UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FCF / FEA / FSP

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Nutrição Humana Aplicada

PRONUT

Bruna Zavarize Reis

Estado nutricional relativo ao zinco de crianças e sua relação com a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4)

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Maria Franciscato
Cozzolino

São Paulo
2014

Bruna Zavarize Reis

Estado nutricional relativo ao zinco de crianças e sua relação com a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4)

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Maria Franciscato
Cozzolino

São Paulo
2014

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Reis, Bruna Zavarize
R375e Estado nutricional relativo ao zinco de crianças e sua relação
com a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1
(SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4) / Bruna Zavarize Reis. -- São
Paulo, 2014.
100p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da USP. Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade
da USP. Faculdade de Saúde Pública da USP. Curso Interunidades
em Nutrição Humana Aplicada.

Orientador: Cozzolino, Silvia Maria Franciscato

1. Nutrição : Avaliação nutricional : Ciência dos alimentos
2. Zinco 3. Crianças em idade pré-escolar I. T. II. Cozzolino, Silvia
Maria Franciscato, orientador.

641.1 CDD

Bruna Zavarize Reis

Estado nutricional relativo ao zinco de crianças e sua relação com a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4)

Comissão Julgadora da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Silvia Maria Franciscato Cozzolino
orientadora/presidente

1º Examinador

2º Examinador

São Paulo, ____ de _____ de 2014.

Dedico este trabalho aos meus pais, Fernando e Terezinha, e aos meus irmãos, Thiago e Fernanda. Vocês são os alicerces da minha vida, meus maiores exemplos de força, união e perseverança.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força nos momentos de fraqueza e por não deixar as angústias da vida abalarem a minha fé.

À minha orientadora, Professora Dra. Silvia M. F. Cozzolino, que me acolheu e possibilitou a realização de um sonho. Obrigada por acreditar em mim e permitir que eu espalhe suas sementes em novos lugares.

À Professora Dra. Raquel Simões Mendes-Netto, pelo incentivo à pesquisa desde a minha graduação, pela a sabedoria compartilhada e pela força em todos os momentos difíceis.

A todas as professoras e funcionárias do Núcleo de Nutrição da Universidade Federal de Sergipe (NUNUT-UFS), em especial às Professoras Danielle Góes e Elma Wartha, pelo carinho e colaboração com este trabalho.

À Professora Dra. Roberta Pereira Miranda, do Departamento de Fisiologia da UFS, pela confiança depositada ao ceder o seu laboratório para o processamento do material biológico durante a coleta de dados.

À Diva Aliete, um agradecimento especial por participar de TODAS as etapas desse trabalho, desde a escrita do projeto de qualificação até a coleta e análise dos dados. Sua ajuda foi imprescindível para que esse projeto fosse concluído.

À Dra. Liliane Pires, a sempre sorridente Lili, por me proporcionar tanto aprendizado, não só de laboratório, mas de vida. Sempre humilde, paciente e atenciosa, pronta para ajudar quem precisar. Esse trabalho teve a sua participação desde o primeiro parágrafo até a primeira análise.

À Dayanne da Costa, por toda ajuda e força durante a coleta de dados e pelo companheirismo de sempre.

A Marcos Danillo, por todo o apoio durante a finalização desse trabalho, por me transmitir força, perseverança e tranquilidade.

Às amigas que o Laboratório de Nutrição-minerais me proporcionou: Isabela Saraiva, Ariana Rocha, Graziela Biude, Larissa Bezerra, Kaluce Almondes, Luciane Alencar, Leila Hashimoto, Verônica Bandeira, Janaína Lombello, Bárbara Cardoso e Kátia Callou. Obrigada pela ajuda, pelos ensinamentos, pelas conversas científicas e, principalmente, pela amizade! Vocês tornaram a rotina de trabalho muito mais divertida e fizeram dos meus dias no laboratório um aprendizado constante e prazeroso.

Ao técnico Alexandre Pimentel, pelos ensinamentos e pela ajuda durante as análises desse trabalho.

Aos colegas do Bloco 14, que estão sempre dispostos a ajudar, compartilhando conhecimentos, desesperos e, acima de tudo, alegrias!

Aos funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Edilson, Roberta, Cleonice, Mônica e Lurdinha, pela atenção e carinho de sempre.

À Coordenação das creches que participaram desse estudo, pelo apoio e carinho dedicados a mim durante a coleta.

Aos pais, que confiaram neste trabalho e permitiram que seus filhos participassem, contribuindo da melhor forma possível para a execução deste.

À CAPES pela bolsa de mestrado.

À FAPESP pelo financiamento do projeto de pesquisa (processo número 2012/24762-4).

RESUMO

REIS, B.Z. **Estado nutricional relativo ao zinco de crianças e sua relação com a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4).** 2014. 100f. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

A deficiência de zinco é considerada uma das deficiências nutricionais de maior importância epidemiológica, com grandes repercussões no contexto da saúde pública em todo o mundo. Avanços metodológicos na avaliação de aspectos moleculares constituem uma nova ferramenta para a investigação do estado nutricional dos indivíduos relativo ao zinco, por meio da avaliação da expressão gênica das proteínas transportadoras, destacando-se o ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4), envolvidos com a manutenção da homeostase corporal do mineral. O objetivo desse trabalho foi avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de crianças e sua relação com a expressão gênica destes transportadores. Para isso foram avaliadas 139 crianças com idade entre 32 e 76 meses matriculadas em creches da cidade de Aracaju, Sergipe. De acordo com a avaliação antropométrica, apenas 3,6% das crianças apresentaram déficit de estatura para idade e peso para idade, enquanto 27,3% delas apresentaram sobrepeso e obesidade. A deficiência de zinco plasmático foi observada em 26,6% das crianças, enquanto no eritrócito 99,3% delas encontravam-se abaixo do ponto de corte estabelecido. A análise da expressão gênica das proteínas transportadoras ZnT1 e ZIP4 apresentou relação significativa com o estado nutricional das crianças quanto ao zinco. A expressão do mRNA ZnT1 foi maior entre as crianças com deficiência, enquanto do mRNA ZIP4 foi menor. Não foram observadas relações entre o consumo de zinco e a expressão gênica. Conclui-se que a população estudada apresenta risco de deficiência em zinco, apresentando relação com a expressão gênica das proteínas transportadoras ZnT1 e ZIP4, reforçando a existência de uma regulação da absorção do mineral de acordo com o estado nutricional do indivíduo, indicando que esta análise pode ser útil na avaliação de intervenções dietéticas.

Palavras-chave: avaliação nutricional, zinco, pré-escolares, transportadores de zinco, expressão gênica.

ABSTRACT

REIS, B.Z. **Nutritional status of zinc in children and its relation to gene expression of zinc transporters proteins ZnT1 (SLC30A1) and ZIP4 (SLC39A4).** 2014. 100f. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Zinc deficiency is regarded as one of the nutritional deficiencies of greatest epidemiological importance, with major repercussions in the context of public health worldwide. Methodological advances in evaluation of molecular aspects constitute a new tool for investigating the zinc nutritional status of individuals, by assessing the gene expression of transporter proteins, highlighting the ZnT1 (SLC30A1) and ZIP4 (SLC39A4), involved in maintaining body homeostasis of this mineral. This study aimed to evaluate the zinc nutritional status of children and its relation to gene expression of these transporters. Were evaluated 139 children aged between 32 and 76 months attending daycare centers in the city of Aracaju, Sergipe. According to anthropometric measures, only 3.6% of children had deficit height for age and weight for age, while 27.3% of them were overweight and obese. The plasma zinc deficiency was observed in 26.6% of children, while in erythrocytes 99.3% of them were below the established cutoff point. The ZnT1 and ZIP4 gene expression analysis showed a significant relationship with the zinc nutritional status of children. The mRNA ZnT1 expression was higher among children with zinc deficiency, while mRNA ZIP4 was lower. There was no relationship between the consumption of zinc and gene expression. In conclusion, the evaluated population is at risk for zinc deficiency, showing significant relationship with the gene expression of transporter proteins ZnT1 and ZIP4, reinforcing the existence of a regulation of the absorption of the mineral according to the individual's nutritional status, indicating that this analysis can be useful in evaluating dietary interventions.

Keywords: nutrition assessment, zinc, preschoolers, zinc transporters, gene expression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Transporte celular de zinco para o citoplasma e para as organelas mediado por duas famílias de transportadores: ZnT (SLC30A) e ZIP (SLC39A).....	27
Figura 2.	Localização celular do transportador ZIP4 de acordo com a adequação dietética de zinco.....	28
Figura 3.	Proporção de crianças institucionalizadas de acordo com a recomendação de contribuição energética dos macronutrientes encontrado nas dietas avaliadas.....	46
Figura 4.	Distribuição do consumo de zinco segundo a sua biodisponibilidade na dieta.....	47
Figura 5.	Distribuição das crianças avaliadas de acordo com a concentração de zinco plasmático ($\mu\text{g/dL}$) e eritrocitário ($\mu\text{g/gHb}$).....	48
Figura 6.	Expressão gênica (mRNA) dos transportadores de zinco ZnT1 e ZIP4 em relação à β -actina ($\times 10^4$) de acordo com a classificação plasmática de zinco das crianças avaliadas.....	50
Figura 7.	Correlação de <i>Spearman</i> entre a expressão de mRNA ZnT1 e mRNA ZIP4 com o zinco plasmático ($\mu\text{g/dL}$) e eritrocitário ($\mu\text{gZn/gHb}$).....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Distribuição das crianças por faixa etária (anos).....	43
Tabela 2.	Caracterização socioeconômica das famílias das crianças institucionalizadas participantes do estudo.....	44
Tabela 3.	Percentual das crianças avaliadas de acordo com a classificação dos índices antropométricos propostos pela WHO (2006).....	45
Tabela 4.	Ingestão habitual zinco e fitato de crianças institucionalizadas de acordo com o gênero.....	46
Tabela 5.	Comparação das médias de idade, indicadores antropométricos e ingestão alimentar habitual de acordo com a classificação plasmática de zinco das crianças avaliadas.....	49
Tabela 6.	Modelo de regressão gama entre a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 e ZIP4 e a deficiência de zinco plasmático em crianças institucionalizadas.....	52
Tabela 7.	Modelo de regressão gama entre a expressão gênica das proteínas ZnT1 e ZIP4 e a ingestão alimentar de zinco em crianças institucionalizadas.....	52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Faixas de recomendação da distribuição de macronutrientes, em percentual de contribuição energética (AMDR), de acordo com a faixa etária.....	35
Quadro 2	Recomendações de ingestão dietética de zinco (mg/dia) de acordo com os valores propostos pelo IOM (2006) e IZiNCG (2004), segundo a idade, gênero e a biodisponibilidade de zinco na dieta.....	36
Quadro 3	<i>Primers</i> utilizados na reação de PCR em tempo real (qRT-PCR)...	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMDR - *Acceptable Macronutrient Distribution Ranges*

cDNA - Ácido Desoxirribonucleico complementar

Ct - *Threshold cycle*

DCNT - Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DP - Desvio padrão

E/I - Estatura para Idade

EAR - Necessidade Média Estimada

EER - Necessidade Energética Estimada

IGF - Fator de Crescimento Semelhante à Insulina

IL - Interleucina

IMC/I - Índice de Massa Corporal para Idade

IOM - Instituto de Medicina

IZiNCG - *International Zinc Nutrition Consultative Group*

KLF4 - Fator de Transcrição *Krüppel-like 4*

mRNA - Ácido Ribonucleico Mensageiro

MT - Metalotioneínas

MTF-1 - Fator de Transcrição Metal Responsivo 1

NF- κ B - Fator Nuclear kappa B

PBMC - Células Mononucleares de Sangue Periférico

P/E - Peso para Estatura

P/I - Peso para Idade

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PNDS - Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher

POF - Pesquisa de Orçamentos Familiares

qPCR - *Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction*

qRT-PCR - *Reverse Transcription Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction*

RDA - Ingestão Dietética Recomendada

SLC - Transportador Ligado ao Solut

SOD - Superóxido Dismutase

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral *alfa*

UA - Unidades Arbitrárias

UL – Limite superior tolerável de ingestão

USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

WHO - Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	ASPECTOS NUTRICIONAIS NA INFÂNCIA	17
2.2	ZINCO: ASPECTOS FISIOLÓGICOS E DE DEFICIÊNCIA	21
2.3	ZINCO E A NUTRIGENÔMICA.....	25
2.3.1	Transportador ZIP4 (SLC39A4).....	28
2.3.2	Transportador ZnT1 (SLC30A1).....	29
3	OBJETIVOS.....	31
3.1	OBJETIVO GERAL.....	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4	METODOLOGIA	32
4.1	POPULAÇÃO E DELINEAMENTO DO ESTUDO	32
4.2	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA.....	33
4.3	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR	33
4.4	CARACTERIZAÇÃO SÓCIOECONÔMICA	36
4.5	ANÁLISES BIOQUÍMICAS	37
4.5.1	Parâmetros bioquímicos de avaliação de zinco	37
4.5.2	Expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 e ZIP4	38
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
4.7	FINANCIAMENTO DO ESTUDO	42
5	RESULTADOS.....	43
6	DISCUSSÃO	53
7	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS.....	63
	ANEXOS	76
	ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	77
	ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	80
	ANEXO C – FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO POR PESAGEM DIRETA DAS PORÇÕES SERVIDAS	83
	ANEXO D – MODELO DE REGISTRO ALIMENTAR.....	85
	ANEXO E – QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO.....	86
	ANEXO F – FICHA DO ALUNO.....	88
	ANEXO G – INFORMAÇÕES PARA OS MEMBROS DE BANCAS JULGADORAS DE MESTRADO	90
	ANEXO H – CURRÍCULO LATTES.....	91

1 INTRODUÇÃO

As deficiências de micronutrientes ainda acometem mais de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo, principalmente em países em desenvolvimento, sendo consideradas fatores de risco à saúde e sobrevivência de grupos vulneráveis, como as crianças (FAO/WHO, 1992; THOMPSON; AMOROSO, 2010; WHO, 2000). Em geral, são causadas pela ingestão insuficiente ou baixa biodisponibilidade desses micronutrientes na dieta. Por cursarem por vezes despercebidas, estas deficiências têm sido denominadas como “Fome Oculta” (MESSNER, 1992).

A deficiência em zinco é considerada uma das deficiências nutricionais de maior importância epidemiológica, com grandes repercussões no contexto da saúde pública em todo o mundo (DE BENOIST et al., 2007). De acordo com a estimativa mais recente, aproximadamente 17,3% de toda a população mundial apresenta risco de ingestão inadequada deste mineral (WESSELLS; SINGH; BROWN, 2012).

Estimou-se que, em 2004, esta deficiência foi responsável por 4,4% das mortes entre crianças de 6 a 59 meses de idade e 1% das mortes em todo o mundo, sendo a responsável por 14,4% das mortes por diarreia, 10,4% das mortes por malária e 6,7% das mortes por pneumonia entre crianças de 6 a 59 meses nas regiões da América Latina, África e Ásia (WALKER; EZZATI; BLACK, 2009).

O Brasil enquadra-se em um nível de risco médio, sendo que uma parcela de 20,3% da população apresenta risco de ingestões inadequadas do mineral e 10,5% das crianças têm crescimento deficitário (IZINCG, 2004). De acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada entre os anos de 2008-2009 sobre consumo alimentar foi observado que, na região Nordeste, 18,2% dos meninos e 19,4% das meninas de 10 a 13 anos apresentaram consumo inadequado desse mineral (BRASIL, 2011).

Um estudo realizado no município de Pacatuba, estado de Sergipe, avaliou o estado nutricional de crianças e adolescentes residentes em área de assentamento rural e foi observado que 57,14% das crianças de 3 a 9 anos apresentavam ingestão de zinco abaixo da EAR (VIEIRA et al., 2011).

O zinco exerce papel fundamental no processo de síntese proteica, divisão, crescimento e imunidade celular, principalmente por participar da estrutura, dos

sítios catalíticos ou das funções regulatórias de diversas enzimas (TOMKINS; WATSON, 1989). Desta maneira, crianças constituem um dos grupos populacionais que apresentam maior risco para o desenvolvimento de sua deficiência (IZiNCG, 2004).

Diversas medidas são utilizadas para determinação do estado nutricional dos indivíduos relativo ao zinco, dentre as mais empregadas estão a concentração plasmática e a avaliação da ingestão (GIBSON et al., 2008). Embora esses marcadores sejam úteis na identificação da deficiência em nível populacional, eles possuem efetividade limitada em detectar o estado subclínico de deficiência, que é mascarado por mecanismos complexos e eficazes de homeostase do mineral (HESS et al., 2007; LOWE et al., 2012; MORAN et al., 2012).

Nos últimos anos, os avanços das pesquisas em nível molecular tornaram-se uma nova ferramenta para a avaliação do estado nutricional de indivíduos relativo ao zinco, permitindo avaliar a expressão de proteínas transportadoras e elucidando mecanismos transcricionais envolvidos na homeostase do mineral (EIDE, 2006; HAMBIDGE, 2000). As proteínas transportadoras de zinco são proteínas de membrana que asseguram o transporte de íons de zinco através das diversas estruturas celulares. Elas são especializadas na captura, efluxo e compartimentalização do mineral, ajudando a manter a homeostase intracelular e corporal (DEVIRGILIIS et al., 2007; LIUZZI et al., 2004; SEVE et al., 2004).

A grande variedade de transportadores apresenta diferentes padrões de expressão frente à variação no consumo alimentar. Assim, sua compreensão pode ajudar na identificação de alterações sutis no status de zinco corporal (FOSTER et al., 2011). No entanto, poucos estudos avaliaram as variações na expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco frente ao estado nutricional ou ingestão dietética em humanos.

Considerando a importância do zinco para o crescimento e desenvolvimento infantil e sua alta prevalência de deficiência, destaca-se a importância deste estudo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ASPECTOS NUTRICIONAIS NA INFÂNCIA

A infância é a fase da vida compreendida entre o nascimento e os nove anos de idade, sendo um período marcado pela intensa velocidade de crescimento e grandes alterações no estado endócrino (WHO, 2006).

O crescimento físico caracteriza-se pela somatória de fenômenos celulares, biológicos, bioquímicos e morfológicos, cuja interação é efetuada por meio de um plano pré-determinado geneticamente e influenciado pelo meio ambiente, sendo caracterizado por um processo contínuo, porém não constante, que ocorre por toda a vida (VITOLLO, 2008). Considerando que todo o ser humano nasce com um potencial genético de crescimento que poderá ou não ser alcançado, dependendo das condições de vida a que esteja exposto desde a concepção até a idade adulta, é necessário investigar a influência dos fatores intrínsecos (genéticos e metabólicos) e extrínsecos (alimentação, saúde, higiene, habitação e cuidados gerais com a criança) no crescimento físico (ROMANI; LIRA, 2004; WHO, 1995).

O controle do crescimento e do estado nutricional de crianças tem sido caracterizado como um importante componente da saúde materna e infantil. Em termos populacionais, os padrões de crescimento têm diversas aplicações, como detectar a situação atual do indivíduo quanto aos padrões nutricionais, avaliar as práticas alimentares, além de rastrear e acompanhar grupos de risco nutricional (SOARES, 2003). Desta forma, para monitorar o crescimento físico tanto na área clínica quanto na saúde pública são utilizados tradicionalmente índices antropométricos, tendo como objetivo determinar a massa corporal, expressa pelo peso, e as dimensões lineares, especialmente a estatura. Eles constituem uma estratégia válida para gerar indicadores sensíveis do estado nutricional. Seus resultados podem refletir, ainda, a condição de vida dos grupos populacionais estudados (PETROSKI; SILVA; PELEGRINI, 2008).

Os índices antropométricos mais utilizados para escolares são o peso para idade (P/I), que reflete a massa corporal em relação à idade cronológica, podendo ser influenciado pela estatura e pelo peso, cuja limitação é não permitir distinguir se

o processo é atual ou de longa duração; o peso para estatura (P/E), que demonstra a relação entre o peso e a estatura, e não requer o uso da idade, refletindo melhor, portanto, o estado nutricional no momento da avaliação e a estatura para idade (E/I), que reflete o crescimento linear e seu déficit relaciona-se a alterações cumulativas de longo prazo na situação nutricional e de saúde em geral, associando-se, dessa forma, a processos de longa duração e a um retardo de crescimento acumulado, refletindo, portanto, formas crônicas de desnutrição (SANTOS et al., 2009).

No Brasil, a prevalência de déficit no índice E/I em crianças menores de 5 anos é de 6,0%, sendo semelhante em meninos (6,3%) e meninas (5,7%). A distribuição regional desta prevalência indica que há uma grande semelhança entre o Nordeste (5,9%), Sudeste (6,1%) e Centro-Oeste (6,1%), sendo a maior prevalência encontrada na Região Norte (8,5%) e a menor na Região Sul (3,9%) (BRASIL, 2010).

