacionados com outras vias metabólicas ou com a dieta ou grupos de alimentos consumidos. Porém, o kit escolhido quantifica os metabólitos de vias metabólicas específicas que ajudam a entender as mudanças do metabolismo de forma mais precisa. A medida dos metabólitos no plasma pode ser influenciada pela técnica de análise empregada, armazenamento, transporte, bem como pela variação interna do indivíduo. Por esta razão, alguns dados podem não coincidir exatamente com os resultados de outros trabalhos.

Foi utilizado o questionário de frequência alimentar para elaborar os padrões alimentares. Esta ferramenta apresentou uma grande variedade de alimentos, mas que foi validada previamente e mostrou gerar resultados reprodutivos. Mas, pode estar susceptível a erro de medição. A informação do tamanho da porção consumida é algo que pode gerar confusão ao entrevistado e fornecer dados imprecisos. Esta imprecisão também pode ocorrer por conta da memória, pois o entrevistado pode ter dificuldade em recordar os alimentos que consumiu, a sua quantidade, bem como a sua frequência. Ou seja, pode-se provocar um erro relacionado ao sub-relato da ingestão energética. Geralmente, a imprecisão da coleta de dados, a subjetividade de realizar os agrupamentos dos alimentos poder produzir erros sistemáticos ao obter os padrões alimentares e na associação com os metabólitos plasmáticos. Particularmente, neste estudo, a aplicação do questionário de frequência alimentar e a coleta de sangue foram feitas em dias distintos. Além disso, os processos de digestão, absorção, multiutilização, metabolismo, excreção, mecanismos

homeostáticos, podem ter efeitos sobre a relação entre a quantidade ingerida e medição bioquímica. Estas podem ser mais outras razões para explicar possíveis discordâncias com os dados das literaturas consultadas.

Além disso, a tomada de decisão e a interpretação na análise fatorial exploratória podem não ser a mesma dos autores estudados, gerando consequentemente, resultados diferentes, limitando uma comparação mais precisa dos dados publicados. Somando a isso, as perdas amostrais, reduzindo o número de participantes na pesquisa, limita a possibilidade de estratificações das análises e a validade externo do estudo.

O fato da literatura consultada usar diferentes metodologias estatísticas para obter os resultados nesta área pode ter contribuído para tais divergências, originando dados super ou subestimados. Por esta motivo, o presente estudo se preocupou em usar as metodologias mais frequentemente utilizadas pelos autores consultados.

8 CONCLUSÃO

A análise metabolômica demonstrou a associação entre o estado nutricional e os aminoácidos. Esta relação demonstrou que a concentração da maioria dos aminoácidos aumentou com o incremento de IMC. Os aminoácidos que tiveram esta associação foram alanina, glutamina, glutamato, glicina, isoleucina, leucina, fenilalanina, serina, tirosina e valina. Portanto, foi possível determinar o perfil metabolômico capaz de caracterizar os indivíduos com eutrofia, sobrepeso e obesidade.

Este perfil também foi identificado para distinguir indivíduos metabolicamente saudável e não saudável. A concentração plasmática da maioria dos aminoácidos estiveram aumentadas no estado metabólico não saudável.

Os aminoácidos de cadeia ramificada, alanina e o padrão metabolômico de aminoácidos cetogênicos se destacaram tanto na associação com o estado nutricional, como com o estado metabólico. Podendo, assim, ser empregados como biomarcadores para classificar indivíduos de acordo com o estado nutricional e pelo estado metabólico.

Porém, o perfil metabolômico de aminoácidos não diferenciou os indivíduos metabolicamente saudáveis dos não saudáveis dentro de uma mesma categoria de IMC. Portanto, não foram identificados obesos metabolicamente saudáveis e não saudáveis, indicando que este grupo pode desenvolver resistência insulínica por já apresentar o seu metabolismo alterado.

Os padrões alimentares da população estudada denominados moderno (não saudável), tradicional e saudável não apresentaram relação estatisticamente significativa com o padrão metabolômico de aminoácidos e AACR. Os indivíduos com sobrepeso e obesidade tiveram um tendência em não aderir ao padrão

alimentar tradicional. O contrário pôde ser observado entre os indivíduos com sobrepeso e os metabolicamente não saudáveis com o padrão alimentar saudável. Os padrões alimentares Moderno e Tradicional tiveram associação positiva com aminoácidos de forma isolada, com resultados que dificultam uma interpretação metabólica plausível.

O consumo de manganês pela população estudada apresentou dentro da ingestão diária recomendada (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001), sendo que os principais alimentos que contribuíram com a sua ingestão foram chá mate, pães, arroz e feijão. Estes alimentos indicam a qualidade nutricional da dieta tradicional da população brasileira em ofertar este micronutriente.

Os indivíduos com obesidade ou com alteração metabólica ou com resistência insulínica demonstraram baixo consumo de manganês, o que poderia comprometer o seu estado metabólico e, conseqüentemente a sua saúde. Afinal, verificou-se uma associação inversa de consumo de manganês e o perfil metabólico de aminoácidos cetogênicos, que estão relacionados com a obesidade e resistência insulínica.

Contudo, a metabólômica relacionada aos aminoácidos foi capaz de estabelecer associação inversa entre o consumo alimentar do nutriente manganês, e direta entre o estado nutricional e metabólico da população estudada. Mas não demonstrou relação entre o perfil de aminoácidos e os padrões alimentares obtidos. Entretanto, os aminoácidos de cadeia ramificada e o perfil de aminoácidos relacionados à cetogênese demonstraram capacidade de classificar os indivíduos quanto ao estado nutricional, alteração metabólica e resistência insulínica.

9 REFERÊNCIAS

AFSHIN, A.; MURRAY, C.J.L.; REITSMA, M. The GBD 2015 Obesity Collaborators. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v.377, p.13-27, 2017

AGIN A.; HEINTZ D.; RUHLAND E.; CHAO DE LA BARCA J.M.; ZUMSTEG J.; MOAL V.; GAUCHEZ A.S.; NAMER J. Metabolomics – an overview. From basic principles to potential biomarkers. **Médecine Nucléaire**, France, v. 40, p. 4-10, 2016.

