Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Análise da associação do consumo de frutas,
legumes e verduras e de micronutrientes com
marcadores de estado oxidativo, inflamatório e de
resistência à insulina em indivíduos de
risco cardiometabólico**

Luciana Dias Folchetti

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Nutrição em Saúde
Pública para obtenção do título de Mestre em
Ciências.**

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

**Orientadora: Prof^a Titular Sandra Roberta
Gouvea Ferreira Vivolo**

São Paulo

2012

**Análise da associação do consumo de frutas,
legumes e verduras e de micronutrientes com
marcadores de estado oxidativo, inflamatório e de
resistência à insulina em indivíduos de
risco cardiometabólico**

Luciana Dias Folchetti

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Nutrição em Saúde
Pública para obtenção do título de Mestre em
Ciências.**

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

**Orientadora: Prof^a Titular Sandra Roberta
Gouvea Ferreira Vivolo**

**São Paulo
2012**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida **exclusivamente** para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

Folchetti, Luciana D.

Análise da associação do consumo de frutas, legumes e verduras e de micronutrientes com marcadores de estado oxidativo, inflamatório e de resistência à insulina em indivíduos de risco cardiometabólico. Luciana Dias Folchetti. São Paulo, 2012.

p.1-71

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública.

Título em inglês: Analysis of the association of fruits and vegetables and micronutrients intakes with markers of oxidative and inflammatory status and insulin resistance in individuals at cardiometabolic risk.

1. Frutas, verduras e legumes	2. Micronutrientes	3. Risco cardiometabólico
4. Estresse oxidativo	5. Inflamação	6. Resistência à Insulina

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a todos os meus familiares, em especial, meu pai Edson, minha mãe postiça Rose, meus irmãos Laura e Fabio e também meus cunhados, Daniel e Marcela, que me deram todo apoio e me incentivaram a correr atrás de meus sonhos. Por toda paciência, carinho e compreensão que tiveram comigo ajudando a superar os momentos difíceis. Sem eles nada disso seria possível.

Ao Alfredo pelo companheirismo, amor e paciência.

AGRADECIMENTOS

À Profª Titular Sandra Roberta G. Ferreira Vivolo, por todo empenho, sabedoria, compreensão e, acima de tudo, exigência. Agradeço também por acreditar em mim e me oferecer a oportunidade de ingressar na área acadêmica.

À Milena, por sua amizade e por todo o apoio, paciência e auxílio técnico.

À Profa. Dra. Lígia A. Martini, por sua ajuda, compreensão e carinho. Agradeço também por sua paciência em certos momentos.

À Natielen e Vivian, que sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho e dedicação.

À Antonela, Camila e Adriana sem as quais não seria possível a realização deste projeto.

Aos funcionários do Centro de Saúde Escola Geraldo Paula Souza por toda atenção e paciência.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação e do Departamento de Nutrição por toda a ajuda.

Àqueles que, de alguma forma, colaboraram com esse projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro

RESUMO

Folchetti, LD. Análise da associação do consumo de frutas, legumes e verduras e de micronutrientes com marcadores de estado oxidativo, inflamatório e de resistência à insulina em indivíduos de risco cardiometabólico. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; 2012.

Introdução: O atual estilo de vida traz consequências negativas no que se refere aos padrões dietéticos, nível de atividade física (AF), uso de tabaco e estresse psicossocial, os quais predisõem ao aumento de doenças crônicas não-transmissíveis. Dieta rica em frutas, legumes e verduras (FLV) pode atenuar os efeitos sobre o risco cardiometabólico, havendo evidências consistentes de benefícios na prevenção da obesidade, dislipidemia e diabetes tipo 2. O consumo de FLV, fontes de vitaminas e minerais essenciais para a homeostase corporal está aquém do desejado. Estes alimentos contribuem para um perfil cardiometabólico favorável, atenuando o estresse oxidativo, inflamação e resistência à insulina. **Objetivo:** Este estudo analisou a associação entre o consumo FLV e de certos micronutrientes com marcadores do estado oxidativo, inflamatório e de resistência à insulina em indivíduos de risco cardiometabólico. **Métodos:** Nesta análise transversal foram incluídos 205 participantes (65% mulheres; média de idade de 54,1 anos) do Estudo de Prevenção de Diabetes do CS-Escola da FSP-USP, com pré-diabetes ou de síndrome metabólica sem diabetes. Foram submetidos a questionários e coletas de sangue. Entre as dosagens, a superóxido dismutase (SOD) e a LDL oxidada (LDLox) serviram para indicar o estado anti/pró-oxidativo. O nível de AF foi medido pela versão longa do IPAQ. Três recordatórios alimentares de 24h foram empregados para cálculo da ingestão de micronutrientes e de FLV. Três categorias de consumo de FLV consumidas foram criadas considerando-se a recomendação internacional e a ingestão de micronutrientes estratificada segundo tercís de consumo, analisados por ANOVA. Coeficiente de Pearson e regressão linear múltipla foram também empregados. **Resultados:** Os participantes consumiram uma média de 1800 kcal/dia e 3,7 porções/1000 kcal de FLV. Ao longo das categorias de ingestão de FLV, os valores médios de circunferência da cintura ($p=0,06$) e pressão arterial diastólica ($p=0,05$) tenderam a diminuir e adiponectina ($p=0,05$) a aumentar. Indivíduos no tercil mais alto de ingestão de zinco apresentaram valores mais baixos de massa gorda e HOMA-IR, enquanto as concentrações de PCR foram marginalmente significantes ($p=0,06$). O HOMA-IR associou-se inversamente com ingestão de zinco e magnésio em todos os

modelos. Associações diretas foram encontradas entre as concentrações de SOD com ingestão de FLV, bem como de magnésio em modelos ajustados. A concentração de LDLox se associou inversamente a ingestões de magnésio, vitaminas C e E em modelos ajustados. Resultados similares foram encontrados entre a concentração de LDLox e FLV, mas perdeu a significância após ajustes. Associação direta entre LDLox e ingestão de selênio manteve-se nos modelos ajustados. **Conclusão:** Nosso estudo sugere que a análise do consumo de FLV e/ou de certas vitaminas e minerais, ainda que estejam abaixo dos níveis recomendados, pode ser útil para identificar estresse oxidativo e resistência à insulina.

Descritores: Frutas, verduras e legumes; Vitaminas e minerais; Estresse oxidativo; inflamação; resistência à insulina; risco cardiometabólico.

ABSTRACT

Folchetti, LD. Analysis of the association of fruits and vegetables and micronutrients intakes with markers of oxidative and inflammatory status and insulin resistance in individuals at cardiometabolic risk [Master degree]. São Paulo. School of Public Health, University of São Paulo; 2012.

Introduction: Current lifestyle has deleterious consequences in dietary habits, physical activity, smoking and psychosocial stress, which have predisposed to non-communicable chronic diseases. A diet rich in fruits and vegetables can attenuate the effects on cardiometabolic risk, and there is consistent evidence of its benefit on the prevention of obesity, dyslipidemia and type 2 diabetes. Worldwide the consumption of fruits and vegetables, sources of vitamins and minerals, which are essential for body homeostasis, is low. These foods contribute to a favorable cardiometabolic profile, attenuating oxidative stress, inflammation and insulin resistance. **Objective:** Associations between the consumption of certain micronutrients and fruits and vegetables with markers of oxidative status, inflammation and insulin resistance were examined in individuals at cardiometabolic risk. **Methods:** This cross-sectional analysis included 205 participants (65% women, mean age 54.1 years) with pre-diabetes or with metabolic syndrome without diabetes of the Diabetes Prevention Study of the FSP-USP Health Care Unit. They were submitted to questionnaires blood collection. Superoxide dismutase (SOD) and oxidized LDL (oxLDL) were used to indicate the oxidative status. The physical activity level was measured by the long version of IPAQ. Three 24-hour dietary recalls were used to calculate intake of micronutrients and of fruits and vegetables. Three categories of fruits and vegetables consumption were created taking into consideration international recommendations, and micronutrient intake were grouped according tertiles of consumption, these categories analyzed by ANOVA. Pearson's correlation coefficient and multiple linear regression were used. **Results:** Participants consumed a mean of 1,800 kcal per day and 3.7/1000 kcal servings of fruit and vegetables. Mean values of waist circumference ($p=0.06$) and diastolic blood pressure ($p=0.05$) tended to decrease, and adiponectin ($p=0.05$) to increase across the categories of fruits and vegetables intake. Individuals in the highest tertile of zinc intake showed lower values of fat mass and HOMA-IR, while CRP concentrations were marginally significant ($p=0.06$). HOMA-IR was inversely associated with zinc and magnesium intakes in all the models. Direct associations were found between SOD concentrations and fruits and vegetables as well as

magnesium intakes in adjusted models, while oxLDL concentration was inversely associated with magnesium, vitamin C and E intakes. Similar results were found between oxLDL concentration and fruits and vegetables intake but significance disappeared after adjustments. A direct association between oxLDL and selenium intake was detected after multiple adjustments. **Conclusion:** Our study suggest that fruits and vegetables and/or selected vitamins and minerals intakes – albeit below recommended levels – may be useful to identifying oxidative stress and insulin resistance.

Key words: Fruits and vegetables; vitamins and minerals; oxidative stress; inflammation; insulin resistance; cardiometabolic risk.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO	11
1.1. DOENÇAS CARDIOMETABÓLICAS E SAÚDE PÚBLICA	11
1.2. PARTICIPAÇÃO DE FATORES DIETÉTICOS NAS DOENÇAS CARDIOMETABÓLICAS	13
1.3. RELAÇÕES ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E RESISTÊNCIA À INSULINA	18
1.4. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	22
2. OBJETIVOS	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. DELINEAMENTO E CASUÍSTICA	25
3.2. ASPECTOS ÉTICOS	29
4. ARTIGO	30
Fruits and vegetables consumption may indicate oxidative status and insulin resistance	
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	
Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (OF. COEP/358/10)	68
Anexo 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido	69
Anexo 3 – Recordatório alimentar de 24 horas	72
CURRICULO LATTES	

LISTA DE TABELAS

	Página
Table 1 – Mean values (standard deviation) of main characteristics of the 205 participants according to gender.	37
Table 2 – Mean values (standard deviation) of dietary intake of 205 participants	39
Table 3 – Mean values (standard deviation) of clinical and laboratory data according to zinc intake of 205 individuals.	40
Table 4 – Crude and adjusted linear regression coefficients for the associations of dietary variables and markers of inflammation, oxidative stress and insulin resistance.	42

LISTA DE ABREVIATURAS

AF – atividade física

CS – Centro de Saúde

DCNTs – Doenças crônicas não-transmissíveis

DM2 – diabetes mellitus tipo 2

ERNs– espécies reativas de nitrogênio

EROs– espécies reativas de oxigênio

FLV – frutas, legumes e verduras

IL-6 – Interleucina 6

IMC – Índice de massa corporal

IPAQ – International Physical Activity Questionnaire

LDLox – LDL oxidada

Mg – magnésio

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR – Proteína C reativa

R24h – Recordatório alimentar de 24 horas

Se – selênio

SM – síndrome metabólica

SOD – superóxido dismutase

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

VitA – vitamina A

VitC – vitamina C

VitE – vitamina E

Zn – zinco

1. INTRODUÇÃO

1.1. DOENÇAS CARDIOMETABÓLICAS E SAÚDE PÚBLICA

Distúrbios cardiometabólicos como a obesidade, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão arterial, dislipidemias e a aterosclerose integram as denominadas doenças crônicas não-transmissíveis (DCNTs), que são as principais responsáveis pela mortalidade das populações atuais inclusive da brasileira. Em 2002, a Organização Mundial da Saúde (OMS) atribuía 60% das mortes às DCNTs e estima-se que em 2020 suba para 73% (WHO, 2004; WILLETT, 2008). Projeta-se que 75% das mortes por infarto do miocárdio e 70% por DM2 no mundo ocorrerão em países em desenvolvimento.

Industrialização, urbanização e desenvolvimento econômico provocaram uma rápida mudança no estilo da vida das populações. Em paralelo à maior disponibilidade e diversidade dos alimentos, acesso aos serviços de saúde e avanços tecnológicos ocorreu também consequências negativas no que se refere aos padrões dietéticos, nível de atividade física, uso de tabaco e estresse psicossocial. A globalização deste moderno estilo de vida foi acompanhada de aumento nas DCNTs (WHO, 2004; NEUMANN et al., 2007; LENZ et al., 2009). Estima-se que, em 2020, dois terços do gasto global com doenças serão atribuídos a DCNTs, decorrentes do consumo calórico excessivo e da inatividade física (CHOPRA et al., 2002; WILLETT, 2008).

A obesidade é uma consequência imediata deste estilo de vida a qual, por sua vez, eleva o risco de doenças metabólicas e cardiovasculares. Participam do processo fisiopatológico destas doenças o estresse oxidativo, a inflamação e a resistência à insulina, sendo esta última anormalidade o elemento-chave no desencadeamento das doenças integrantes da síndrome metabólica (SM) (BLEIL, 1998). Em grande parte, a fisiopatogênese se inicia com o acúmulo de tecido adiposo.

No Brasil, a obesidade se tornou problema de saúde pública. O país vivenciou a transição nutricional e epidemiológica: a queda da desnutrição foi acompanhada de crescentes cifras de obesidade e, em paralelo, doenças infecciosas agudas foram

substituídas por aquelas determinadas pelo excesso de adiposidade corporal (BATISTA FILHO e RISSIN, 2003). Dados da Pesquisa de Orçamento Familiar de 2008 e 2009 apontaram um grande aumento do sobrepeso (índice de massa corporal – IMC ≥ 25 kg/m²), atingindo 50,1% dos homens e 48,0% das mulheres, e de obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²), comprometendo 16,9% das mulheres e 12,4% dos homens (IBGE, 2010).

As elevadas prevalências têm sido atribuídas a certos hábitos alimentares – maior densidade energética, alto consumo de carboidratos refinados, gorduras saturadas, ácidos graxos *trans*, colesterol, bebidas alcoólicas, redução do gasto energético decorrente de avanços tecnológicos e atividades sedentárias, assim como de fatores socioculturais (ERKKILÄ et al., 2006; MIKKILA et al., 2007; NEUMANN et al., 2007; WILLET, 2008; LENZ et al., 2009).

Adiposidade corporal, em especial o acúmulo de gordura na região abdominal, está intimamente relacionada ao aumento do risco para DM2. Estima-se que entre 80 e 90% dos indivíduos diabéticos sejam obesos (SARTORELLI e FRANCO, 2003). Por outro lado, Tuomilehto *et al.* (2001) observaram que perda de peso em torno de três a quatro quilos em quatro anos foi capaz de reduzir em 58% a incidência de DM2 em população de alto risco.

DM2 é importante causa de morte nas populações, em grande parte por predispor à doença cardiovascular aterosclerótica. Uma vez que o moderno estilo de vida contribuiu para o aumento da prevalência do DM2, uma alimentação saudável e prática de atividades físicas têm sido recomendadas para melhorar a qualidade de vida e a sobrevivência. Dessa forma, têm sido amplamente propostas medidas de prevenção primária contra a obesidade e DM2 numa tentativa de reduzir eventos cardiovasculares.

Não há dúvidas de que alimentação tem impacto relevante no processo saúde-doença. Sendo fator causal modificável desperta grande interesse dos pesquisadores da área. Esta afirmação é especialmente verdadeira em se tratando de doenças cardiometabólicas, associadas à obesidade, DM2 e doenças cardiovasculares, por representarem os principais problemas de saúde pública. Não há controvérsias que a adoção de uma alimentação saudável, rica em frutas, legumes e verduras (FLV), grãos integrais e pobre em gorduras saturadas (WILLETT, 1994; WHO, 2004; WILLETT,

2006; WILLETT, 2008), associada à prática regular de atividades físicas, no mínimo 30 minutos ao dia, possam atuar favoravelmente na qualidade de vida das populações e no risco de doenças.

1.2. PARTICIPAÇÃO DE FATORES DIETÉTICOS NAS DOENÇAS CARDIOMETABÓLICAS

Em países desenvolvidos ou emergentes, é notório que a dieta tem se afastado dos padrões recomendados pela Organização Mundial de Saúde – OMS (WHO, 2004). Considerando que o consumo alimentar é um relevante fator de risco modificável na prevenção e tratamento de DCNTs, intervenções nos padrões dietéticos podem contribuir para atenuar os riscos de alimentação inadequada. Apesar das evidências do papel de certos hábitos alimentares na fisiopatogênese de doenças cardiometabólicas, limitações inerentes nos instrumentos de avaliação podem dificultar o estabelecimento de relações causais definitivas.