Lima et al. (2010) ao analisarem três inquéritos relativos à região Nordeste, obtidos a partir das pesquisas *Demographic Health Surveys* (DHS) realizadas no Brasil em crianças menores de cinco anos entre os anos de 1986 e 2006, observaram que a prevalência de déficit no índice P/E não variou significativamente ao longo das três pesquisas, permanecendo em torno de 2 a 3%, sendo compatível com o esperado para populações saudáveis e bem-nutridas. A prevalência de déficits no índice E/I vem reduzindo ao longo dos anos. Entre os anos de 1986 a 2006 houve declínio relativo de 73,4% na prevalência de baixa estatura para idade.

Apesar de ser evidente o declínio na região Nordeste, a análise isolada de algumas localidades ainda indica prevalências elevadas de déficit de crescimento. Um estudo realizado no leste do Estado de Sergipe, na região do Cotinguiba, avaliou 1257 escolares entre sete a dez anos e verificou que a frequência de déficit de estatura/idade (21,7%) foi aproximadamente três vezes mais elevada que a do excesso de peso (6,8%), sendo esta localidade considerada como de problema de saúde pública (PETROSKI; SILVA; PELEGRINI, 2008).

Nesse mesmo Estado, Vieira et al. (2011) avaliaram 84 crianças com idade entre 3 e 9 anos que viviam em assentamentos rurais de Pacatuba, localizada no litoral norte, e encontraram uma prevalência de déficit estatural em 6,3% das meninas e 13,4% dos meninos.

Resultados semelhantes foram encontrados por Figueroa-Pedraza et al. (2011) e Gondim et al. (2012) em crianças pré-escolares no estado da Paraíba, onde as prevalências de déficit de estatura/idade foram 7,7% e 7,3%, respectivamente.

Seguramente as condições que ilustram essa assimetria estão fortemente vinculadas às desigualdades social e econômica e à iniquidade em saúde observadas nessas regiões. Nesse sentido, as evidências indicam que os determinantes dos déficits antropométricos nessa fase da vida configuram uma estrutura complexa e variada, que envolve múltiplos fatores do ambiente econômico, social e familiar da criança (OLIVEIRA et al., 2007).

O grau e a distribuição do déficit de crescimento em uma população estão relacionados a fatores como a situação política e econômica, nível de educação e sanitização, produção de alimentos, prática do aleitamento materno, prevalência de doenças infecciosas, existência e efetividade de programas nutricionais e disponibilidade e qualidade dos serviços de saúde (SANTOS; MARTINS; SAWAYA, 2008).

Oliveira et al. (2006) investigaram os determinantes da desnutrição infantil em crianças do Estado da Bahia e observaram que aquelas de famílias com menor poder aquisitivo apresentaram mais chance de ter déficit de crescimento (OR=2,9; IC=95%: 1,74-4,90) e déficit ponderal (OR=3,4; IC 95%: 1,41-8,16).

Nesse contexto a privação das satisfações básicas de vida imposta pela persistência das condições inadequadas do ambiente social e econômico se traduz em restrições no consumo alimentar, nas precárias condições do ambiente sanitário e na elevada carga de morbidade, comprometendo o crescimento na infância (OLIVEIRA et al., 2007).

Sendo assim, a nutrição adequada é um dos fatores de maior impacto na saúde infantil, principalmente pela influência que o estado nutricional exerce sobre os riscos de morbimortalidade e sobre o crescimento e desenvolvimento (BARROSO; SICHIERI; SALLES-COSTA, 2008).

Nesse sentido, a avaliação do consumo de alimentos é uma importante fonte de informação para detectar situações de "risco alimentar e nutricional", pois permite caracterizar o nível de risco e a vulnerabilidade da população às deficiências nutricionais, assim como adequar ou propor medidas de intervenção que garantam a saúde, particularmente no segmento da população em idade escolar (BARBOSA; SOARES; LANZILLOTTI, 2007; TUMA; COSTA; SCHMITZ, 2005).

Em um estudo realizado por Castro et al. (2005) no qual foi avaliado o consumo alimentar de crianças de creches municipais de Viçosa-MG, observou-se que, com exceção da proteína, todos demais nutrientes, vitaminas e minerais encontravam-se abaixo da necessidade média estimada (EAR).

Nesta perspectiva, Santos et al. (2005) avaliaram o consumo alimentar de estudantes de escolas públicas e verificaram uma baixa ingestão de frutas e hortaliças, além de uma alta ingestão de açúcares, lipídios e produtos industrializados, demonstrando, assim, que o padrão alimentar qualitativo necessita de ajustes para prevenir deficiências nutricionais específicas que podem repercutir no desenvolvimento.

A avaliação do estado nutricional e do consumo alimentar de escolares são as medidas que melhor determinam o estado de saúde dos mesmos, uma vez que distúrbios nutricionais, independentemente de suas etiologias, invariavelmente afetam o crescimento infantil (SIGULEM; DEVINCENZIE; LESSA, 2000). A deficiência de micronutrientes, especialmente do zinco, é considerada um dos fatores de risco mais determinantes do déficit de crescimento em crianças (RIVERA et al., 2003).

Alguns estudos nacionais avaliaram a prevalência dessa deficiência entre crianças. Em São Paulo, Favaro e Vannucchi (1990) observaram que, das 126 crianças avaliadas, 13% apresentaram baixas concentrações de zinco plasmático. Neste mesmo estado, outro estudo encontrou alta prevalência de deficiência (90,3%) ao mensurar a concentração de zinco no eritrócito em 43 pré-escolares, (MICHELAZZO; FISBERG; COZZOLINO, 2005).

Borges et al. (2007), por outro lado, ao avaliarem o zinco sérico em crianças de baixa renda da região metropolitana do Rio de Janeiro, observaram que 7,5% delas apresentavam deficiência. Na Paraíba, das 235 crianças avaliadas, 16,2% apresentaram baixos níveis de zinco no soro (FIGUEROA-PEDRAZA et al., 2011).

Desta forma, o monitoramento da prevalência desta deficiência nutricional é de grande importância dentro do ambiente escolar visando o melhor rendimento dos alunos, principalmente em instituições filantrópicas que atendem a crianças com famílias de baixa escolaridade e baixa renda, visto que estes fatores estão associados ao desenvolvimento de deficiências nutricionais (IZiNCG, 2004; TAVARES et al., 2012).

Por tais razões, estudos que investiguem o estado nutricional de populações infantis atendidas por creches, devem considerar além dos indicadores antropométricos, dietéticos e socioeconômicos, os biomarcadores do estado nutricional de micronutrientes, visando o rastreamento de importantes problemas nutricionais.

2.2 ZINCO: ASPECTOS FISIOLÓGICOS E DE DEFICIÊNCIA

A essencialidade do zinco foi demonstrada primeiramente para o crescimento do fungo *Aspergillus niger*, por Raulin em 1869. Desde então, tem sido demonstrado que este mineral é essencial para o crescimento, desenvolvimento e diferenciação de todos os tipos de vida, incluindo microrganismos, plantas e animais (VALLEE, 1986).

O zinco é um dos elementos traços mais abundantes no corpo humano e seu conteúdo varia de 1,5 g em mulheres a 2,5 g em homens. É encontrado em vários tecidos, mas sua maior concentração, cerca de 85%, está no tecido muscular e ósseo e apenas 1% na circulação sanguínea. Cerca de 80% do zinco sanguíneo está nos eritrócitos e apenas 16% no plasma, ligado à globulina e a α -macroglobulina. O zinco plasmático corresponde a apenas 0,1% do total corporal. Quase 95% do mineral encontra-se no meio intracelular, com 30 a 40% localizados no núcleo e 50% no citoplasma (KING, 2006; TAPIERO; TEW, 2003).

Com base no *Protein Data Bank* foi estimado recentemente que o zinco participa da constituição de mais de 2.700 enzimas, muitas delas envolvidas no metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídios e na síntese e degradação de ácidos nucleicos (ANDREINI; BERTINI, 2012; FUKADA et al., 2011). Em aproximadamente 70% destas enzimas, o zinco tem uma função de catalisador, mas também pode ter papel estrutural, agir como substrato, ou atuar como regulador da atividade da enzima (ANDREINI; BERTINI, 2012).

Também está envolvido na regulação hormonal da divisão celular, pois o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) é sensível ao estado nutricional dos indivíduos relativo ao zinco, que quando encontra-se deficiente, prejudica a ligação do IGF aos seus receptores de superfície celular (MACDONALD, 2000).

Através de suas três funções, catalítica, estrutural e regulatória, o zinco desempenha importante papel na resposta imune e no estresse oxidativo, ao prevenir a formação de radicais livres e proteger estruturas biológicas (CHASAPIS et al., 2011).

No sistema imune, o zinco possui papel importante na inibição do fator nuclear kappa B (NF- κ B) por meio da proteína *zinc finger* A20. A translocação do NF- κ B para o núcleo da célula regula desde a expressão de citocinas e proteínas de fase aguda até moléculas de adesão. Dessa forma, a proteína A20 inibe a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (DARDENNE, 2002; PRASAD, 2009; RINK; KIRCHNER, 2000).

O papel antioxidante do zinco refere-se a sua ação em estabilizar membranas celulares, participar da estrutura das enzimas superóxido dismutase (SOD) e manter as concentrações de metalotioneína, visto que o mineral não pode interagir diretamente com um radical livre (OTEIZA, 2012).

As metalotioneínas (MT) são proteínas ligantes de metais como zinco, cobre e cádmio, e o sistema metalotioneína/tioneína conserva o zinco em sua estrutura, controlando sua concentração. A MT apresenta propriedades antioxidantes em uma diversidade de condições, tais como exposição à radiação, drogas e metais pesados (HAMMER, 1986; MARET, 2000; POWELL, 2000). A MT inibe reações de propagação de radicais livres através da ligação seletiva de íons de metais pró-oxidantes como ferro e cobre, e dos potencialmente tóxicos como cádmio e mercúrio (HAMMER, 1986). Acredita-se que a regulação da síntese de MT é o nexo entre o estado nutricional em zinco e o estado redox das células. Sob condições de elevado estresse oxidativo haveria a liberação do zinco ligado à MT, resultando em maior disponibilidade de agrupamentos sulfidrilas reduzidos prontos para atuar na proteção antioxidante. Por sua vez, o zinco liberado seria redistribuído na célula, podendo ser utilizado em outros mecanismos de proteção antioxidante. A capacidade de regulação da síntese de MT depende de um estado nutricional adequado de zinco (MARET, 2000).

Vários sistemas fisiológicos contribuem para a homeostase do zinco sob diferentes condições. O trato gastrointestinal tem papel fundamental na manutenção da homeostase do zinco. Isto é obtido pela modulação da quantidade de zinco dietético absorvido e pela quantidade de zinco endógeno excretado (KREBS; HAMBIDGE, 2001). Uma regulação na excreção urinária também ocorre quando há

ingestões extremamente altas ou baixas de zinco, e a redistribuição tecidual e celular do mineral pode favorecer a homeostase (LEE et al., 1993).

O sítio primário de absorção do zinco exógeno em humanos é o intestino delgado, sendo regulado homeostaticamente por mecanismos de difusão e processos mediados por carreadores. O transporte ativo é saturável em altas concentrações do metal no lúmen do intestino, e tem sua eficiência aumentada durante períodos de baixa ingestão. Em situações de alto consumo ocorre um mecanismo de difusão passiva sem saturação. Há também uma produção endógena de zinco no lúmen intestinal através de secreções pancreáticas, biliar e intestinal, bem como da descamação das células da mucosa (KREBS et al., 1998).

Após ser absorvido, o zinco é liberado pelos transportadores basolaterais dos enterócitos, passa para os capilares mesentéricos e vai para a circulação portal, sendo captado pelo fígado e distribuído para os outros tecidos. Seu transporte no sangue é carregado pela albumina e, em menor quantidade, pela α -macroglobulina, transferrina, cisteína e histidina (CHESTERS, 1982; HAMBIDGE; KREBS; MILLER, 1998).

A homeostase do zinco é mantida por meio de mecanismos que incluem a regulação da expressão de genes, tais como aqueles que codificam para proteínas transportadoras e para metalotioneínas (CONEYWORTH et al., 2012). No entanto, quando a ingestão dietética de zinco é muito baixa, os mecanismos homeostáticos podem ser insuficientes para repor as perdas impostas, resultando em um balanço negativo de zinco (HENRIQUES; HIRATA; COZZOLINO, 2003).

A ingestão dietética recomendada (RDA) de zinco foi baseada principalmente em perdas endógenas basais e no tempo de *turnover* dos *pools* de zinco endógeno, sendo de 3 mg/dia para crianças de 1 a 3 anos e 5 mg/dia para crianças de 4 a 8 anos (IOM, 2006).

A adequação da ingestão de zinco é afetada pela presença de fatores dietéticos que inibem sua absorção, sendo o fitato o principal deles. As dietas baseadas em cereais integrais ou tubérculos e quantidades insignificantes de alimentos de origem animal aumentam as necessidades dietéticas de zinco e, portanto, aumentam o risco de deficiência.

Pensando nisso, o *International Zinc Nutrition Consultative Group* (IZiNCG) – grupo internacional voltado especificamente para estudos e intervenções que visem reduzir a deficiência em zinco – apresenta uma recomendação de ingestão (EAR)

baseada na biodisponibilidade dietética do mineral, considerando o teor de fitato na dieta.

Dietas baseadas em cereais refinados (razão molar fitato:zinco ≤ 18) são consideradas de adequada biodisponibilidade e a EAR foi considerada de 2 e 3 mg/dia para a faixa etária de 1 a 3 anos e 4 a 8 anos, respectivamente. Já as dietas baseadas em cereais integrais (razão molar fitato:zinco > 18) são classificadas como de baixa biodisponibilidade. Neste caso, a EAR para as crianças de 4 a 8 anos aumenta para 4 mg/dia.

As consequências da deficiência em zinco incluem desde o comprometimento do crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes, até prejuízos no sistema imunológico, com aumento da prevalência e incidência de infecções na infância, como diarreia e pneumonia, podendo resultar em aumento das taxas de mortalidade (IOM, 2006; IZiNCG, 2004).

O desenvolvimento da deficiência em zinco pode ser atribuído a pelo menos cinco causas gerais que ocorrem de forma isolada ou em combinação. Estas incluem ingestão inadequada, aumento das necessidades, má absorção, perdas aumentadas e utilização prejudicada (SOLOMONS; COUSINS, 1984). A ingestão inadequada de zinco geralmente é a principal causa de deficiência na maioria das situações (GIBSON, 1994; SHRIMPTON, 1993).

Subgrupos populacionais com alto risco de deficiência de zinco devem ser identificados sob a base de características como a idade, estado fisiológico e presença de algumas condições patológicas. Nesse contexto, as crianças representam um destes subgrupos, devendo ser avaliadas tanto por indicadores indiretos do estado nutricional quanto por indicadores bioquímicos e de consumo alimentar (IZiNCG, 2004).

A avaliação da ingestão alimentar, mesmo sendo um indicador indireto do estado nutricional, como afirmam Fidelis e Osório (2007), auxilia no diagnóstico nutricional, tornando possível perceber um risco potencial para o desencadeamento do problema, constituindo-se, assim, o primeiro indicador de risco nutricional.

Os indicadores funcionais podem ser úteis para a identificação de populações que possam estar em risco elevado para a deficiência de zinco, mas seria de valor limitado em quantificar a prevalência de deficiência na população. Em crianças, o parâmetro de avaliação funcional mais conhecido associado com o risco de

deficiência de zinco em populações é a estatura para a idade (FISCHER WALKER; BLACK, 2007).

A anemia por deficiência de ferro é outra informação sugestiva sobre o risco de deficiência de zinco. Embora a deficiência de ferro não cause a deficiência de zinco, a distribuição de ferro e zinco nos alimentos, bem os componentes da dieta que modificam a sua absorção, são semelhantes, sugerindo um risco comparável para a deficiência. Por conseguinte, a prevalência de anemia pode ser utilizada como evidência sugestiva do risco de deficiência de zinco (IZiNCG, 2004).

Os indicadores bioquímicos podem ser utilizados como um meio quantitativo de avaliação do estado nutricional de uma população. Tais indicadores podem ser úteis para identificar populações e subgrupos específicos que apresentem deficiência de zinco e podem, assim, ser usados para identificar grupos aos quais as intervenções devem ser direcionadas. Eles podem indicar a gravidade e extensão da deficiência, embora sejam necessárias informações adicionais para investigar a causa desta (DE BENOIST et al., 2007).

Avanços metodológicos na avaliação de aspectos moleculares constituem uma nova ferramenta para a investigação do estado nutricional relativo ao zinco, um exemplo é a avaliação da expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco (EIDE, 2006; HAMBIDGE, 2000).

2.3 ZINCO E A NUTRIGENÔMICA

A nutrigenômica é a área da nutrição que investiga a interação gene-nutriente, podendo tanto o nutriente influenciar o funcionamento do genoma quanto a variação no genoma influenciar a resposta individual à alimentação (DEBUSK et al., 2005; GERMAN, 2005; MÜLLER; KERSTEN, 2003).

Do ponto de vista nutrigenômico, nutrientes e compostos bioativos funcionam como sinais da dieta que, ao serem detectados por sensores celulares, desencadearão alterações na expressão gênica, ou seja, aumento e/ou redução da síntese de proteínas, de modo que ocorram adaptações às mudanças metabólicas e a homeostase seja mantida (MÜLLER; KERSTEN, 2003).

De acordo com o mapeamento do genoma humano, temos cerca de 30 mil genes distribuídos em nossos cromossomos (KUSSMAN et al., 2006). Parte desses genes codificam para proteínas, como enzimas, transportadores, hormônios e receptores necessários a processos como digestão, absorção, metabolismo e excreção de nutrientes (RIST; WENZEL; DANIEL, 2006). Estima-se que cerca de 10% do proteoma humano consiste em proteínas potencialmente ligadas ao zinco (ANDREINI; BERTINI, 2012). Este número explica a importância do mineral na síntese de DNA, RNA e diversas proteínas, tendo um papel importante na preservação da estabilidade do genoma devido à sua participação na regulação e/ou estrutura de proteínas envolvidas no reparo ao DNA (SHARIF et al., 2012).

As interações entre os nutrientes e os genes podem ocorrer de várias formas e uma delas é a interação direta, na qual o nutriente liga-se a um fator de transcrição ativando-o e induzindo a expressão gênica (ZEISEL, 2007).

O zinco age modificando a expressão gênica por meio de sua ligação ao fator de transcrição metal responsivo 1 (MTF-1) (MULLER; KERSTEN, 2003). O MTF-1 funciona como um sensor intracelular de zinco, ligando-se direta e reversivelmente ao mineral, adotando uma conformação ligante-DNA e transferindo-se para o núcleo da célula, onde se liga aos elementos metal-responsivos em locais de leitura dos genes, promovendo o aumento da transcrição destes (SMIRNOVA et al., 2000).

Dentre os genes que têm sua expressão modificada pelas concentrações de zinco na dieta podem-se citar os codificantes dos transportadores de zinco, constituídos por duas famílias denominadas “Transportador Ligado ao Solute” (SLC), que exercem papéis opostos na homeostase celular do zinco (FUKADA et al., 2011; SEVE et al., 2004).

A família ZnT ou SLC30A é constituída por aproximadamente dez proteínas que atuam transportando o zinco do citoplasma para fora das células ou para dentro de vesículas intracelulares. A família ZIP ou SLC39A é formada por pelo menos quatorze proteínas que transportam o zinco do meio extracelular e de vesículas para o citoplasma (LICHTEN; COUSINS, 2009; TUERK; FAZEL, 2009). A Figura 1 ilustra a ação destes transportadores na célula, indicando a direção do transporte de íons Zn^{2+} nas membranas celulares.

Figura 1. Transporte celular de zinco para o citoplasma e para as organelas mediado por duas famílias de transportadores: ZnT (SLC30A) e ZIP (SLC39A).

Fonte: Adaptado de KAMBE et al., 2004.

A grande variedade de transportadores apresenta diferentes padrões de expressão gênica frente à variação na ingestão de zinco. O transportador ZnT1 (SLC30A1), por exemplo, tem sua expressão aumentada em resposta ao aumento de zinco dietético (LIUZZI; BLANCHARD; COUSINS, 2001), enquanto o transportador ZIP4 (SLC39A4) tem relação inversa: ou seja, sua expressão é aumentada à medida que diminui a oferta de zinco na dieta (WEAVER et al., 2007). Esses dois transportadores têm sido amplamente estudados, pois suas expressões estão fortemente relacionadas com a homeostase corporal de zinco (COUSINS, 2010; WANG; ZHOU, 2010).

2.3.1 Transportador ZIP4 (SLC39A4)

A expressão do ZIP4 é maior em tecidos envolvidos com a absorção/reabsorção de zinco, sendo o intestino delgado e os rins os locais de maior abundância desta proteína (WANG et al., 2002).

Conforme já referido, sua expressão parece ser regulada por mecanismos transcricionais e pós-transcricionais em resposta a disponibilidade de zinco (KIM et al., 2004; WEAVER et al., 2007). O fator de transcrição *Krüppel-like factor 4* (KLF4), que é induzido durante a restrição de zinco, foi identificado como um componente do mecanismo responsável pelo aumento da regulação da transcrição de ZIP4 (LIUZZI et al., 2009)

Durante a deficiência dietética de zinco, o ZIP4 se localiza nas membranas apicais dos enterócitos. No entanto, a repleção de zinco causa a degradação do mRNA e rápida endocitose do transportador (Figura 2) (CRAGG et al., 2005; WEAVER et al., 2007).