ALTMAIER, E.; KASTENMÜLLER,G.; RÖMISCH-MARGI,W.; THORAND, B.; WEINBERGER, K.M.; ILLIG, T.; ADAMSKI, J.; DÖRING, A.; SUHRE, K. Questionnaire-based self-reported nutrition habits associate with serum metabolism as revealed by quantitative targeted metabolomics. **European Journal of Epidemiology**, Netherlands, v.26, p.145-156, 2011.

ARNOLD, J.; CHOI, W.; SREEKUMAR, A.; Analytical strategies for studying stem cell metabolism. **Frontier in Biology**, Switzerland, v.10, n.2, p.141-153, 2015.

ASHWELL, M.; GUNN, P.; GIBSON, S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. **Obesity Reviews**, Oxford, v. 13, p.275-286, 2012.

ASTARITA, G.; LANGRIDGE, J. An emerging role for metabolomics in nutrition Science. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, Basel, v.6, p. 181-200, 2013.

BADOUD, F.; LAM, K.P; DIBATTISTA, A.; PERREAULT, M.; ZULYNIK, M.A.; CATTRYSE, B.; STEPHENSON, S.; BRITZ-MCKIBBIN, P.; MUTCH, D.M. Serum and adipose tissue amino acid homeostasis in the metabolically healthy obese. **Journal of Proteome**, Washington DC, v. 13, p. 3455-3466, 2014.

BAKER, M.G.; SIMPSON, C.D.; LIN, Y.S.; SHIREMAN, L.M.; SEIXAS, N. The use of metabolomics to identify biological signatures of manganese exposure. **Annals of Work Exposures and Health**, Oxford, v. 61, n.4, p. 406-415, 2017.

BATCH, B. C.; SHAH, S. H.; NEWGARD, C. B.; TURER, C. B.; HAYNES, C.; BAIN, J. R.; MUEHLBAUER, M.; PATEL, M. J.; STEVENS, R. D.; APPEL, L. J.; NEWBY, L. K.; SVETKEY, L. P. Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness. **Metabolism Clinical and Experimental**, Orlando, v.62, n.7, p.961-969, 2013.

BATISTA-FILHO, M.; RISSINI, A. A transição nutricional no Brasil: tendência regionais e temporais. **Cadernos Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.1, p. S181-S191, 2003.

BIOCRATES. **Metabolic phenotyping kit for mass spectrometry based. Quantitation of up to 188 metabolites.** Innsbruck, [s.d.]. Disponível em <https://www.biocrates.com/images/p180_Kit_Folder.pdf> . Acessado em janeiro de 2018.

BLÜHER, S.; SCHWARZ, P. Metabolically healthy obesity from childhood to adulthood. Does weight status alone matter? **Metabolism Clinical and Experimental**, Boston, v.63, n.9, p.1084-1092, 2014.

BOUCHARD-MERCIER, A.; RUDKOWSKA, I.; LEMIEUX, S.; COUTURE, P.; VOHL, M.C. The metabolomic signature associated with the dietary pattern: a cross-sectional study. **Nutrition Journal**, London, v.12, p.158-167, 2013.

BOULET, M.M.; CHEVRIER, G.; GRENIER-LAROUCHE, T.; PELLETIER, M.; NADEAU, M.; SCARPA, J.; PREHN, C.; MARETTE, A.; ADAMSKI, J.; TCHERNOF, A. Alterations of plasma metabolite profiles related to adipose tissue distribution and cardiometabolic risk. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, Rockville, v. 309, E736-E746, 2015.

BRENNAN, L.; GIBBSON, H.; O'GORMAN, A. An overview of the role of metabolomics in the identification of dietary biomarkers. **Current Nutrition Reports**, Switzerland, v.4, p. 304-312, 2015.

BURCH, R.E.; HAHN, H.K.; SULLIVAN, J.F. Newer aspects of the roles of zinc, manganese and copper in Human Nutrition. **Clinical Chemistry**, Washington DC, v.21, n.4, p.501-520, 1975.

CARVALHO, A.M.; CARIOCA, A.A.; FISBERG, R.M.; QI, L.; MARCHIONI, D.M.L. Joint association of fruit, vegetable and heterocyclic amine intake with DNA damage levels in a general population. **Nutrition**, London, v.32, p.260-264, 2016.

CASTRO, M.; BALTAR, V.; SELEM, S. S. C.; MARCHIONI, D.M.L.; FISBERG, R.M. Empirically derived dietary patterns: interpretability and construct validity according to different factor rotation methods. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.31, n.2, p.298-310, fev., 2015.

CHALECKIS, R.; EBE, M.; PLUSKAL, T.; MURAKAMI, I.; KONDOH, H.; YANAGIDA, M. Unexpected similarities between the *Schizosaccharomyces* and human blood metabolomes, and novel human metabolites. **Molecular Biosystems**, Cambridge, v.10, n. 10, p. 2538–2551, 2014.

CHAN, R.S.M.; WOO, J. Prevention of overweight and obesity: how effective is the current public health approach. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Switzerland, v. 7, p. 765-783, 2010.

CHEN, T.; NI, Y.; MA, X.; BAO, Y.; LIU, J.; HUANG, F.; HU, C.; XIE, G.; ZHAO, A.; JIA, W.; JIA, W. Branched-chain and aromatic amino acid profiles and diabetes risk in Chinese populations. **Scientific Reports**, United Kingdom, v.6, article 20594, 2016.

CHOI, M.K.; BAE, Y.J. Relation between dietary magnesium, manganese, and copper and metabolic syndrome risk in Korean adults: the Korea national health and nutrition examination survey (2007-2008). **Biological Trace Element Research**, Berlin, n.156, p. 56-66, 2013.