O padrão dietético associado às doenças cardiometabólicas é caracterizado essencialmente pelo consumo insuficiente de FLV e pelo consumo excessivo de alimentos de alta densidade energética, ricos em gorduras, açúcares e sal (WHO, 2003; MIKKILA et al., 2007; NEUMANN et al., 2007; LENZ et al., 2009). A OMS estima que aproximadamente 2,7 milhões de mortes por ano em todo mundo podem ser atribuídas ao consumo inadequado de FLV, constituindo um dos dez fatores centrais na determinação de doenças (WHO, 2002; ERKKILÄ et al., 2006; WILLET, 2008). Associado a este padrão, evidencia-se a chamada “fome oculta”: alimentos de qualidade nutritiva, com quantidades suficientes de fibras, vitaminas, minerais e gorduras de melhor qualidade foram substituídos por alimentos excessivamente processados, levando a uma população obesa com deficiência de micronutrientes (BLEIL, 1998).

O Brasil segue os exemplos internacionais, aproximando-se deste padrão alimentar inadequado. Isto pode ser observado na POF/IBGE de 2008-2009, com declínio do consumo de alimentos básicos e tradicionais da dieta do brasileiro, que constituem as principais fontes de fibras e macronutrientes de boa qualidade (LEVY-COSTA et al., 2005; IBGE, 2010). Este padrão associa-se a aumento da adiposidade corporal e,

particularmente a visceral, gera um estado pró-oxidativo e pró-inflamatório, predisponente às DCNTs.

Um padrão dietético saudável deve incluir gorduras de qualidade e alta quantidade de fibras. As elevações glicêmicas são menos acentuadas nas refeições que incluem alimentos que contêm fibras, resultando em menor estímulo sobre as células beta. Por outro lado, o consumo demasiado de carboidratos simples aumenta rápida e fugazmente as concentrações sanguíneas de glicose e insulina, podendo determinar precoce sensação de fome, além de elevar ácidos graxos livres circulantes (FOSTER-POWELL et al., 2002). Tais anormalidades metabólicas são atenuadas pela dieta do Mediterrâneo, caracterizada pela alta ingestão de FLV – alimentos ricos em vitaminas, minerais e compostos bioativos – e de gorduras mono e poli-insaturadas, havendo evidências consistentes de resultados favoráveis na prevenção da obesidade, dislipidemias e DM2 por meio deste padrão dietético (JACOB et al., 2003; WILLET, 2006; FITÓ et al., 2007; DAÍ et al., 2008; RALLIDIS et al., 2009). Estes benefícios têm sido atribuídos à melhora do estresse oxidativo, inflamação subclínica e sensibilidade à insulina com impacto favorável no metabolismo glico-lipídico (BIESALSKI, 2004; ESPOSITO et al., 2007; TORTOSA et al., 2007).

Apesar das evidências de que FLV se associam à redução de risco para doenças cardiometabólicas e do conhecimento de que estes alimentos – fontes de vitaminas e minerais – são essenciais à saúde devido a propriedades antioxidantes, seu consumo mundial está aquém do desejado. O Brasil segue a tendência global de consumo insuficiente de FLV para a prevenção de doenças (IBGE, 2004). Em 1991, o governo dos Estados Unidos implantou o Programa “5 ao dia” que foi globalmente difundido. Esta recomendação foi baseada nas evidências de redução do risco de DCNTs com o consumo de pelo menos cinco porções diárias de FLV (cerca de 400g) e proteção crescente quanto maior o consumo. Em 2004, com o intuito promover a saúde e prevenir DCNTs, a OMS lançou a “Estratégia Global de Alimentação, Atividade Física e Saúde”, que incentiva entre outros a ingestão de FLV, pelo Programa “5 ao dia” (WHO, 2004). Esta estratégia tem por objetivo promover o consumo diário de pelo menos duas porções de frutas e três de legumes e verduras, o que fornece a quantidade de vitaminas e minerais necessária para o pleno funcionamento orgânico, além de contribuir para diminuição da ingestão de

alimentos ricos em gordura e açúcar. Os benefícios destes hábitos sobre o metabolismo da glicose foram claramente evidenciados em meta-análise da associação entre consumo de FLV e risco de DM2; concluiu-se que o aumento de 1,15 porções de vegetais verdes por dia reduz o risco em 14% (CARTER et al., 2010). Outras abordagens na literatura têm apoiado que dietas ricas em FLV são suficientes em substâncias antioxidantes (vitaminas e minerais), as quais favorecem a homeostase de outros sistemas (BAZZANO et al., 2002; WHO, 2004; DAUCHET et al., 2006; HE et al., 2006; BAZZANO et al., 2008; HOLT et al., 2009). Entretanto, sociedades científicas já discutem ampliar tais quantidades em adultos, podendo haver alguma diferenciação entre os sexos.

Estudos de intervenção reforçam que um estilo de vida saudável, caracterizado por dieta rica em FLV associado com atividade física, é capaz de atenuar os processos oxidativos, inflamação crônica subclínica e resistência à insulina (ROBERTS e BARNARD, 2005; HE et al., 2006; BAZZANO et al., 2008; HOLT et al., 2009). Os alimentos possuem uma combinação de nutrientes que podem ter maior ou menor efeito sobre a saúde do que componentes isoladamente. O sinergismo dos diferentes nutrientes ingeridos dificulta separar seus efeitos individuais em estudos observacionais. Assim, a relação de uma dieta rica em FLV e a redução do risco para doenças pode estar associada tanto a seus constituintes – como compostos bioativos, vitaminas e minerais – como à interação entre os nutrientes.

Compostos bioativos, como os ácidos fenólicos, os flavonóides e seus derivados, são encontrados naturalmente em FLV (SELLAPPAN, et al., 2002). Estes nutrientes ao serem incluídos numa dieta usual modulam processos fisiológicos, podendo resultar em redução no risco de doenças.

Micronutrientes, tais como as vitaminas E (vitE), C (vitC) e A (vitA), zinco (Zn), selênio (Se) e magnésio (Mg) participam em diversas etapas destes processos. Contudo, a interpretação dos estudos envolvendo micronutrientes é complexa, pois estes são geralmente multifuncionais, podendo compor enzimas e/ou atuar em mais de um sistema. Sua biodisponibilidade pode ser influenciada pelo estado nutricional e composição da dieta, além destes micronutrientes sofrerem interações com outros nutrientes.

A vitE, presente em óleos vegetais, castanha do Pará, gérmen de trigo, sementes, nozes e, em menor concentração, vegetais de folhas verdes, leite e ovos, possui capacidade antioxidante, reduzindo a lipoperoxidação nas membranas celulares e lipoproteínas plasmáticas (TRABER, 2009). Além disso, em condições normais, a vitE mantém a LDL-c na forma reduzida, como também regula reações metabólicas e inflamatórias (PRYOR, 2000; HEYLAND e SUCHNER, 2005; HOLT et al., 2009). A absorção desta vitamina mesmo em indivíduos saudáveis varia entre 20 e 86%. A *Recommended Dietary Allowance* – RDA para adultos é de 15 mg/dia (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000).

A vitC, encontrada principalmente em FLV, é recomendada nas quantidades de 90 e 75 mg/dia para homens e mulheres adultos, respectivamente (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000). Esta vitamina modula o metabolismo da vitE, inibindo a ação de radicais livres (RL) oriundo do estresse oxidativo. Este processo é regulado por substâncias antioxidantes, entre estas a glutathione peroxidase (GPx) (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2004; HEYLAND e SUCHNER, 2005; ESPOSITO et al., 2007; GRATAGLIANO et al., 2008; LEVINE et al., 2009). Quando presente em meio oxidante, a vitC doa elétrons para os RL tornando-se um radical estável e não-reativo. Por neutralizar RL, impede que macromoléculas circulantes ou presentes nas membranas sejam oxidadas. *In vitro*, a vitC extracelular é capaz de diminuir a peroxidação lipídica, protegendo as LDL-c da oxidação, o que a tornaria altamente aterogênica. Além disso, Lehr *et al.* (1997) observaram que a vitC diminui a adesão de monócitos e a agregação de plaquetas ao endotélio. Wang *et al.* (1997) mostraram que a mesma é capaz de eliminar espécies reativas de oxigênio (EROs) liberados por macrófagos e neutrófilos ativados que são danosos aos tecidos. Ainda, a vitC é necessária para produção de colágeno e para absorção do ferro alimentar adequada (LEVINE et al., 2009). Há evidências de que dietas ricas em vitC contribuem para reduzir o risco de DCNTs (ESPOSITO et al., 2007; GRATAGLIANO et al., 2008; LEVINE et al., 2009).

A vitA, encontrada em vegetais de folhas amarelas e verdes, frutas, ovos e leite integral, desempenha um papel essencial no sistema imune (ROSS, 2009). Pesquisas sugerem que a vitA tem ação protetora contra a oxidação da LDL-c via estímulo de enzimas antioxidantes (JACOB et al., 2003; HUGHES et al., 2009; SLUIJS et al., 2009).

A bioatividade dos carotenóides é menor que a do retinol, adotando-se, assim, a medida internacional de equivalente à atividade do retinol (RAE) para definir a quantidade de vitA contida nos alimentos. Em 2001, as RDAs para vitA foram estabelecidas em 900 e 700 μg RAE/dia para homens e mulheres, respectivamente (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

O Se, assim como o Zn, é um elemento-traço, ou seja, exerce seu efeito fisiológico em quantidades muito pequenas (SAHIN et al., 1995; JANSEN et al., 2009; BURK, 2002). Estes minerais são importantes constituintes de enzimas, incorporados a aminoácidos específicos ou como componentes estruturais; desempenham papel crítico em vários processos biológicos, inclusive na defesa antioxidante (GHAYOUR-MOBARHAN et al., 2008; SONG et al., 2009). São fontes de Se carnes, ovos, leite e derivados e castanha do Pará. Este mineral participa da defesa antioxidante já que compõe a GPx. Sua deficiência resulta em diminuição da atividade desta enzima e outras selenoproteínas, predispondo ao estresse oxidativo. O Se tem ação antioxidante sinérgica à da vitE e quando há deficiências de ambos acentuam-se as lesões oxidativas (COUDRAY et al., 1997; BRENNISEN et al., 2005; GHAYOUR-MOBARHAN et al., 2008; BURK e LEVANDER, 2009). Tendo por base a ingestão de Se que promove atividade máxima para a glutathione peroxidase, o *Institute of Medicine* divulgou as *Dietary Reference Intakes* (DRIs), estabelecendo a RDA para este micronutriente como sendo de 55 μg /dia (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000).

O Zn, além de ser componente importante de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD) desempenha papel essencial no metabolismo da glicose. A biossíntese, armazenamento e secreção de insulina são dependentes de sua presença (CHAUSMER, 1998; DUNN, 2005). Sob condições de baixa disponibilidade de Zn, a síntese de enzimas antioxidantes, mas não a secreção de insulina é diminuída, o que pode contribuir para a lesão tecidual (ESPOSITO e GIUGLIANO, 2006; HUGHES et al., 2009; LEUNG e CHAN, 2009). Na verdade, foi sugerido que no DM2, devido à demanda para produção de insulina, menos Zn poderia estar disponível para a composição de enzimas antioxidantes, contribuindo para um estado pró-oxidante (CHAUSMER, 1998; HUGHES et al., 2009). A ingestão diária recomendada para adultos é de 11mg para homens e 8mg para mulheres (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). A absorção deste

mineral geralmente é baixa e sua biodisponibilidade pode ser reduzida pela presença de fitatos que se ligam ao Zn no lúmen intestinal (MAFRA e COZZOLINO, 2004; COMINETTI et al., 2007; FAURE et al., 2007; COZZOLINO, 2007; KING e COUSINS, 2009).

O Mg está amplamente distribuído em fontes vegetais e animais e é importante para a homeostase da glicose. Este mineral desempenha um papel importante no metabolismo glicídico, sendo que sua falta afeta a capacidade pancreática de secretar insulina (SONG et al., 2003; LOPEZ-RIDAURA et al., 2004). A depleção de Mg pode diminuir a atividade de uma tirosinoquinase envolvida na sinalização insulínica, favorecendo o desenvolvimento da resistência à insulina (HOPPING et al., 2010; KIRII et al., 2010). A RDA é de 420 mg/dia para homens e 320 mg/dia para mulheres (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997; 2011). Os cálculos de ingestões de Mg de homens e mulheres realizados pelo NHANES III (FORD e MOKDAD, 2003) indicam que o consumo médio da população americana encontra-se abaixo do recomendado. Aproximadamente 30 a 40% do Mg ingerido é absorvido, sendo sua biodisponibilidade influenciada pelo teor de fosfato, Zn e fibras na dieta, como também por quantidades excessivas de ácidos graxos e oxalato livres que diminuem a absorção e utilização.

1.3. RELAÇÕES ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E RESISTÊNCIA À INSULINA

A compreensão dos mecanismos que geram ou perpetuam processos lesivos ao organismo, que podem culminar com a ocorrência de doenças cardiometabólicas, está aquém da desejada. É provável que uma vez presentes e/ou insuficientemente combatidos pelos mecanismos protetores (naturais e exógenos), ambos, o estresse oxidativo e a inflamação, possam contribuir para criar um círculo vicioso de danos, cujo resultado final é doença. Neste processo, como desfecho intermediário, pode estar presente a resistência à insulina, em se tratando das doenças do espectro da SM, cuja anormalidade básica é a obesidade. Considerada a epidemia do século, sua relevância decorre das comorbidades que comprometem a sobrevida das populações.

A importância do conhecimento sobre fatores etiológicos e mecanismos que geram o estado de resistência à insulina baseia-se no fato de ser elemento-chave no desenvolvimento das DCNTs, principais responsáveis pelas mortes na atualidade. Hábitos dietéticos inadequados, inatividade física, tabagismo e outros rompem o equilíbrio anti/pró-antioxidante, gerando RL que se liga a lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucléicos (MONAGHAN et al., 2009). A perpetuação deste estado causa danos celulares, estimulam o processo inflamatório que, em longo prazo, determinam DM2, hipertensão arterial, dislipidemia e doença cardiovascular aterosclerótica dentre outras.

RL (tais como EROs e espécies reativas de nitrogênio – ERNs) promovem a oxidação de lipídios presentes na membrana lipoproteica danificando-a, bem como daqueles presentes na LDL-c circulante. Esta lipoproteína é a principal transportadora de colesterol sérico para os tecidos extra-hepáticos. Por ação de fatores ambientais, que também se associam a geração de RL, esta lipoproteína pode circular no plasma em quantidades excessivas, penetrando na camada íntima e podendo sofrer oxidação por espécies reativas (GLUSTARINI et al., 2009; NJAJOU et al., 2009; ARAKI e NISHIKAWA, 2010). Uma vez oxidada (LDLox), esta não pode mais ser reconhecida por receptores específicos, além de induzir inflamação. Este processo estimula a adesão de células mononucleares, que se diferenciam em macrófagos e fagocitam as LDL modificadas pela oxidação. O acúmulo destas no interior dos macrófagos potencializa o estímulo inflamatório e desencadeia a formação de células espumosas, evento inicial na aterogênese (RECTOR et al., 2007; GRATTAGLIANO et al., 2008; UEBA et al., 2009). A LDLox é altamente aterogênica e sua mensuração sanguínea tem sido usada na avaliação do risco cardiometabólico (VAN DER VLIET e BAST, 1992; DUARTE et al., 2008).

No que diz respeito às ações sobre proteínas, RL em quantidades excessivas causam desnaturação de enzimas e outras proteínas de membrana ou circulantes, alterando suas funções. A membrana celular lesada perde sua função de barreira, havendo alterações na permeabilidade e em receptores de substratos, podendo culminar com a morte celular (GOTTLIEB et al., 2003; ARAKI e NISHIKAWA, 2010). RL podem atuar em receptores de membrana, como nos de insulina (MAY e DE HAEN, 1979; VAN DER VLIET e BAST, 1992). Desde 1979, sabe-se que o H_2O_2 interfere na via de sinalização

insulínica. A produção aumentada ou capacidade reduzida de eliminação deste RL altera a fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1) e estimula certas quinases na cascata de sinalização, como a c-Jun N-terminal quinase, e o NF- κ B. Este fator de transcrição promove a expressão de genes que codificam para substâncias pró-inflamatórias e indutoras de resistência à insulina, como o TNF- α (EVANS et al., 2005).