Figura 2. Localização celular do transportador ZIP4 de acordo com a adequação dietética de zinco.

Fonte: Adaptado de WEAVER et al., 2007.

Foi demonstrado que a expressão deste transportador está aumentada no intestino delgado de ratos alimentados com uma dieta deficiente em zinco e diminui

após a suplementação (DUFNER-BEATTIE et al., 2003). Em humanos esse efeito também foi confirmado por biópsia intestinal em um estudo duplo-cego, no qual indivíduos que receberam suplementação com 25 mg de sulfato de zinco por 14 dias apresentaram menor concentração da proteína ZIP4 em relação ao grupo placebo (CRAGG et al., 2005).

Isto sugere que a regulação da expressão do ZIP4 em órgãos essenciais à aquisição de zinco desempenha um papel fundamental na homeostase, isto é, aumentando quando a fonte de zinco é baixa e diminuindo durante o excesso de zinco (LIUZZI; COUSINS, 2004).

2.3.2 Transportador ZnT1 (SLC30A1)

O primeiro transportador de zinco a ser descoberto foi o ZnT1, em virtude da sua capacidade em conferir resistência a níveis elevados de zinco extracelular em uma linhagem celular sensível ao zinco, *baby hamster kidney* (BHK), quando transfectadas com um cDNA que codifica para ZnT1 renal (rZnT1). A superexpressão de ZnT1 nestas células aumentou o efluxo de zinco e reduziu a sua concentração intracelular (LIUZZI; COUSINS, 2004; PALMITER; FINDLEY, 1995).

O ZnT1 encontra-se amplamente distribuído pelos tecidos, sendo mais expresso naqueles envolvidos com a absorção, como o intestino delgado, sendo abundante ao longo das membranas basolaterais dos enterócitos, onde pode participar da transferência de zinco para a circulação (LIUZZI; COUSINS, 2004; MCMAHON; COUSINS, 1998).

A diminuição na sua regulação resulta em maior retenção de zinco nas células, evidenciando que a expressão deste transportador é crucial para a manutenção da homeostase do zinco e, em particular, para melhorar a sua retenção em células submetidas a privação do mineral (SANKAVARAM; FREAKE, 2012).

A expressão do mRNA ZnT-1 é rapidamente induzida em cultura de células após tratamento com zinco, sendo regulada pelo MTF-1 (LANGMADE et al., 2000; TSUDA et al., 1997) e no intestino delgado, rim e fígado por administração oral do mineral (DAVIS; MCMAHON; COUSINS, 1998; LIUZZI; BLANCHARD; COUSINS, 2001; MCMAHON; COUSINS, 1998). Por outro lado, a deficiência em zinco poderia reduzir a expressão do mRNA ZnT-1, evidenciando que esta proteína também pode

ser influenciada diferencialmente pela ingestão dietética de zinco (LANGMADE et al., 2000).

Liuzzi, Blanchard e Cousins (2001) observaram que ratos alimentados com uma dieta deficiente em zinco (<1 mg Zn/kg) apresentaram expressão de mRNA ZnT1 significativamente menor quando comparados àqueles com uma dieta rica no mineral (30 mg Zn/kg). Ryu et al. (2008) também relataram uma menor expressão do ZnT1 em ratos submetidos a dieta deficiente em zinco por 21 dias quando comparado à dieta adequada ($p < 0,01$).

Entretanto estudos realizados em humanos não encontraram correlação entre o zinco dietético ou plasmático com a expressão de mRNA ZnT-1 (FOSTER et al., 2011; ROCHA et al., 2011). Deve-se, porém, ressaltar que, além da pequena quantidade de estudos realizados em humanos acerca deste tema, estes foram realizados em amostras pequenas (40 – 55 indivíduos, respectivamente), limitando a investigação da presença deste tipo de correlação.

Dessa forma, destaca-se a importância da realização desses estudos em grupos maiores a fim de investigar a relação entre o zinco dietético ou plasmático e os padrões de expressão dos seus transportadores.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de crianças e sua relação com a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4)

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o estado nutricional relativo ao zinco das crianças por biomarcadores usuais;
- Avaliar a ingestão dietética de zinco pelas crianças;
- Comparar os indicadores antropométricos, dietéticos e sanguíneos com os padrões de expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco.

4 METODOLOGIA

4.1 POPULAÇÃO E DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo foi conduzido com crianças com idades entre 32 e 76 meses, matriculadas em creches filantrópicas da cidade de Aracaju, Sergipe. O tamanho da amostra foi estimado utilizando o *software* estatístico G*Power Versão 3.1.5 (Faul et al., 2009). Foi realizado o cálculo *a priori* para análise de correlação utilizando o teste t bicaudal adotando-se 0,05 como probabilidade de erro alfa, um poder de teste de 0,95 e uma perda amostral de 30%. Dessa forma, a amostra foi estimada em 134 indivíduos.

Não foram incluídas no estudo as crianças que estavam em tratamento médico por algum tipo de doença (aguda ou crônica), bem como fazendo uso de qualquer medicamento ou suplemento alimentar.

Os responsáveis pelas instituições filantrópicas foram convidados a participar de uma reunião com os avaliadores para que fosse explicado o projeto e sanadas eventuais dúvidas e, em seguida, os pais/responsáveis das crianças foram convidados a participar de uma segunda reunião na qual receberam informações sobre os objetivos e os benefícios do projeto, além de poderem esclarecer as suas dúvidas quanto ao mesmo. Neste momento, foi entregue para assinatura o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A). Neste documento foi garantido o anonimato dos participantes nos achados e que a recusa à participação no projeto não implicaria nenhum prejuízo para criança e para família.

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo sob CAAE: 12694413.5.0000.0067 (ANEXO B).

Foram realizadas medidas antropométricas, avaliação da ingestão alimentar e avaliações bioquímicas em todos os participantes.

4.2 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

As crianças foram pesadas e medidas segundo técnicas preconizadas pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2008). Para aferição da estatura foi utilizado um estadiômetro portátil ALTUREXATA (escala bilateral de 35 a 213 cm, resolução de 0,1 cm). O peso foi mensurado utilizando balança digital da marca Líder, modelo P-150M, com capacidade de 150 kg, graduação de 100g. Ambos os equipamentos foram previamente calibrados.

Os dados antropométricos foram tabulados e analisados com o auxílio dos *softwares WHO Anthro* (WHO, 2005), para crianças com idade até 60 meses, e *WHO AnthroPlus* (WHO, 2007a) para aquelas com idade superior a 60 meses.

Os índices antropométricos adotados para avaliar o estado nutricional das crianças foram estatura para idade (E/I), peso para idade (P/I) e IMC para idade (IMC/I) sendo expressos em escore-Z (WHO, 2006, 2007b). A utilização destes índices para avaliação de crianças também é recomendada pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2008).

Foram consideradas com déficit estatural as crianças que apresentaram $E/I < -2$ escore-Z e estatura adequada para a idade aquelas com $E/I \geq -2$ escore-Z. Para classificação do peso para idade adotou-se como baixo aqueles com índice $P/I < -2$ escore-Z, peso adequado entre ≥ -2 escore-Z e $< +2$ escore-Z e peso elevado para a idade $\geq +2$ escore-Z. Já para o IMC/I, aqueles que apresentaram $IMC/I < -2$ escore-Z foram classificados como baixo; $IMC/I \geq -2$ escore-Z e $< +1$ escore-Z foram considerados como adequado e com $IMC/I \geq +1$ escore-Z foram considerados como elevado para idade (sobrepeso e obesidade).

4.3 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR

O monitoramento da ingestão alimentar foi feito a partir do método de pesagem direta individual. Os alimentos servidos no prato da criança foram pesados em balança digital, com capacidade para 20kg. Cada porção de alimento foi pesada em triplicata para se obter um valor médio da quantidade de alimentos oferecidos

pela creche em cada refeição e calcular a sua respectiva proporção no prato. Os valores foram registrados em formulários próprios (ANEXO C). Cada criança foi observada individual e imparcialmente durante todas as refeições. As repetições e/ou restos foram pesados na sua totalidade e calculados por meio da proporcionalidade de cada item no prato da criança.

O consumo de alimentos fora da creche foi avaliado por meio de registro alimentar (ANEXO D). Todas as informações sobre como registrar os alimentos consumidos pelas crianças foram dadas aos pais ou responsáveis para ser preenchido no mesmo dia em que foi realizada a avaliação dentro da creche.

Foi realizada uma segunda análise de consumo em aproximadamente 50% da amostra ($n = 68$), selecionada aleatoriamente, baseando-se na premissa de que é possível coletar dados de uma subamostra e extrapolar os resultados da estimativa de variância de consumo intraindividual para toda a população avaliada (TOOZE et al., 2006). Segundo Verly-Jr et al. (2012), taxas de replicação superiores a 40% reduzem a perda na precisão das análises de consumo.

Esta segunda avaliação foi feita com intervalo de pelo menos um dia da primeira, repetindo-se os mesmos procedimentos.

As informações geradas foram utilizadas para identificar a estimativa de consumo médio individual. A ingestão energética e de nutrientes foi estimada pelo *software Nutrition Data System for Research* (NDSR, versão 2011, *Nutrition Coordinating Center, University of Minnesota*), cuja principal base de dados é a tabela norte-americana desenvolvida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Os alimentos regionais não existentes no *software* foram substituídos por alimentos com valores nutricionais semelhantes. Além disso, as concentrações de zinco nos alimentos foram corrigidas adotando-se os valores nacionais disponíveis na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO).

A ingestão de nutrientes foi ajustada pelo teor de energia da dieta, pelo método de resíduos proposto por Willet (1998), utilizando-se o *software* STATA versão 10.

A avaliação da ingestão alimentar dos macronutrientes foi realizada de acordo com a contribuição energética em percentual da ingestão calórica total, utilizando como recomendação a AMDR (*Acceptable Macronutrient Distribution Ranges*) proposta pelo *Institute of Medicine* (IOM, 2006). Os valores de AMDR recomendados de acordo com a faixa etária estão descritos no Quadro 1.

As crianças foram classificadas em três categorias de acordo com a recomendação da contribuição energética dos macronutrientes na dieta: abaixo da recomendação, parâmetro recomendado e acima da recomendação.

Quadro 1. Faixas de recomendação da distribuição de macronutrientes, em percentual de contribuição energética (AMDR), de acordo com a faixa etária.

Macronutriente	Faixa etária	
	1 – 3 anos	4 – 18 anos
Carboidrato	45 – 65%	45 – 65%
Proteína	5 – 20%	10 – 30%
Lipídio	30 – 40%	25 – 35%

Fonte: IOM, 2006.

AMDR – *Acceptable Macronutrient Distribution Ranges*

Para avaliar a ingestão de zinco, levou-se em consideração a importância do fitato na absorção do mineral. Dessa forma, a alimentação das crianças foi classificada segundo a biodisponibilidade baseada na razão molar fitato:zinco proposta pelo IZiNCG (2004). Dietas baseadas em cereais refinados, com razão molar ≤ 18 foram consideradas de biodisponibilidade adequada, enquanto dietas baseadas em cereais integrais, com razões fitato:zinco > 18 foram classificadas como de baixa biodisponibilidade.

Em seguida, foi determinada a adequação dietética de zinco, comparando a quantidade de zinco alimentar ingerido com as necessidades médias estimadas (EAR) de zinco segundo idade, sexo, estado fisiológico e tipo de dieta, segundo recomendações do IZiNCG (2004). O Quadro 2 apresenta uma comparação dos valores de EAR de acordo com a proposta do IOM (2006) e do IZiNCG (2004).

A prevalência de ingestão inadequada de zinco na população foi calculada utilizando a fórmula proposta por Beaton (1994):

$$z = (\text{EAR} - \text{média}) / \text{desvio padrão}$$

Os valores de EAR utilizados para avaliar a adequação da ingestão de zinco foram os propostos pelo IZiNCG, visto que este leva em consideração a biodisponibilidade do mineral de acordo com o padrão da dieta (predominância de cereais integrais ou refinados) e a quantidade de fitato (razão molar fitato:zinco).

Considerando que a faixa etária estudada possui valores de EAR diferentes de acordo com o parâmetro analisado (idade e biodisponibilidade de zinco na dieta), a avaliação da ingestão de zinco foi distribuída em quatro grupos, conforme recomendações descritas no Quadro 2.

Quadro 2. Recomendações de ingestão dietética de zinco (mg/dia) de acordo com os valores propostos pelo IOM (2006) e IZiNCG (2004), segundo a idade, gênero e a biodisponibilidade de zinco na dieta.

Idade	Gênero	DRI (IOM, 2006)			EAR (IZiNCG, 2004)	
					Biodisponibilidade de zinco	
		EAR	RDA	UL	Adequada	Baixa
1 – 3 anos	M + F	2,5	3,0	7,0	2,0	2,0
4 – 8 anos	M + F	4,0	5,0	12,0	3,0	4,0

Fonte: IOM, 2006; IZiNCG, 2004.

IZiNCG – *International Zinc Nutrition Consultative Group*

IOM – *Institute of Medicine*

EAR – Necessidade média estimada: é o valor de ingestão diária que se estima que supra a necessidade de metade (50%) dos indivíduos saudáveis de um determinado grupo.

RDA – Ingestão dietética recomendada: é o nível de ingestão dietética diária que é suficiente para atender as necessidades de praticamente todos (97 a 98%) os indivíduos saudáveis de um determinado grupo.

UL – Limite superior tolerável de ingestão: é o valor mais alto de ingestão diária continuada que aparentemente não oferece nenhum efeito adverso à saúde em quase todos os indivíduos.

4.4 CARACTERIZAÇÃO SÓCIOECONÔMICA

As informações referentes à renda mensal familiar, tipo de moradia, número de moradores em cada domicílio e outros aspectos socioeconômicos foram obtidas por meio de questionário específico (ANEXO E).

A classificação socioeconômica foi feita a partir do Critério de Classificação Econômica Brasil, utilizando-se o Questionário de Avaliação do Nível Social e Econômico da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisas (ABEP, 2012), que leva em consideração a presença e quantidade de eletrodomésticos e empregados no domicílio e a escolaridade do chefe da família.

4.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

As amostras sanguíneas foram coletadas utilizando 6 mL de sangue por punção venosa cubital, estando a criança em jejum de 8 horas. A coleta foi realizada na própria creche por uma técnica em enfermagem capacitada e as amostras foram armazenadas em isopor com gelo até serem transportadas para a Universidade Federal de Sergipe, onde ocorreu o processamento e armazenamento a -80°C . Todas as amostras foram transportadas em caixas térmicas com gelo seco, via aérea, para o Laboratório de Nutrição e Minerais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP, onde foram armazenadas a -80°C até o momento da análise.

4.5.1 Parâmetros bioquímicos de avaliação de zinco

Para avaliação do estado nutricional das crianças relativo ao zinco, as amostras sanguíneas foram coletadas em tubos de ensaio previamente desmineralizados contendo o citrato de sódio como anticoagulante (1 μL para cada mL de sangue). O plasma foi separado do sangue total por centrifugação a 3.000 rpm durante 15 minutos, sendo em seguida extraído com pipeta automática e acondicionado em tubos de polipropileno previamente desmineralizados. A massa eritrocitária obtida do sangue total foi lavada três vezes com 5 mL de solução fisiológica de NaCl a 0,9%, homogeneizada lentamente por inversão e centrifugada a 5.000 rpm por 20 minutos a 4°C , sendo o sobrenadante descartado. Após a última centrifugação, a solução fisiológica foi aspirada e a massa de eritrócito cuidadosamente extraída com micropipeta e armazenada em tubos de polipropileno desmineralizados.

A determinação das concentrações de zinco no plasma e nos eritrócitos foi realizada em duplicata por meio do método de espectrofotometria de absorção atômica de chama, proposta por Rodriguez et al. (1989) e Whitehouse et al. (1982), respectivamente. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g/dL}$ para a concentração plasmática do mineral e $\mu\text{g/gHb}$ para a concentração eritrocitária. Para este último parâmetro, os valores foram corrigidos pela concentração de hemoglobina, a qual foi

determinada por espectrofotometria, utilizando kit comercialmente disponível (Labtest, Lagoa Santa-Minas Gerais, Brasil).

O equipamento foi calibrado com soluções aquosas de glicerol a 3% e ácido nítrico a 1%, preparadas por diluição de padrão de zinco Tritisol[®] (MERCK[®]), nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1,0 µg/mL, sendo os resultados fornecidos em absorbância. Para verificar a exatidão das leituras das amostras, utilizou-se o padrão certificado de referência Seronorm[®].

Todo o material de vidro e polipropileno utilizado no estudo foi desmineralizado por meio de banho em solução de ácido nítrico a 30% por 12 horas, seguido de enxágue com água nanopura por dez vezes. Todos os reagentes utilizados possuíam grau de pureza analítica P.A. e a água utilizada em todos os procedimentos analíticos foi do tipo nanopura.

Os valores de referência adotados para as concentrações plasmáticas de zinco foram propostos pelo IZINCG (2004), constituindo deficiência valores < 65 µg/dL. Para as concentrações de zinco no eritrócito foram consideradas adequadas aquelas situadas entre 40 – 44 µg/gHb, segundo proposto por Guthrie e Picciano (1994).

4.5.2 Expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 e ZIP4

A extração do RNA foi realizada a partir de 500 µL de sangue total armazenados em RNA^{later}[®]. A opção por trabalhar a partir do sangue total foi devido ao reduzido volume de amostra exigido por este método, além do seu baixo custo e praticidade. Alguns estudos apontam que o isolamento de RNA a partir do sangue total é um método seguro, capaz de manter a estabilidade e preservar a qualidade do RNA (JOEHANES et al., 2011; NICK et al., 2013; SCHRAMM et al., 2014; SILVA et al., 2013).

Para extração do RNA, utilizou-se o kit RiboPure[™] – Blood Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), seguindo as instruções do fabricante. Após a extração, o RNA foi tratado com DNase I a fim de remover eventual contaminação com DNA genômico. Em seguida foi feita a leitura em espectrofotômetro (Nanodrop[®]) nos comprimentos de onda (λ) de 260nm (RNA) e 280nm (proteína). O RNA foi considerado íntegro e de boa qualidade quando a razão 260/280 foi maior

que 1,8 e menor que 2,0. As amostras que apresentaram razão fora desse intervalo foram descartadas.

Para determinação da concentração de RNA foi realizada a quantificação no Qubit® 2.0 Fluorometer, utilizando as recomendações do kit Qubit® RNA HS Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Os resultados foram obtidos em ng/μL. As amostras com concentrações inferiores a 15 ng/μL foram descartadas, tendo em vista que esta era concentração mínima padronizada.

A transcrição reversa do RNA total para cDNA foi realizada utilizando a enzima transcriptase reversa SuperScript® III First-Strand Synthesis SuperMix for qRT-PCR (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), seguindo as instruções do fabricante.

A quantificação do mRNA dos genes de interesse e do gene controle (β -actina), foi realizada por meio de seus respectivos cDNAs. As reações de PCR em tempo real (qPCR) foram realizadas em triplicata, em placas específicas de 96 poços no equipamento *StepOne Plus*, utilizando o sistema para detecção de produtos de amplificação “TaqMan® Gene Expression” (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Foram selecionados primers e sondas marcadas com fluoróforo FAM para todos os genes, sintetizados pela Invitrogen de acordo com sequências previamente publicadas (COUSINS et al., 2003), conforme Quadro 3.

Quadro 3. *Primers* utilizados na reação de PCR em tempo real (qRT-PCR).

mRNA humano	<i>Forward Primer</i>	<i>Reverse primer</i>
ZnT-1 NM021194	GGTGGCCAATACCAGCAACT	TGTACTTCCACTGTATCACCATTCTG
Zip-4 NP570901	GCGGCCTGTAAATACG	ACTTTCCACACGGCCCG
β -actina ACTB	CCACACTGTGCCCATCTACG	AGGATCTTCATGAGGTAGTCAGTCAG

Fonte: COUSINS et al., 2003.

Para cada reação foram utilizados 2 μL de cDNA (ajustado para uma concentração de 15 ng/μL em todas as amostras), 10 μL do TaqMan® Gene Expression Master Mix e 1 μL do TaqMan® Gene Expression Assays específico para cada gene. O volume foi completado com água autoclavada para completar um total

de 20 µL em cada poço. Todas as reações foram realizadas em triplicata, incluindo-se sempre o controle negativo da reação. As amostras foram submetidas à seguinte termociclagem: 50°C por 2 min; 95°C por 10 min seguidos de 40 ciclos a 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 min. Ao final, eram considerados válidos apenas os resultados cuja reação apresentasse curva de dissociação com apenas um pico, referente à temperatura de melting do primer utilizado em cada reação.