CLAUS, S.P.; SWANN, J.R. Nutrimetabonomics: applications for nutritional sciences, with specific reference to gut interactions. **Annual Review Food Science Technology**, United States of America, v.4, p.381-399, 2013.

CORELLA, D.; ORDOVÁS, J. M. Biomarkers: Background, classification and guidelines for applications in nutritional epidemiology. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 31, n. 3, p. 177-188, 2015.

DEIDDA, M.; PIRAS, C.; DESSALVI, C.C.; LOCCI, E.; BARBERINI, L.; TORRI, F.; ASCEDU, F.; ATZORI, L.; MERCURO, G. Metabolomic approach to profile functional and metabolic changes in heart failure. **Journal of Translational Medicine**, London, v.13, n.1, p.297-308, 2015.

FISBERG, R.M.; COLUCCI, A.C.A.; MORIMOTO, J.M.; MARCHIONI, D.M.L. Questionário de frequência alimentar para adultos com base em estudo populacional. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.42, n.3, p.550-554, 2008.

FISBERG, R.M.; VILLAR, B.S. **Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares: manual elaborado para auxiliar o processamento de inquéritos alimentares**. São Paulo: Signus; 2002. ^[1]_{SEP}

FISBERG, R.M.; MARCHIONI, D.; PREVIDELLI, A.N.; MARTINS, A.C.; MENDES, A.; TIMM, A.S.; GORGULHO, B.M.; VERLY, E.J.; STELUTI, J.; BRUNACIO, K.H.; et al. **Manual de avaliação do consumo alimentar em estudos populacionais: a experiência do inquérito de saúde em São Paulo (ISA)/Universidade de São Paulo**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP, 2012.

FLOEGEL, A.; E, VON RUESTEN, A.; DROGAN, D.; SCHULZE, M.B.; PREHN, C. ADAMSKI, J.; PISCHON, T.; BOEING, H. Variation of serum metabolites related to habitual diet: metabolomics approach in EPIC-Postdam. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 67, p.1100-1108, 2013.

FOX, A.M.; HOROWITZ, C.R. Best Practices in the policy approaches to obesity prevention. **Journal of Health Care Poor Underserved**, Washington DC, v. 24, n.20, p.168-192, 2013.

GELONEZE, B.; REPETTO, E.M.; GELONEZE, S.R.; TAMBASCIA, M.A.; ERMETICE, M.N. The threshold value for insulin resistance (HOMAIR) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. **Diabetes Research Clinical Practice**, Belgium, v.72, p. 219-20, 2006.

GIBBSONS, H.; BRENNAN, L. Metabolomics as a tool in the identification of dietary biomarkers. **Proceeding of Nutrition Society**, Cambridge, v.76, n.1, p.42-53, 2017.

GIBBSONS, H.; O'GORMAN, A.; BRENNAN, L. Metabolomics as a tool in nutritional research. **Current Opinion in Lipidology**, Philadelphia, v.26, p. 30-34, 2015.

GOH, V.H.H.; TAIN, C.F.; TONG, T.Y.Y.; MOK, H.P.P.; WONG, M.T. Are BMI and other anthropometric measures appropriate as indices for obesity? A study in an Asian population. **Journal of Lipid Research**, Bethesda, v. 45, p. 1892 – 1898, 2004.

GRUNDY, S.M. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. **J Clin Endocrinology Metabolism**, Korean, v.89, p.2595-2600, 2004.

GRAVES, J.W. A survey of validated automated home blood pressure monitors available for the shopper. **Blood Pressure Monitoring**, Rochester, v.10, p.103-7, 2005.

GUASH-FERRÉ, M.; BHUPATHIRAJU, S.N.; HU, F.B. Use of metabolomics in improving assessment of dietary intake. **Clinical Chemistry**, Washington DC, v.64, n.1, p.82-89, 2018

GUERTIN, K.; MOORE, S.C.; SAMPSON, J.N.; HUANG, W.Y.; XIAO, Q.; STOLZENBERG-SOLOMON, R.Z.; SINHA, R.; CROSS, A.J. Metabolomics in nutritional epidemiology: Identifying metabolites associated with diet and quantifying their potential to uncover diet-disease relations in populations. **American Journal of Clinical Nutrition**, Oxford, v.100, n.1, p.208-217, 2014.

HAUBROCK, J.; NOETHLINGS U.; VOLATIER, J.L.; DEKKERS, A.; OCKE, M.; HARTTIG, U.; ILLNER, A.K.; KNÜPPEL, S.; ANDERSEN, L.F.; BOEING, H. Estimating usual food intake distribution by using the multiple source method in the EPIC – Postdam calibration study. **Journal of Nutrition**, Oxford, v. 131, n.12, p. 3277-80, 2001.

HEINZMANN, S.S.; BROWN, I.J.; CHAN, Q.; BICTASH, M.; DUMAS, M.E.; KOCHHAR, S.; STAMLER, J.; HOLMES, E.; ELLIOTT, P.; NICHOLSON, J.K. Metabolic profiling strategy for discovery of nutritional biomarkers: proline betaine as a marker of citrus consumption. **American Journal of Clinical Nutrition**, Oxford, v.92, p.436-443, 2010.

HEISEL, W.; PERSAUD, M. **Nearly one-third of the world's population is obese or overweight, new data show.** Seattle, [s.d]. Disponível em : <<http://www.healthdata.org/news-release/nearly-one-third-world%E2%80%99s-population-obese-or-overweight-new-data-show>>. Acessado em 10/07/2018.

HUFFMAN, K.M.; SHAH, S.H.; STEVENS, R.D.; BAIN, J.R.; MUEHLBAUER, M., SLENTZ, C.A.; TANNER, C.J.; KUCHIBHATLA, M.; HOUMARD, J.A.; NEWGARD, C.B.; KRAUS, W.E. Relationships between circulating metabolic intermediates and insulin action in overweight to obese, inactive men and women. **Diabetes Care**, Alexandria, v.32, n.9, p.1678-83, Sep, 2009.