Efeitos diretos dos RL sobre o DNA podem mudar bases nucleotídeas, causando alterações na transcrição e expressão gênica (CONNER e GRISHAM, 1996; ARAKI e NISHIKAWA, 2010). No meio intracelular, RL estimulam algumas vias como a do NF- κ B que culminam com expressão de genes (BARNES, 1997; MOHAMED et al., 1999), cujos produtos geram inflamação e comprometem a captação de glicose. RL, produtos virais e bacterianos e LDLox são capazes de ativar este fator e há evidências de que as citocinas inflamatórias geradas – tais como interleucinas (IL) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) retroalimentam este processo (DANDONA et al., 2004; FEDERICO et al., 2007; LEUNG e CHAN, 2009)

Condições de estresse oxidativo (GIUGLIANO et al., 1995; OLUSI, 2002; FORD et al., 2003; KEANEY JR et al., 2003; ESPOSITO et al., 2004; FETT et al., 2010;) e o estado inflamatório (ZEMEL e SUN, 2008) têm sido associados a excesso de adiposidade corporal. Sabe-se que o tecido adiposo não é unicamente uma área de armazenamento de gordura, mas funciona como um órgão ativo, que secreta citocinas com ações autócrinas, parácrinas e endócrinas. A produção de adipocitocinas é proporcional à massa adiposa, variando também com sua localização, visceral ou subcutânea. Citocinas produzidas tanto pelos adipócitos como pelos macrófagos que infiltram este tecido favorecerem um estado pró-inflamatório crônico e de resistência à insulina. A adiposidade visceral aumentada resulta em grande produção de ácidos graxos livres lançados na circulação portal e sistêmica, que agravam o quadro de resistência à insulina. Estas condições contribuem para desestabilizar o balanço anti/pró-antioxidante (OLUSI, 2002; KEANEY Jr et al., 2003; ESPOSITO et al., 2004; ZEMEL e SUN, 2008; FETT et al., 2010).

Na instalação da obesidade, o estresse oxidativo está presente e contribui para perpetuar o quadro pró-inflamatório e de resistência à insulina. Fatores ambientais envolvidos na gênese desta doença, como a ingestão excessiva de gorduras saturadas, favorecem a geração de RL capazes de estimular o fator de transcrição NF- κ B. A

concomitância de estresse oxidativo e inflamação resultam numa reação em cadeia, propícia para o desenvolvimento de doenças cardiometabólicas, interligadas pela resistência à insulina.

A avaliação da resistência à insulina mostrou-se relevante desde que se demonstrou ser fator de risco cardiometabólico independente. O método padrão-ouro para mensurar a sensibilidade à insulina é o *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico. Por ser trabalhoso e dispendioso, a alternativa mais amplamente empregada tem sido o cálculo do *homeostasis model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR) que apresenta boa correlação com o *clamp* (MATTHEWS et al., 1984).

Também existem evidências de que citocinas possam ser usadas na predição de risco cardiometabólico. Destaca-se a proteína C-reativa (PCR), sintetizada pelo fígado em resposta ao aumento de TNF- α e IL-6 (CHAMBERS et al., 2001; GELAYE et al., 2010). As concentrações de PCR foram preditivas de doença cardiovascular, independentemente de outros fatores de risco clássicos (LINDGARDE et al., 2004; RIDKER, 2007). O TNF- α , por causar fosforilação do IRS-1 em serina, compromete a sinalização insulínica e a translocação de GLUT4 para superfície celular, reduzindo a captação de glicose (HAMILTON et al., 2007; RITCHIE e CONNEL, 2007; NIETO-VAZQUEZ et al., 2008). A IL-6, gerada em adipócitos e macrófagos, apresenta-se em altas concentrações em indivíduos obesos (JUGE-AUBRY et al., 2005), estando diretamente associada ao IMC, razão cintura-quadril, concentrações de ácidos graxos livres e HOMA-IR (RAJALA et al., 2003). Valores elevados de IL-6 são preditivos de DM2 e infarto do miocárdio e associa-se inversamente com a adiponectinemia (FAIN, 2006). A adiponectina, em contraste com outras adipocitocinas, tem propriedades anti-inflamatória e anti-aterogênica, estando diminuída na obesidade, DM2, dislipidemia e doença cardiovascular (BORST, 2004; JUGE-AUBRY et al., 2005; FAIN, 2006; HAMDY et al., 2006).

O estresse oxidativo está presente precocemente na história natural do DM2 que tem na doença cardiovascular sua principal causa de morte (KEANEY JR et al., 2003; FERDER et al., 2006). As células pancreáticas apresentam baixa expressão de enzimas antioxidantes e, para funcionamento adequado das células beta, necessitam de alta quantidade de energia proveniente da oxidação do oxigênio. Esta situação mostra a

vulnerabilidade destas células aos RL, os quais irão comprometer a secreção de insulina, podendo, em grau mais crítico, induzir a morte celular (PARK et al., 2009). A hiperglicemia resultante da progressiva disfunção da célula beta determina glicosilação não-enzimática de proteínas. Os produtos finais da glicosilação se ligam a receptores específicos, provocando a geração de EROs e ativação de fatores de transcrição intracelulares, como do NFκB. Essa condição cria um ciclo vicioso de danos celulares, aumentando a inflamação e resistência a insulina, característicos do DM2 (MARITIM et al., 2003; VINCENTI e TAYLOR, 2006).

A hiperglicemia crônica e o excesso de ácidos graxos livres do DM2 mantêm um estado constante de estresse oxidativo, ocasionando disfunção endotelial. Além dos RL alterarem a permeabilidade das membranas celulares da parede vascular, promove adesão de células mononucleares ao endotélio, deposição de matriz extracelular, inflamação, aumento do tônus vascular e agregação plaquetária. Em decorrência do aumento de RL circulantes e das concentrações de LDLox, a aterogênese está ainda mais favorecida (OLUSI, 2002; KEANEY JR et al., 2003). O conjunto destas anormalidades contribui para a elevação do risco para eventos cardiovasculares em indivíduos diabéticos.

Em suma, há estreita relação entre estresse oxidativo, inflamação e resistência à insulina, processos reconhecidamente envolvidos na gênese de doenças cardiometabólicas. A identificação de fatores determinantes destes processos é fundamental para instituição de medidas preventivas e terapêuticas. A literatura dispõe de evidências de que certos alimentos ou padrões de consumo interferem nestes processos. As implicações de intervenções dietéticas sobre o risco de doenças têm sido de grande interesse científico.

1.4. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Diante do exposto, é evidente que estilo de vida saudável deve incluir o consumo adequado de FLV, alimentos ricos em vitaminas e minerais, para atenuar fatores de risco cardiometabólico. Tais alimentos têm potencial de reduzir a ação de RL, o estado pró-inflamatório e a resistência à insulina, processos implicados na gênese de doenças cardiometabólicas. Dessa forma, este estudo examinou, em indivíduos de risco

cardiometabólico, possíveis associações entre consumo de FLV e de micronutrientes com uma série de biomarcadores de processos (de estresse oxidativo, inflamação, resistência à insulina) envolvidos na gênese de distúrbios cardiometabólicos.

Participantes de um programa de intervenção em hábitos de vida visando à prevenção de DM2 tiveram seus dados basais analisados para fins do presente estudo. Levantaram-se as seguintes hipóteses:

- 1) Indivíduos com alto consumo de FLV apresentam marcadores de estresse oxidativo, inflamatórios e de resistência à insulina em concentrações menores que aqueles com baixo consumo destes alimentos.
- 2) As estimativas de consumo de certos micronutrientes (vitA, vitC e vitE, Zn, Se e Mg) se associam com medidas do estresse oxidativo, inflamação e de resistência à insulina.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi analisar a associação entre o consumo FLV e de certos micronutrientes com marcadores do estado oxidativo, inflamatório e de resistência à insulina em indivíduos de risco cardiometabólico.

Para tanto, foi estimado o consumo de FLV, vitA, vitE e vitC, Zn, Se e Mg e sua associação com:

- marcadores do estado oxidativo (LDLox e SOD), inflamatório (PCR, TNF- α , IL-6 e adiponectina) e de resistência à insulina (HOMA-IR);
- medidas antropométricas (IMC e circunferência da cintura), pressão arterial e biomarcadores de risco cardiometabólico (glicemia e perfil lipídico).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. DELINEAMENTO E CASUÍSTICA

Este estudo teve delineamento transversal. Sua casuística foi constituída a partir de indivíduos selecionados para uma pesquisa-matriz, intitulada “*Análise do perfil de risco cardiometabólico de amostra populacional do Município de São Paulo e implementação de programa de prevenção de DM tipo 2* (processo FAPESP n° 2007/55120-0), coordenada pela Orientadora.

De 462 rastreados por questionário de avaliação de risco, foram selecionados 230 indivíduos de risco para DM2 no Centro de Saúde (CS) Escolada FSP-USP para participar da pesquisa-matriz. Para tal pesquisa, cujo tamanho da amostra foi calculado em 2007, comparou os efeitos de duas intervenções, uma intensiva e outra tradicional, em indivíduos de risco cardiometabólico. A coleta de dados ocorreu entre 2008 e 2010. Os indivíduos elegíveis para a pesquisa-matriz estão compondo a amostra de 205 adultos do presente estudo.

Os critérios de inclusão foram ambos os sexos, idade entre 18 e 79 anos, com pré-diabetes ou SM sem DM2. Para diagnóstico destas condições, os indivíduos foram rastreados por exames clínico-laboratoriais que incluem circunferência da cintura, medidas de pressão arterial, concentrações de glicose ao teste oral de tolerância à glicose com 75g de glicose (WHO, 1999) e de perfil lipídico. Foram elegíveis indivíduos com pré-diabetes segundo critérios da *American Diabetes Association* (ADA, 2007), ou seja, com glicemia de jejum alterada ou tolerância à glicose diminuída, e aqueles com diagnóstico de SM sem DM2 pelos critérios da *International Diabetes Federation* (ALBERTI et al., 2006). Uso prévio de medicações anti-hipertensivas e hipolipemiantes foram permitido e eram mantidas durante a intervenção.

Foram critérios de não-inclusão: 1) residir fora da Grande São Paulo; 2) gestantes; 3) portadores de problemas neurológicos ou psiquiátricos graves não-estabilizados no momento da primeira entrevista; 4) uso de medicação anti-obesidade; 5) indivíduos com neoplasias, doenças transmissíveis, insuficiência hepática ou renal, disfunção tireoidiana não-tratada.

- Protocolo e variáveis de interesse

No rastreamento os indivíduos foram informados sobre os objetivos do estudo e aqueles selecionados foram convidados via telefone para participar da intervenção. Os que concordaram em participar compareceram ao CS após 12 horas de jejum e submeteram-se a exame físico, com obtenção de medidas antropométricas e pressão arterial e coleta de sangue para determinações bioquímicas. Realizaram teste oral de tolerância à glicose com 75g de glicose, segundo recomendações da WHO (1999).

Peso e estatura foram obtidos com o mínimo de roupa e sem sapatos, usados para cálculo do IMC (LOHMAN et al., 1988), dividindo-se o peso (kg) pela altura (m) ao quadrado. A circunferência da cintura foi obtida em pé, com fita métrica inelástica, segundo técnica preconizada pela OMS (WHO, 1995). A pressão arterial foi obtida por meio de aparelho automático (Omron model HEM-712C, Omron Health Care, Inc, USA). Três medidas de pressão arterial foram realizadas com adequação do manguito à circunferência braquial, após cinco minutos de repouso na posição sentada. Os valores finais de pressão sistólica e diastólica (em mmHg) considerados foram aqueles que representaram a média aritmética das duas últimas medidas (WHO, 1978).

Além do exame físico, os participantes responderam a questionários clínicos, nutricionais e sobre atividade física (versão longa do *International Physical Activity Questionnaire*) (CRAIG et al., 2003). Os dados do consumo alimentar foram obtidos por três recordatórios alimentares de 24h (R24h) (Anexo 1), aplicados em dias não-consecutivos (THOMPSON e SUBAR, 2001), por nutricionista treinado para tal procedimento. Apenas o primeiro recordatório foi obtido por entrevista direta, sendo os demais coletados por telefone.

Os dados sobre a ingestão alimentar registrada em medidas caseiras foram convertidos para seus respectivos pesos e volumes (gramas (g) ou mililitros (mL)) com base nas tabelas de composição de alimentos (PINHEIRO et al., 2001; FISBERG e VILLAR, 2002; TOMITA e CARDOSO, 2000; UNICAMP, 2006) e processados no *Nutrition Data System*® (NDS - NCC, 2005). Para cálculo de FVL foi utilizada a saída do programa que apresenta os alimentos consumidos, suas quantidades e seus nutrientes.

Posteriormente, as quantidades obtidas foram classificadas em dois grupos, o das frutas, incluídos frutas e sucos de frutas, frescas e o dos legumes e vegetais, contendo legumes e vegetais, crus e cozidos. Dessa forma, obteve-se o consumo diário de cada indivíduo em quantidades de gramas e calorias. Calcularam-se, então, as porções de FLV segundo as recomendações do Guia Alimentar Brasileiro (BRASIL, 2005).

As amostras de sangue foram processadas no próprio CS e foram realizadas as determinações de glicose, perfil lipídico e aqueles necessários para atender aos critérios de exclusão (T_4 , TSH, transaminases e creatinina). Alíquotas de soro foram estocadas a -80°C para posteriores determinações, realizadas no Laboratório do Hospital do Rim e Hipertensão da Universidade Federal de São Paulo. No momento basal também foram coletadas amostras para dosagens de PCR, IL-6, TNF- α , insulina, adiponectina, LDLox e SOD. A insulinemia e glicemia em jejum foram utilizadas para cálculo do HOMA-IR (MATTHEWS et al., 1984).

- Métodos analíticos

A glicose plasmática foi dosada pelo método da glicose-oxidase; as amostras para triglicérides, colesterol total e HDL foram processadas em analisador automático e determinadas enzimaticamente no Laboratório do CS da FSP-USP. A PCR, IL-6 e TNF- α foram dosados por ensaio enzimoimunométrico quimioluminescente (Immulite da Diagnostic Products Corporation – DPC, Los Angeles, CA, USA). A determinação de insulina foi realizada por ensaio imunofluorimétrico baseado em anticorpo monoclonal (AutoDelfia, Perkin Elmer Life Sciences Inc, Norton, OH, USA) e de adiponectina por ELISA (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). A partir do soro estocado a -80°C foram determinadas a LDLox- $\beta_2\text{GPI}$ (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan, USA) e a SOD (Assay Designs, Inc, Ann Arbor, Michigan, USA) por ELISA. A escolha destes biomarcadores baseou-se na disponibilidade de *kits* comerciais de reconhecida procedência e alta confiabilidade técnica, levando em consideração de a acurácia das determinações após tempo de estocagem prolongado.

- Análise estatística

As análises foram realizadas no SPSS, versão 17.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Nas análises descritivas foram obtidas médias e desvios-padrão de variáveis numéricas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi realizado para analisar a distribuição das variáveis. Aquelas que não tiveram distribuição normal sofreram transformação matemática para atingir a normalidade, sendo que HOMA-IR, TNF- α , adiponectina, SOD e LDLox sofreram transformação logarítmica e PCR e IL-6 foram transformados em raiz quadrada. Suas médias e desvios-padrão foram retransformados para seus valores naturais e mostrados nas tabelas.

Para comparar variáveis entre os sexos foi utilizado teste *t* de Student. O coeficiente de correlação de Pearson foi empregado para analisar correlações entre variáveis que expressam o estresse oxidativo (SOD e LDLox), inflamação (PCR, IL-6 e TNF- α e adiponectina) e resistência à insulina (HOMA-IR).

Para aumentar a precisão das análises de consumo de nutrientes e alimentos, a média dos valores obtidos nos três R24h foi calculada e ajustada para o consumo em 1000 kcal. O número de porções de FLV foi calculado após o ajuste e expresso em calorias e porções por 1000 kcal.