Os valores de Ct (*threshold cycle*) foram normalizados utilizando a β-actina como gene de referência. A expressão relativa dos transportadores de zinco foi calculada utilizando a fórmula proposta por Schmittgen e Livak (2008):

$$2^{-\Delta Ct} \quad (\Delta Ct = Ct_{\text{gene alvo}} - Ct_{\text{gene de referência}})$$

Este cálculo é utilizado em estudos que avaliam o perfil de expressão gênica em apenas um momento, não apresentando grupo de comparação (FOSTER et al., 2011; NOH et al., 2014; ROCHA et al., 2011; WEX et al., 2014).

Os resultados e análises da expressão gênica são expressos em unidades arbitrárias (UA) por 10^{-4} β-actina.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de consumo alimentar foram ajustados pela energia por meio do método de resíduos (WILLET; HOWE; KUSHI, 1997) e a ingestão habitual de nutrientes dos indivíduos foi estimada por meio de técnicas de modelagem estatística incorporadas na plataforma *online Multiple Source Method* (MSM). Essa técnica estatística permite a estimativa da ingestão habitual mesmo apresentando medida repetida do consumo alimentar em apenas uma subamostra (Haubrock et al. 2011).

A análise dos dados foi realizada no programa *Stata* versão 11. Foram calculadas medidas de tendência central (médias ou medianas), proporção e dispersão (desvio-padrão).

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Quando os dados apresentaram distribuição normal utilizou-se o teste t de *Student* para comparação de médias entre amostras independentes e, para as

análises de correlação, o coeficiente de *Pearson*. Para os dados não paramétricos, utilizou-se o teste de *Mann-Whitney* e o coeficiente de correlação de *Spearman*.

Para avaliar se havia diferença entre as prevalências descritas, realizou-se o teste para a diferença entre duas proporções. Todos os resultados foram considerados significativos quando o valor de *p* foi menor que 5%.

Foram construídos modelos de regressão linear generalizada com distribuição gama e função de ligação logarítmica para identificar a associação entre a expressão gênica das proteínas transportadoras ZnT1 e ZIP4 e o estado nutricional relativo ao zinco. Optou-se por este modelo visto que as variáveis de desfecho (expressão gênica das proteínas transportadoras ZnT1 e ZIP4) não apresentaram distribuição normal. As variáveis independentes testadas foram: classificação do IMC/idade (baixo/adequado/elevado), consumo de zinco (mg/dia), idade (anos), sexo (meninos/meninas), renda familiar (reais), consumo energético (kcal/dia).

Permaneceram nestes modelos as variáveis sexo, idade, renda e consumo energético. Para os demais modelos foram utilizadas as mesmas variáveis independentes com a finalidade de comparação. O parâmetro adequado em zinco (concentração plasmática ≥ 65 $\mu\text{g/dL}$) foi considerado como a referência durante a modelagem. Para esta análise utilizou-se somente a classificação de zinco no plasma, pois no eritrócito apenas uma criança encontrava-se acima do ponto de corte estabelecido, impossibilitando a comparação entre os grupos.

Para identificar a associação entre expressão gênica das proteínas transportadoras ZnT1 e ZIP4 e o consumo alimentar de zinco, foram construídos novos modelos de regressão linear generalizada com distribuição gama e função de ligação logarítmica. As variáveis independentes testadas foram: classificação do IMC/idade (baixo/adequado/elevado), estado nutricional de zinco (deficiência/concentração plasmática adequada), idade (anos), sexo (meninos/meninas), renda familiar (reais), consumo energético (kcal/dia).

Dessa forma, a variável independente testada foi o consumo alimentar de zinco (mg/dia), não sendo utilizada referência para a modelagem, sendo a interpretação linear, baseada no efeito que o aumento do consumo de zinco provoca na expressão gênica do transportador. Permaneceram nestes modelos as variáveis sexo, a idade, a renda familiar, o estado nutricional de zinco e o consumo energético. Para os demais modelos foram utilizadas as mesmas variáveis independentes com a finalidade de comparação.

O método de seleção das variáveis em todas as análises descritas foi o *stepwise-forward*, com preferência ao modelo mais parcimonioso e que apresentasse melhor ajuste segundo gráficos de avaliação. Os coeficientes de regressão foram exponenciados e o p-valor foi determinado pelo teste de *Wald*.

4.7 FINANCIAMENTO DO ESTUDO

O presente estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), modalidade auxílio à pesquisa, processo número 2012/24762-4. A concessão da bolsa de mestrado foi por meio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

5 RESULTADOS

Participaram do estudo 139 crianças com idade mínima de 32 meses e máxima de 76, apresentando média de 56,3 meses (DP = 11,1 meses). A distribuição das crianças por faixa etária, em anos, mostrou que 85,6% encontravam-se na idade pré-escolar (3 |- 6 anos) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição das crianças por faixa etária (anos), n=139. Aracaju, 2013.

Faixa etária (anos)	n	%
< 3	4	2,9
3 - 4	29	20,8
4 - 5	50	36,0
5 - 6	40	28,8
≥ 6	16	11,5

A caracterização socioeconômica da população é apresentada na Tabela 2. O questionário socioeconômico foi aplicado em 124 famílias do total de 139 participantes. A perda de aproximadamente 10% é justificada pela recusa de alguns participantes em responder às perguntas (2,9%) e porque alguns pais/responsáveis não foram encontrados (7,9%). Além disso, o número de participantes que responderam ao questionário variou de acordo com a variável descrita, pois algumas perguntas o participante não soube ou se recusou a responder.

Observou-se que a maioria das famílias avaliadas era chefiada pela mãe (41,9%), sendo que mais de 70% delas possuíam mais de oito anos de estudo e 76,6% possuíam algum tipo de vínculo empregatício.

Mais de 30% dos domicílios eram habitados por 5 a 8 pessoas e 3,3% ainda não dispunham de condições sanitárias básicas, utilizando fossa do tipo rudimentar. A maioria das famílias possuía renda de um a três salários mínimos e pertencia à classe C.

Tabela 2. Caracterização socioeconômica das famílias das crianças institucionalizadas participantes do estudo. Aracaju, 2013.

Variável	n	%
Chefe da família (n=124)		
Pai	33	26,6
Mãe	52	41,9
Avós	19	15,3
Outros	20	16,2
Escolaridade materna (anos de estudo) (n=123)		
≤ 3 anos	12	9,8
4 – 7 anos	24	19,5
≥ 8 anos	87	70,7
Vínculo empregatício (n=124)		
Sim	95	76,6
Não	29	23,4
Nº pessoas por domicílio (n=124)		
Até 4	79	63,7
5 – 8	39	31,5
≥ 9	6	4,8
Renda familiar (salário mínimo)^a (n=122)		
< ½	7	5,7
½ a 1	8	6,6
1 a 3	96	78,7
> 3	11	9,0
Esgotamento sanitário (n=124)		
Rede pública	89	71,7
Fossa séptica	24	19,4
Fossa rudimentar	4	3,3
Não sabe	7	5,6
Classe econômica (n=124)		
A	2	1,6
B	12	9,7
C	82	66,1
D	26	21,0
E	2	1,6

Valores apresentados em frequência absoluta e relativa.

O número de participantes variou de acordo com a variável analisada, sendo descrito em cada uma delas.

^a R\$ 678,00 (salário mínimo vigente no ano de 2013)

A avaliação antropométrica mostrou que 3,6% das crianças avaliadas foram classificadas em baixa estatura/idade e baixo peso/idade, enquanto 27,3% delas apresentaram IMC elevado para a idade (sobrepeso e obesidade). Não houve diferença estatística na classificação antropométrica entre os gêneros ($p>0,05$ para todas as classificações).

Tabela 3. Percentual das crianças avaliadas de acordo com a classificação dos índices antropométricos propostos pela WHO (2006). Aracaju, 2013.

Índices antropométricos	Meninos (n=64)	Meninas (n=75)	Todos (n=139)
Estatura/idade			
Baixa	2 (3,1%)	3 (4,0%)	5 (3,6%)
Adequada	62 (96,9%)	72 (96,0%)	134 (96,4%)
Peso/idade			
Baixo	2 (3,1%)	3 (4,0%)	5 (3,6%)
Adequado	58 (90,6%)	66 (88,0%)	124 (89,2%)
Elevado	4 (6,3%)	6 (8,0%)	10 (7,2%)
IMC/idade			
Baixo	3 (4,7%)	0	3 (2,2%)
Adequado	42 (65,6%)	56 (74,7%)	98 (70,5%)
Elevado	19 (29,7%)	19 (25,3%)	38 (27,3%)

Valores apresentados em frequência absoluta (frequência relativa).

Para avaliar a ingestão alimentar das crianças, levou-se em consideração a adequação dos macronutrientes de acordo com a recomendação da AMDR (IOM, 2006). A figura 3 mostra a proporção de crianças com ingestão de macronutrientes de acordo com a adequação em percentual da ingestão energética. Nesta avaliação, apenas um participante foi excluído devido a não contribuição da família em reportar o consumo de alimentos fora da creche. Portanto, a avaliação da ingestão alimentar foi realizada com 138 participantes.

Observou-se que 34,1% das crianças apresentaram ingestão de carboidrato superior à recomendação, enquanto 10,1% estavam com ingestão abaixo do recomendado. Já em relação à ingestão de proteína, nenhuma criança ultrapassou a recomendação e 5,1% apresentaram consumo abaixo da AMDR. A ingestão de lipídio pelas crianças foi a que apresentou maior percentual de inadequação, visto que 63% ingeriram abaixo da faixa de recomendação (figura 3).

Figura 3. Proporção de crianças institucionalizadas de acordo com a recomendação de contribuição energética dos macronutrientes encontrado nas dietas avaliadas (n=138). Aracaju, 2013.

A ingestão alimentar habitual de zinco e fitato é apresentada na Tabela 4 de acordo com o gênero. Não houve diferença entre meninos e meninas

Tabela 4. Ingestão habitual zinco e fitato de crianças institucionalizadas de acordo com o gênero (n=138). Aracaju, 2013.

Nutrientes	Meninos (n=63)	Meninas (n=75)	<i>p</i>
Zinco (mg/dia)	6,1 ± 1,3	5,9 ± 1,2	0,873
Fitato (mg/dia)	848,8 ± 122,1	872,8 ± 87,8	0,221
Razão molar fitato:zinco	14,5 ± 3,6	15,2 ± 3,9	0,652

Valores apresentados em média ± desvio padrão.

Valor de *p* calculado pelo teste Mann-Whitney para comparação entre os grupos.

A Figura 4 apresenta a distribuição da ingestão de zinco de acordo com a faixa etária e a biodisponibilidade deste na dieta. A dieta foi considerada de baixa biodisponibilidade de zinco (razão molar fitato:zinco >18) em 18,1% das crianças, enquanto 81,9% foram classificadas como dieta de biodisponibilidade adequada (razão molar fitato:zinco ≤18).

Nenhuma criança da faixa etária de 1 a 3 anos apresentou consumo inadequado de zinco. No entanto, para as crianças de 4 a 8 anos, a prevalência de inadequação aumentou de 2,1% para 6,9% quando a biodisponibilidade da dieta diminuiu.

Figura 4. Distribuição do consumo de zinco segundo a sua biodisponibilidade na dieta. Dieta de baixa biodisponibilidade possui razão molar fitato:zinco >18 e dieta de biodisponibilidade adequada possui razão molar fitato:zinco ≤ 18 . As linhas pontilhadas em vermelho destacam a EAR para a faixa etária especificada no gráfico e as linhas azuis representam a mediana da distribuição.

DIETA DE BAIXA BIODISPONIBILIDADE

DIETA DE BIODISPONIBILIDADE ADEQUADA

A Figura 5 apresenta a distribuição das crianças de acordo com a concentração de zinco plasmático e eritrocitário. A concentração média de zinco no plasma foi de 74,21 $\mu\text{g/dL}$ (DP=13,42 $\mu\text{g/dL}$), com prevalência de deficiência de 26,6%. Já nos eritrócitos, a concentração média foi de 26,54 $\mu\text{gZn/g Hb}$ (DP=5,62 $\mu\text{gZn/g Hb}$) e 99,3% das crianças encontravam-se abaixo do ponto de corte estabelecido.

Figura 5. Distribuição das crianças avaliadas de acordo com a concentração de zinco plasmático ($\mu\text{g/dL}$) e eritrocitário ($\mu\text{g/gHb}$). As linhas pontilhadas em vermelho sinalizam os pontos de corte propostos pelo IZiNCG (2004) para o plasma (65 $\mu\text{g/dL}$) e por Guthrie e Picciano (1994) para o eritrócito (40 – 44 $\mu\text{g/gHb}$).

As crianças com deficiência de zinco plasmático possuíam média de idade significativamente menor em relação àquelas com zinco plasmático adequado. Entretanto, não houve diferença nas médias de escore-z dos indicadores antropométricos E/I, P/I e IMC/I entre estes grupos (Tabela 5).

Ao comparar o consumo alimentar habitual entre estes mesmos grupos, observou-se que as crianças com deficiência de zinco apresentaram ingestão média de carboidrato significativamente menor. A ingestão de energia e dos demais macronutrientes não diferiu entre os grupos, bem como o consumo de zinco e fitato.

Tabela 5. Comparação das médias de idade, indicadores antropométricos e ingestão alimentar habitual de acordo com a classificação plasmática de zinco das crianças avaliadas. Aracaju, 2013.

	Adequado ($\geq 65 \mu\text{g/dL}$)	Deficiente ($< 65 \mu\text{g/dL}$)	<i>p</i>
Idade (meses)	57,45 $\pm$ 11,11	52,95 $\pm$ 10,67	0,024
Estatura/idade (escore-z)	0,078 $\pm$ 1,317	-0,079 $\pm$ 1,069	0,479
Peso/idade (escore-z)	0,311 $\pm$ 1,337	0,201 $\pm$ 1,123	0,514
IMC/idade (escore-z)	0,388 $\pm$ 1,361	0,383 $\pm$ 1,074	0,869
Consumo alimentar habitual			
Energia (kcal/dia)	1648,77 $\pm$ 263,12	1599,34 $\pm$ 257,56	0,418
Carboidrato (g/dia)	250,46 $\pm$ 42,99	229,05 $\pm$ 25,52	0,004
Proteína (g/dia)	58,60 $\pm$ 8,09	56,01 $\pm$ 6,82	0,095
Lipídio (g/dia)	45,27 $\pm$ 4,16	44,09 $\pm$ 3,41	0,084
Zinco (mg/dia)	6,02 $\pm$ 1,31	5,99 $\pm$ 1,11	0,838
Fitato (mg/dia)	861,94 $\pm$ 86,24	861,60 $\pm$ 146,41	0,576
Razão molar fitato:zinco	14,89 $\pm$ 3,74	14,85 $\pm$ 3,89	0,952

Valores apresentados em média $\pm$ desvio padrão.

Valor de *p* calculado pelo teste Mann-Whitney para comparação entre os grupos.

Para avaliar a relação do estado nutricional relativo ao zinco com os mecanismos moleculares que regulam a sua homeostase, foi analisada a expressão gênica de duas proteínas envolvidas no transporte celular do mineral, ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4). Nesta análise foram incluídos 113 indivíduos dos 139 participantes, pois algumas amostras foram excluídas após as análises de pureza e quantificação do RNA apresentarem valores fora dos padrões adotados para este estudo.

A figura 6 apresenta os valores da expressão gênica das duas proteínas em relação à β -actina ($\times 10^4$) (controle endógeno) de acordo com a classificação plasmática de zinco (adequado ou deficiente). O mRNA ZnT1 foi o transportador que apresentou maior expressão relativa no sangue, sendo significativamente maior entre as crianças com deficiência de zinco plasmático. A média da expressão gênica do ZIP4 não diferiu entre os grupos.

Figura 6. Expressão gênica (mRNA) dos transportadores de zinco ZnT1 e ZIP4 em relação à β -actina ($\times 10^4$) de acordo com a classificação plasmática de zinco das crianças avaliadas. Aracaju, 2013.

*Valor de p calculado pelo teste Mann-Whitney para comparação entre os grupos. Valores apresentados em média ($n=113$).

As análises de correlação entre as concentrações de zinco plasmático e eritrocitário com a expressão gênica relativa dos transportadores ZnT1 e ZIP4 estão descritas na Figura 7. Observa-se que não houve correlação entre os parâmetros analisados ($p>0,05$).

Entretanto, a análise de regressão gama mostrou que o estado nutricional de zinco tem influência na expressão gênica das proteínas transportadoras ZnT1 e ZIP4 (Tabela 6).

Figura 7. Correlação de *Spearman* entre a expressão de mRNA ZnT1 e mRNA ZIP4 com o zinco plasmático ($\mu\text{g/dL}$) e eritrocitário ($\mu\text{gZn/gHb}$) ($n=113$). Os valores de expressão gênica dos transportadores são relativos à β -actina ($\times 10^4$).

Após o ajuste do modelo de regressão pelo sexo, idade, renda familiar e consumo energético das crianças (Tabela 6), observou-se que as crianças com deficiência de zinco apresentaram expressão do mRNA ZnT1 aproximadamente 37% maior em relação às crianças com zinco adequado ($p=0,028$). Já para o mRNA ZIP4, observou-se que as crianças com deficiência de zinco apresentaram uma expressão aproximadamente 45% menor em relação àquelas sem deficiência ($p=0,013$).

Tabela 6. Modelo de regressão gama entre a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 e ZIP4 e a deficiência de zinco plasmático em crianças institucionalizadas. Aracaju, 2013.

Variáveis	Modelo não ajustado		Modelo ajustado*	
	β	p	β_{ajustado}	p
ZnT1				
Parâmetro adequado em zinco	1,0	-	1,0	-
Deficiência em zinco (< 65 µg/dL)	1,206	0,167	1,371	0,028
ZIP4				
Parâmetro adequado em zinco	1,0	-	1,0	-
Deficiência em zinco (< 65 µg/dL)	0,541	0,004	0,547	0,013

β - Coeficiente exponenciado.

*Modelo ajustado pelo sexo, idade, renda familiar e consumo energético.

Para avaliar a influência do consumo zinco na expressão gênica destas proteínas, o mesmo modelo de regressão gama foi aplicado utilizando como variável independente a ingestão alimentar habitual de zinco, não categorizado. Não foram observadas relações entre o consumo e a expressão gênica, mesmo após o ajuste do modelo pelo sexo, idade, renda familiar, estado nutricional e consumo energético das crianças (Tabela 7).

Tabela 7. Modelo de regressão gama entre a expressão gênica das proteínas ZnT1 e ZIP4 e a ingestão alimentar de zinco em crianças institucionalizadas. Aracaju, 2013.

Variáveis	Modelo não ajustado		Modelo ajustado*	
	β	p	β_{ajustado}	p
ZnT1				
Ingestão habitual de zinco (mg)	1,667	0,276	1,037	0,550
ZIP4				
Ingestão habitual de zinco (mg)	0,974	0,688	0,949	0,597

β - Coeficiente exponenciado.

*Modelo ajustado pelo sexo, idade, renda familiar, estado nutricional e consumo energético.

6 DISCUSSÃO

A avaliação do estado nutricional relativo ao zinco de crianças é de grande relevância, uma vez que baixas concentrações corporais deste mineral estão associadas ao comprometimento do crescimento e desenvolvimento infantil (BROWN et al., 2002).

A Organização Mundial da Saúde (WHO) recomenda a utilização do indicador antropométrico estatura para idade (E/I) para avaliar o déficit de crescimento em crianças. Ele expressa o desempenho do crescimento linear na infância e, nesta medida, sintetiza a história do estado nutricional da criança desde o nascimento, refletindo tanto a adequação da energia da dieta como de micronutrientes quanto ao seu histórico de estado de saúde (BRASIL, 2009; WHO, 1995).

No presente estudo, 3,6% das crianças avaliadas apresentaram déficits de E/I. Segundo a WHO (1995), o risco de desnutrição infantil na população é virtualmente nulo quando essa proporção é semelhante à encontrada na distribuição de referência (2 a 3% das crianças), aumentando progressivamente à medida que a frequência daquele déficit ultrapasse e se distancie deste limiar.

Essa prevalência é inferior aos dados nacionais observados na Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2008-2009) e na Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS 2006), cujas prevalências de déficits de E/I em crianças menores de 5 anos foram de 6,0 e 7,0%, respectivamente (BRASIL, 2009, 2010). No entanto, a PNDS 2006 aponta um declínio da desnutrição infantil nos últimos anos, sugerindo quatro fatores que o justificam. Em ordem de importância destacam-se o aumento da escolaridade das mães, o crescimento do poder aquisitivo dos estratos mais pobres da população (com migração substancial da classe E para as classes D e C de consumo), a expansão da assistência à saúde materno-infantil e a ampliação das redes públicas de abastecimento de água e de coleta de esgoto (BRASIL, 2009).

Por outro lado, observa-se um aumento marcante da prevalência de excesso de peso na população. A POF 2008-2009 mostrou que, entre as crianças de 5 a 9 anos, a prevalência de excesso de peso excede em mais de oito vezes a frequência

de déficit de peso, sendo aquele diagnosticado em cerca de um terço das crianças desta faixa etária (BRASIL, 2010).