HUI, W.; ZHIQI, L.; SHENGYI, W.; DONGAN, D.; XINKE, Z.; LIU, Y.; ZHANG, Y. UHPLC-Q-TOF/MS based plasma metabolomics revealed the metabolic perturbations by manganese exposure in rat models. **Metalomics**, London, v.9, n.2, p. 192-203, 2017.

ICHIKAWA, S.; MORIFUL, M.; OHARA, H.; MATSUMOTO, H.; TAKEUCHI, Y.; SATO, K. Hydroxyproline-containing dipeptides and tripeptides quantified at high concentration in human blood after oral administration of gelatin hydrolysate. **International Journal of Food Science and Nutrition**, London, v.61, n.1, p.52-60, feb, 2010.

INSTITUTE OF MEDICINE (US) **Panel on Micronutrients. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001. 10, Manganese. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222332/>> . Acessado em 07/11/2018.

JENAB, M.; SLIMANI, N.; BICTASH, M.; FERRARI, P.; BINGHAM, S.A. Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. **Human Genetics**, Berlin, v. 125, p.507-525, 2009.

KOHLMEIER, M.; DE CATERINA, R.; FERGUNSON L.R.; GÖRMAN, U.; ALLAYEE, H.; PRASAD, C.; KANG, J.X.; NICOLETTI, C.F.; MARTINEZ, J.A. Guide and position of the international society of nutrigenetics/nutrigenomics on personal nutrition: part2 – ethics, challenges and endeavours of precision nutrition. **Journal of Nutrigenetics Nutrigenomics**, Basel, v.9, p.28-46, 2016

KOLETZKO, B.; VON KRIES, R.; CLOSA, R.; ESCRIBANO, J.; SCAGLIONI, S.; GIOVANNINI, M.; BEYER, J.; DEMMELMAIR, H.; ANTON, B. GRUSZFELD, D.; DOBRZANSKA, A.; SENGIER, A.; LANGHENDRIES, J.P.; ROLLAND, CACHERA, M.F.; GROTE, V. Can infant feeding choices modulate later obesity risk? **American Journal of Clinical Nutrition**, Oxford, v.89, p.1502S-1508S, 2009.

KRAMER CK, ZINMAN B, RETNAKARAN R. Are metabolically healthy overweight and obesity benign conditions? A systematic review and meta-analysis. **Annals of Internal Medicine**., Philadelphia, v. 159, n. 11, p. 758-69, 2013.

LAFERRÈRE, B.; REILLY, D.; ARIAS, S.; SWERDLOW, N.; GORROOCHURN, P.; BAWA, B.; BOSE, M.; TEIXEIRA, J.; STEVENS, R.D.; WENNER, B.R.; BAIN, J.R.; MUEHLBAUER, M.J.; HAQQ, A.; LIEN, L.; SHAH, S.H.; SVETKEY, L.P.; NEWGARD, C.B. Differential metabolic impact of gastric bypass surgery versus dietary intervention in obese diabetic subjects despite identical weight loss. **Science Translational Medicine**, Washington, v.3, n.80, p. 80res2, Apr, 2011.

MARTÍNEZ-LARRAD, M.T.; ANCHUELO, A.C.; PRADO, N.; RUEDA, J.I.; GABRIEL, R; SERRANO-RÍOS, M. Profile of individuals who are metabolically healthy obese using different definition criteria. A population-based analysis in the Spanish population. **PLoS One**, San Francisco, v.9, n.9, e106641, 2014.

MATTISON, D.R.; MILTON, B.; KREWSKI, D.; LEVY, L.; DORMAN, D.C.; AGGETT, P.J.; ROELS, H.A.; ANDERSEN, M.E.; KARYAKINA, N.A.; SHILNIKOVA, N.; RAMOJU, S.; MCGOUGH. Severity scoring of manganese health effects for categorical regression. **Neurotoxicology**, Danvers, v.58, p. 203-216, 2017.

MENNI, C.; ZHAI, G.; MACGREGOR, A.; PREHN, C.; RÖMISCH-MARGL, W.; SUHRE, K. et al. Targeted metabolomics profiles are strongly correlated with nutritional patterns in women. **Metabolomics**, London, v.9, p. 506-14, 2013.

METALLO, C.M.; VANDER HEIDEN, M.G. Understanding metabolic regulation and its influence on cell physiology. **Molecular Cell**, Massachusetts, v.49, n. 3, p. 388-398, 2013.

NICHOLSON, J. K.; HOLMES, E.; KINROSS, J. M.; DARZI, A. W.; TAKATS, Z.; LINDON, J.C. Metabolic phenotyping in clinical and surgical environments. **Nature**, v.491, p. 384–392, 2012.

MONTANO, M.A.; LERA, J.P.B.; GOTTLIEB, M.G.V.; SCHWANKE, C.H.A.; ROCHA, M.I.U.M.; MANICA-CATANI, M.F.; SANTOS, G.F.; CRUZ, I.B.M. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and elderly obesity. **Molecular Cell Biochemistry**, Switzerland, v.328, p.33-40, 2009.

MONTONEN, Jukka; BOEING, Heiner; FRITSCHKE, Andreas; SCHLEICHER, ^[1]Erwin; JOOST, Hans-Georg; SCHULZE, Matthias B.; STEFFEN, Annika; PISCHON, Tobias. Consumption of red meat and whole-grain bread in relation to biomarkers of obesity, inflammation, glucose metabolism and oxidative stress. **European Journal of Nutrition**, London, v. 52, p. 337–345, 2013.

MORRIS, Ciara; O'GRADA, COLM; RYAN, Miriam; ROCHE, Helen M.; GIBNEY, Michael J.; GIBNEY, Eileen R.; BRENNAN, Lorraine. The relationship between BMI and metabolomic profiles: a focus on amino acids. **Proceedings of the Nutrition Society**, Wallingford, v.71, p.634–638, 2012.

MUÑOZ, J.M. Predictors of obesity: the “power” of the omics. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 28, Suppl.5, p. 63-75, 2013.