Baseando-se nas recomendações internacionais (WHO, 2004), o consumo FLV e a amostra foi subdividida em três grupos: abaixo de 2,5, entre 2,5 e 5,0 e acima de 5,0 porções por 1000 kcal. Os micronutrientes foram categorizados em tercís de consumo por 1000 kcal. Os grupos de indivíduos foram comparados quanto a dados clínico-laboratoriais (dados antropométricos, marcadores de estado oxidativo, de resistência à insulina e inflamatórios) por ANOVA, complementada pelo método de Bonferroni,

A associação entre o consumo de FLV, vitA, vitE, vitC, Mg, Zn e Se com SOD, LDLox, HOMA-IR, PCR, IL-6 e TNF- α e adiponectina foi investigada por modelos de regressão linear múltipla, ajustados para co-variáveis de interesse decididas *a priori* com base nas correlações e/ou na literatura. Os resultados da regressão apresentados incluem um modelo sem ajustes e dois ajustados. No modelo 1 ajustou-se para idade, sexo e IMC, enquanto que no modelo 2 para todas estas e atividade física, consumo de gorduras saturadas e tabagismo atual.

Valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

3.2. ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa-matriz na qual este estudo está inserido foi aprovada pela Comissão de Ética em Pesquisa da FSP-USP (Of. COEP 213/07). Foram obtidas assinaturas do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2). O estudo atual foi submetido à mesma Comissão (Anexo 3) como adendo, informando que se tratava de análise de dados secundários, tendo sido também aprovado (Of. COEP 358/10).

4. ARTIGO

Fruits and vegetables consumption may indicate oxidative status and insulin resistance

Luciana Dias Folchetti¹, Milena Monfort Pires¹, Camila R. Barros¹, Ligia A. Martini³, Sandra Roberta G. Ferreira³

¹ Graduate student, Program of Nutrition in Public Health, School of Public Health, University of São Paulo, SP, Brazil

² Full Professor, Nutrition Department, School of Public Health, University of São Paulo, SP, Brazil

Correspondence

Sandra Roberta G. Ferreira

Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública

Universidade de São Paulo

Av. Dr. Arnaldo, 715 – São Paulo, SP, Brasil – CEP 01246-904

Tel. 55 11 3061-7870 Fax 55 11 3061-7701

E-mail: sandrafv@usp.br

Artigo submetido ao Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics

Abstract

Background: International dietary guidelines of 5 servings per day of fruits and vegetables are based on the myriad of vitamins and minerals present in this food group. Benefits on oxidative stress, inflammation and insulin resistance may contribute to a favorable cardiometabolic profile. **Objectives:** The association of intakes of fruits and vegetables group, vitamins A, C and E, zinc, selenium and magnesium with circulating markers of oxidative stress, inflammation and insulin resistance in individuals at-high cardiometabolic risk was investigated. **Design:** This cross-sectional study included 205 individuals screened for a diabetes mellitus prevention program. 24-hour food recalls and the international physical activity questionnaire were applied. Anthropometric measurements and blood samples were obtained. Pearson correlation coefficient, ANOVA and multiple linear regression were employed. **Results:** Participants consumed a mean of 1,800 kcal per day and 3.7/1000 kcal servings of fruit and vegetables. Mean values of waist circumference ($p=0.06$) and diastolic blood pressure ($p=0.05$) tended to decrease, and adiponectin ($p=0.05$) to increase across the categories of fruits and vegetables intake. Individuals in the highest tertile of zinc intake showed lower values of fat mass and HOMA-IR, while CRP concentrations were marginally significant ($p=0.06$). HOMA-IR was inversely associated with zinc and magnesium intakes in all the models. Direct associations were found between SOD concentrations and fruits and vegetables as well as magnesium intakes in adjusted models. The oxLDL concentration was inversely associated with magnesium, vitamin C, and vitamin E intakes in adjusted models. Similar results were found between oxLDL concentration and fruits and vegetables intake but significance disappeared after adjustments. A direct association between oxLDL and selenium intake was detected after multiple adjustments. **Conclusion:** Our study suggest that fruits and vegetables and/or selected vitamins and minerals intakes – albeit below recommended levels – may be useful to identifying oxidative stress and insulin resistance.

Key words: Fruits and vegetables, oxidative stress, insulin resistance, inflammation.

INTRODUCTION

Current international dietary guidelines recommend 5 servings of fruits and vegetables per day (1). A part of this recommendation is based on the myriad of vitamins and minerals present in this food group, which have been associated with protective effects on cardiometabolic profile (2,3). Among the mechanisms involved in the pathophysiology of metabolic and cardiovascular diseases, oxidative stress (4,5), low-grade inflammation (6,7) and insulin resistance (8) play important roles. Intervention trials have confirmed that a healthy lifestyle, a diet rich in fruits and vegetables, combined with physical activity are able to improve oxidative and inflammatory processes and glucose metabolism (9-12). These specific benefits may be attributed to some micronutrients, such as vitamins A, C and E, zinc, selenium and magnesium, which are essential for proper physiological functioning.

The importance of vitamin E, present in nuts, vegetable oils, green leaves, milk and eggs, for oxidative-antioxidant balance is widely recognized (13-15). Vitamin E consumption should be accompanied by vitamin C – found primarily in fruits and vegetables, because the interaction between these antioxidants yields enhanced antioxidant protection (16,17). Also, vitamin A (present in deep yellow-orange vegetables and fruits) plays an essential role in the immune system and may exert a protective action by reducing oxidation of LDL-c via induction of antioxidant enzymes (18,19). Selenium and zinc are important as integral constituents of protective enzymes incorporated in specific amino acids or structural components with known functions also play a critical role in a variety of biological processes, with several involved in antioxidant defense (20,21). Magnesium plays an important role in carbohydrate metabolism, where a lack of magnesium affects the pancreas ability to secrete insulin and also increases insulin resistance in tissues (22). In addition to those micronutrients, other potential protective substances are found in fruits and vegetables which may confer beneficial cardiometabolic effects. This raises the hypothesis that dietary assessment by food group could provide valuable information to identify relationships between consumption and biological disturbances.

Several epidemiological studies have reported that consumption of fruits and vegetables was associated with decreased incidence and mortality from a variety of health

outcomes including obesity, diabetes, and cardiovascular diseases (1,10,11,23,24). Mechanisms that explain the health benefits from this food group in chronic diseases hinge, at least in part, on its favorable impact on oxidative and inflammatory status and insulin resistance.

Studies involving animal models and clinical trials have shown that antioxidants improve insulin sensitivity, and there is evidence from molecular biology studies supporting that oxidative stress alters the intracellular signaling pathway inducing insulin resistance (25-27).

Many cytokines are inflammatory mediators which were shown to be predictive of cardiometabolic risk. C-reactive protein (CRP) is a major inflammatory marker synthesized by the liver in response to increased tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6). Strong evidence indicates that CRP is an independent predictor of cardiovascular disease (28,29).

TNF- α interferes with insulin signaling by IRS-1 serine phosphorylation that affects the translocation of GLUT4 to the cell surface, reducing glucose uptake (30-32). IL-6 is produced mainly in adipocytes and is found in high concentrations among obese subjects (33). There is evidence that IL-6 is correlated with BMI, waist-hip ratio, levels of free fatty acids, insulin and HOMA-IR (34). Along the same line, observations reveal that IL-6 decreases secretion of adiponectin and high levels are predictive of type 2 diabetes and myocardial infarction (35). In contrast to other adipocytokines, adiponectin is anti-inflammatory and anti-atherogenic and found at lower levels in obesity, type 2 diabetes, dyslipidemia and cardiovascular disease (33,35,36).

We hypothesized that consumption of fruits and vegetables and/or certain micronutrients with antioxidant, anti-inflammatory and insulin-sensitizer properties might be associated with selected circulating biomarkers. Therefore, the aim of the present study was to investigate the association between intakes of fruits and vegetables group as well as vitamins A, C and E, zinc, selenium and magnesium with circulating markers of oxidative stress (oxidized LDL – oxLDL and superoxide dismutase – SOD), inflammation (CRP, IL-6, TNF- α and adiponectin) and insulin resistance (HOMA-IR) in individuals at high cardiometabolic risk.

METHODS

- **Study Population**

This study was approved by the Research Ethics Committee of the School of Public Health of the University of São Paulo, Brazil. Written consent was obtained from all participants.

Individuals attending our School health center, screened for entry to an 18-month program for the prevention of type 2 diabetes mellitus, were invited to participate in this cross-sectional study. Baseline data were collected between 2008 and 2009. Of the 230 individuals selected for the intervention, 205 had complete data for the purposes of the present study. Inclusion criteria were adults aged between 18 and 79 years with prediabetic conditions (impaired glucose tolerance or impaired fasting glycemia) according to American Diabetes Association criteria (37) or with metabolic syndrome without diabetes according to International Diabetes Federation criteria (38). Individuals with a medical history of neurological or psychiatric disturbances, thyroid, liver, renal or infectious diseases were excluded. Sociodemographic data, smoking and other habits or health conditions were obtained through standardized questionnaires.

- **Clinical Measurements**

Trained staff collected clinical data, including anthropometric data, blood pressure measurements, physical activity and dietary data.

Height was measured using a fixed stadiometer with a vertical backboard and adjustable headboard; weight was obtained with individuals wearing light clothing and no footwear in a standing position on a Filizola digital scale with capacity of 200 kg, accurate to the nearest 100 g. Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared. Waist circumference was measured at the midpoint between the bottom of the rib cage and top of the iliac crest during minimal respiration. Blood pressure was measured at rest in a sitting position, three times with an interval of five minutes, by automatic blood pressure monitor (Omron HEM-712C, Omron Health Care, USA). The average of the last two recorded measurements was used in analyses. Physical activity was assessed by the long version of the international physical activity questionnaire (39) administered by trained staff.

- **Assessment of Dietary Intake**

Dietary data were collected using a standardized protocol of a 24-h dietary recall method for repeated interviews in the same individual by trained nutritionists. Three 24-h recalls relative to food consumption during two weekdays and one weekend day were obtained from each participant. Interviewees were asked to report their food consumption during the interviews; one recall was collected face-to-face and two by telephone.

Dietary data were processed using the Nutrition Data System software (Nutrition Coordinating Center, Minnesota, 2005) which provides data on total intake of macronutrients and micronutrients.

Fruits and vegetables food group was created, which included fresh juices and fruits, along with green leafy, cruciferous, carotenoid-containing and miscellaneous vegetables. Servings of fruits and vegetables were calculated according to the recommendations of the Brazilian Food Guide (40).

- **Laboratory**

Fasting blood samples were obtained from all participants. Plasma glucose and lipoproteins were immediately determined in the local laboratory using validated commercial kits. The samples were centrifuged and aliquots stored at -80°C for further determinations of superoxide dismutase (SOD), oxidized LDL (oxLDL), inflammatory markers and hormones. SOD was determined using a commercial kit (Assay Designs, Inc, Ann Arbor, Michigan, USA) and oxLDL- β_2 GPI (human) by an ELISA kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Michigan, USA). High sensitivity C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) were determined using immunoenzyme chemiluminescent assay (Immulite, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). Insulin was determined by immunometric assay using a quantitative chemiluminescent kit (AutoDelfia, Perkin Elmer Life Sciences Inc, Norton, OH, USA) and adiponectin by enzyme-linked immunosorbent assay (Linco Research, St. Charles, Missouri, USA). Homeostasis model assessment (HOMA-IR) was used to assess insulin resistance (26).

- **Statistical Analysis**

All statistical analyses were conducted using the statistical package for social sciences (SPSS v. 17.0) software program. Distributions of HOMA-IR, CRP, IL-6, TNF- α , adiponectin, SOD, oxLDL and micronutrients were highly skewed and transformed before analysis to achieve normality. To return to the natural scale, means and standard deviations of these analyses were back-transformed and reported. To increase precision of the nutrient and food intake analyses, an average of the dietary data collected on the three recalls was obtained and adjusted by 1,000 calories; afterwards the number of servings was calculated.

Data on general characteristics, blood lipid profile, and nutrients intake are given according to gender. Fruits and vegetables intake was categorized into 3 subgroups: below 2.5, between 2.5 and 5.0, and above 5.0 servings per 1,000 kcal (1). Intake of micronutrients was divided into tertiles for comparisons using ANOVA; when differences were detected, Bonferroni method was used to identify which means were significantly different. Pearson coefficient was used to test correlations. Multiple linear regression analysis was used to correlate intakes of vitamins A, C and E, zinc, magnesium, selenium and fruit and vegetables with markers of inflammation, oxidative stress and insulin resistance. Adjustments for potential confounders such as age, gender, BMI, saturated fat acid intake, smoking status and physical activity were made. Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation. A p-value < 0.05 was considered significant.

RESULTS

The mean age of the study sample (65% women) was 54.1 ± 12.7 years; 33% were Caucasians and 80% non-smokers. Eighty-five percent of participants had weight excess and metabolic syndrome was diagnosed in 89% of them. Clinical, laboratory and dietary data according to gender are shown in Table 1. Men and women had similar BMI and waist circumference but, as expected, higher percentage of fat mass was found in women. Mean values of blood pressure, plasma glucose, non-HDL cholesterol, IL-6, TNF- α , SOD and oxLDL did not differ between genders. Adiponectin and CRP concentrations were significantly greater in women.

Table 1. Mean values (standard deviation) of main characteristics of the 205 participants according to gender.

	Men	Women	P value
• Clinical			
Body mass index (kg/m ²)	29.1 ± 4.5	31.3 ± 5.8	0.05
Waist circumference (cm)	102.7 ± 12.5	100.0 ± 13.2	0.16
Fat mass (%)	25.8 ± 6.3	38.4 ± 6.8	<0.01
Systolic blood pressure (mmHg)	136.7 ± 18.0	134.0 ± 17.9	0.29
Diastolic blood pressure (mmHg)	82.2 ± 11.0	81.5 ± 10.3	0.62
• Laboratory			
Fasting plasma glucose (mg/dL)	101.2 ± 10.6	98.3 ± 11.8	0.08
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	153.9 ± 38.9	157.6 ± 43.6	0.55
Triglycerides (mg/dL)	161.5 ± 69.4	144.3 ± 67.1	<0.01
Adiponectin (ng/mL)	8.7 ± 1.9	13.7 ± 1.8	<0.01
HOMA-IR	1.9 ± 1.9	2.0 ± 1.9	0.52
C-reactive protein (mg/dL)	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	<0.01
Interleukin-6 (pg/mL)	2.2 ± 0.6	2.6 ± 0.6	0.27
Tumor necrosis factor- α (pg/mL)	12.0 ± 4.7	12.5 ± 7.4	0.59
Superoxide dismutase (U/ml)	44.2 ± 1.5	42.6 ± 1.4	0.50
Oxidized LDL-c (μ g/mL)	11.3 ± 1.7	8.2 ± 1.6	0.12
• Dietary			
Energy (kcal)	1801.4 ± 695.6	1798.6 ± 662.3	0.98
Carbohydrate (% Energy)	49.0 ± 6.8	51.3 ± 6.7	0.02
Protein (% Energy)	19.0 ± 3.7	17.0 ± 4.4	0.16
Total fat (% Energy)	31.9 ± 5.5	31.8 ± 6.1	0.84
Sat / Unsaturated fatty acids	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.66

Total fiber (g/1000 kcal)	8.8 ± 3.7	9.6 ± 4.3	0.20
Vitamin A (µg/1000 kcal)	106.8 ± 2.4	143.2 ± 1.9	<0.01
Vitamin E (mg/1000 kcal)	3.0 ± 1.4	3.4 ± 1.4	0.01
Vitamin C (mg/1000 kcal)	29.9 ± 4.7	44.9 ± 2.5	0.02
Magnesium (mg/1000 kcal)	134.5 ± 1.3	142.1 ± 1.4	0.21
Zinc (mg/1000 kcal)	6.3 ± 1.3	5.5 ± 1.3	<0.01
Selenium (mg/1000 kcal)	65.0 ± 1.2	62.8 ± 1.2	0.26
Fruits			
Kcal/1000 kcal	47.5 ± 19.7	58.7 ± 13.7	0.21
Servings/1000 kcal	1.4 ± 0.6	1.7 ± 0.4	0.21
Vegetables			
Kcal/1000 kcal	14.7 ± 3.6	23.5 ± 5.2	<0.01
Servings/1000 kcal	1.0 ± 0.2	1.6 ± 0.3	<0.01
Sat / Unsat fatty acids = Saturated-to-unsaturated fatty acids ratio			

Participants consumed a mean of $1,800 \pm 672$ kcal per day and $3.7 \pm 2.6/1000$ kcal servings of fruits and vegetables. Mean values of energy intake were similar between genders but women had a higher intake of carbohydrates, vitamins, zinc and vegetables. According to the DRIs (41-43), a high proportion of individuals fell below recommended levels (98% for vitamin A, 96% for magnesium, 89% for vitamin E, 70% for vitamin C and 90% for zinc). Selenium consumption was within the recommended range in 90% of individuals.