O estudo Nutri Brasil Infância – projeto multicêntrico cujo objetivo principal foi avaliar o estado nutricional de crianças em idade pré-escolar de diversas cidades do país – observou que 28% das crianças avaliadas estavam acima do peso (BUENO et al., 2013).

Esses dados sugerem que o excesso de peso entre as crianças pode ser considerado um problema de saúde pública e deve ser monitorado, uma vez que constitui fator de risco para o desenvolvimento precoce de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e aumenta a morbimortalidade por doenças cardiovasculares na idade adulta (MUST et al., 1992; STYNE, 2001).

Dentre as causas do aumento de peso corporal na infância, o desequilíbrio entre ingestão e gasto energético apresenta-se como uma das causas ambientais mais influentes (ROSENBAUM; LEIBEL, 1998). Existem diversas fórmulas para calcular a necessidade energética estimada (EER) de um indivíduo, cujo principal objetivo é fornecer uma estimativa média do intervalo dentro do qual o gasto energético pode variar. Entretanto, uma das formas de avaliar a adequação da ingestão energética de um indivíduo é por meio do IMC, visto que valores acima da faixa de referência estão fortemente relacionados ao consumo energético acima da necessidade (IOM, 2006).

A alta prevalência de excesso peso observada nas crianças avaliadas sugere que estas apresentam um consumo energético superior às suas necessidades. Além disso, a avaliação da ingestão de macronutrientes de acordo com a AMDR demonstrou que o consumo de carboidratos está acima do recomendado em 34,1% dos participantes. Essa proporção é superior à observada no estudo Nutri Brasil Infância, no qual menos de 10% das crianças de escolas públicas apresentaram consumo elevado de carboidratos (BUENO et al., 2013).

As crianças têm preferência inata pelo sabor doce e são predispostas aos alimentos com alta densidade calórica, que geram maior sensação de saciedade e costumam ter boa palatabilidade. Por isso, optam por alimentos ricos em carboidratos e açúcares refinados, em detrimento das frutas e verduras (BIRCH; FISHER, 1998). Por outro lado, as propagandas, as embalagens e os rótulos atrativos estimulam o consumo excessivo desses alimentos, que geralmente são pobres em vitaminas e minerais (PONTES et al., 2009).

O consumo elevado de açúcares entre crianças está associado ao aumento do peso corporal, maior resistência à insulina e maior risco de desenvolver o diabetes mellitus tipo 2 (DEBOER; SCHARF; DEMMER, 2013; HU; MALIK, 2010; MALIK et al., 2010). Além disso, grande parte dos alimentos industrializados ricos em açúcar, como as bebidas adoçadas do tipo refrigerante e sucos artificiais, são amplamente consumidos pelas crianças, implicando uma ingestão calórica acima da necessidade sem, no entanto, atingir as necessidades diárias de vitaminas e minerais (FRARY et al., 2004; RADER et al., 2014).

A avaliação da ingestão dietética de zinco é importante não somente para observar a ingestão de zinco total, mas também para estimar a quantidade biodisponível desse mineral, sendo um indicador inicial para avaliar o risco de deficiência em uma população (DE BENOIST et al., 2007). Além disso, como já mencionado, o fitato causa efeito negativo na absorção de zinco e deve ser levado em consideração durante a avaliação do consumo alimentar (HAMBIDGE et al., 2010).

No presente estudo, a média de ingestão habitual de zinco (6,0 mg/dia) foi superior à EAR para crianças, semelhante ao observado em outros estudos com crianças pré-escolares institucionalizadas (CASTRO et al., 2014; TAVARES et al., 2012).

Ao avaliar a prevalência de consumo abaixo da EAR de acordo com a característica da dieta, observou-se que nenhuma criança da faixa etária de 1 a 3 anos apresentou consumo inadequado de zinco, mesmo considerando a dieta de baixa biodisponibilidade. Vale ressaltar que, para esta faixa etária, a EAR proposta pelo IZiNCG não muda com a baixa biodisponibilidade de zinco na dieta. No entanto, para as crianças de 4 a 8 anos, a EAR aumenta quando a biodisponibilidade da dieta é baixa. Assim, a prevalência de inadequação para esta faixa etária passou de 2,1% para 6,9% quando a biodisponibilidade da dieta mudou de adequada para baixa, respectivamente.

Apesar de o método de avaliação do consumo alimentar empregado neste estudo – a pesagem direta de alimentos – ser considerado o método que confere menor erro na determinação das porções consumidas (GIBSON, 2005; TUCKER, 2007), o registro alimentar – preenchido pelos pais/responsáveis para avaliar o consumo de alimentos fora da creche – pode subestimar a variação intrapessoal da ingestão alimentar (BURROWS et al., 2010).

Castro et al. (2014) avaliaram a variabilidade do consumo alimentar de crianças pré-escolares institucionalizadas e observaram que, para se obter uma alta confiabilidade nas estimativas de ingestão de nutrientes, são necessários números elevados de avaliações dietéticas. Além disso, a depender da razão de variância, cada nutriente necessita de um número maior ou menor de dias avaliados. O zinco, por exemplo, possui uma alta variância intrapessoal, sendo necessários aproximadamente 10 dias de avaliação para se obter uma estimativa mais precisa do seu consumo.

Sugere-se, portanto, uma interpretação cautelosa da avaliação do consumo alimentar, pois o consumo não é diagnóstico de um excesso ou falta de nutrientes, ele é apenas um indicador indireto do estado nutricional (GIBSON, 2005).

O principal indicador recomendado pelo IZiNCG para avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de uma população é a concentração do mineral no soro ou plasma. Ele é o indicador bioquímico mais utilizado e o único com dados populacionais de referência para diversas faixas etárias. De acordo com este parâmetro, as crianças avaliadas neste estudo apresentam alto risco de deficiência de zinco, visto que prevalências superiores a 20% em uma determinada população indicam risco elevado para o seu desenvolvimento (IZiNCG, 2004).

Além da utilização do zinco plasmático, o IZiNCG recomenda dois outros indicadores que podem ser utilizados como evidências sugestivas sobre o risco de deficiência de zinco: a prevalência de desnutrição crônica em crianças menores de 5 anos e a prevalência de inadequação do consumo de zinco. De acordo com estes dois parâmetros isolados, os indivíduos avaliados apresentariam baixo risco para desenvolver deficiência do mineral, destacando-se, assim, a importância de combinar indicadores para esse diagnóstico populacional.

Na presença da obesidade, a associação destes marcadores torna-se ainda mais importante, visto que diversos estudos têm demonstrado que as concentrações plasmáticas e/ou eritrocitárias de zinco são menores em indivíduos obesos, mesmo que a ingestão alimentar esteja adequada (FERRO et al., 2011; MARREIRO; FISBERG; COZZOLINO, 2004; ROCHA et al., 2011). Isso porque o tecido adiposo armazena grande quantidade de zinco, dificultando a sua redistribuição tecidual, podendo, contudo, ser revertida com a perda de gordura corporal (FREIRE; FISBERG; COZZOLINO, 2013; SMIDT et al., 2007).

Dessa forma, recomenda-se a avaliação de diversos parâmetros para minimizar o erro associado ao diagnóstico populacional, pois a elevada prevalência de obesidade observada entre as crianças pode causar um viés na interpretação dos resultados. Contudo, vale ressaltar que no presente estudo não foram observadas diferenças entre as concentrações de zinco plasmático e eritrocitário de acordo com a classificação do IMC/I (dados não apresentados).

A avaliação da concentração de zinco nos eritrócitos é pouco explorada na literatura, no entanto, constitui-se em uma avaliação que reflete o estado nutricional do indivíduo por um período mais longo, uma vez que a meia-vida dos eritrócitos é de 120 dias, sendo útil, portanto, para o diagnóstico de deficiência crônica de zinco (SANDSTRÖM, 2001). De acordo com este parâmetro, 99,3% das crianças avaliadas encontram-se abaixo do ponto de corte proposto por Guthrie e Picciano (1994) para concentrações ajustadas pela concentração de hemoglobina.

A concentração de zinco nos eritrócitos possui menor influência de processos inflamatórios em comparação ao plasma. Mesmo em indivíduos com resposta inflamatória aguda não são observadas variações significativas neste marcador, enquanto a concentração plasmática varia significativamente em resposta à inflamação (OAKES et al., 2008; STEFANOWICZ et al., 2014).

Contudo, vale ressaltar que não há padronização da unidade para essa mensuração nem valores de referência estabelecidos para crianças, dificultando as interpretações e as comparações entre estudos (GIBSON et al., 2008). Fato este demonstrado por Iolascon e Perrone (1985) ao verificarem que a concentração de zinco eritrocitário aumenta significativamente durante os primeiros anos de vida. Até os quatro anos de idade essa concentração é significativamente menor que a observada em adultos, ressaltando que devem ser propostos pontos de corte específicos para as diversas faixas etárias.

Kenney et al. (1984) propuseram avaliar o zinco eritrocitário em adolescentes do sexo feminino utilizando valores ajustados pela concentração de hemácias, sendo consideradas baixas concentrações aquelas inferiores a 8 µg/g hemácia. Utilizando essa proposta, Chiplonkar e Kawade (2014) avaliaram 403 adolescentes indianas e identificaram uma prevalência de deficiência eritrocitária em 23,6% das participantes.

Mahmoodi e Kimiagar (2001) avaliaram o zinco eritrocitário em 835 adolescentes iranianos e, ao adotar 12 µg/mL como ponto de corte, observaram uma

prevalência de deficiência em 78,5% dos avaliados. Ao utilizar 10 µg/mL como ponto de corte, conforme proposto por Brody (1994), essa prevalência diminuiu para 49,0%.

Utilizando este mesmo ponto de corte, Michelazzo, Fisberg e Cozzolino (2005) observaram que 74,4% dos pré-escolares avaliados em São Paulo apresentavam deficiência eritrocitária de zinco (<10 µg/mL). Entretanto, quando o zinco eritrocitário foi ajustado pela concentração de hemoglobina, a prevalência aumentou para 90,7%, considerando deficiência os valores abaixo de 40 µg/g Hb.

A avaliação do zinco eritrocitário ajustado pela concentração de hemoglobina é uma forma de contornar a possível imprecisão associada à análise, evitando a distribuição desigual de amostragem em massa de células vermelhas do sangue, sendo considerada a melhor forma de expressar os resultados (VITOUX; ARNAUD; CHAPPUIS, 1999).

A avaliação da prevalência da deficiência de zinco em populações é fundamental para determinar a necessidade de intervenções, bem como para monitorar a efetividade destas. A falta de indicadores bioquímicos específicos dificulta tanto a avaliação individual quanto populacional (DE BENOIST et al, 2007).

Devido a mecanismos homeostáticos eficientes, a concentração plasmática de zinco em um indivíduo é mantida dentro de um intervalo relativamente estreito de valores, mesmo quando o consumo alimentar está abaixo ou acima da necessidade individual. Assim, reduções nas concentrações plasmáticas de zinco somente são detectadas quando a depleção de zinco é grave ou prolongada (HAMBIDGE, 2003; NEGGERS et al., 1997; SIAN et al., 1996).

Portanto, há uma forte demanda por biomarcadores que possam responder a alterações sutis no *status* de zinco corporal, bem como detectar estados subclínicos da deficiência em curto prazo, antes mesmo do surgimento de sintomas. Alguns pesquisadores têm buscado técnicas moleculares para avaliar a expressão do mRNA de proteínas transportadoras de zinco, elucidando mecanismos transcricionais envolvidos na homeostase do mineral (EIDE, 2006; HAMBIDGE, 2000). Dessa forma, pretende-se avaliar o efeito de uma intervenção dietética na modulação da homeostase corporal de zinco. No entanto, é preciso analisar a relação existente entre consumo e/ou estado nutricional com o padrão de expressão das diversas proteínas envolvidas na captação e compartimentalização celular do mineral.

Dentre as proteínas transportadoras de zinco, a ZnT1 e a ZIP4 estão entre as mais estudadas por estarem fortemente relacionadas com a homeostase corporal frente às mudanças dietéticas (COUSINS, 2010; WANG; ZHOU, 2010).

O ZnT1 encontra-se amplamente distribuído pelos tecidos do corpo humano, enquanto o ZIP4 localiza-se predominantemente no intestino delgado (LIUZZI; COUSINS, 2004; MCMAHON; COUSINS, 1998). Isso explica a maior expressão gênica relativa do mRNA ZnT1 em comparação ao ZIP4, conforme observado nesse estudo.

Nesse estudo, as análises de correlação mostraram que não houve associação entre as concentrações de zinco plasmático ou eritrocitário com a expressão gênica relativa dos transportadores ZnT1 e ZIP4. Este resultado foi semelhante ao encontrado no estudo de Sun et al. (2013), no qual avaliaram a expressão gênica de transportadores de zinco em células mononucleares de sangue periférico (PBMC) em crianças com idade entre quatro e dez anos e não observaram correlação entre o mRNA dos transportadores e a concentração sérica de zinco.

Outros estudos realizados em humanos também não encontraram correlação entre a concentração de zinco plasmático e a expressão gênica dos transportadores (FOSTER et al., 2011; ROCHA et al., 2011). Ressalta-se, contudo, que os estudos citados não avaliaram a relação entre o estado nutricional de indivíduos relativo ao zinco e a expressão gênica destas proteínas para investigar se os indivíduos com deficiência do mineral possuíam padrões de expressão diferentes.

Nesse contexto, os resultados do presente estudo reforçam a existência dessa relação. A análise de regressão gama mostrou que as crianças com deficiência de zinco apresentaram expressão gênica dos transportadores significativamente diferentes das crianças com zinco adequado. A expressão do mRNA ZnT1 foi maior entre as crianças com deficiência, enquanto do mRNA ZIP4 foi menor.

Estudos em ratos mostraram que o ZnT1 apresenta maior expressão quando há um alto consumo de zinco na dieta, sendo reduzido à medida que a dieta torna-se deficiente (DAVIS; MCMAHON; COUSINS, 1998; LIUZZI; BLANCHARD; COUSINS, 2001). Entretanto, Cragg et al. (2005), ao analisarem biópsias de intestino humano, observaram que a expressão gênica e proteica do ZnT1 foram menores em indivíduos que receberam suplementação de zinco em comparação

àqueles que receberam placebo, possuindo comportamento oposto àquele observado em ratos.

Essa divergência foi atribuída às diferenças existentes nas respostas regulatórias de humanos frente à suplementação em curto prazo (duas semanas), pois esta não foi capaz de aumentar a concentração plasmática de zinco nos indivíduos avaliados, diferente do observado por McMahon e Cousins (1998), cuja suplementação em ratos durante uma semana aumentou significativamente a concentração plasmática do mineral.

Dessa forma, Cragg et al. (2005) sugerem existir uma relação inversa da expressão gênica do ZnT1 com a concentração plasmática de zinco em humanos, semelhante ao observado no presente estudo.

O transportador ZIP4, por sua vez, possui função oposta ao ZnT1, sendo responsável pela captação celular de zinco. Dufner-Beattie et al. (2003) demonstraram, em ratos, que a sua expressão aumenta com uma dieta deficiente em zinco e diminui após a suplementação. Em humanos esse efeito também foi confirmado por Cragg et al. (2005) após observar que indivíduos suplementados apresentaram menor concentração intestinal da proteína ZIP4 em relação ao grupo placebo.

A comparação destes resultados com a literatura disponível é limitada, uma vez que o presente estudo é do tipo transversal e não observou qualquer efeito da dieta na expressão dos transportadores, ressaltando apenas que o estado nutricional possui relação com estes transportadores. Grande parte dos estudos realizados até o momento são do tipo longitudinal ou caso-controle, cujos objetivos foram avaliar a mudança na expressão gênica de acordo com a ingestão dietética ou suplementação de zinco.

Embora os estudos não relacionem o estado nutricional dos indivíduos quanto ao zinco com a expressão do ZIP4, sabe-se que este transportador encontra-se altamente expresso no intestino delgado em períodos de baixa ingestão dietética de zinco, possuindo papel relevante na absorção do mineral (CRAGG et al., 2005; WEAVER et al., 2007). Portanto, espera-se que indivíduos com deficiência deste mineral apresentem maior expressão do ZIP4 visando aumentar a absorção dietética de zinco, o que não foi observado no presente estudo.

A regulação da transcrição de ZIP4 está relacionada com o fator de transcrição KLF4, que é induzido durante a restrição de zinco (LIUZZI et al., 2009).

Contudo, vale ressaltar que o consumo de zinco entre as crianças com deficiência do mineral apresentava-se substancialmente acima das necessidades, podendo contribuir com este resultado, uma vez que os estudos só observaram aumento da expressão do ZIP4 quando a dieta apresentava deficiência do mineral, não sendo descrita na literatura essa relação com o estado nutricional.

Outro fator que pode influenciar a interpretação dos resultados é a avaliação da expressão gênica em detrimento da proteica. A expressão do gene não representa necessariamente a síntese de uma determinada proteína, existindo diferenças significativas na avaliação de ambas. Alguns autores observaram diferenças na expressão gênica e proteica dos transportadores na comparação do mRNA do sangue com a quantificação da proteína por biopsia intestinal, atribuindo esta diferença a mecanismos envolvidos com a tradução da proteína ou até mesmo com a sua degradação (CRAGG et al., 2005; MCMAHON; COUSINS, 1998).

Dessa forma, os resultados de expressão gênica são apenas sugestivos de mudanças adaptativas de acordo com as necessidades individuais. Os mecanismos pelos quais o zinco pode interagir com os componentes da tradução proteica ainda são pouco estudados, sendo necessária a compreensão destes para explicar essa regulação homeostática.

7 CONCLUSÃO

A população estudada apresenta alta prevalência de excesso de peso, consumo elevado de carboidratos e alto risco de deficiência em zinco.

As crianças com deficiência plasmática do mineral apresentaram maior expressão do mRNA ZnT1 e menor expressão do mRNA ZIP4, reforçando a existência de uma forte regulação da absorção e homeostase do mineral de acordo com o estado nutricional do indivíduo, indicando que esta análise pode ser útil na avaliação de intervenções dietéticas.

REFERÊNCIAS

ANDREINI, C.; BERTINI, I. A bioinformatics view of zinc enzymes. **J. Inorg. Biochem.** v. 111, p. 150–156, 2012.

Associação Nacional de Empresas de Pesquisas. Critério de classificação econômica Brasil. São Paulo: ABEP; 2012. Disponível em: <http://www.abep.org/new/criterioBrasil.aspx>

BARBOSA, R.M.S.; SOARES, E.A.; LANZILLOTTI, H.S. Avaliação da ingestão de nutrientes de crianças de uma creche filantrópica: aplicação do Consumo Dietético de Referência. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, v. 7, n. 2, p. 159-166, 2007

BARROSO, G.S.; SICHIERI, R.; SALLES-COSTA, R. Fatores associados ao déficit nutricional em crianças residentes em uma área de prevalência elevada de insegurança alimentar. **Rev Bras Epidemiol.**, v. 11, n. 3, p. 484-94, 2008.

BEATON, G.H. Criteria of an inadequate intake. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. (eds). **Modern Nutrition in health and disease**. 8 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994.

BIRCH, L.L.; FISHER, J.O. Development of eating behaviors among children and adolescents. **Pediatrics**, v. 101 (Suppl. 3), p. 539-549, 1998.

BORGES, C.V.D.; VEIGA, A.P.B.; BARROSO, G.S.; JESUS, E.F.O.; SERPA, R.F.B.; MOREIRA, S.; SALLES-COSTA, R. Associação entre concentrações séricas de minerais, índices antropométricos e ocorrência de diarréia entre crianças de baixa renda da região metropolitana do Rio de Janeiro. **Rev Nutr.**, v. 20, n. 2, p. 159-69, 2007.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Centro Brasileiro de Análise e Planejamento. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2006: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Curvas de crescimento para crianças a partir dos 5 anos e adolescentes (OMS 2007)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.

BRODY, T. **Nutritional biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1994. p.588.

BROWN, K.H.; PEERSON, J.M.; RIVERA, J.; ALLEN, L.H. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Clin Nutr**, v. 75, n. 6, p. 1062-1071, 2002.

BUENO, M.B.; FISBERG, R.M.; MAXIMINO, P.; RODRIGUES, G.D.; FISBERG, M. Nutritional risk among Brazilian children 2 to 6 years old: A multicenter study. **Nutrition**, v. 29, n. 2, p. 405-410, 2013.

BURROWS, T.L.; MARTIN, R.J.; COLLINS, C.E. A systematic review of the validity of dietary assessment methods in children when compared with the method of doubly labeled water. **J Am Diet Assoc.**, v. 110, n. 10, p. 1501-1510, 2010.

CASTRO, M.A.; VERLY-JR, E.; FISBERG, M.; FISBERG, R.M. Children's nutrient intake variability is affected by age and body weight status according to results from a Brazilian multicenter study. **Nutrition Research**, v. 34, n. 1, p. 74-84, 2014.