NAVARRO, E.; FUNTIKOVA, A.N.; SCHRÖDER, H. Can metabolically healthy obesity be explained by diet, genetics, and inflammation? **Molecular Nutrition Food Research**, Weinheim, v. 59, n.1, p. 75-93, 2015.

NEWGARD, C.B.; AN, J.; BAIN, J.R.; MUEHLBAUER, M.J.; STEVENS, R.D.; LIEN, L.F.; HAQQ, A.M.; SHAH, S.H.; ARLOTTO, M.; SLENTZ, C.A.; ROCHON, J.; GALLUP, D.; ILKAYEVA, O.; WENNER, B.R.; YANCY, W.S. JR; EISENSON, H.; MUSANTE, G.; SURWIT, R.S.; MILLINGTON, D.S.; BUTLER, M.D. SVETKEY, L.P. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. **Cell Metabolism**, Cambridge, v.9, p.311–326, 2009.

NHMRC – National Health and Medical Research Council. **Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand Including Recommended Dietary Intakes. Manganese background.** Australia, 2006. Disponível em: <https://www.nrv.gov.au/sites/default/files/content/n35-manganese_0.pdf>. Acessado em 07/11/2018.

OBERBACH, A.; BLUHER, M.; WIRTH, H.; TILL, H.; KOVACS, P.; KULLNICK, Y.; SCHLICHTING, N.; TOMM, J.M.; ROLLE-KAMPCZYK, U.; MURUGAIYAN, J.; BINDER, H.; DIETRICH, A.; VON BERGEN, M. Combined proteomic and metabolomic profiling of serum reveals association of the complement system with obesity and identifies novel markers of body fat mass changes. **Journal of Proteome Research**, Washington, v.10, p.4769–4788, 2011.

O'GORMAN, A.; BRENNAN, L. The role of metabolomics in determination of new dietary biomarkers. **Proceedings of the Nutrititin Society**, Cambridge, v.76, n.3, p.295-302, 2017.

O'GORMAN, A.; MORRIS, C.; RYAN, M.; O'GRADA, C.M.; ROCHE, H.M.; GIBNEY, E.R.; GIBNEY, M.J.; BRENNAN, L.J. Habitual dietary intake impacts on the lipidomic profile. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v.1, n.966, p.140-6, September, 2014.

PERÉ-TREPAT, E.; ROSS, A.B.; MARTIN, F.P.; REZZI, S.; KOCHHAR, S.; HASSELBALCH, A.L.; KYVIK, K.O.; SØRENSEN, T.I.A. Chemometric strategies to asses metabonomic imprinting of food habits in epidemiological studies. **Chemometrics and Intelligent Laboratory System**, v.104, n.1, p.95-100, 2010.

PEREZ-CORNAGO, A.; BRENNAN, L.; IBERO-BARAIBAR, I.; HERMSDORFF, H.H.; O'GORMAN, A.; ZULET, M.A.; MARTÍNEZ, J.A. Metabolomics identifies changes in fatty acid and amino acid profiles in serum of overweight older adults following a weight loss intervention. **Journal of Physiology and Biochemistry**, Pamplona, v.70, n.2, p. 593-602, 2014.

PIETILÄINEN, K.H.; SYSI-AHO, M.; RISSANEN, A.; SEPPÄNEN-LAAKSO, T.; YKI-JARVINEN, H.; KAPRIO, J.; ORESIC, M. Acquired obesity is associated with changes in the serum lipidomic profile independent of genetic effects – a monozygotic twin study. **PLoS One**, San Francisco, v.2, n.2, p.e218, 2007.

PINHEIRO, A.V.B, LACERDA, E.M. DE A., BENZECRY, E.H., GOMES, M.C. DA S., COSTA, V.M. **Tabela para avaliação do consumo alimentar em medidas caseiras**. 4. ed. São Paulo: Atheneu; 2000.

PUIGGRÒS, F.; SOLÀ, R.; BLADÈ, C.; SALVADÒ, M.J.; AROLA, L. Nutritional biomarkers and foodomic methodologies for qualitative and quantitative analysis of bioactive ingredients in dietary intervention studies. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1218, p. 7399-7141, 2011.

RANGEL-HUERTA, O.D.; GIL, A. Nutrimetabolomics: an update on analytical approaches to investigate the role of plant-based foods and their bioactive compounds in non-communicable chronic diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v.17, p.1-16, 2016.

RAPER, N.; PERLOFF, B.; INGWERSEN, L.; STEINFELDT, L.; ANAND, J. An overview of USDA's dietary intake data system. **Journal of Food Composition Analysis**, v.7, p.545-555, 2004.

RAUSCHERT, S.; UHL, O.; KOLETZKO, B.; HELLMUTH, C. Metabolomic biomarkers for obesity in humans: a short review. **Annals of Nutritional Metabolism**, Basel, v.64, p.314-324, 2014.

RIBEIRO-SILVA, R.C.; FLORENCE, T.C.M.; CONCEIÇÃO-MACHADO, M.E.P.; FERNANDES, G.B.; COUTO, R.D. Indicadores antropométricos na predição de síndrome metabólica em crianças e adolescentes: um estudo de base populacional. **Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil**, Recife, v.14, n.2, p.173-181, abr/jun, 2014.

ROBERSON, L.L.; ANENI, C.E.; MAZIAK, W.; AGATSON, A.; FELDMAN, T.; ROUSEFF, M.; TRAN, T.; BLAHA, M.J.; SANTOS, R.D.; SPOSITO, A.; AL-MALLAH, M.H.; BLANKSTEIN, R.; BUDOFF, M.J.; NASIR, K. Beyond BMI: the metabolically healthy obese phenotype and its association with clinical/subclinical cardiovascular disease and all-cause mortality – systematic review. **BMC Public Health**, London, v. 14, n.14, p.1-12, 2014.

ROWLAND, I.; GIBSON, G.; HEINKEN, A.; SCOTT, K.; SWANN, J.; THIELE, I.; TUOHY, K. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. **European Journal of Nutrition**, London, v.57, n. 1, p.1-24, 2018.