Time spent on physical activities was heterogeneous with a mean time of 181 min/week, and range of zero to 1,260 minutes/week.

Individuals were stratified into three groups (<2.5, 2.5–5.0, >5.0) according to servings of fruits and vegetables per 1000 kcal consumed (Table 2). Energy intake was similar among the groups and, as expected, the higher the fruits and vegetables intake the higher the intake of total fiber and vitamins (data not shown). Mean values of waist

circumference ($p = 0.06$) and diastolic blood pressure ($p = 0.05$) tended to decrease, and adiponectin ($p = 0.05$) to increase, across the groups of fruits and vegetables intake.

Table 2. Mean values (standard deviation) of dietary intake of 205 participants.

	Servings of fruits and vegetables (/1000 kcal)			p
	≤ 2.49	2.5 to 5	≥ 5	
	N = 78	N = 70	N = 55	
Total Intake (Kcal)	1858.9 ± 713.5	1761.2 ± 610.3	1754.9 ± 702.3	0.59
Body mass index (kg/m ²)	31.6 ± 6.0	30.2 ± 5.6	29.9 ± 5.9	0.19
Waist circumference (cm)	103.4 ± 13.6	100.1 ± 12.2	98.2 ± 12.7 [†]	0.06
Fat mass (%)	33.9 ± 0.6	32.5 ± 0.8	33.9 ± 0.6	0.65
Systolic blood pressure (mmHg)	134 ± 16	135 ± 19	136 ± 17	0.73
Diastolic blood pressure (mmHg)	84 ± 10	80 ± 10 [†]	81 ± 9	0.05
Fasting plasma glucose (mg/dL)	98.4 ± 10.9	100.2 ± 12.7	99.7 ± 10.7	0.62
HOMA-IR [#]	2.1 ± 1.9	1.9 ± 1.8	1.9 ± 1.9	0.36
Triglycerides (mg/dL)	157.0 ± 76.1	146.8 ± 61.1	142.1 ± 60.9	0.42
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	160.1 ± 42.7	155.7 ± 40.4	150.9 ± 41.8	0.43
C-reactive protein [#] (mg/mL)	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.41
Interleukin-6 [#] (pg/mL)	2.6 ± 0.6	2.7 ± 0.6	2.0 ± 0.6	0.25
TNF-α [#] (pg/mL)	10.9 ± 0.5	11.0 ± 0.7	10.6 ± 1.2	0.86
Adiponectin [#] (ng/mL)	10.4 ± 1.8	11.9 ± 1.9	13.6 ± 2.0 [†]	0.05
Superoxide dismutase [#] (U/ml)	41.5 ± 1.3	42.6 ± 1.3	46.1 ± 1.6	0.26
Oxidized LDL-c [#] (μg/mL)	6.8 ± 0.6	7.5 ± 0.9	9.9 ± 3.9	0.08

[#] Transformed for analysis [†] $p < 0.05$ versus ≤ 2.49 group

TNF-α, tumor necrosis factor-α

Individuals were stratified according to tertiles of intake of micronutrients with significant differences found only across zinc intake categories (Table 3). Mean values of fat mass and HOMA-IR were significantly lower in the highest tertiles of zinc intake while CRP concentrations tended to decrease ($p = 0.06$).

Table 3. Mean values (standard deviation) of clinical and laboratory data according to zinc intake of 205 individuals.

	Zinc (mg/1000 kcal)			p
	≤ 4.49 N = 68	4.50 to 5.89 N = 69	≥ 5.90 N = 68	
Total intake (Kcal)	1776.0 $\pm$ 643.3	1784.1 $\pm$ 685.7	1831.2 $\pm$ 698.2	0.88
Body mass index (kg/m ²)	31.4 $\pm$ 6.3	31.0 $\pm$ 5.7	29.8 $\pm$ 5.1	0.24
Waist circumference (cm)	101.7 $\pm$ 14.0	101.1 $\pm$ 12.4	100.1 $\pm$ 12.7	0.79
Fat mass (%)	35.9 $\pm$ 8.7	34.6 $\pm$ 9.0	31.8 $\pm$ 9.4 [†]	0.03
Fasting plasma glucose (mg/dL)	97.5 $\pm$ 11.4	101.2 $\pm$ 11.0	99.5 $\pm$ 11.8	0.17
HOMA-IR [#]	2.3 $\pm$ 1.8	2.1 $\pm$ 2.0	1.6 $\pm$ 1.8 ^{†‡}	<0.01
Triglycerides (mg/dL)	158.1 $\pm$ 74.0	142.3 $\pm$ 56.7	147.8 $\pm$ 69.2	0.38
Non-HDL cholesterol (mg/dL)	158.6 $\pm$ 38.0	152.3 $\pm$ 45.3	157.0 $\pm$ 41.8	0.67
C-reactive protein [#] (mg/mL)	0.4 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.06
Interleukin-6 [#] (pg/mL)	2.8 $\pm$ 0.6	2.4 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 0.5	0.34
TNF- α [#] (pg/mL)	11.3 $\pm$ 4.3	13.0 $\pm$ 7.6	12.8 $\pm$ 7.4	0.25
Adiponectin [#] (ng/mL)	12.1 $\pm$ 1.8	11.3 $\pm$ 2.1	11.6 $\pm$ 1.9	0.84
Superoxide dismutase [#] (U/ml)	42.2 $\pm$ 1.3	42.4 $\pm$ 1.4	45.2 $\pm$ 1.5	0.50
Oxidized LDL-c [#] (μ g/mL)	10.2 $\pm$ 2.3	8.7 $\pm$ 1.7	8.3 $\pm$ 1.3	0.97

[#] Transformed for analysis TNF- α , tumor necrosis factor- α

[†] $p < 0.01$ versus ≤ 4.49 mg/1000 kcal

[‡] $p < 0.01$ versus 4.50 to 5.89

OxLDL concentration was correlated to HOMA-IR ($r = 0.436$, $p = 0.03$) while SOD concentration correlated to both adiponectin ($r = 0.184$, $p \leq 0.01$) and CRP concentrations ($r = -0.198$, $p \leq 0.01$).

Table 4 depicts linear regression models for inflammatory markers, insulin resistance and oxidative stress. The associations of adiponectin concentration with vitamin A and magnesium intakes from the crude model disappeared after adjustments. No association was found between CPR, IL-6 and TNF- α and dietary variables. HOMA-IR was inversely associated with zinc and magnesium intakes in all models. Direct associations were found between concentrations of SOD and fruits and vegetables as well as magnesium intakes in adjusted models. The oxLDL concentration was inversely associated with magnesium, vitamin C and vitamin E intakes in adjusted models. Similar results were found between oxLDL and intake of fruits and vegetables but significance disappeared after adjusting for saturated fatty acid and physical activity. However, a direct association between oxLDL and selenium intake was detected after multiple adjustments.

Table 4. Crude and adjusted linear regression coefficients for the associations of dietary variables and markers of inflammation, oxidative stress and insulin resistance.

	CPR	IL-6	TNF-α	Adiponectin	HOMA-IR	SOD	oxLDL
	β (95%CI)	β (95%CI)	β (95%CI)	β (95%CI)	β (95%CI)	β (95%CI)	β (95%CI)
FV	-0.050(-0.535 – 0.304)	-0.049(-3.724 – 2.242)	0.037(-1.035 – 1.780)	0.106(-0.138 – 1.287)	-0.021(-4.848 – 5.991)	0.202(0.120 – 0.734)	-0.373(-1.526 – -0.180)
Model 1	-0.070(-0.558 – 0.319)	-0.024(-3.353 – 2.595)	0.024(-1.144 – 1.624)	0.018(-0.522 – 0.959)	0.007(-3.609 – 7.749)	0.187(0.100 – 0.715)	-0.471(-2.966 – -0.110)
Model 2	-0.071(-0.552 – 0.288)	0.025(-2.325 – 2.334)	0.022(-1.077 – 1.517)	-0.010(-0.624 – 0.775)	0.032(-3.119 – 7.586)	0.172(0.110 – 0.688)	-0.330(-3.608 – 0.007)
Vitamin A	0.033(-0.283 – 0.456)	-0.007(-0.137 – 0.124)	-0.051(-0.021 – 0.010)	0.174(0.041 – 0.349)	0.017(-0.140 – 0.180)	0.093(-0.109 – 0.490)	0.155(-0.410 – 0.186)
Model 1	-0.023(-0.445 – 0.321)	0.006(-0.122 – 0.134)	-0.078(-0.023 – 0.006)	0.060(-0.091 – 0.235)	0.011(-0.155 – 0.182)	0.055(-0.187 – 0.399)	0.092(-0.390 – 0.227)
Model 2	-0.027(-0.442 – 0.296)	-0.016(-0.141 – 0.111)	-0.081(-0.023 – 0.005)	0.077(-0.071 – 0.245)	0.009(-0.154 – 0.175)	0.084(-0.133 – 0.435)	-0.067(-0.275 – 0.312)
Vitamin E	-0.004(-0.181 – 0.172)	-0.040(-0.080 – 0.044)	-0.007(-0.008 – 0.007)	0.085(-0.028 – 0.120)	-0.036(-0.096 – 0.057)	0.086(-0.059 – 0.228)	-0.367(-0.051 – 1.190)
Model 1	-0.055(-0.261 – 0.120)	-0.049(-0.086 – 0.041)	-0.021(-0.008 – 0.006)	0.009(-0.076 – 0.087)	-0.049(-0.115 – 0.052)	0.079(-0.067 – 0.225)	-0.443(-1.243 – -0.191)
Model 2	-0.063(-0.261 – 0.101)	0.011(-0.057 – 0.067)	-0.029(-0.009 – 0.005)	-0.025(-0.092 – 0.064)	-0.014(-0.089 – 0.073)	0.088(-0.060 – 0.220)	-0.354(-1.131 – -0.110)
Vitamin C	-0.011(-0.644 – 0.553)	0.035(-0.158 – 0.264)	-0.026(-0.030 – 0.020)	0.097(-0.076 – 0.428)	-0.002(-0.262 – 0.257)	0.159(0.049 – 1.013)	-0.319(-2.334 – 0.986)
Model 1	-0.043(-0.815 – 0.446)	0.060(-0.119 – 0.302)	-0.044(-0.032 – 0.016)	-0.013(-0.296 – 0.242)	0.017(-0.242 – 0.312)	0.141(-0.024 – 0.937)	-0.433(-2.833 – 0.273)
Model 2	-0.043(-0.804 – 0.432)	0.092(-0.068 – 0.352)	-0.046(-0.032 – 0.016)	-0.030(-0.325 – 0.206)	0.031(-0.211 – 0.339)	0.137(-0.049 – 0.900)	-0.333(-3.568 – 0.418)

Magnesium	-0.049(-0.206 – 0.099)	-0.061(-0.077 – 0.030)	-0.010(-0.007 – 0.006)	0.170(0.015 – 0.142)	-0.177(-0.149 – -0.01)9	0.147(0.002 – 0.248)	-0.423(-1.351 – -0.012)
Model 1	-0.050(-0.220 – 0.111)	-0.042(-0.072 – 0.039)	-0.014(-0.007 – 0.006)	0.111(-0.009 – 0.131)	-0.148(-0.156 – -0.012)	0.147(0.002 – 0.253)	-0.495(-1.410 – -0.180)
Model 2	-0.055(-0.209 – 0.089)	0.030(-0.039 – 0.062)	-0.021(-0.007 – 0.005)	0.093(-0.022 – 0.106)	-0.139(-0.131 – 0.000)	0.166(0.004 – 0.233)	-0.361(-1.264 – 0.055)
Zinc	-0.104(-0.246 – 0.035)	-0.076(-0.077 – 0.022)	0.058(-0.003 – 0.008)	-0.089(-0.098 – 0.021)	-0.184(-0.141 – -0.021)	0.057(-0.070 – 0.159)	-0.025(-0.883 – 0.696)
Model 1	-0.052(-0.203 – 0.098)	-0.053(-0.069 – 0.031)	0.071(-0.003 – 0.009)	-0.022(-0.075 – 0.053)	-0.163(-0.148 – -0.018)	0.055(-0.072 – 0.160)	0.032(-0.963 – 0.602)
Model 2	-0.056(-0.207 – 0.095)	-0.046(-0.068 – 0.035)	0.068(-0.003 – 0.009)	-0.027(-0.079 – 0.051)	-0.154(-0.147 – -0.014)	0.063(-0.067 – 0.167)	0.019(-0.867 – 0.554)
Selenium	-0.034(-0.132 – 0.080)	-0.023(-0.044 – 0.031)	-0.066(-0.007 – 0.002)	0.078(-0.019 – 0.070)	-0.079(-0.079 – 0.020)	-0.026(-0.102 – 0.071)	0.185(-0.290 – 1.713)
Model 1	-0.011(-0.125 – 0.108)	-0.018(-0.044 – 0.034)	-0.059(-0.006 – 0.003)	0.111(-0.006 – 0.092)	-0.068(-0.078 – 0.024)	-0.021(-0.102 – 0.077)	0.258(-0.204 – 1.712)
Model 2	-0.009(-0.122 – 0.107)	0.005(-0.038 – 0.040)	-0.059(-0.006 – 0.003)	0.104(-0.009 – 0.088)	-0.064(-0.076 – 0.026)	-0.035(-0.110 – 0.068)	0.578(0.232 – 1.823)

FV, fruits and vegetables; CPR, C-reactive protein; IL-6, interleukin-6; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; SOD, superoxide dismutase

Model 1 - adjusted for age, gender and BMI

Model 2 – adjusted for age, gender, BMI, saturated fatty acids intake (per 1000 kcal), smoking and physical activity

DISCUSSION

The present study reinforces that a high consumption of vitamins and minerals – after analyzing these micronutrients in isolation and as part of the food group fruits and vegetables – was associated with a beneficial cardiometabolic profile in the sample of at-risk individuals studied. This assertion is based on our findings of an inverse association of oxidative stress and insulin resistance parameters with intake of these nutrients. Although these findings could be explained by an overall healthier lifestyle, the results remained significant after adjusting for physical activity, saturated fatty acids intake and smoking. Also, the data suggested that, for clinical purposes, the number of servings of fruits and vegetables as a group may provide reasonable information on the individual oxidative status. In fact, low intake of fruit and vegetables is a major modifiable risk factor contributing to the burden of ill health (49).

International recommendations have established ≥ 5 servings of fruits and vegetables as part of a 2,000 kcal diet (44). The intake of this food group in the sample studied met this recommendation, since Brazilians consumed a mean of 3.7 servings (225 grams) per 1,000 kcal. This amount is similar to the consumption of American adults who consume 3.75 daily servings (400–455 grams) of fruit and vegetables (45), considerably lower than the amount recommended in US Department of Agriculture dietary guidelines of 3.5–5 cups (800–1,150 grams) per day of this food group (46).

Based on National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study (47) and on two recent meta-analyses of prospective cohort studies (45,48), the higher the intake of fruits and vegetables the lower the risk of cardiovascular events. Epidemiological studies, such as the Nurses' Health Study (49), Framingham Heart Study (50) and the Women's Health Study (51) have suggested an intake of at least 5 or 6 servings per day for the prevention of a number of chronic diseases. Therefore, on this basis the present sample would be protected against cardiometabolic risk. In fact, we found that individuals who consumed more than the recommended amount of fruits and vegetables (≥ 5 servings per 1,000 kcal/day) had lower waist circumference and diastolic blood pressure levels and higher adiponectin concentrations. Considering that abdominal adiposity is a central feature for the development of insulin resistance and atherosclerosis,

this profile is desirable for minimizing the risk among these individuals. Favorable effects of adiponectin on glucose metabolism and atherogenesis have been previously reported (33,35,36).