CASTRO, T.G.; NOVAES, J.F.; SILVA, M.R.; COSTA, N.M.B.; FRANCESCHINI, S.C.C.; TINÔCO, A.L.A.; LEA, P.F.G. Caracterização do consumo alimentar, ambiente socioeconômico e estado nutricional de pré-escolares de creches municipais. **Rev. Nutr.**, v. 18, n. 3, 2005.

CHASAPIS, C.T.; LOUTSIDOU, A.C.; SPILIOPOULOU, C.A.; STEFANIDOU, M.E. Zinc and human health: an update. **Archives of Toxicology**, v. 86, pp. 1–14, 2011.

CHESTERS, J.K. Metabolism and biochemistry of zinc. In: Prasad AS. Ed. **Clinical, Biochemical, and Nutritional Aspects of Trace Elements**. v. 6. Current Topics in Nutrition and Disease. New York: Alan R. Liss; 221–238, 1982.

CHIPLONKAR, S.A.; KAWADE, R. Linkages of biomarkers of zinc with cognitive performance and taste acuity in adolescent girls. **Int J Food Sci Nutr**, v. 65, n. 4, p. 399-403, 2014.

CONEYWORTH, L.J.; JACKSON, K.A.; TYSON, J.; BOSOMWORTH, H.J.; VAN DER HAGEN, E.; HANN, G.M.; OGO, O.A.; SWANN, D.C.; MATHERS, J.C.; VALENTINE, R.A.; FORD, D. Identification of the human ZTRE (zinc transcriptional regulatory element) – a palindromic protein-binding DNA sequence responsible for zinc-induced transcriptional repression. **Journal of Biological Chemistry**, 2012.

COUSINS, R.J. Gastrointestinal Factors Influencing Zinc Absorption and Homeostasis. **Int J Vitam Nutr Res**. v. 80, n. 4, p. 243–248, 2010.

COUSINS, R.J.; BLANCHARD, R.K.; POPP, M.P.; LIU, L.; CAO, J.; MOORE, J.B.; GREEN, C.L. A global view of the selectivity of zinc deprivation and excess on genes expressed in human THP-1 mononuclear cells. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 100, n. 12, p. 6952-6957, 2003.

COUSINS, R.J.; LEINART, A.S. Tissue-specific regulation of zinc metabolism and metallothionein genes by interleukin. **FASEB J.**, v. 2, n. 13, p. 2884–90, 1988.

CRAGG, R.A.; PHILLIPS, S.R.; PIPER, J.M.; VARMA, J.S.; CAMPBELL, F.C.; MATHERS, J.C.; FORD, D. Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. **Gut**, v. 54, n. 4, p. 469-478, 2005.

DARDENNE, M. Zinc and immune function. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 56, Suppl.3, p.S20-S23, 2002.

DAVIS, S.R.; MCMAHON, R.J.; COUSINS, R.J. Metallothionein knockout and transgenic mice exhibit altered intestinal processing of zinc with uniform zinc-dependent zinc transporter-1 expression. **J. Nutr.**, v. 128, p. 825-831, 1998.

DE BENOIST, B.; DARNTON-HILL, I.; DAVIDSSON, L.; FONTAINE, O.; HOTZ, C. Conclusions of the joint WHO/UNICEF/IAEA/IzinCG interagency meeting on zinc status indicators. **Food Nutr Bull.** v. 28, p. S480-4, 2007.

DEBOER, M.D.; SCHARF, R.J.; DEMMER, R.T. Sugar-sweetened beverages and weight gain in 2- to 5-year-old children. **Pediatrics**. v. 132, p. 413-420, 2013.

DEBUSK, R.M.; FOGARTY, C.P.; ORDOVAS, J.M.; KORNMAN, K.S. Nutritional genomics in practice: where do we begin? **JADA**, v. 105, n. 4, p. 589-598, 2005.

DEVIRGILIIS, C.; ZALEWSKI, P.D.; PEROZZI, G.; MURGIA, C. Zinc fluxes and zinc transporter genes in chronic diseases. **Mutation Res.**, v. 622, n. 1, p. 84-93, 2007.

DUFNER-BEATTIE, J.; WANG, F.; KUO, Y.M.; GITSCHIER, J.; EIDE, D.; ANDREWS, G.K. The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 33474-81, 2003.

DUFNER-BEATTIE, J.; WEAVER, B.P.; GEISER, J.; BILGEN, M.; LARSON M.; XU, W.; ANDREWS, G.K. The mouse acrodermatitis enteropathica gene Slc39a4 (Zip4) is essential for early development and heterozygosity causes hypersensitivity to zinc deficiency. **Hum. Mol. Genet.**, v. 16, n. 12, p. 1391-99, 2007.

EIDE, D.J. Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. **Biochim Biophys Acta**, v. 1763, n. 7, p. 711-722, 2006.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). Preventing specific micronutrient deficiencies. Theme Paper, International Conference on Nutrition. Rome: Food and Agriculture Organization, 1992.

FAUL, F.; ERDFELDER, E.; BUCHNER, A.; LANG, A.G. Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. **Behavior Research Methods**, v. 41, p. 1149-1160, 2009. Disponível em: <http://www.gpower.hhu.de/en.html>

FÁVARO, R.M.D.; VANNUCCHI, H. Níveis plasmáticos de zinco e antropometria de crianças da periferia de centro urbano no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v. 24, n. 1, p.

5-10, 1990.

FERRO, F.E.; LIMA, V.B.; SOARES, N.R.; COZZOLINO, S.M.; MARREIRO, D.N. Biomarcadores del síndrome metabólico y su relación con el estado nutricional del zinc en mujeres obesas. **Nutrición Hospitalaria**, v. 26, n. 3, 2011.

FIDELIS, C.M.F.; OSÓRIO, M.M. Consumo alimentar de macro e micronutrientes de crianças menores de cinco anos no Estado de Pernambuco, Brasil. **Rev Bras Saúde Matern Infant.**, v. 7, n. 1, p. 63-74, 2007.

FIGUEROA PEDRAZA, D.; ROCHA, A. C. D.; QUEIROZ, E. O. de; SOUSA, C. P. C. Estado nutricional relativo ao zinco de crianças que frequentam creches do estado da Paraíba. **Rev. Nutr.**, v. 24, n. 4, p. 539-552, 2011.

FISCHER WALKER, C.L.; BLACK, R.E. Functional indicators for assessing zinc deficiency. **Food Nutr Bull**, v. 28 (suppl), p. S454–79, 2007.

FOLIN, M.; CONTIERO, E.; VASELLI, G.M. Zinc content of normal human serum and its correlation with some hematic parameters. **BioMetals**, v. 7, p. 75–9, 1994.

FOSTER, M.; HANCOCK, D.; PETOCZ, P.; SAMMAN, S. Zinc transporter genes are coordinately expressed in men and women independently of dietary or plasma zinc. **Journal of nutrition**, v. 141, n. 6, p.1195-1201, 2011.

FRARY, C.D.; JOHNSON, R.K.; WANG, M.Q. Children and adolescents' choices of foods and beverages high in added sugars are associated with intakes of key nutrients and food groups. **Journal of Adolescent Health**, v. 34, n. 1, p. 56-63, 2004.

FREIRE, S.C.; FISBERG, M.; COZZOLINO, S.M.F. Dietary intervention causes redistribution of zinc in obese adolescents. **Biol Trace Elem Res**, v. 154, n. 2, p. 168-177, 2013.

FUKADA, T.; YAMASAKI, S.; NISHIDA, K.; MURAKAMI, M.; HIRANO, T. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases— Zinc signaling. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 16, p. 1123–1134, 2011.

GARCIA, O.P.; RONQUILLO, D.; CAAMAÑO M.C.; CAMACHO, M.; LONG, K.Z.; ROSADO, J.L. Zinc, vitamin A, and vitamin C status are associated with leptin concentrations and obesity in Mexican women: results from a cross-sectional study. **Nutr Metab**, v. 9, n. 1, p. 59, 2012.

GERMAN, J.B. Genetic dietetics: nutrigenomics and the future of dietetics practice. **JADA**, v. 105, n. 4, p. 530-1, 2005.

GIBSON, R. S. Principles of nutritional assessments. 2 ed. Nova York: Oxford University Press, 2005.

GIBSON, R.S. Zinc nutrition in developing countries. **Nutr Res Rev.**, v. 7, p. 151–73, 1994.

GIBSON, R.S.; HESS, S.Y.; HOTZ, C.; BROWN, K.H. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. **Br J Nutr**, v. 99 (suppl 3), p. S14–23, 2008.

GONDIM, S.S.R.; DINIZ, A.S.; CAGLIARI, M.P.P.; ARAUJO, E.S.; QUEIROZ, D.; PAIVA, A.A. Relação entre níveis de hemoglobina, concentração de retinol sérico e estado nutricional em crianças de 6 a 59 meses do Estado da Paraíba. **Rev. Nutr.**, v. 25, n. 4, p. 441-449, 2012.

GUENTHER, P.M.; KOTT, P.S.; CARRIQUIRY, A.L. Development of an approach for estimating usual nutrient intake distributions at the population level. **J Nutr**. v. 127, p. 1106-1112, 1997.

GUTHRIE, H.A.; PICCIANO, M.F. Micronutrient minerals. In: GUTHRIE, H. A.; PICCIANO, M. F., eds. **Human Nutrition**. New York: Mosby, 1994. p. 351-357.

HAMBIDGE, K.M. Human zinc deficiency. **J Nutr.**, v. 130, p. 1344S–1349S, 2000.

HAMBIDGE, K.M.; KREBS, N.F.; MILLER, L. Evaluation of zinc metabolism with use of stable-isotope techniques: implications for the assessment of zinc status. **Am J Clin Nutr**, v.68, p. 410S–413S, 1998.

HAMBIDGE, K.M.; MILLER, L.V.; WESTCOTT, J.E.; SHENG, X.; KREBS, N.F. Zinc bioavailability and homeostasis. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 5, p. 1478S-1483S, 2010.

HAMBIDGE, M. Biomarkers of trace mineral intake and status. **J Nutr**, v.133 (suppl 3), p. 948S–55S, 2003.

HAMMER, D. H. Metallothionein. **Ann Rev Biochem**, v.55, p.913-51, 1986.

HAUBROCK, J.; NÖTHLINGS, U.; VOLATIER, J.L.; DEKKERS, A.; OCKÉ, M.; HARTTIG, U.; ILLNER, A.K; KNÜPPEL, K.; ANDERSEN, L.F.; BOEING, H. Estimating usual food intake distributions by using the Multiple Source Method in the EPIC-Potsdam Calibration Study. **J Nutr**. v. 141, n. 5, p. 914-20, 2011.

HENRIQUES, G.S.; HIRATA, M.H.; COZZOLINO, S.M.F. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da Enzima Conversora de Angiotensina. **Rev. Nutr.**, v. 16, n. 3, p. 333-345, 2003.

HESS, S.Y.; PEERSON, J.M.; KING, J.C.; BROWN, K.H. Use of serum zinc concentration as an indicator of population zinc status. **Food Nutr Bull**, v. 28 (suppl 3), p. S403–29, 2007.

HU, F.B.; MALIK, V.S. Sugar-sweetened beverages and risk of obesity and type 2 diabetes: epidemiologic evidence. **Physiol Behav**. v. 100, p. 47-54, 2010.

Institute of Medicine (IOM). **Dietary Reference Intakes: the essential guide to nutrient requirements**. Washington: The National Academy Press; 2006.

IOLASCON, A.; PERRONE, L. Erythrocytic zinc content during childhood. **Acta haematologica**, v. 73, n. 2, p. 114-116, 1985.

IZiNCG (International Zinc Nutrition Consultative Group). HOTZ, C.; BROWN, K. H. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull*, v. 25, n. 1 (suppl 2), p.S99–203, 2004.

JOEHANES, R.; JOHNSON, A.D.; BARB, J.J.; RAGHAVACHARI, N.; LIU, P.; WOODHOUSE, K.A.; O'DONNELL, C.J.; MUNSON, P.J.; LEVY, D. Gene expression analysis of whole blood, peripheral blood mononuclear cells, and lymphoblastoid cell lines from the Framingham Heart Study. **Physiol Genomics**, v. 44, n. 1, p. 59-75, 2012.

KAMBE, T.; YAMAGUCHI-IWAI, Y.; SASAKI, R.; NAGAO, M. Overview of mammalian zinc transporters. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 61, n. 1, p. 49-68, 2004.

KENNEY, M.A.; RITCHEY, S.J.; CULLEY, P.; SANDOVAL, W.; MOAK, S.; SCHILLING, P. Erythrocyte and dietary zinc in adolescent females. **Am J Clin Nutr**, v. 39, p. 446–451, 1984.

KIM, B.E.; WANG, F.D.; DUFNER-BEATTIE, J.; ANDREWS, G.K.; EIDE, D.J.; PETRIS, M.J. Zn²⁺-stimulated endocytosis of the mZIP4 zinc transporter regulates its location at the plasma membrane. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 4523–30, 2004.

KING, J. C. Zinc. In: SHILS, M. E.; SHIKE, M. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 10. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. p. 271-285.

KREBS, N.F.; HAMBIDGE, K.M. Zinc metabolism and homeostasis: The application of tracer techniques to human zinc physiology. **BioMetals**, v. 14, p. 397–412, 2001.

KREBS, N.F.; WESTCOTT, J.E.; HUFFER, J.W.; MILLER, L.V. Absorption of exogenous zinc (Zn) and secretion of endogenous Zn in the human small intestine. **FASEB J.**, v. 12, p. A345, 1998.

KUSSMANN, M.; RAYMOND, F.; AFFOLTER, M. OMICS-driven biomarkers discovery in nutrition and health. **J. Biotechnol.**, v.24, n.4, p. 758-87, 2006.

LANGMADE, S.J.; RAVINDRA, R.; DANIELS, P.J.; ANDREWS, G.K. The transcription factor MTF-1 mediates metal regulation of the mouse ZnT1 gene. **J. Biol. Chem.**, v. 275, p. 34803–34809, 2000.

LEE, D.Y.; PRASAD, A.S.; HYDRICK-ADAIR, C.; BREWER, G.; JOHNSON, P.E. Homeostasis of zinc in marginal human zinc deficiency: role of absorption and endogenous excretion of zinc. **J Lab Clin Med.**, v. 122, p. 549–556, 1993.

LICHTEN, L.A.; COUSINS, R.J. Mammalian Zinc Transporters: Nutritional and Physiologic Regulation. **Annu Rev. Nutr.**, v. 29, p.153–76, 2009.

LIMA, A.L.L.; SILVA, A.C.F.; KONNO, S.C.; CONDE, W.L.; BENICIO, M.H.D.; MONTEIRO, C.A. Causas do declínio acelerado da desnutrição infantil no Nordeste

do Brasil (1986-1996-2006). **Rev Saúde Pública**, v. 44, n. 1, p. 17-27, 2010.

LIUZZI, J.P.; BLANCHARD, R.K.; COUSINS, R.J. Differential regulation of zinc transporter 1, 2, and 4mRNA expression by dietary zinc in rats. **J. Nutr.**, v. 131, n. 1, p. 46–52, 2001.

LIUZZI, J.P.; BOBO, J.A.; LICHTEN, L.A.; SAMUELSON, D.A.; COUSINS, R.J. Responsive transporter genes within the murine intestinal- pancreatic axis form a basis of zinc homeostasis. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 101, n. 40, p. 14355–14360, 2004.

LIUZZI, J.P.; COUSINS, R.J. Mammalian zinc transporters. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 24, p. 151–72, 2004.

LIUZZI, J.P.; GUO, L.; CHANG, S.M.; COUSINS, R.J. Kruppel-like factor 4 regulates adaptive expression of the zinc transporter Zip4 in mouse small intestine. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 296, p. G517–G523, 2009.

LÖNERDAL, B. Dietary factors influencing zinc absorption. **J Nutr.**, v. 130, p. 1378S-1383S, 2000.

LOWE, N.M.; MEDINA, M.W.; STAMMERS, A.L.; PATEL, S.; SOUVEREIN, O.W.; DULLEMEIJER, C.; SERRA-MAJEM, L.; NISSENSOHN, M.; MORAN, V.H. The relationship between zinc intake and serum/plasma zinc concentration in adults: a systematic review and dose–response meta-analysis by the EURRECA Network. **Br J Nutr**, v. 108, n. 11, p. 1962-1971, 2012.

MACDONALD, R. S. The Role of Zinc in Growth and Cell Proliferation. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1500S-1508S, 2000.

MALIK, V.S.; POPKIN, B.M.; BRAY, G.A.; DESPRES, J.P.; HU, F.B. Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease risk. **Circulation**, v. 121, p. 1356-1364, 2010.

MARET, W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. **J Nutr.**, v.130, p.1455S-8S, 2000.

MARREIRO, D.N.; FISBERG, M.; COZZOLINO, S.M. Zinc nutritional status and its relationships with hyperinsulinemia in obese children and adolescents. **Biol Trace Elem Res**, v. 100, n. 2, p. 137–149, 2004.

MCMAHON, R.J.; COUSINS, R.J. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 95, n. 9, p. 4841–46, 1998.

MESSNER, E. Conference report – Ending hidden hunger: A policy conference on micronutrient malnutrition. **Food Nutr Bull.**, v. 14, n. 1, 1992.

MICHELAZZO, F.B.; FISBERG, M.; COZZOLINO, S.M.F. Avaliação do estado nutricional em relação ao zinco de pré-escolares submetidos a um programa de fortificação com ferro. **Nutrire**, v. 29, p. 11-23, jun. 2005.

MORAN, V.H.; STAMMERS, A.L.; MEDINA, M.W.; PATEL, S.; DYKES, F.; SOUVEREIN, O.W.; DULLEMEIJER, C.; PÉREZ-RODRIGO, C.; SERRA-MAJEM, L.; NISSENSOHN, M.; LOWE, N.M. The relationship between zinc intake and serum/plasma zinc concentration in children: a systematic review and dose-response meta-analysis. **Nutrients**, v. 4, n. 8, p. 841-858, 2012.

MORRIS, E.R.; ELLIS, R. Effect of dietary phytate/zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. **The Journal of Nutrition**, v. 110, n. 5, p. 1037-1045, 1980.

MÜLLER, M.; KERSTEN, S. Nutrigenomics: goals and strategies. **Nat Rev Genet.**, v. 4, p. 315-322, 2003.

MUST, A.; JACQUES, P.F.; DALLAL, G.E.; BAJEMA, C.J.; DIETZ, W.H. Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents: a follow-up of the Harvard Growth Study 1922 to 1935. **N Engl J Med**, v. 327, p. 1350-5, 1992.

NEGGERS, Y.H.; GOLDENBERG, R.L.; TANURA, T.; JOHNSTON, K.E.; COPPER, R.L.; DUBARD, M. Plasma and erythrocyte zinc concentrations and their relationship to dietary zinc intake and zinc supplementation during pregnancy in low-income African-American women. **J. Am. Diet. Assoc.** v. 97, p. 1269–1274, 1997.

NICK, J.A.; SANDERS, L.A.; ICKES, B.; BRIONES, N.J.; CACERES, S.M.; MALCOLM, K.C.; BRAYSHAW, S.J.; CHACON, C.S.; BARBOA, C.M.; JONES, M.C.; CLAIR, C.S.; TAYLOR-COUSAR, J.L.; NICHOLS, D.P.; SAGEL, S.D.; STRAND, M.; SAAVEDRA, M.T. Blood mRNA biomarkers for detection of treatment response in acute pulmonary exacerbations of cystic fibrosis. **Thorax**, v. 68, n. 10, p. 929-937, 2013.

NOH, H.; PAIK, H.Y.; KIM, J.; CHUNG, J. The Alteration of Zinc Transporter Gene Expression Is Associated with Inflammatory Markers in Obese Women. **Biol Trace Elem Res**, v. 158, n. 1, p. 1-8, 2014.

OAKES, E.J.; LYON, T.D.; DUNCAN, A.; GRAY, A.; TALWAR, D.; O'REILLY, D.S. Acute inflammatory response does not affect erythrocyte concentrations of copper, zinc and selenium. **Clinical Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 115-120, 2008.

OLIVEIRA, L.P.M.; BARRETO, M.L.; ASSIS, A.M.O.; BRAGA-JUNIOR, A.C.R.; NUNES, M.F.F.P.; OLIVEIRA, N.F.; BENÍCIO, M.H.D.; VENÂNCIO, S.I.; SALDIVA, S.R.D.M.; ESCUDER, M.M.L. Preditores do retardo de crescimento linear em pré-escolares: uma abordagem multinível. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 3, p. 601-613, 2007.

OLIVEIRA, V.A.; ASSIS, A.M.; PINHEIRO, S.M.; BARRETO, M.L. Determinantes dos déficits ponderal e de crescimento linear de crianças menores de dois anos. **Rev Saúde Pública**, v. 40, n. 5, p. 874-82, 2006.

OTEIZA, P.I. Zinc and the modulation of redox homeostasis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, p. 1748–1759, 2012.

PALMITER, R.D.; FINDLEY, S.D. Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc. **EMBO J.**, v. 14, p. 639–49, 1995.