SÁNCHEZ, C.; LÓPEZ-JURADO, M.; ARANDA, P.; LLOPIS, J. Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: influence of age, obesity and lifestyle factors. **Science of the Total Environment**, v.408, p.1014-1020, 2010

SALEHI-ABARGOUEI, A.; ESMAILZADEH, A.; AZADBAKHT, L.; KESHTELI, A.H.; FEIZI, A.; FEINLE-BISSET, C.; ADIBI, P. Nutrient patterns and their relation to general and abdominal obesity in Iranian adults: findings from the SEPAHAN study. **European Journal of Nutrition**, London, v.55, p.505-518, 2016.

SCALBERT, A.; BRENNAN, L.; MANACH, C.; ANDRES-LACUEVA, C.; DRAGSTED, L.O.; DRAPER, J.; RAPPAPORT, S.M.; van der HOOFT, J.J.J.; WISHART, D.S. The food metabolome: a window over dietary exposure. **American Journal of Clinical Nutrition**, Oxford, v.99, p.1286-308, 2014.

SELEM, S. S. C.; CARVALHO, A. M.; VERLY-JUNIOR, E.; CARLOS, J. V.; TEIXEIRA, J. A.; MARCHIONI, D. M. L. Validade e reprodutibilidade de um questionário de frequência alimentar para adultos de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 17, n.4, p. 852-859, out-dez, 2014.

SHAHAM, O.; WEI, R.; WANG, T.J.; RICCIARDI, C.; LEWIS, G.D.; VASAN, R.S.; CARR, S.A.; THADHANI, R.; GERSZTEN, R.E.; MOOTHA, V.K. Metabolic profiling of the human response to a glucose challenge reveals distinct axes of insulin sensitivity. **Molecular Systems Biology**, London, v.4, p.214-22, Aug, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica**. Rio de Janeiro, [s.d] Disponível em <http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2005/sindromemetabolica.asp> . Acesso em janeiro de 2018.

SOUKY, J.; LEBLANC, J. Protein meals and postprandial thermogenesis. **Physiology Behaviour**, v.65, p.705-709, 1998.

SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia. V diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. **Arquivos Brasileiros Cardiologia**, São Paulo, v.89, n. 3, p.e-24-e79, 2007.

SWINBURN, B. Obesity prevention: the role of policies, laws and regulations. **Australian New Zealand Health Policy**, Switzerland, v.5, n.1, p.1-7, 2008.

TAI, E.S.; TAN, M.L.; STEVENS, R.D.; LOW, Y.L.; MUEHLBAUER, M.J.; GOH, D.L.; ILKAYEVA, O.R.; WENNER, B.R.; BAIN, J.R.; LEE, J.J.; LIM, S.C.; KHOO, C.M.; SHAH, S.H.; NEWGARD, C.B. Insulin resistance is associated with a metabolic profile of altered protein metabolism in Chinese and Asian-Indian men. **Diabetologia**, Heidelberg, v.53, n.4, p. 757-67, Apr, 2010.

THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP). Expert Panel on Detection. Evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, Waltham, v.106, p.3143-421, 2002.

THOMPSON, F.E; BYERS T. Dietary assessment resource manual. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.124, p.S2245-S2317, 1994.

VELHO, S.; PACCAUD, F.; WAEBER, G.; VOLLENWEIDER, P.; VIDAL-MARQUES, P. Metabolically healthy obesity: different prevalences using different criteria. **European Journal of Clinical Nutrition**, Switzerland, v.64, p.1043-1051, 2010.

WAHL, S.; VOGT, S.; STÜCKLER, F.; KRUMSIEK, J.; BARTEL, J.; KACPROWSKI, T.; SCHRAMM, K.; CARSTENSEN, M.; RATHMANN, W.; RODEN, M.; JOURDAN, C.; KANGAS, A.J.; SOININEN, P.; ALA-KORPELA, M.; NÖTHLINGS, U.; BOEING, H.; THEIS, F.J.; MEISINGER, C.; WALDENBERGER, M.; SUHRE, K.; HOMUTH, G.; GIEGER, C.;^[L]^[SEP]KASTENMÜLLER, G.; ILLIG, T.; LINSEISEN, J.; PETERS, A.; PROKISCH, H.; HERDER, C.; THORAND, B.; GRALLERT, H. Multi-omic signature of body weight change: results from a population-based cohort study. **BMC Medicine**, London, v.13, p.3865, 2015.

WANG, T.J.; LARSON, M.G.; VASAN, R.S.; CHENG, S.; RHEE, E.P.; MCCABE, E.; LEWIS, G.D.; FOX, C.S.; JACQUES, P.F.; FERNANDEZ, C.; O'DONNELL, C.J.; CARR, S.A.; MOOHTHA, V.K.; FLOREZ, J.C.; SOUZA, A.; MELANDER, O.; CLISH, C.B.; GERSZTEN, R.E. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. **Nature Medicine**, New York, v. 4, p. 448-53, Apr, 2011.

WHO. World Health Organization. Obesity and overweight. **Fact sheet n. 311**. Genebra. Aug, 2014a. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acessado em 05 de outubro de 2014.

WHO. World Health Organization. **Ten facts on obesity**. Genebra. May, 2014b. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acessado em 05 de outubro de 2014.

WILLETT, WC; HOWE, GR; KUSHI, LW. Adjustmentfor total energyintakein epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, Oxford, v.65, n.4, p.1220S-1228S., 1997.

XAVIER, H. T.; IZAR, M. C.; FARIA NETO, J. R.; ASSAD, M. H.; ROCHA, V. Z.; SPOSITO, A. C.; FONSECA, F. A.; DOS SANTOS, J. E.; SANTOS, R. D.; BERTOLAMI, M. C.; FALUDI, A. A.; MARTINEZ, T. L. R.; DIAMENT, J.; GUIMARÃES, A.; FORTI, N. A.; MORIGUCHI, E.; CHAGAS, A. C. P.; COELHO, O. R.; RAMIRES, J. A. F. V diretriz brasileira de dyslipidemia e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janerio, v101, n.4, supl.1, 2013.