The benefits of fruits and vegetables consumption are related to their antioxidant vitamin- and mineral-rich content. We detected a positive association of fruits and vegetables consumption with SOD, a marker of antioxidant status (4,52). An inverse association with oxLDL was also observed, although statistical significance disappeared after adjusting for physical activity, saturated fatty acid intake and smoking. Although adequate in terms of number of servings, it is important to emphasize that the intake of vitamins A, E and C as well as intake of zinc and magnesium in our sample fell below recommended levels. Nevertheless, an association of these micronutrients with markers of oxidative and inflammatory status and insulin sensitivity were found. These findings support that recommendations should be higher than 5 servings per day of fruit and vegetables. Oxidative stress has been involved in the genesis of many chronic diseases which constitute the main causes of mortality in the population worldwide.

There is a body of evidence indicating that oxidative stress triggers inflammation (6,15,16,53-55). Both processes can be assessed by measuring certain circulating biomarkers. In the present study, oxLDL was used as a surrogate of oxidative stress while SOD as a marker of antioxidant activity. Oxidative stress was shown to be strongly associated with insulin resistance (56) and to stimulate the production of inflammatory proteins by acting on the NF- κ B pathway (6,15,53,55). Associations of oxLDL concentrations with HOMA-IR, and of SOD with adiponectin and CPR, support the worth of these parameters for assessing oxidative status. These findings are in agreement with the results of the Women's Health Study (57) indicating that pro-inflammatory pathways contribute to the onset and/or aggravation of insulin resistance, the pathophysiologic basis of cardiometabolic diseases.

Beneficial properties of fruits and vegetables include an interaction of nutrient and non-nutritive components in whole foods (11,12,15,45,47,48). The combination of nutrients in foods, such as vitamins A, E and C, zinc, selenium and magnesium, have greater health benefits when combined than when consumed alone (58). However, it is

likely that, individually, these nutrients *per se* have an effect on the risk of cardiometabolic diseases.

The role of vitamins C and E in oxidative stress has been consistently shown (12-17). Intake of these vitamins was inversely associated with oxLDL concentration in the present study. Under normal conditions, vitamin E prevents oxidation of LDL-cholesterol (59) and also acts by regulating inflammatory reactions and metabolic pathways and platelet aggregation (60). Vitamin C counters free radicals and regulates vitamin E metabolism by recycling oxidized tocopherols (3,14-17). Synergic actions of these two vitamins are also modulated by the action of another antioxidant enzyme, glutathione peroxidase, which maintains vitamin C in its reduced form (14,16). Since both vitamins E and C play a major protective role against oxidative stress, diets rich in foods with a high content of these vitamins have been associated with lower cardiovascular risk (13-17).

It is well known that zinc is an important component of antioxidant enzymes such as SOD. In parallel, zinc plays an essential role in glucose metabolism where biosynthesis, storage and secretion of insulin depend on its presence (61,62). In our study, individuals with higher zinc intake had a more favorable profile due to their lower fat mass, HOMA-IR and CRP values. Additionally, an inverse association was observed between zinc intake and HOMA-IR after multiple adjustments, perhaps reflecting its physiological role for insulin action (62). Under conditions of low zinc availability, antioxidant enzyme synthesis but not insulin secretion is diminished, possibly contributing to tissue damage (3,20,55). In fact, it has been suggested that, due to a shift in insulin production in type 2 diabetes, less zinc could be available for the composition of antioxidant enzymes, thus contributing to a pro-oxidant status (20,62).

Furthermore, magnesium is also important for glucose homeostasis (63,64). We found that magnesium intake was inversely associated with oxLDL and HOMA-IR, and directly associated with SOD, in adjusted models. There is solid evidence that systemic inflammation and insulin resistance are closely linked, a process in which magnesium may be implicated. Cross-sectional studies have reported inverse associations between magnesium intake with CRP (65) and fasting insulin levels in overweight women (66). A longitudinal study showed a greater incidence of type 2 diabetes in individuals with low magnesium intake (22). A meta-analysis confirmed an inverse association of magnesium

intake not only with fasting plasma glucose but also with waist circumference, and HDL-cholesterol, after adjusting for potential confounders (45,48).

Unexpectedly, a direct association was found between selenium intake and circulating oxLDL levels after adjustments in this investigation. Reports indicate this mineral is relevant for protecting against oxidative stress (21). However, other investigators have found lower concentrations of glutathione peroxidase and higher intake of selenium in obese individuals compared with healthy individuals (67,68). The reasons for these findings remain unclear.

The present study had limitations. This had a cross-sectional design which precluded further determination of causality. Also, sample size limited the ability to generalize these results for the population at large. Nevertheless, the sample proved sufficient to detect important associations of fruits and vegetables intake with oxidative stress, inflammation status and insulin resistance. Determinations of circulating levels of vitamins were not available to improve the analysis of the associations between consumption and indicators of these processes. The application of epidemiologic methods to nutrition is fraught with complications because of the highly interrelated nature of dietary exposures. For this reason, it is often difficult to separate out the specific effects of nutrients or foods despite the common practice of examining the role of single nutrients or foods in relation to disease risk. However, the combination of these nutrients in foods has greater health benefits than the individual nutrients alone (58).

A major strength of the present study is its detailed assessment of dietary intake. Individuals provided more reliable diet record data by giving a three-day food record, including a weekend day. It is noteworthy that two markers of antioxidant-oxidative status were also available namely, SOD and oxLDL concentrations, given that no single gold-standard is defined in the literature.

In summary, the intake of fruits and vegetables and/or selected vitamins and minerals (albeit below recommended levels), may be useful to identify the oxidative stress and insulin resistance involved in the genesis of cardiometabolic diseases. The findings of this study, indicating that the international dietary guideline of ≥ 5 servings

per day of fruits and vegetables may be insufficient to satisfy current DRIs, point to the need for continuous revision of international dietary recommendations.

REFERENCES

1. WHO - World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Geneva: World Health Organization, 2003 [WHO technical report series 916].
2. Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations – findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes* 2003; 52:2346-52.
3. Esposito K, Giugliano D. Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 2006; 27:15-20.
4. Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sci* 2009; 84:705-12.
5. Soory M. Relevance of nutritional antioxidants in metabolic syndrome, ageing and cancer: potential for therapeutic targeting. *Infect Disord Drug Targets* 2009; 9(4):400-414.
6. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nature Rev Immunol* 2008; 8:923-934.
7. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Rev Immunol* 2011; 11:85-97.
8. Utzschneider KM, Lagemaat AV de, Faulenbach MV, et al.. Insulin resistance is the best predictor of the metabolic syndrome in subjects with a first-degree relative with type 2 diabetes. *Obesity* 2010; 18(9):1781–1787.
9. Roberts CK, Barnard RJ. Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol* 2005; 98:3-30.
10. WHO - World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health. Geneva: World Health Organization, 2004. [57a World Health Assembly WHA 57.17].
11. Bazzano LA, Li TY, Joshipura KJ, Hu FB. Intake of fruit, vegetables, and fruit juices and risk of diabetes in women. *Diabetes Care* 2008; 31(7):1311-1317.

12. Liu S, Manson JE, Lee I-M, et al. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (4):922-928.
13. Pryor WA. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med* 2000; 28:141–64.
14. Heyland DK, Suchner U. Antioxidant nutrients: a systematic review of trace elements and vitamins in the critically ill patient. *Crit Care Med* 2005; 31:327-37.
15. Holt EM, Steffen LM, Moran A, et al. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *J Am Diet Assoc* 2009; 109:414-21.
16. Sánchez-Moreno C, Cano MP, de Ancos B, et al. Consumption of high-pressurized vegetable soup increases plasma vitamin C and decreases oxidative stress and inflammatory biomarkers in healthy humans. *J Nutr* 2004;134:3021–5.
17. Grattagliano I, Palmieri VO, Portincasa P, et al. Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. *J Nutr Biochem* 2008; 19:491-504.
18. Hughes KJ, Mayne ST, Blumberg JB, et al.. Plasma carotenoides and biomarkers of oxidative stress in patients with prior head and neck cancer. *Biom Ins* 2009; 4:17-26.
19. Sluijs I, Beulens JWJ, Grobbee DE, Van Der Schouw YT. Dietary carotenoid intake is associated with lower prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and elderly men. *J Nutr* 2009; 139:987-92.
20. Song Y, Lenard SW, Traber M, Ho E. Zinc deficiency affects DNA damage, oxidative stress, antioxidant defenses, and DNA repairs in rats. *J Nutr* 2009; 139:1626-31.
21. Ghayour-Mobarhan M, Taylor A, Lanham-New S, et al. Serum selenium and glutathione peroxidase in patients with obesity and metabolic syndrome. *J Nutr* 2008; 7(1):112-7.
22. Lopez-Ridaura R, Willett WC, Rimm EB, et al. Magnesium intake and risk of type 2 diabetes in men and women. *Diabetes Care* 2004; 27:134-40.
23. Hu FB, Rimm EB, Stampfer MJ, et al. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:912–21.

24. Fung TT, Willett WC, Stampfer MJ, et al. Dietary patterns and the risk of coronary heart disease in women. *Arch Intern Med* 2001; 161:1857–62.
25. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction? *Diabetes* 2003; 52:1–8.
26. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism* 2000; 49:27–29.
27. Bruce CR, Carey AL, Hawley JA, Febbraio MA. Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defence mechanism. *Diabetes* 2003; 52:2338–2345.
28. Lindgarde F, Ercilla MB, Correa LR, Ahren B. Body adiposity, insulin, and leptin in subgroups of Peruvian Amerindians. *High Alt Med Biol* 2004; 5:27–31.
29. Ridker PM. C-reactive protein and the prediction of cardiovascular events among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:2129–38.
30. Hamilton SJ, Chew GT, Watts GF. Therapeutic regulation of endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4:89–102.
31. Ritchie SA, Connell JM. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17:319–26.
32. Nieto-Vazquez I, Fernandez Velez S, Kramer DK, et al. Insulin resistance associate to obesity: the link TNF- α . *Arc Physiol Biochem* 2008; 114:183–94.
33. Juge-Aubry CE, Henrichot E, Meier CA. Adipose tissue: a regulator of inflammation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19:547–66.
34. Rajala MW, Scherer PE. Minireview: the adipocyte – at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003; 144:3765–73.
35. Fain JN. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm* 2006; 74:433–77.
36. Hamdy O, Porramatikul S, Al-Ozairi E. Metabolic obesity: the paradox between visceral and subcutaneous fat. *Curr Diabetes Rev* 2006; 2:367–73.
37. ADA – American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20:1183–

1197.

38. Alberti G, Zimmet P. On behalf of the IDF Task Force on Epidemiology and Prevention. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. [acesso em 15 de janeiro de 2012]. Disponível em: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf.
39. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M et al. International Physical Activity Questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(8):1381-1395.
40. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 236p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
41. Institute of Medicine. DRI Report – Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington; National Academy; 2011.
42. Institute of Medicine. DRI Report – Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington; National Academy; 2000.
43. Institute of Medicine. DRI Report – Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington; National Academy; 2001.
44. Foerster SB, Kizer KW, Disogra LK, et al. California's "5 a day-for better health!" campaign: an innovative population-based effort to effect large-scale dietary change. *Am J Prev Med* 1995; 11:124–31.
45. He FJ, Nowson CA, MacGregor GA. Fruit and vegetable consumption and stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Lancet* 2006; 367: 320–26.
46. US Department of Agriculture, US Department of Health and Human Services. MyPyramid.gov: steps to a healthier you. <http://www.mypyramid.gov/> (accessed in February, 2012).
47. Bazzano LA, He J, Ogden L G, et al. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition

- Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:93-99.
48. Dauchet L, Amouye P, Hercberg S, Dallongeville J. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *J Nutr* 2006; 136(10):2588-2593
 49. Joshipura KJ, Hu FB, Manson JE, et al. The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2001;134:1106-1114.
 50. Gillman MW, Cupples LA, Gagnon D, et al. Protective effect of fruits and vegetables on development of stroke in men. *J Am Med Assoc* 1995; 273:1113-1117.
 51. Liu S, Manson JE, Lee I-M, et al. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:922-928.
 52. Reddi AR, Jensen LT, Naranuntarat A, et al. The overlapping roles of manganese and Cu / Zn SOD in oxidative stress protection. *Free Radic Biol Med* 2009; 46(2):154-62.
 53. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004; 25(1):4-7.
 54. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, et al. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer* 2007;121:2381-6.
 55. Leung PS, Chan YC. Role of oxidative stress in pancreatic inflammation. 2009; 11(1):135-65.
 56. Guilder GPV, Hoetzer GL, Greiner JJ, et al. Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. *Obesity* 2006; 14:2127-31.
 57. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, et al. C-Reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286:327-334.
 58. Jacobs DR, Steffen LM. Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. *Am J Clin Nutr* 2003; 78 (suppl):508S-13.
 59. Jessup W, Dean RT, de Whalley CV, et al. The role of oxidative modification and antioxidants in LDL metabolism and atherosclerosis. *Adv Exp Med Biol* 1990; 264:139-42.

60. Farvid MS, Jalali M, Siassi F, Hosseini M. Comparison of the effects of vitamins and/or mineral supplementation on glomerular and tubular dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28:2458–2464.
61. Dunn MF. Zinc-ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer – a review. *Biomaterials* 2005; 18(4):295-303.
62. Chausmer AB. Zinc, insulin and diabetes. *J Am Coll Nutr* 1998; 17(2):109-115.
63. Kirii K, Iso H, Date C, et al. Magnesium intake and risk of self-reported type 2 diabetes among Japanese. *J Am Coll Nutr* 2010; 29(2):99-106.
64. Hopping BN, Erber E, Grandinetti A, et al. Dietary fiber, magnesium, and glycemic load alter risk of type 2 diabetes in a multiethnic cohort in Hawaii. *J Nutr* 2010; 140:68-74.
65. Song Y, Ridker PM, Manson JE, et al. Magnesium intake, C-reactive protein, and the prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and older U.S. women. *Diabetes Care* 2005; 28:1438–1444.
66. Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S. Dietary magnesium intake in relation to plasma insulin levels and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2004; 27:59–65.
67. Ozata M, Mergen M, Oktenli C, et al. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin Biochem* 2002; 35:627-631.
68. Ghayour-Mobarhan M, Taylor A, Lanham-New S, et al. Serum selenium and glutathione peroxidase in patients with obesity and metabolic syndrome. *Pakistan J Nutr* 2008; 1:112-117.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando o objetivo de investigar a possível associação entre hábitos alimentares saudáveis (particularmente com alto conteúdo de FLV) com biomarcadores de risco cardiometabólico, nossos achados permitem afirmar que indivíduos com maiores consumos de vitaminas e minerais – quer analisados isoladamente, quer como parte do grupo alimentar FLV – apresentam melhor perfil cardiometabólico. Essa afirmação baseia-se em nossos achados de uma associação inversa entre a ingestão destes nutrientes e indicadores do estresse oxidativo e resistência à insulina. Embora estes achados possam ser explicados por estarem associados a um “estilo de vida” mais saudável, os resultados permaneceram significativos mesmo após ajustes para atividade física e tabagismo.

É sabido que a baixa ingestão de FLV constitui-se em importante fator de risco modificável. A comunidade científica internacional, apoiadas em estudos longitudinais de base populacional, recomenda consumo mínimo de 5 ou mais porções de FVL por dia. Na mesma linha, nossos dados sugerem que, para fins clínicos, analisar o consumo pelo número de porções de FVL pode fornecer informações razoáveis sobre o estado oxidativo do indivíduo.

Por outro lado, vale ressaltar que, apesar do consumo de porções de FVL parecer estar adequado em nossa amostra, a análise da ingestão específica de vitA, vitC, vitE, Zn e Mg encontraram-se abaixo do internacionalmente recomendado. Mesmo assim, associação entre alguns destes micronutrientes com marcadores de estado oxidativo, inflamatório e sensibilidade à insulina foram encontrados. Porém, inesperadamente encontrou-se associação direta entre a ingestão de Se (mineral relevante para a proteção contra oxidação) e níveis circulantes de LDLox após ajustes. Tal observação já havia sido relatada apenas em indivíduos obesos.

Em conclusão, a ingestão de FLV e/ou certas vitaminas e minerais, mesmo que o consumo esteja abaixo nos níveis recomendados, podem ser úteis para identificar o estresse e resistência à insulina. Porém, estudos sobre o consumo de alimentos ricos em vitaminas e minerais específicos, baseados em biomarcadores mais acurados e em amostras de maior porte, e de delineamento longitudinal são necessários para aprofundar

a investigação destas associações.