PETROSKI, E.L.; SILVA, R.J.S.; PELEGRI, A. Crescimento físico e estado nutricional de crianças e adolescentes da região de Cotinguiba, Sergipe. **Rev Paul Pediatr.**, v. 26, n. 3, p. 206-11, 2008.

PONTES, T.E.; COSTA, T.F.; MARUM, A.B.; BRASIL, A.L.; TADDEI, J.A. Nutritional guidance for children and adolescents and the new consumption patterns: advertising, packaging and labeling. **Rev Paul Pediatr.**, v. 27, p. 99-105, 2009.

POWELL, S. R. The Antioxidant Properties of Zinc. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1447S-1454S, 2000.

PRASAD, A. S. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 12, p. 646-652, 2009.

RADER, R.K.; MULLEN, K.B.; STERKEL, R.; STRUNK, R.C.; GARBUTT, J.M. Opportunities to Reduce Children's Excessive Consumption of Calories From Beverages. **Clinical pediatrics**, p. 1-8, 2014.

RINK, L.; KIRCHNER, H. Zinc-Altered Immune Function and Cytokine Production. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1407S-1411S, 2000.

RIST, M.J.; WENZEL, U.; DANIEL, H. Nutrition and food science go genomics. **Trends. Biotechnol.**, v.24, n.4, p. 172-8, 2006.

RIVERA DOMMARCO, J.; SHAMAH LEVY, T.; VILLALPANDO HERNÁNDEZ, S.; GONZÁLEZ DE COSSÍO, T.; HERNÁNDEZ PRADO, B.; SEPÚLVEDA, J. Encuesta Nacional de Nutrición 1999. Estado nutricional de niños y mujeres en México. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2001.

RIVERA, J.A.; HOTZ, C.; GONZÁLEZ-COSSÍO, T.; NEUFELD, L.; GARCÍA-GUERRA, A. The effect of micronutrient deficiencies on child growth: a review of results from community-based supplementation trials. **J Nutr.**, v. 133, n. 11, p. 4010S-20S, 2003.

ROCHA P.B.S.; AMORIM A.C.; SOUSA A.F.; DO MONTE S.J.H.; SOUSA L.C.D.; NOGUEIRA N.N.; MOITA NETO, J.M.; MARREIRO, D.N. Expression of the zinc transporters genes and metallothionein in obese women. **Biol Trace Elem Res**, v. 143, p. 603-611, 2011.

RODRIGUES, M.P. A simpler method for the determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. **Atomic Spectroscopy**, v. 10, n. 2, p. 68-70, 1989.

ROMANI, S.A.M., LIRA, P.I.C. Fatores determinantes do crescimento infantil. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, v. 4, n. 1, p. 15-23, 2004.

ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R.L. The physiology of body weight regulation: relevance to the etiology of obesity in children. **Pediatrics**, v. 101 (Supplement 2), p. 525-539, 1998.

RYU, M.S.; LICHTEN, L.A.; LIUZZI, J.P.; COUSINS, R.J. Zinc transporters ZnT1 (Slc30a1), Zip8 (Slc39a8), and Zip10 (Slc39a10) in mouse red blood cells are differentially regulated during erythroid development and by dietary zinc deficiency. **J. Nutr.**, v. 138, n. 11, p. 2076–83, 2008.

SANDSTRÖM, B. Diagnosis of zinc deficiency and excess in individuals and populations. **Food Nutr Bull**, v. 22, n. 2, p. 133-137, 2001.

SANKAVARAM, K.; FREAKE, H.C. The effects of transformation and ZnT-1 silencing on zinc homeostasis in cultured cells. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.23, p. 629–634, 2012.

SANTOS, C.D.L.; CLEMENTE, A.P.G.; MARTINS, P.A.; SAWAYA, A.L. Influência do déficit de estatura nos desvios nutricionais em adolescentes e pré-adolescentes. **Rev. Nutr.**, v. 22, n. 2, p. 187-194, 2009.

SANTOS, M.A.; REZENDE, E.G.; LAMOUNIER, J.A.; GALVÃO, M.A.M.; BONOMO, É.; LEITE, R.C. Hipovitaminose A em escolares da zona rural de Minas Gerais. **Rev. Nutr.**, v.18, n.3, p.331-339, 2005.

SANTOS, R.B.; MARTINS, P.A.; SAWAYA, A.L. Estado nutricional, condições socioeconômicas, ambientais e de saúde de crianças moradoras em cortiços e favela. **Rev. Nutr.**, v. 21, n. 6, p. 671-681, 2008.

SCHMITTGEN, T.D.; LIVAK, K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. **Nature protocols**, v. 3, n. 6, p. 1101-1108, 2008.

SCHRAMM, K.; MARZI, C.; SCHURMANN, C.; CARSTENSEN, M.; REINMAA, E. et al. Mapping the Genetic Architecture of Gene Regulation in Whole Blood. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. e93844, 2014.

SEVE, M.; CHIMIENTI, F.; DEVERGNAS, S.; FAVIER, A. In silico identification and expression of SLC30 family genes: Na expressed sequence tag data mining strategy for the characterization of zinc transporters tissue expression. **BMC Genomics**, v. 5, p. 32, 2004.

SHARIF, R.; THOMAS, P.; ZALEWSKI, P.; FENECH, M. The role of zinc in genomic stability. **Mutat. Res.**, v. 733, p. 111–121, 2012.

SHRIMPTON, R. Zinc deficiency: Is it widespread but under-recognized? **ACC/SCN News**, v. 9, p. 24–7, 1993.

SIAN, L.; MINGYAN, Y.; MILLER, L.V.; TONG, L.; KREBS, N.F.; HAMBIDGE, K.M. Zinc absorption and intestinal losses of endogenous zinc in young Chinese women with marginal zinc intakes. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 63, p. 348–353, 1996.

SIGULEM, D.M.; DEVINCENZI, M.U.; LESSA, A.C. Diagnóstico do estado nutricional da criança e do adolescente. **Jornal de Pediatria**, v. 76, (Sup. 3), 2000.

SILVA, D.; PONTE, C.G.; HACKER, M.A.; ANTAS, P.R. A whole blood assay as a simple, broad assessment of cytokines and chemokines to evaluate human immune responses to *Mycobacterium tuberculosis* antigens. **Acta Tropica**, v. 127, n. 2, p. 75–81, 2013.

SMIRNOVA, I. V.; BITTEL, D.C.; RAVINDRA, R.; JIANG, H.; ANDREWS, G.K. Zinc and cadmium can promote the rapid nuclear translocation of MTF-1. **American Journal of Cell Physiology Chem**, v. 275, p. 9377-9384, 2000.

SOARES, N.T. Um novo referencial antropométrico de crescimento: significados e implicações. **Rev Nutr.**, v. 16, p. 93-104, 2003.

SOLOMONS, N.W.; COUSINS, R.J. Zinc. In: SOLOMONS, N.W.; ROSENBERG, I.H, eds. Absorption and malabsorption of mineral nutrients. New York: Alan R. Liss, 1984.

STEFANOWICZ, F.; GASHUT, R.A.; TALWAR, D.; DUNCAN, A.; BEULSHAUSEN, J.F.; MCMILLAN, D.C.; KINSELLA, J. Assessment of plasma and red cell trace element concentrations, disease severity, and outcome in patients with critical illness. **Journal of critical care**, v. 29, n. 2, p. 214-218, 2014.

STYNE, D.M. Childhood and adolescent obesity. Prevalence and significance. **Pediat Clin North Amer**, v. 48, p. 823-53, 2001.

SUN, P.; WANG, S.; JIANG, Y.; TAO, Y.; TIAN, Y.; ZHU, K.; WAN, H.; ZHANG, L.; ZHANG, L. Zip1, Zip2, and Zip8 mRNA Expressions Were Associated with Growth Hormone Level During the Growth Hormone Provocation Test in Children with Short Stature. **Biol Trace Elem Res**, v. 155, n. 1, p. 11-22, 2013.

TAPIERO, H.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomed. Pharmacother.**, v. 57, p. 399-411, 2003.

TAVARES, B.M; VEIGA, G.V.; YUYAMA, L.K.O.; BUENO, M.B.; FISBERG, R.M.; FISBERG, M. Estado nutricional e consumo de energia e nutrientes de pré-escolares que frequentam creches no município de Manaus, Amazonas: existem diferenças entre creches públicas e privadas? **Rev. paul. pediatr.**, v.30, n.1, p. 42-50, 2012.

THOMPSON, B.; AMOROSO, L. Combating Micronutrient Deficiencies: Food-based Approaches. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Rome: 2010.

TOMKINS, A.; WATSON, F. Malnutrition and infection: a review. Geneva: Administrative Committee on Coordinator/Subcommittee on Nutrition; 1989. (ACC/SCN State-of-Art Series, Nutrition Policy Discussion, Paper 5).

TOOZE, J.A.; MIDTHUNE, D.; DODD, K.W.; FREEDMAN, L.S.; KREBS-SMITH,

S.M.; SUBAR, A.F.; GUENTHER, P.M.; CARROLL, R.J.; KIPNIS, V. A new statistical method for estimating the usual intake of episodically consumed foods with application to their distribution. **J Am Diet Assoc.** v. 106, n. 10, p. 1575- 1587, 2006.

TSUDA, M.; IMAIZUMI, K.; KATAYAMA, T.; KITAGAWA, K.; WANAKA, A.; TOHYAMA, M.; TAKAGI, T. Expression of zinc transporter gene, ZnT-1, is induced after transient forebrain ischemia in the gerbil. **J. Neurosci.**, v. 17, p. 6678–6684, 1997.

TUCKER, K.L. Assessment of usual dietary intake in population studies of gene-diet interaction. **Nutr Metab & Cardiovasc Dis.** v. 17, p. 74-81, 2007.

TUERK, M. J.; FAZEL, N. Zinc deficiency. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v. 25, p. 136-143, 2009.

TUMA, R.C.F.B.; COSTA, T.H.M. da; SCHMITZ, B.A.S. Avaliação antropométrica e dietética de pré-escolares em três creches de Brasília, Distrito Federal. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, v. 5, n 4, p. 419-428, 2005.

VALLEE, B.L. A synopsis of zinc biology and pathology in zinc enzymes. (Bertini, I. & Gary, H. B., eds.) Birkhauser, Boston, 1986.

VERLY JR, E.; CASTRO, M.A.; FISBERG, R.M.; MARCHIONI, D.M. Precision of Usual Food Intake Estimates According to the Percentage of Individuals with a Second Dietary Measurement. **J Acad Nutr Diet**, v. 112, n. 7, p. 1015-1020, 2012.

VIEIRA, D.A.S.; COSTA, D.; COSTA, J.O.; CURADO, F.F.; MENDES-NETTO, R.S. Características socioeconômicas e estado nutricional de crianças e adolescentes de assentamentos rurais de Pacatuba, Sergipe. **Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, vol. 36, n. 1, p. 49-69, abr. 2011.

VITOLO, M.R. Aspectos Fisiológicos e Nutricionais na Infância. In: Vitolo MR. **Nutrição: da gestação ao envelhecimento**. Rio de Janeiro: Ed Rubio, 2008.

VITOUX, D.; ARNAUD, J.; CHAPPUIS, P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? **J. Trace Elements Med. Biol**, v. 13, n. 3, p. 113-128, 1999.

WALKER, C.L.; EZZATI, M.; BLACK, R.E. Global and regional child mortality and burden of disease attributable to zinc deficiency. **Eur J Clin Nutr.**, v. 63, p. 591–7. 2009.

WANG, K.; ZHOU, B.; KUO, Y.M.; ZEMANSKY, J.; GITSCHIER, J. A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 71, p. 66–73, 2002.

WANG, X.; ZHOU, B. Dietary zinc absorption: a play of Zips and ZnTs in the gut. **IUBMB life**, v. 62, n. 3, p. 176-182, 2010.

WEAVER, B.P.; DUFNER-BEATTIE, J.; KAMBE, T.; ANDREWS, G.K. Novel zinc-responsive post-transcriptional mechanisms reciprocally regulate expression of the mouse Slc39a4 and Slc39a5 zinc transporters (Zip4 and Zip5). **Biol. Chem.**, v. 388, p. 1301–12, 2007

WESSELLS, K.R.; SINGH, G.M.; BROWN, K.H. Estimating the Global Prevalence of Zinc Deficiency: Results Based on Zinc Availability in National Food Supplies and the Prevalence of Stunting. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, 2012.

WEX, T.; GRUNGREIFF, K.; SCHUTTE, K.; STENGRITT, M.; REINHOLD, D. Expression analysis of zinc transporters in resting and stimulated human peripheral blood mononuclear cells. **Biomedical reports**, v. 2, n. 2, p. 217-222, 2014.

WHITEHOUSE, R.C.; PRASAD, A.S.; RABBANI, P.; COSSACK, Z.T. Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometer. **Clinical Chemistry**, v. 28, p. 475–480, 1982.

WHO (World Health Organization). Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bull World Health Organ.**, v. 85, n. 9, p. 660-667, 2007b.

WHO (World Health Organization). Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development. Geneva, Switzerland: WHO, 2006.

WHO (World Health Organization). Iron deficiency anaemia assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva: WHO: 2001.

WHO (World Health Organization). The world nutrition situation. Nutrition throughout the life cycle. 4th. Geneva: WHO: 2000.

WHO (World Health Organization). WHO Anthro 2005 software and macros (version 3.2.2). Geneva, Switzerland: WHO, 2005. Disponível em: <http://www.who.int/childgrowth/software/en/>

WHO (World Health Organization). WHO AnthroPlus for personal computers manual: software for assessing growth of the world's children and adolescents. Geneva, Switzerland: WHO, 2007a. Disponível em: <http://www.who.int/growthref/tools/en/>

WHO, Physical Status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: Report of a WHO Expert Committee, 1995.

WILLETT, W.C.; HOWE, G.R.; KUSHI, L.W. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr.** v. 65, n. 4, p. 1220S-1228S, 1997.

ZEISEL, S. H. Nutrigenomics and metabolomics will change clinical nutrition and public health practice: insights from studies on dietary requirements for choline. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, p. 542-548, 2007.

ANEXOS

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – FCF/USP
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

1. Informações do Sujeito da Pesquisa

Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: () M () F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		

2. Informações do Responsável Legal

Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: () M () F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		

3. Título do Projeto de Pesquisa: Determinação do estado nutricional relativo ao zinco de pré-escolares e sua relação com a expressão de genes codificantes de proteínas transportadoras de zinco.

4. Duração da Pesquisa: 2 semanas

5. Nome do pesquisador responsável: Silvia Maria Franciscato Cozzolino
--

Cargo/ Função: Professora Titular do Programa de pós-graduação em Ciência dos Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas FCF/USP.	Nº do Registro do Conselho Regional: CRN3/0621
---	--

Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, USP.

Senhores pais, essa pesquisa tem como título: Determinação do estado nutricional relativo ao zinco de pré-escolares e sua relação com a expressão de genes codificantes de proteínas transportadoras de zinco. A responsável por esse estudo é a professora titular Silvia Maria Franciscato Cozzolino e como colaborada a estudante de mestrado Bruna Zavarize Reis. Ambas pertencem a Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São Paulo (USP).

A deficiência de zinco é considerada uma das deficiências nutricionais de maior importância em todo o mundo. O zinco participa de várias funções no organismo inclusive da imunidade, portanto as crianças apresentam maior risco para o desenvolvimento de deficiência deste mineral. Desta forma, para conhecer se as crianças matriculadas em creches da cidade de Aracaju-Sergipe estão adequadas quanto a este mineral, estamos solicitando a autorização da participação do seu filho nesse estudo. Nesta pesquisa participarão cerca de 150 crianças.

Se você concordar que seu filho participe, ele passará pelos seguintes procedimentos: serão medidos peso e estatura e será avaliado o consumo de alimentos dentro e fora da instituição. Será realizada apenas **uma** coleta de sangue (10mL) em jejum

de 10 a 12 horas. Além disso, será aplicado um questionário de dados socioeconômicos a(o) senhor(a) a fim de obter mais informações sobre seu filho.

A participação terá duração estimada de no máximo duas semanas. A pesquisa possui um risco mínimo em virtude da coleta de sangue que pode causar um desconforto, porém, este será coletado por um profissional de enfermagem capacitado. A obtenção desses dados será feita na própria creche, durante o período letivo.

Os resultados obtidos serão arquivados e mantidos em sigilo, conforme ética. É direito de cada participante obter os resultados das análises que serão feitas, bem como informações sobre os procedimentos utilizados, riscos e benefícios relacionados em qualquer fase do estudo. Deve ser ressaltado que a participação na pesquisa poderá ser desfeita em qualquer momento que o(a) Sr(a) achar conveniente, sem qualquer risco ao seu filho. Não haverá nenhuma despesa financeira para a participação neste estudo, assim como não haverá recompensa financeira relacionada à participação na pesquisa.

Caso você também permita, essas amostras serão armazenadas no laboratório de Nutrição-Minerais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP), sob a responsabilidade da professora titular Silvia Maria Franciscato Cozzolino, que poderá utilizar esse material para pesquisas futuras. Se isso for necessário, um novo projeto será submetido ao Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP e você será consultado antes de iniciarmos qualquer novo estudo. Em qualquer momento que desejar, manifestando-se por escrito, você poderá retirar seu consentimento para que utilizemos o esse material biológico sem quaisquer gastos ou prejuízos. E, a partir do momento que finalizemos a pesquisa com as amostras armazenadas ou que elas sejam destruídas, você será informado.

AUTORIZAÇÃO PARA ARMAZENAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

O material biológico poderá ser utilizado para pesquisas incluindo outros minerais, marcadores de estresse oxidativo, alterações genéticas no DNA ou expressão gênica de outras proteínas.

Você permite que o sangue coletado e o DNA sejam armazenados?

☐ sim ☐ não

Escolha uma das opções abaixo:

☐ **Permito a utilização do meu material biológico para novas pesquisas sem que haja necessidade de um novo Termo de Consentimento.**

☐ **Permito a utilização do meu material biológico para novas pesquisas mediante um novo Termo de Consentimento.**

Consentimento Pós-Esclarecido:

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto a participação do meu filho no presente Protocolo de Pesquisa.

Aracaju,.....de.....de.....

Assinatura do responsável legal

Pesquisador responsável

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13A – Butantã – São Paulo – CEP 05508-900. Fone: 3091-3622, fone-fax: 3091-3677 – e-mail: cepfcf@usp.br

– Informações dos responsáveis pelo acompanhamento da pesquisa, para contato em caso de intercorrências clínicas e reações adversas.

Silvia Maria Franciscato Cozzolino – (Professora Titular da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/FCF (USP)). Telefone:(11)3091-3625. Endereço da Faculdade: Cidade Universitária, Av. Lineu Prestes, 580 – Bloco 14. Telefone: (11) 3091 -3625 (Laboratório de Nutrição – Minerais).

Bruna Zavarize Reis - (Mestranda do programa de Pós-graduação em Nutrição Humana Aplicada da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/FCF (USP)). Endereço Residencial: Bairro: Centro, Av. Emílio Fontes Silva, 922. CEP 49400-000 – Lagarto – SE. Telefone: (79)9116-6049. Endereço da Faculdade: Cidade Universitária, Av. Lineu Prestes, 580 – Bloco 14. Telefone: 3091 - 3625 (Laboratório de Nutrição – Minerais).

ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinação do estado nutricional relativo ao zinco em pré-escolares e sua relação com a expressão de genes codificantes de proteínas transportadoras de zinco

Pesquisador: Silvia Maria Franciscato Cozzolino

Área Temática: Área 1. Genética Humana.

(Trata-se de pesquisa envolvendo genética humana não contemplada acima.);

Versão: 3

CAAE: 12694413.5.0000.0067

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: FUNDO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA EDUCACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 318.038

Data da Relatoria: 27/05/2013

Apresentação do Projeto:

A deficiência de zinco é considerada uma das deficiências nutricionais de maior importância epidemiológica, possuindo grandes repercussões no contexto da saúde pública em todo o mundo. Acredita-se que aproximadamente um terço de toda a população mundial possa apresentar essa deficiência. Vários métodos podem ser utilizados na avaliação do estado nutricional do indivíduo relativo ao zinco, destacando-se a avaliação do mineral no plasma e no eritrócito. No entanto, estas avaliações não detectam o estado subclínico de

deficiência de zinco em indivíduos, devido principalmente à eficiente homeostase deste mineral. Avanços metodológicos na avaliação de aspectos moleculares constituem uma nova ferramenta para a investigação do estado nutricional dos indivíduos relativo ao zinco, por meio da avaliação da expressão gênica das proteínas transportadoras, destacando-se os transportadores ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4). O objetivo desse trabalho é avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de pré-escolares e sua relação com a expressão de genes codificantes de proteínas transportadoras de zinco. Para isso, será realizado um estudo com crianças em idade pré-escolar (36 a 71 meses) em creches filantrópicas de período integral da cidade de Aracaju, Sergipe. Serão

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, sala 112

Bairro: Butantã

CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-3622

Fax: (11)3031-8986

E-mail: cepfct@usp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 318.038

realizadas avaliações bioquímicas, antropométricas e de consumo alimentar. O estado nutricional das crianças relativo ao zinco será avaliado no eritrócito e no plasma e através da expressão gênica de proteínas transportadoras de zinco. Serão realizados testes estatísticos específicos para análise e correlação dos dados obtidos, adotando-se um nível de significância de 5%.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL

Avaliar o estado nutricional relativo ao zinco em pré-escolares e sua relação com a expressão de genes codificantes de proteínas transportadoras de zinco.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o estado nutricional relativo em zinco dos pré-escolares;

Avaliar a expressão gênica de proteínas transportadoras de zinco;

Comparar os indicadores antropométricos, dietéticos e sanguíneos com os padrões de expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O risco da pesquisa é mínimo. Quanto aos benefícios, a população estudada será beneficiada com os resultados da pesquisa, uma vez que serão diagnosticadas possíveis deficiências de zinco e ferro (hemoglobina) tanto no sangue como através do consumo alimentar. Além disso, a avaliação antropométrica identificará crianças com déficit de estatura e/ou peso para idade, bem como sobrepeso e/ou obesidade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Devido a importância do zinco no organismo e as consequências advindas da sua deficiência, esta pesquisa é importante, pois mostrará o panorama das condições de uma população de Aracaju, SE, em relação a esse mineral. Além disso, medidas poderão ser tomadas no sentido de sanar o problema, caso haja.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória, como o TCLE, foi corrigido contemplando os itens levantados por este CEP, assim como foram anexadas as cartas de anuência das duas creches que participarão do estudo: Amélia Leite e Externato São Francisco de Assis, ambos da cidade de Aracaju, SE. No projeto foram informados os itens solicitados por este CEP.