XIA, J.; BROADHURST, D.I.; WILSON, M.; WISHART, D.S. Translational biomarker discovery in clinical metabolomics: an introductory tutorial. **Metabolomics**, London, v. 9, p.280-299, 2013.

ZAMBONI, N.; SAGHATELIAN, A.; PATTI, G.J. Defining the metabolome: size, flux, and regulation. **Molecular Cell**, v.58, p.699-706, 2015.

ZHANG, A.; SUN, H.; WANG, X. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for disease: a systematic review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Switzerland, v. 404, n. 4, p. 1239-1245, 2012.

ZHANG, A.; SUN, H.; WANG, X. Power of metabolomics in biomarker discovery and mining mechanisms of obesity. **Obesity Reviews**, Oxford, v.14, n.4, p.344-349, April, 2013.

ZHENG, Y.; YU, B.; ALEXANDER, D.; STEFFEN, L. M.; BOERWINKLE, E. Human metabolome associates with dietary intake habits among African americans in the atherosclerosis risk in communities study. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v.179, n. 12, p. 1424-14433, 2014.

ZHOU, B.; SU, X.; SU, D.; ZENG, F.; WANG, M.H.; HUANG, L.; HUANG, E.; ZHU, Y.; ZHAO, D.; HE, D.; ZHU, X.; YEOH, E.; ZHANG, R. ; DING, G. Dietary intake of manganese and the risk of the metabolic syndrome in a Chinese population. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.116, p.853-863, 2016.

10. ANEXO – CICLO DE KREBS

11. APÊNDICE 1- PARÂMETROS FENOTÍPICOS E INGESTÃO DIETÉTICA ESTRATIFICADOS POR SEXO.

Mulheres n=80							Homens n=88						
Características Gerais	%	Média	DP	Mediana	Min	Max	%	Média	DP	Mediana	Min	Max	p
Idade (anos)		49	19	43	20	89		52	18	54	20	89	0.230
IMC (Kg/m2)		27	6	26	18	47		26	5	25	17	42	0.185
CC (cm)		91.1	12.6	92	66	135		94.2	14.1	92	68	136	0.139
Obesidade (%)	25						24						0.864
Etnia (brancos, %)	66						47						0.010
Ativo (sim,%)	19						23						0.543
Medicamento (sim,%)	36						24						0.079
Renda per Capita (R\$)		701.30	712.30	515.85	0.00	2312.50		809.05	916.36	525.00	0.00	2625.00	0.399
Ingestão Dietética													
Lipídios (g/dia)		52.9	15.5	51.7	20.7	100.4		66.6	22.5	63.12	30.3	126.9	0.001
Carboidratos (g/dia)		184.2	41.3	179.8	118.3	296.7		231.3	60.3	221.3	129.4	461.6	0.000
Proteína (g/dia)		65.2	14.5	65.3	36.18	109.7		85.6	22.1	83.2	43.8	146.3	0.000
Calorias (kcal/dia)		1457.8	322.8	1425.6	815.6	2142.7		1887.8	493.92	1836.5	1013.9	3281.2	0.000
Indicadores Bioquímicos													
Glicose (mg/dL)		88.3	41.8	78.0	32.0	326.0		82.5	16.5	78.0	32.0	147.0	0.227
Triglicerídeos (mg/dL)		129.0	91.1	103.5	23.0	737.0		158.3	120.5	127.0	32.0	862.0	0.080
Colesterol Total (mg/dL)		190.1	40.6	185.0	122.0	287.0		190.1	46.0	187.5	86.0	277.0	0.999
HDL (mg/dL)		51.0	11.4	50.5	31.0	81.0		44.4	9.9	43.5	24.0	75.0	0.000
LDL (mg/dL)		114.0	33.0	111.5	49.0	193.0		115.2	36.8	117.0	30.0	197.0	0.827
Insulina (uUI/mL)		21.1	24.3	16.7	4.1	205.7		20.5	17.7	15.8	2.7	102.8	0.838
HOMA-IR		5.0	7.6	3.3	0.81	54.0		4.1	3.7	3.3	0.5	13.4	0.346
SM	36						26						0.152
RI	60						60						0.976

Curriculo Lattes Alexsandro Macedo Silva

Alexsandro Macedo da Silva

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/16468894260956385>
Última atualização do currículo em 18/06/2018

Graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal de Juiz de Fora - MG (1994), Mestrado em Ciência dos Alimentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - SP (1998), Especialização em Homeopatia pela Associação Paulista de Homeopatia - SP (2002). Ampla experiência em docência e coordenação de curso de graduação de Farmácia. Experiência docente nas disciplinas de Tecnologia dos Alimentos, Higiene dos Alimentos, Análise dos Alimentos, e Bromatologia, em cursos de graduação em Nutrição e Farmácia e em cursos de pós-graduação, em âmbito nacional, na área de Ciência dos Alimentos. Participação como Membro da Comissão Assessora de Educação Farmacêutica do Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome: Alexsandro Macedo da Silva
Nome em citações bibliográficas: SILVA, Alexsandro Macedo/Macedo-Silva, A.; SILVA, A.M.; MACEDO SILVA, A.