De qualquer modo, o presente achado relativo ao consumo de FLV associado à melhor perfil cardiometabólico – caracterizado por menor adiposidade corporal e estado oxidativo – reforça o papel protetor deste hábito contra doenças cardiometabólicas. Este estudo levanta questionamento sobre a orientação internacional de consumo mínimo de cinco porções ao dia de FLV, quantidade que parece insuficiente para satisfazer as DRIs. Dessa forma, aponta-se a necessidade de revisões contínuas destas recomendações dietéticas – baseadas em evidências – para promoção da saúde das populações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADA – American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20:1183-97.
- Alberti G, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome: a world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; 23:469-80.
- Araki E, Nishikawa T. Oxidative stress: a cause and therapeutic target of diabetic complications. *J Diabetes Invest* 2010; 1(3):90-6.
- Barnes PJ. Nuclear factor- κ B. *Int J Biochem Cell Biol* 1997; 29(6):867-70.
- Batista Filho M, Rissin A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. *Cad Saúde Pública* 2003; 19(1Sup):S181-91.
- Bazzano LA, Li TY, Joshipura KJ, Hu FB. Intake of fruit, vegetables, and fruit juices and risk of diabetes in women. *Diabetes Care* 2008; 31(7):1311-7.
- Bazzano LA, He J, Ogden LG, Loria CM, Vupputuri S, Myers L, et al. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:93-9.
- Biesalski HK. Diabetes preventive components in the Mediterranean diet. *Eur J Nutr.* 2004; 43(1Sup):I/26-30.
- Bleil SI. O padrão alimentar ocidental: considerações sobre a mudança de hábitos no Brasil. *Cad Deb* 1998; VI:1-25.
- Borst SE. The role of TNF-alpha in insulin resistance. *Endocrine* 2004; 23:177-82.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 236p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- Brenneisen P, Steinbrenner H, Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects.

- Mol Aspects Med 2005; 26:256-67.
- Burk RF, Levander OA. Selênio. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. Nutrição moderna na saúde e na doença. 2^a ed. São Paulo: Manole, 2009, p. 336-50.
- Burk RF. Selenium, an antioxidant nutrient. Nutr Clin Care 2002; 5(2):75-9.
- Carter P, Gray LJ, Troughton J, Khunti K, Davies MJ. Fruit and vegetable intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. BMJ 2010; 341:c4229.
- Chambers JC, Eda S, Bassett P, Karim Y, Thompson SG, Gallimore JR, et al. C-reactive protein, insulin resistance, central obesity, and coronary heart disease risk in Indian Asians from the United Kingdom compared with European Whites. Circulation 2001; 104:145-50.
- Chausmer AB. Zinc, insulin and diabetes. J Am Coll Nutr 1998; 17(2):109-115.
- Chopra M, Galbraith S, Darnton-Hill I. A global response to a global problem: the epidemic of overnutrition. Bull World Health Organ 2002; 80(12):952-8.
- Cominetti C, Garrido Jr AB, Cozzolino SMF. Zinc nutritional status of morbidly obese patients before and after Roux-en-Y gastric bypass - A preliminary report. Obesity Surgery, Toronto - Canadá, 2006; 16(4):448-53.
- Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals and antioxidants. Nutrition 1996; 12:274-7.
- Coudray C, Roussel AM, Arnaud J, Favier A, EVA. Selenium and antioxidant vitamin and lipoperoxidation levels in preaging French population. Bio Tr Elem Res 1997; 57:183-90.
- Cozzolino SMF. Deficiências de minerais. Est Avançados 2007; 60:119-26.
- Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International Physical Activity Questionnaire: 12-country reliability and validity. Med Sci Sports Exerc 2003; 35(8):1381-95.
- Dai J, Jones DP, Goldberg J, Ziegler TR, Bostick RM, Wilson PW, et al. Association

- between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am J Clin Nutr* 2008; 88:1364-70.
- Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004; 25(1):4-7.
- Dauchet L, Amouye P, Hercberg S, Dallongeville J. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *J Nutr* 2006; 136(10):2588-93
- Duarte M, Moresco RN, Bem AF. Metodologias para a determinação da LDL-oxidada e sua aplicação como marcador de risco cardiovascular. *Rev Bras Anal Clin* 2008; 40(2): 101-6.
- Dunn MF. Zinc-ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer – a review. *Biometals* 2005; 18(4):295-303.
- Erkkilä AT, Lichtenstein AH. Fiber and cardiovascular disease risk: how strong is the evidence? *J Cardiovas Nurs* 2006; 21:3-8.
- Esposito K, Ceriello A, Giugliano D. Diet and the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* 2007; 5(4):291-6.
- Esposito K, Giugliano D. Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 2006; 27:15-20.
- Esposito K, Palo C, Giugliano F, Giugliano G, Armiento MD, Andrea FD. Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and in the metabolic syndrome. *JAMA* 2004; 292:1440-1446.
- Evans JL, Madduz BA, Goldfine ID. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7(7-8):1040-52.
- Fain JN. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm* 2006; 74:433-77.
- Faure P, Barclay D, Joyeux-Faure M, Halimi S. Comparison of the effects of zinc alone and zinc associated with selenium and vitamin E on insulin sensitivity and

- oxidative stress in high-fructose-fed rats. *J Trace Elem Med Biol* 2007; 21:113-9.
- Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer* 2007; 121:2381-6.
- Ferder L, Inserra F, Martínez-Maldonado M. Inflammation and the metabolic syndrome: role of angiotensin II and oxidative stress. *Curr Hypertens Rep.* 2006; 8(3):191-198.
- Fett CA, Fett WCR, Marchini JS, Ribeiro RPP. Estilo de vida e fatores de risco associados ao aumento da gordura corporal de mulheres. *Ciênc Saúde Coletiva* 2010; 15(1):131-140.
- Fisberg RM, Villar BS. Manual de receitas e medidas caseiras para cálculos de inquéritos alimentares. São Paulo: Signus; 2002.
- Fitó M, Guxens M, Corella D, Sáez G, Estruch R, de la Torre R, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation. *Arch Intern Med* 2007; 167(11):1195-1203.
- Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations – findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes* 2003; 52:2346-2352.
- Ford ES, Mokdad AH. Dietary magnesium intake in a national sample of US adults. *J Nutr* 2003; 133(9):2879-2882.
- Foster-Powell K, Holt SH, Brand-Miller JC. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am J Clin Nutr* 2002;76:5–56.
- Gelaye B, Revilla L, Lopez T, Suarez L, Sanchez SE, Hevner K, et al. Association between insulin resistance and C-reactive protein among Peruvian adults. *Diabetol Metab Syndr* 2010; 2(1):30.
- Ghayour-Mobarhan M, Taylor A, Lanham-New S, Lamb DJ, Nezhad MA, Kazemi-Bajestani SMR, et al. Serum selenium and glutathione peroxidase in patients with obesity and metabolic syndrome. *J Nutr* 2008; 7(1):112-117.
- Glustarini D, Dalle-Donne I, Tsikas D, Rossi R. Oxidative stress and human diseases:

- Origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009; 46(5-6): 241-281.
- Gottlieb MG, Schwanke CH, Bodanese LC, Cruz IB. Status antioxidante, diabetes mellitus II e aterosclerose. *Rev Saúde Pesquisa* 2009; 2(1):99-106.
- Grattagliano I, Palmieri VO, Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G. Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. *J Nutr Biochem* 2008; 19:491-504.
- Guilder GP, Hoetzer GL, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. *Obesity* 2006; 14:2127-131.
- Hamdy O, Porramatikul S, Al-Ozairi E. Metabolic obesity: the paradox between visceral and subcutaneous fat. *Curr Diabetes Rev* 2006; 2:367-373.
- Hamilton SJ, Chew GT, Watts GF. Therapeutic regulation of endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4:89-102.
- He FJ, Nowson CA, MacGregor GA. Fruit and vegetable consumption and stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Lancet* 2006; 367:320-326.
- Heyland DK, Suchner U. Antioxidant nutrients: a systematic review of trace elements and vitamins in the critically ill patient. *Crit Care Med* 2005; 31:327-337.
- Holt EM, Steffen LM, Moran A, Basu S, Steinberger J, Ross JA, et al. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *J Am Diet Assoc* 2009; 109:414-421.
- Hopping BN, Erber E, Grandinetti A, Verheus M, Kolonel LN. Dietary fiber, magnesium, and glycemic load alter risk of type 2 diabetes in a multiethnic cohort in Hawaii. *J Nutr* 2010; 140:68-74.
- Hughes KJ, Mayne ST, Blumberg JB, Ribaya-Mercado JD, Johnson EJ, Cartmel BL. Plasma carotenoids and biomarkers of oxidative stress in patients with prior head and neck cancer. *Biom Ins* 2009; 4:17-26.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos

- familiares 2008-2009: aquisição alimentar domiciliar per capita. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010.
- Institute of Medicine. DRI Report – Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington; National Academy; 1997.
- Institute of Medicine. DRI Report – Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington; National Academy; 2011.
- Institute of Medicine. DRI Report – Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington; National Academy; 2000.
- Institute of Medicine. DRI Report – Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington; National Academy; 2001.
- Jacob RA, Aiello GM, Stephensen CB, Blumberg JB, Milbury PE, Wallock LM, et al. Moderate antioxidant supplementation has no effect on biomarkers of oxidant damage in health men with low fruit and vegetable intakes. *J Nutr* 2003; 133:740-743.
- Jansen J, Karges W, Rink L. Zinc and diabetes - clinical links and molecular mechanisms. *J Nutr Biochem* 2009; 20(6):399-417.
- Juge-Aubry CE, Henrichot E, Meier CA. Adipose tissue: a regulator of inflammation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19:547-66.
- Keaney Jr JF, Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:434–439.
- King JC, Cousins RJ. Zinco. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. *Nutrição moderna na saúde e na doença*. 2. ed. São Paulo: Manole, 2009, p. 292-307.
- Kirii K, Iso H, Date C, Fukui M, Tamakoshi A. Magnesium intake and risk of self-reported type 2 diabetes among Japanese. *J Am Coll Nutr* 2010; 29(2):99-106.

- Lehr HA, Weyrich AS, Saetzler RK, Jurek A, Arfors KE, Zimmerman GA, et al. Vitamin C blocks inflammatory platelet-activating factor mimetics created by cigarette smoking. *J Clin Invest* 1997; 99:2358-2364.
- Lenz A, Olinto MTA, Dias-da-Costa JS, Alves AL, Balbinotti M, Pattussi MP, et al. Socioeconomic, demographic and lifestyle factors associated with dietary patterns of women living in Southern Brazil. *Cad Saúde Pública* 2009; 25:1297-1306.
- Leung PS, Chan YC. Role of oxidative stress in pancreatic inflammation. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11(1):135-165.
- Levine M, Katz A, Padayatty. Vitmaina C. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. *Nutrição moderna na saúde e na doença*. 2a ed. São Paulo: Manole, 2009, p. 543-561.
- Levy-Costa RB, Sichieri R, Pontes NS, Monteiro CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). *Rev Saúde Pública* 2005; 39(4):530-540.
- Lindgarde F, Ercilla MB, Correa LR, Ahren B. Body adiposity, insulin, and leptin in subgroups of Peruvian Amerindians. *High Alt Med Biol* 2004; 5:27-31.
- Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric standartization reference manual*. Champaign: Editors, 1988.
- Lopez-Ridaura R, Willett WC, Rimm EB, Liu S, Stampfer MJ, Manson JE, et al. Magnesium intake and risk of type 2 diabetes in men and women. *Diabetes Care* 2004; 27:134-140.
- Mafra D, Cozzolino SMF. Importância do Zinco na nutrição humana: recentes observações. *Rev Nutr* 2004; 17(1):79-87.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins III JB. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17: 24-38.
- Matthews DL, Hagelstein PL, Rosen MD, Eckart MJ, Ceglio NM, Hazi AU, et al. Demonstration of a soft X-ray amplifier. *Phys Rev Lett* 1984; 54:110-113.

- May JM, de Haen C. Insulin-stimulated intracellular hydrogen peroxide production in rat epididymal fat cells. *J Biol Chem* 1979; 254:2214-2220.
- Mikkila V, Rasanen L, Raitakari OT, Marniemi J, Pietinen P, Ronnema T, et al. Major dietary patterns and cardiovascular risk factors from childhood to adulthood. The cardiovascular risk in young Finns study. *Br J Nutr* 2007; 98(1):218-225.
- Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth PP. The role of oxidative stress and NF-kB activation in late diabetic complications. *Biofactors* 1999; 10(2-3):157-167.
- Monaghan P, Metcalfe NB, Torres R. Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecol Lett* 2009; 12:75-92.
- NCC - Nutrition Coordinating Center. Nutrition Data System, 2005.
- Neumann AICP, Martins IS, Marcopito LF, Araújo EAC. Padrões alimentares associados a fatores de risco para doenças cardiovasculares entre residentes de um município brasileiro. *Rev Panam Salud Pública* 2007; 22:329-339.
- Nieto-Vazquez I, Fernandez Veleto S, Kramer DK, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L, Lorenzo M. Insulin resistance associates to obesity: the link TNF-alpha. *Arc Physiol Biochem* 2008; 114(3):183-194.
- Njajou OT, Holvoet P, Connelly S, Strotmeyer ES, Harris TB, Cummings SR. Association between oxidized LDL, obesity and type 2 diabetes in a population-based cohort, the Health, Aging and Body Composition Study. *Diabetes Metab Res Rev* 2009; 25:733-739.
- Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26:1159-1164.
- Park K, Gross M, Lee D, Holvoet P, Himes JH, Shikany JM. Oxidative Stress and Insulin Resistance. *Diabetes Care* 2009; 32:1302-1307.
- Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo em medidas caseiras. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001.

- Pryor WA. Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med* 2000; 28:141–164.
- Rajala MW, Scherer PE. Minireview: the adipocyte – at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003; 144:3765-3773.
- Rallidis LS, Lekakis J, Kolomvotsou A, Zampelas A, Vamvakou G, Efstathiou S, et al. Close adherence to a Mediterranean diet improves endothelial function in subjects with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr* 2009; 90:263-268.
- Rector RS, Warner SO, Liu Y, Hinton PS, Sun GY, Cox RH, et al. Exercise and diet induced weight loss improves measures of oxidative stress and insulin sensitivity in adults with characteristics of the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293:E500–6.
- Ridker PM. C-reactive protein and the prediction of cardiovascular events among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:2129-2138.
- Ritchie SA, Connell JM. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17:319-326.
- Roberts CK, Barnard RJ. Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol* 2005; 98:3-30.
- Ross AC. Vitamina A e carotenóides. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. *Nutrição moderna na saúde e na doença*. 2a ed. São Paulo: Manole, 2009, p. 378-404.
- Sahin K, Sahin N, Kucuk O, Hayirli A, Prasad AS. Review role of dietary zinc in heat-stressed poultry: a review. *Poult Sci* 1995; 88:2176-83.
- Sánchez-Moreno C, Cano MP, de Ancos B, Plaza L, Olmedilla B, Granado F, et al. Consumption of high-pressurized vegetable soup increases plasma vitamin C and decreases oxidative stress and inflammatory biomarkers in healthy humans. *J Nutr* 2004; 134:3021–5.

- Sartorelli DS, Franco LJ. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: o papel da transição nutricional. *Cad. Saúde Pública* 2003; 19(Sup1):29-36.
- Sellappan S, Akoh CC, Krewer G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J Agric Food Chem* 2002; 50(8): 2432-2438.
- Sluijs I, Beulens JWJ, Grobbee DE, Van Der Schouw YT. Dietary carotenoid intake is associated with lower prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and elderly men. *J Nutr* 2009; 139:987-992.
- Song V, Manson JE, Buring JE, Liu S. Dietary magnesium intake in relation to plasma insulin levels and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2003; 27:59-65.
- Song Y, Lenard SW, Traber M, Ho E. Zinc deficiency affects DNA damage, oxidative stress, antioxidant defenses, and DNA repairs in rats. *J Nutr* 2009; 139:1626-1631.
- Thompson FE, Subar AF. Dietary assessment methodology. In: Coulson AM, Rock CL, Monsen ER, eds. *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease*. San Diego, CA: Academic Press, 2001, p. 3-30.
- Tomita LY, Cardoso MA. *Relação de medidas caseiras, composição química e receitas de alimentos nipo-brasileiros*. São José do Rio Preto: Gráfica da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, 2000.
- Tortosa A, Bes-Rastrollo M, Sanchez-Villegas A, Basterra-Gortari FJ, Nunez-Cordoba JM, Martinez-Gonzalez MA. Mediterranean diet inversely associated with the incidence of metabolic syndrome: the SUN prospective cohort. *Diabetes Care* 2007; 30(11):2957-2959.
- Traber MG. Vitamina E. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. *Nutrição moderna na saúde e na doença*. 2. ed. São Paulo: Manole, 2009, p. 426-442.

- Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344:1343–1350.
- Ueba T, Nomura S, Nishikawa T, Kajiwara M, Yamashita K. Circulating oxidized LDL, measured with FOH1a/DLH3 antibody, is associated with metabolic syndrome and the coronary heart disease risk score in healthy Japanese. *Arteriosclerosis* 2009; 203: 243-248.
- UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas. Núcleo de Estudo e Pesquisa em Alimentos. Tabela brasileira de composição de alimentos [versão 2]. 2ª ed. Campinas: Unicamp, 2006.
- Van der Vliet A, Bast A. Effect of oxidative stress on receptors and signal transduction. *Chem Biol Interact* 1992; 85:95-116.
- Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes* 2006; 30:400-18.
- Wang Y, Russo TA, Kwon O, Chanock S, Rumsey SC, Levine M. Ascorbate recycling in human neutrophils: Induction by bacteria. *PNAS* 1997; 94(25):13816-9.
- WHO – World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry, 1995. [WHO technical report series; 854].
- WHO – World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Geneva: World Health Organization, 1999 [WHO/NCD/NCS 99.2].
- WHO – World Health Organization. Arterial hypertension. Technical reports, 628, 1978.
- WHO – World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Geneva: World Health Organization, 2003 [WHO technical report series 916].
- WHO – World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health. Geneva: World Health Organization, 2004. [57a World Health Assembly WHA 57.17].

- WHO –World Health Organization.Reducing risks, promoting healthy life.Geneva:
World Health Organization, 2002 [The world health report 2002].
- Willet WC. Overview and perspective in human nutrition. Asia Pac J Clin Nutr 2008;
17(S1):1-4.
- Willett WC. Diet and Health: What should we eat. Science 1994; 22:532-537.
- Willett WC. The Mediterranean diet: science and practice. Publ Health Nutr 2006;
9:105-110.
- Zemel MB, Sun X. Dietary calcium and dairy products modulate oxidative and
inflammatory stress in mice and humans. J Nutr 2008; 138:1047-1052.

Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (OF. COEP/358/10)

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP
Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo

OF.COEP/358/10

10 de novembro de 2010

Prezadas pesquisadora e orientadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - COEP analisou, em sua 9ª/10 Sessão Ordinária, realizada em 05/11/2010, de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde - CNS e suas complementares, o protocolo de pesquisa n.º 2148, intitulada "RELAÇÃO ENTRE O CONSUMO DE NUTRIENTES ANTIOXIDANTES COM MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO, DEFESA ANTIOXIDANTE E MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍDUOS DE RISCO CARDIOMETABÓLICO" área temática GRUPO III, sob responsabilidade da pesquisadora Luciana Dias Folchetti e orientação da Professora Sandra Roberta Gouveia Ferreira Vivaldo, considerando-o **APROVADO**.

Cabe lembrar que, conforme a Resolução CNS 196/96, são deveres ético-pesquisadorais:

1. Comunicar de imediato qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste Comitê de Ética em Pesquisa para dar continuidade à pesquisa;
2. Manter sob sua guarda e em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo COEP, no caso eventual auditoria;
3. Comunicar formalmente a este Comitê quando houver o encerramento da pesquisa;
4. Laborar e apresentar relatórios parciais e finais;
5. Justificar perante o COEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Claudio Leone
 Professor Titular
 Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - FSP/USP

Ilm.ª Sr.ª
 Prof.ª Tit. Sandra Roberta Gouveia Ferreira Vivaldo
 Departamento de Nutrição
 Faculdade de Saúde Pública da USP

Av. Dr. Arnaldo, 715 - Cerqueira César - CEP 01246-904 - São Paulo - SP
 Contatos: (55 - 11) 3061.7779 | coep@fsp.usp.br | www.fsp.usp.br

Anexo 2: Termo de consentimento livre e esclarecido

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

1. Dados de Identificação

Nome do Paciente:

Documento de Identidade Nº :..... Sexo: () M () F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:..... Nº:..... Apto:.....

Bairro:..... Cidade:.....

CEP:..... Telefone:.....

II – DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Protocolo de Pesquisa:

Efeito de intervenção multiprofissional não-farmacológica no consumo alimentar e perfil metabólico de indivíduos de alto risco para diabetes mellitus tipo 2

1. Avaliação de Risco da Pesquisa:

Os procedimentos da pesquisa apresentam risco mínimo de ocorrência de algum dano imediato ou tardio para o participante. Incluem preenchimento de questionário, medidas antropométricas (peso, altura, circunferência de cintura e bioimpedância elétrica) e coleta de 20 ml de sangue venoso em jejum. Raramente, a punção venosa pode provocar pequeno hematoma (manchas roxas) no local da punção, que, em geral, desaparecem após 3 a 5 dias. Os materiais serão todos descartáveis e a coleta será realizada no Centro de Saúde Paula Souza (CSPS), localizado nas dependências da Faculdade de Saúde Pública, em dia e hora pré-agendados com os participantes do estudo. Para a coleta de sangue serão necessárias 8 horas de jejum.

Paralelamente, o participante passará por uma consulta médica, na qual será submetido a exame físico e medida de pressão arterial.

A partir deste momento e por um período aproximado de 9 meses, os participantes do estudo receberão intervenção não-medicamentosa, baseada em nutrição saudável e estímulo à prática de atividade física. Serão realizadas consultas médicas trimestralmente. Os gastos relativos ao transporte do paciente para o CSPS serão custeados integralmente pelos pesquisadores.

Ao término do estudo, uma nova coleta de sangue e um teste oral de tolerância à glicose serão agendados. Este teste compreende, além da coleta de sangue em jejum, a ingestão de um líquido contendo açúcar (75 g de glicose) e uma nova coleta de sangue após 2h. Será realizado no laboratório do CSPS por profissional de enfermagem, com material descartável e pode trazer leve desconforto gástrico para o participante, que melhora espontaneamente após a interrupção do jejum.

2. Duração da Pesquisa: 9 (nove) meses

III – REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO SUJEITO DA PESQUISA OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

O **objetivo** da pesquisa é avaliar o impacto de mudanças no estilo de vida na ocorrência de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) em indivíduos de risco para esta condição. O DM2 afeta significativamente a qualidade de vida da nossa população e preveni-lo pode ser de grande valia para a saúde do indivíduo.

Antes de tomar uma decisão sobre sua participação neste estudo, é importante que leia e compreenda as explicações dos procedimentos propostos abaixo. Este termo de consentimento livre e esclarecido descreve a finalidade, os procedimentos, os benefícios, riscos, desconfortos e advertências deste estudo.

Sua participação inclui:

- a) Responder questionário sobre saúde e ingestão alimentar;
- b) Realizar bioimpedância elétrica. Este exame não causa dor ou qualquer desconforto, e necessita preparo de fácil execução (ingestão de 8 copos de água durante o dia que antecede o exame, não ingerir alimentos à base de cafeína ou bebida alcoólica e não exercitar-se na véspera do exame). A duração média é de 5 minutos.
- c) Permitir a coleta de 20 ml de sangue por punção venosa, para avaliação da glicemia de jejum e dos lípidos.
- d) Participar de uma etapa de intervenção com duração de 9 meses, período no qual consultas serão oferecidas para estimular a adoção de um modo de vida mais saudável.
- e) Submeter-se a nova avaliação de saúde, semelhante à realizada no início do estudo, acrescentando-se um teste oral de tolerância à glicose. Este compreende a coleta de sangue em jejum seguida da ingestão de um líquido contendo 75 gramas de açúcar e, após 2 horas de espera, uma nova coleta de sangue para dosagem da glicemia pós-sobrecarga, necessária para saber se houve diminuição ou não no risco de diabetes ou se a doença já se encontra estabelecida. Após a coleta de sangue será oferecido lanche.

IV – ESCLARECIMENTOS DOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

Se tiver qualquer dúvida ou pergunta relativa ao estudo, entre em **contato** com a Profa. Dra. Sandra Roberta Gouvea Ferreira, pelo telefone 3061-7870.

Não haverá **riscos** para a integridade física, mental ou moral da sua pessoa.

Todas as informações prestadas nesta entrevista serão de caráter confidencial e utilizadas somente para fins científicos descritos no protocolo desta pesquisa, sem qualquer identificação pessoal. Esclarecemos que o seu consentimento está sendo pedido para a participação neste estudo, não sendo extensível a nenhum outro projeto de pesquisa. É garantida e respeitada a **privacidade** na divulgação dos resultados da pesquisa, e não haverá, de forma alguma, a sua identificação.

Qualquer provável benefício do estudo para o bem estar da população depende da exatidão de suas respostas. Portanto, se o Sr(a) não entender alguma das questões, por favor, solicite os

esclarecimentos que julgar necessários. Também estaremos à disposição para informá-lo(a) sobre os procedimentos, riscos e benefícios decorrentes da pesquisa, ou qualquer outra dúvida sobre o estudo.

É garantido o **direito de desistir** a qualquer momento da participação nesta pesquisa, sem prejuízo algum para você. O(A) sr(a) tem a liberdade de não participar do estudo, ou retirar seu consentimento a qualquer momento.

V – INFORMAÇÕES PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS
--

Você poderá entrar em contato em qualquer momento com a Dra. Sandra Roberta Gouvea Ferreira e com a nutricionista Camila Risso de Barros.

Telefones: 3061-7870 ou pelo e-mail: sandrafv@usp.br

Ou com o Comitê de Ética em Pesquisa – COEP/FSP

Telefones: 3061-7779 ou 3061-7742 e-mail: coep@fsp.usp.br

Endereço: Av. Dr. Arnaldo, nº 715

Bairro: Cerqueira César Cidade: São Paulo CEP: 01246-904

VI – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do sujeito de pesquisa

Assinatura do pesquisador (carimbo ou nome legível)

Anexo 3: Recordatório alimentar de 24 horas

Nome: _____ Tel.: () _____

Recordatório de 24h N°: _____ Data da entrevista: ____/____/____ Dia da semana: _____

HORÁRIO E LOCAL	ALIMENTOS / PREPARAÇÕES	QUANTIDADE (MEDIDA CASEIRA)	OBSERVAÇÕES

Forma de aplicação do inquérito: () Pessoalmente () Por telefone

Entrevistador: _____ Tempo de entrevista (minutos): _____

Luciana Dias Folchetti

Possui graduação em nutrição pela Universidade de São Paulo (2008). Atualmente é estudante da ETEC de São Paulo e mestranda da Faculdade de Saúde Pública, atuando principalmente nos seguintes temas: risco cardiometabólico, consumo alimentar, inflamação, resistência à insulina e estilo de vida.

(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 28/05/2012

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/9794864805973670>

**Certificado
pelo autor em
28/05/12**

SciELO - artigos em texto
[completo](#)

Dados pessoais

Nome Luciana Dias Folchetti

Nome em citações bibliográficas FOLCHETTI, L. D.; Folchetti, Luciana D.

Sexo Feminino

Endereço profissional Faculdade de Saúde Pública.
Av. Dr. Arnaldo, 715
Cerqueira Cesar
01246-904 - São Paulo, SP - Brasil

Formação acadêmica/Titulação

- 2010** Mestrado em andamento em Nutrição em Saúde Pública .
Faculdade de Saúde Pública.
Título: Relação entre estado pro-oxidante e resposta a intervenção não-farmacológica., *Orientador:* Sandra Roberta Gouveia Ferreira Vivolo.
Palavras-chave: antioxidantes; diabetes mellitus; estresse oxidativo; Qualidade de vida; risco cardiometabólico.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Nutrição.
Sectores de atividade: Atividades de atenção à saúde humana.
- 2003 - 2008** Graduação em nutrição .
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
- 2011** Curso técnico/profissionalizante em andamento .
Escola Técnica de São Paulo.

Formação complementar

- 2008 - 2008** Curso de Nutrição em Pediatria I. (Carga horária: 8h).
Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do HCFMRP.

Atuação profissional

Bom Prato Ribeirão Preto.

Vínculo institucional

- 2008 - 2008** Vínculo: Estagiária Nutrição, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Outras informações Estágio curricular de Administração em Unidades de Alimentação.

Espaço Saúde - Ribeirão Preto.

Vínculo institucional

- 2008 - 2008** Vínculo: Estagiária Nutrição, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 30

Outras informações Estágio curricular de Marketing e Experimentos Alimentos.

Hospital do Servidor Público Estadual.

Vínculo institucional

Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1C

Possui graduação em Medicina pela Pontifícia Universidade Católica de Campinas (1981), mestrado em Medicina (Endocrinologia Clínica) pela Universidade Federal de São Paulo (1986) e doutorado em Medicina (Endocrinologia Clínica) pela Universidade Federal de São Paulo (1988). Possui bolsa de Produtividade em Pesquisa desde 1990, atualmente nível 1-C. Consultora médica e científica da Associação de Diabetes Juvenil. Consultora ad hoc do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, consultora ad hoc da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, coordenadora do departamento de Epidemiologia Sociedade Brasileira de Diabetes e do Centro de Referência para Prevenção e Controle de Doenças Associadas à Nutrição da FSP-USP. Exerce o cargo de Professor Titular da Universidade de São Paulo, junto à Faculdade de Saúde Pública, desde 2006 e de Chefe do Departamento de Nutrição da mesma Faculdade (12/2008 a 12/2010). Parecerista de: Revista da Associação Médica Brasileira, Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Cadernos de Saúde Pública (FIOCRUZ), Revista de Saúde Pública / Journal of Public Health, Revista Brasileira de Epidemiologia, NMCD - Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases, Public Health Nutrition (Wallingford) e BMC Public Health Research. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Medicina, atuando principalmente nos seguintes temas: diabetes mellitus, nipo-brasileiros, diabetes, hipertensão arterial e obesidade.

(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 30/04/2012

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/6633883139386818>

**Certificado
pelo autor em
30/04/12**

[Rede de Colaboração](#)

[Diretório de grupos de pesquisa](#)

[SciELO - artigos em texto completo](#)

Dados pessoais

Nome	Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo
Nome em citações bibliográficas	FERREIRA, S. R. G.; Ferreira, Sandra R.; Ferreira, Sandra; Ferreira, Sandra R.G.; Ferreira, Sandra Roberta G.; Ferreira Vivolo, SRG
Sexo	Feminino
Endereço profissional	Universidade de São Paulo. Avenida Dr. Arnaldo, 715 Paraíso 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617705 Ramal: 218 Fax: (11) 30616601

Formação acadêmica/Titulação

- 1997** Livre-docência.
Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
Título: Hipertensão Arterial em Nipo-Brasileiros de 1a. e 2a. Gerações: Prevalência e sua Relação com a Síndrome de Resistência à Insulina., *Ano de obtenção:* 1997.
Palavras-chave: Hipertensão Arterial; Síndrome de Resistência à Insulina; Nipo-brasileiros.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina / *Subárea:* Clínica Médica.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Saúde Coletiva / *Subárea:* Epidemiologia.
Setores de atividade: Saúde Humana; Cuidado À Saúde das Populações Humanas; Cuidado À Saúde das Pessoas.
- 1988 - 1989** Pós-Doutorado .
University of London.
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico ,CNPq ,Brasil .
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina / *Subárea:* Clínica Médica.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina / *Subárea:* Clínica Médica / *Especialidade:* Endocrinologia.
- 1986 - 1988** Doutorado em Medicina (Endocrinologia Clínica) (Conceito CAPES 6) .
Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
Título: BLOQUEIO DOPAMINERGICO PERIFERICO COM DOMPERIDONE NO TRATAMENTO DA HIPOTENSÃO ORTOSTÁTICA DA NEUROPATIA DIABÉTICA., *Ano de Obtenção:* 1988.
Orientador: MARIA TEREZA ZANELLA.
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico ,CNPq ,Brasil .
Palavras-chave: Diabetes Mellitus; Neuropatia autonômica diabética; Bloqueio Dopaminérgico;; Hipotensão Ortostática..
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina / *Subárea:* Clínica Médica.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Medicina / *Subárea:* Clínica Médica / *Especialidade:* Endocrinologia.
Setores de atividade: Saúde Humana; Cuidado À Saúde das Pessoas.