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2015	Doutorado em andamento em Nutrição em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, FSP - USP, Brasil. Título: O metabolismo e sua associação com a obesidade e o consumo alimentar de adultos participantes do inquérito de saúde no município de São Paulo, SP, Brasil. Orientador: Dr.ª Maria Lobo Marchioni. Palavras-chave: obesidade; metabolismo; metabólica; consumo alimentar; saúde pública; alimentação. Grande área: Ciências da Saúde Grande área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Epidemiologia. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública. Setores de atividade: Pesquisa e desenvolvimento científico. Fundação Getúlio Vargas, FGV, Brasil. Título: PRODUTO SEGURO E A SEGURANÇA DO PRODUTO FARMACÊUTICO NA CADEIA DE SUPRIMENTOS DA SAÚDE: O DESAFIO DE GARANTIR A SEGURANÇA DO PACIENTE. Orientador: Ana Maria Malik.
2015	Doutorado em andamento em Administração de Empresas. Fundação Getúlio Vargas, FGV, Brasil. Título: PRODUTO SEGURO E A SEGURANÇA DO PRODUTO FARMACÊUTICO NA CADEIA DE SUPRIMENTOS DA SAÚDE: O DESAFIO DE GARANTIR A SEGURANÇA DO PACIENTE. Orientador: Ana Maria Malik.
1995 - 1998	Mestrado em Ciências dos Alimentos (Conselho CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Quantificação de Proteína de Soja e Determinação da Espécie da carne em Produtos Carnêos Comercializados em São Paulo, Ano de Obtenção: 1998. Orientador: Alfredo Tenuta Filho. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Palavras-chave: proteína de soja; especiação; dieta; imunossai; produto cárneo. Grande área: Ciências da Saúde Setores de atividade: Nutrição e Alimentação. Especialização em Homeopatia Farmácia. (Carga horária: 360h). Associação Paulista de Homeopatia, APH, Brasil. Título: Título Homeopático Assentum. Graduação em Farmácia e Bioquímica. Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Brasil.
2001 - 2002	Especialização em Homeopatia Farmácia. (Carga horária: 360h). Associação Paulista de Homeopatia, APH, Brasil. Título: Título Homeopático Assentum.
1989 - 1994	Graduação em Farmácia e Bioquímica. Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Brasil.

Formação Complementar

2013 - 2013	Curso Intensivo de Espanhol Nível A2. (Carga horária: 20h). Dan Quijote Instituto Internacional de Idiomas, DON QUIJOTE, Espanha.
2013 - 2013	Curso Básico I de Língua Espanhola. (Carga horária: 50h). Casa de España - Sociedade Hispano Brasileira de Socorros Mútuos e Recreio, SHB, Brasil.
2013 - 2013	Curso Básico II de Língua Espanhola. (Carga horária: 50h). Casa de España - Sociedade Hispano Brasileira de Socorros Mútuos e Recreio, SHB, Brasil.
2013 - 2013	FORMAÇÃO BÁSICA EM GERENCIAMENTO DE PROJETOS. (Carga horária: 40h). AGORA CONSULTORIA, AGORA, Brasil.
2009 - 2009	Gestão Educacional Módulo 1X Gestão de Negócios. (Carga horária: 40h). Centro Universitário São Camilo, CUSC, Brasil.
2009 - 2009	LA ATENCIÓN HUMANA A LA PERSONA MAYOR. (Carga horária: 30h). Centro de Humanización de la Salud, Madrid, CHS, Espanha.
2008 - 2008	Gestão Educacional - Módulo Marketing Educacional. (Carga horária: 36h). Centro Universitário São Camilo, CUSC, Brasil.
2008 - 2008	Módulo I - Gestão Estratégica. (Carga horária: 16h). Centro Universitário São Camilo, CUSC, Brasil.
2005 - 2005	Desenvolvimento de Novos Fármacos. (Carga horária: 6h). Conselho Regional de Farmácia de São Paulo, CRF-SP, Brasil.

Atuação Profissional

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Vínculo institucional

2015 - Atual

Vínculo: , Enquadramento Funcional:

Instituto de Pesquisa Capacitação e Especialização, IPCE, Brasil.

Curriculo Lattes Dirce Maria Lobo Marchioni

Dirce Maria Lobo Marchioni

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1D

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9099164202721358>

Última atualização do currículo em 29/09/2017

Possui graduação em Nutrição pela Universidade de São Paulo (1985), mestrado em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (1999) e doutorado em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (2003) e pós doutorado no Imperial College London. Atualmente é pesquisador e professor Associado da Universidade de São Paulo. Tem experiência na área de Nutrição, com ênfase em Consumo Alimentar, atuando principalmente nos seguintes temas: consumo alimentar, dieta, recomendações dietéticas, consumo de alimentos e estudos epidemiológicos. *(Texto informado pelo autor)*

Identificação

Nome	Dirce Maria Lobo Marchioni
Nome em citações bibliográficas	MARCHIONI, Dirce Maria Lobo;Marchioni, Dirce Maria Lobo;Marchioni, Dirce M.;Marchioni, Dirce M. L.;Marchioni, D. M. L.;Marchioni, D.;Marchioni, Dirce Maria;MARCHIONI, DIRCE M.L.;MARCHIONI, DIRCE M.L.;Dirce Maria Lobo Marchioni;MARCHIONI, D.M.;MARCHIONI DM;MARCHIONI, DIRCE ML;LOBO MARCHIONI, DIRCE MARIA;DIRCE MARIA LOBO MARCHIONI;MARCHIONI, DIRCE MARIA L.;MARCHIONI, DIRCE M.

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. Av Dr Arnaldo 715 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30667771 Ramal: 257 URL da Homepage: http://
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

1999 - 2003	Doutorado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. com período sanduíche em International Agency For Research On Cancer (Orientador: Paulo Boffetta). Título: Fatores dietéticos e câncer oral: um estudo caso-controle no Município de São Paulo, Ano de obtenção: 2003. Orientador: Regina Maria Fisberg. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. Palavras-chave: câncer oral; consumo de alimentos. Grande área: Ciências da Saúde Setores de atividade: Nutrição e Alimentação; Cuidado À Saúde das Populações Humanas.
1996 - 1999	Mestrado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Alimentação no primeiro ano de vida: prevalência de consumo de alimentos em dois Centros de Saúde no Município de São Paulo, Ano de Obtenção: 1999. Orientador: Sonia Buongiorno de Souza. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. Palavras-chave: alimentação do lactente; aleitamento materno; desmame; suplementação alimentar.