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação do projeto.

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, sala 112

Bairro: Butantã

CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3091-3622

Fax: (11)3031-8986

E-mail: cepfcf@usp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 318.038

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto contempla todos os itens levantados por esse CEP, não havendo lista de inadequações. Fazer pequenas correções no TCLE, conforme modelo disponibilizado na secretaria do CEP/FCF/USP.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Este CEP recomenda a aprovação do projeto.

SAO PAULO, 27 de Junho de 2013

Assinador por:
Mauricio Yonamine
(Coordenador)

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, sala 112

Bairro: Butantã

CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-3622

Fax: (11)3031-8986

E-mail: cepfcf@usp.br

ANEXO C – Formulário para avaliação por pesagem direta das porções servidas

PLANILHA DE REGISTRO DO PESO MÉDIO DA PORÇÃO SERVIDA

Nome da criança: _____

Creche: _____ Data ____/____/____

Refeição	Alimento/ preparação		Medida caseira	Peso da porção (g)	Peso do prato (g)	RESTO (g)
Café da manhã	Prato					
	Bebida					
Lanche da manhã	Prato					
	Bebida					
Almoço	Prato					
	Bebida					
Lanche da tarde	Prato					
	Bebida					
Jantar	Prato					
	Bebida					

PLANILHA DE REGISTRO DAS REPETIÇÕES E RESTO
--

Nome da criança: _____

Refeição	Alimento/ preparação		Número de repetições	Peso da porção repetida (g)	Peso do resto (g)
Café da manhã	Prato				
	Bebida				
Lanche da manhã	Prato				
	Bebida				
Almoço	Prato				
	Bebida				
Lanche da tarde	Prato				
	Bebida				
Jantar	Prato				
	Bebida				

ANEXO D – Modelo de Registro Alimentar

REGISTRO ALIMENTAR

Senhores pais, neste formulário deve ser descrito tudo o que o seu filho comer em casa HOJE desde a hora que chegar até a hora de dormir. Este formulário deve ser devolvido AMANHÃ na creche!

Nome da criança: _____

Nome do responsável: _____

Turma: _____ Data ____/____/____

[illegible]

ANEXO E – Questionário Socioeconômico

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – FCF/USP
QUESTIONÁRIO SÓCIOECONÔMICO**

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO:

- 1 Nome da mãe da criança: _____ Data da entrevista: ____/____/____
 2 Nome da criança: _____
 3 Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Sexo: M () F ()

DADOS SOCIOECONÔMICOS E DEMOGRÁFICOS:

- 1 **A senhora sabe ler e escrever?**
 SIM () a NÃO () b NUNCA ESTUDOU ()
- 2 **Quantos anos de estudo a senhora tem?** _____
- 3 **A senhora exerce alguma atividade remunerada dentro ou fora de casa?**
 a. SIM () Qual ocupação? _____
 b. NÃO ()
- 4 **Estado civil da mãe:**
 a UNIÃO FORMAL (Casada No Civil) ()
 b UNIÃO CONSENSUAL (Mora Junto) ()
 c SOLTEIRA (Tem Companheiro) ()
 d VIÚVA (Companheiro Morreu) ()
 e SEPARADA/DESQUITADA/DIVORCIADA (Não mora com o companheiro) ()
- 5 **Quantas pessoas vivem atualmente na casa onde a senhora mora?** (Considere apenas pessoas que estão morando na casa há pelo menos 3 meses, e que não são temporários, como um tio que está temporariamente vivendo com a senhora por menos de 3 meses ou visitantes)
 QUANTIDADE DE PESSOAS ()
 NÃO SABE ()
- 4 **Quem é a pessoa da família com maior renda atualmente? (O chefe da família)**
 a COMPANHEIRO () e AVÔ DA CRIANÇA () i OUTRO. QUEM? _____
 b MÃE DA CRIANÇA () f PADRASTO DA CRIANÇA () j NÃO SABE ()
 c PAI DA CRIANÇA () g TIA DA CRIANÇA ()
 d AVÓ DA CRIANÇA () h TIO DA CRIANÇA ()
- 5 **No mês passado, quanto as pessoas da família que trabalham ganharam?**
 a 1° Pessoa: R\$ _____.
 b 2° Pessoa: R\$ _____.
 c 3° Pessoa: R\$ _____.
 d 4° Pessoa: R\$ _____.
 e 5° Pessoa: R\$ _____.
 f A família tem outra renda? R\$ _____.
 g 6° Pessoa: R\$ _____.
 h 7° Pessoa: R\$ _____.
 i 8° Pessoa: R\$ _____.
 j 9° Pessoa: R\$ _____.
 k 10° Pessoa: R\$ _____.
 l 11° Pessoa: R\$ _____.
 m 12° Pessoa: R\$ _____.
 n 13° Pessoa: R\$ _____.
 o 14° Pessoa: R\$ _____.
 p 15° Pessoa: R\$ _____.
 q 16° Pessoa: R\$ _____.
 r 17° Pessoa: R\$ _____.
 s 18° Pessoa: R\$ _____.
 t 19° Pessoa: R\$ _____.
 u 20° Pessoa: R\$ _____.
 v 21° Pessoa: R\$ _____.
 w 22° Pessoa: R\$ _____.
 x 23° Pessoa: R\$ _____.
 y 24° Pessoa: R\$ _____.
 z 25° Pessoa: R\$ _____.
 aa 26° Pessoa: R\$ _____.
 ab 27° Pessoa: R\$ _____.
 ac 28° Pessoa: R\$ _____.
 ad 29° Pessoa: R\$ _____.
 ae 30° Pessoa: R\$ _____.
 af 31° Pessoa: R\$ _____.
 ag 32° Pessoa: R\$ _____.
 ah 33° Pessoa: R\$ _____.
 ai 34° Pessoa: R\$ _____.
 aj 35° Pessoa: R\$ _____.
 ak 36° Pessoa: R\$ _____.
 al 37° Pessoa: R\$ _____.
 am 38° Pessoa: R\$ _____.
 an 39° Pessoa: R\$ _____.
 ao 40° Pessoa: R\$ _____.
 ap 41° Pessoa: R\$ _____.
 aqu 42° Pessoa: R\$ _____.
 ar 43° Pessoa: R\$ _____.
 as 44° Pessoa: R\$ _____.
 at 45° Pessoa: R\$ _____.
 au 46° Pessoa: R\$ _____.
 av 47° Pessoa: R\$ _____.
 aw 48° Pessoa: R\$ _____.
 ax 49° Pessoa: R\$ _____.
 ay 50° Pessoa: R\$ _____.
 az 51° Pessoa: R\$ _____.
 ba 52° Pessoa: R\$ _____.
 bb 53° Pessoa: R\$ _____.
 bc 54° Pessoa: R\$ _____.
 bd 55° Pessoa: R\$ _____.
 be 56° Pessoa: R\$ _____.
 bf 57° Pessoa: R\$ _____.
 bg 58° Pessoa: R\$ _____.
 bh 59° Pessoa: R\$ _____.
 bi 60° Pessoa: R\$ _____.
 bj 61° Pessoa: R\$ _____.
 bk 62° Pessoa: R\$ _____.
 bl 63° Pessoa: R\$ _____.
 bm 64° Pessoa: R\$ _____.
 bn 65° Pessoa: R\$ _____.
 bo 66° Pessoa: R\$ _____.
 bp 67° Pessoa: R\$ _____.
 bq 68° Pessoa: R\$ _____.
 br 69° Pessoa: R\$ _____.
 bs 70° Pessoa: R\$ _____.
 bt 71° Pessoa: R\$ _____.
 bu 72° Pessoa: R\$ _____.
 bv 73° Pessoa: R\$ _____.
 bw 74° Pessoa: R\$ _____.
 bx 75° Pessoa: R\$ _____.
 by 76° Pessoa: R\$ _____.
 bz 77° Pessoa: R\$ _____.
 ca 78° Pessoa: R\$ _____.
 cb 79° Pessoa: R\$ _____.
 cc 80° Pessoa: R\$ _____.
 cd 81° Pessoa: R\$ _____.
 ce 82° Pessoa: R\$ _____.
 cf 83° Pessoa: R\$ _____.
 cg 84° Pessoa: R\$ _____.
 ch 85° Pessoa: R\$ _____.
 ci 86° Pessoa: R\$ _____.
 cj 87° Pessoa: R\$ _____.
 ck 88° Pessoa: R\$ _____.
 cl 89° Pessoa: R\$ _____.
 cm 90° Pessoa: R\$ _____.
 cn 91° Pessoa: R\$ _____.
 co 92° Pessoa: R\$ _____.
 cp 93° Pessoa: R\$ _____.
 cq 94° Pessoa: R\$ _____.
 cr 95° Pessoa: R\$ _____.
 cs 96° Pessoa: R\$ _____.
 ct 97° Pessoa: R\$ _____.
 cu 98° Pessoa: R\$ _____.
 cv 99° Pessoa: R\$ _____.
 cw 100° Pessoa: R\$ _____.
 cx 101° Pessoa: R\$ _____.
 cy 102° Pessoa: R\$ _____.
 cz 103° Pessoa: R\$ _____.
 da 104° Pessoa: R\$ _____.
 db 105° Pessoa: R\$ _____.
 dc 106° Pessoa: R\$ _____.
 dd 107° Pessoa: R\$ _____.
 de 108° Pessoa: R\$ _____.
 df 109° Pessoa: R\$ _____.
 dg 110° Pessoa: R\$ _____.
 dh 111° Pessoa: R\$ _____.
 di 112° Pessoa: R\$ _____.
 dj 113° Pessoa: R\$ _____.
 dk 114° Pessoa: R\$ _____.
 dl 115° Pessoa: R\$ _____.
 dm 116° Pessoa: R\$ _____.
 dn 117° Pessoa: R\$ _____.
 do 118° Pessoa: R\$ _____.
 dp 119° Pessoa: R\$ _____.
 dq 120° Pessoa: R\$ _____.
 dr 121° Pessoa: R\$ _____.
 ds 122° Pessoa: R\$ _____.
 dt 123° Pessoa: R\$ _____.
 du 124° Pessoa: R\$ _____.
 dv 125° Pessoa: R\$ _____.
 dw 126° Pessoa: R\$ _____.
 dx 127° Pessoa: R\$ _____.
 dy 128° Pessoa: R\$ _____.
 dz 129° Pessoa: R\$ _____.
 ea 130° Pessoa: R\$ _____.
 eb 131° Pessoa: R\$ _____.
 ec 132° Pessoa: R\$ _____.
 ed 133° Pessoa: R\$ _____.
 ee 134° Pessoa: R\$ _____.
 ef 135° Pessoa: R\$ _____.
 eg 136° Pessoa: R\$ _____.
 eh 137° Pessoa: R\$ _____.
 ei 138° Pessoa: R\$ _____.
 ej 139° Pessoa: R\$ _____.
 ek 140° Pessoa: R\$ _____.
 el 141° Pessoa: R\$ _____.
 em 142° Pessoa: R\$ _____.
 en 143° Pessoa: R\$ _____.
 eo 144° Pessoa: R\$ _____.
 ep 145° Pessoa: R\$ _____.
 eq 146° Pessoa: R\$ _____.
 er 147° Pessoa: R\$ _____.
 es 148° Pessoa: R\$ _____.
 et 149° Pessoa: R\$ _____.
 eu 150° Pessoa: R\$ _____.
 ev 151° Pessoa: R\$ _____.
 ew 152° Pessoa: R\$ _____.
 ex 153° Pessoa: R\$ _____.
 ey 154° Pessoa: R\$ _____.
 ez 155° Pessoa: R\$ _____.
 fa 156° Pessoa: R\$ _____.
 fb 157° Pessoa: R\$ _____.
 fc 158° Pessoa: R\$ _____.
 fd 159° Pessoa: R\$ _____.
 fe 160° Pessoa: R\$ _____.
 ff 161° Pessoa: R\$ _____.
 fg 162° Pessoa: R\$ _____.
 fh 163° Pessoa: R\$ _____.
 fi 164° Pessoa: R\$ _____.
 fj 165° Pessoa: R\$ _____.
 fk 166° Pessoa: R\$ _____.
 fl 167° Pessoa: R\$ _____.
 fm 168° Pessoa: R\$ _____.
 fn 169° Pessoa: R\$ _____.
 fo 170° Pessoa: R\$ _____.
 fp 171° Pessoa: R\$ _____.
 fq 172° Pessoa: R\$ _____.
 fr 173° Pessoa: R\$ _____.
 fs 174° Pessoa: R\$ _____.
 ft 175° Pessoa: R\$ _____.
 fu 176° Pessoa: R\$ _____.
 fv 177° Pessoa: R\$ _____.
 fw 178° Pessoa: R\$ _____.
 fx 179° Pessoa: R\$ _____.
 fy 180° Pessoa: R\$ _____.
 fz 181° Pessoa: R\$ _____.
 ga 182° Pessoa: R\$ _____.
 gb 183° Pessoa: R\$ _____.
 gc 184° Pessoa: R\$ _____.
 gd 185° Pessoa: R\$ _____.
 ge 186° Pessoa: R\$ _____.
 gf 187° Pessoa: R\$ _____.
 gg 188° Pessoa: R\$ _____.
 gh 189° Pessoa: R\$ _____.
 gi 190° Pessoa: R\$ _____.
 gj 191° Pessoa: R\$ _____.
 gk 192° Pessoa: R\$ _____.
 gl 193° Pessoa: R\$ _____.
 gm 194° Pessoa: R\$ _____.
 gn 195° Pessoa: R\$ _____.
 go 196° Pessoa: R\$ _____.
 gp 197° Pessoa: R\$ _____.
 gq 198° Pessoa: R\$ _____.
 gr 199° Pessoa: R\$ _____.
 gs 200° Pessoa: R\$ _____.
 gt 201° Pessoa: R\$ _____.
 gu 202° Pessoa: R\$ _____.
 gv 203° Pessoa: R\$ _____.
 gw 204° Pessoa: R\$ _____.
 gx 205° Pessoa: R\$ _____.
 gy 206° Pessoa: R\$ _____.
 gz 207° Pessoa: R\$ _____.
 ha 208° Pessoa: R\$ _____.
 hb 209° Pessoa: R\$ _____.
 hc 210° Pessoa: R\$ _____.
 hd 211° Pessoa: R\$ _____.
 he 212° Pessoa: R\$ _____.
 hf 213° Pessoa: R\$ _____.
 hg 214° Pessoa: R\$ _____.
 hh 215° Pessoa: R\$ _____.
 hi 216° Pessoa: R\$ _____.
 hj 217° Pessoa: R\$ _____.
 hk 218° Pessoa: R\$ _____.
 hl 219° Pessoa: R\$ _____.
 hm 220° Pessoa: R\$ _____.
 hn 221° Pessoa: R\$ _____.
 ho 222° Pessoa: R\$ _____.
 hp 223° Pessoa: R\$ _____.
 hq 224° Pessoa: R\$ _____.
 hr 225° Pessoa: R\$ _____.
 hs 226° Pessoa: R\$ _____.
 ht 227° Pessoa: R\$ _____.
 hu 228° Pessoa: R\$ _____.
 hv 229° Pessoa: R\$ _____.
 hw 230° Pessoa: R\$ _____.
 hx 231° Pessoa: R\$ _____.
 hy 232° Pessoa: R\$ _____.
 hz 233° Pessoa: R\$ _____.
 ia 234° Pessoa: R\$ _____.
 ib 235° Pessoa: R\$ _____.
 ic 236° Pessoa: R\$ _____.
 id 237° Pessoa: R\$ _____.
 ie 238° Pessoa: R\$ _____.
 if 239° Pessoa: R\$ _____.
 ig 240° Pessoa: R\$ _____.
 ih 241° Pessoa: R\$ _____.
 ii 242° Pessoa: R\$ _____.
 ij 243° Pessoa: R\$ _____.
 ik 244° Pessoa: R\$ _____.
 il 245° Pessoa: R\$ _____.
 im 246° Pessoa: R\$ _____.
 in 247° Pessoa: R\$ _____.
 io 248° Pessoa: R\$ _____.
 ip 249° Pessoa: R\$ _____.
 iq 250° Pessoa: R\$ _____.
 ir 251° Pessoa: R\$ _____.
 is 252° Pessoa: R\$ _____.
 it 253° Pessoa: R\$ _____.
 iu 254° Pessoa: R\$ _____.
 iv 255° Pessoa: R\$ _____.
 iw 256° Pessoa: R\$ _____.
 ix 257° Pessoa: R\$ _____.
 iy 258° Pessoa: R\$ _____.
 iz 259° Pessoa: R\$ _____.
 ja 260° Pessoa: R\$ _____.
 jb 261° Pessoa: R\$ _____.
 jc 262° Pessoa: R\$ _____.
 jd 263° Pessoa: R\$ _____.
 je 264° Pessoa: R\$ _____.
 jf 265° Pessoa: R\$ _____.
 jg 266° Pessoa: R\$ _____.
 jh 267° Pessoa: R\$ _____.
 ji 268° Pessoa: R\$ _____.
 jj 269° Pessoa: R\$ _____.
 jk 270° Pessoa: R\$ _____.
 jl 271° Pessoa: R\$ _____.
 jm 272° Pessoa: R\$ _____.
 jn 273° Pessoa: R\$ _____.
 jo 274° Pessoa: R\$ _____.
 jp 275° Pessoa: R\$ _____.
 jq 276° Pessoa: R\$ _____.
 jr 277° Pessoa: R\$ _____.
 js 278° Pessoa: R\$ _____.
 jt 279° Pessoa: R\$ _____.
 ju 280° Pessoa: R\$ _____.
 jv 281° Pessoa: R\$ _____.
 jw 282° Pessoa: R\$ _____.
 jx 283° Pessoa: R\$ _____.
 jy 284° Pessoa: R\$ _____.
 jz 285° Pessoa: R\$ _____.
 ka 286° Pessoa: R\$ _____.
 kb 287° Pessoa: R\$ _____.
 kc 288° Pessoa: R\$ _____.
 kd 289° Pessoa: R\$ _____.
 ke 290° Pessoa: R\$ _____.
 kf 291° Pessoa: R\$ _____.
 kg 292° Pessoa: R\$ _____.
 kh 293° Pessoa: R\$ _____.
 ki 294° Pessoa: R\$ _____.
 kj 295° Pessoa: R\$ _____.
 kk 296° Pessoa: R\$ _____.
 kl 297° Pessoa: R\$ _____.
 km 298° Pessoa: R\$ _____.
 kn 299° Pessoa: R\$ _____.
 ko 300° Pessoa: R\$ _____.
 kp 301° Pessoa: R\$ _____.
 kq 302° Pessoa: R\$ _____.
 kr 303° Pessoa: R\$ _____.
 ks 304° Pessoa: R\$ _____.
 kt 305° Pessoa: R\$ _____.
 ku 306° Pessoa: R\$ _____.
 kv 307° Pessoa: R\$ _____.
 kw 308° Pessoa: R\$ _____.
 kx 309° Pessoa: R\$ _____.
 ky 310° Pessoa: R\$ _____.
 kz 311° Pessoa: R\$ _____.
 la 312° Pessoa: R\$ _____.
 lb 313° Pessoa: R\$ _____.
 lc 314° Pessoa: R\$ _____.
 ld 315° Pessoa: R\$ _____.
 le 316° Pessoa: R\$ _____.
 lf 317° Pessoa: R\$ _____.
 lg 318° Pessoa: R\$ _____.
 lh 319° Pessoa: R\$ _____.
 li 320° Pessoa: R\$ _____.
 lj 321° Pessoa: R\$ _____.
 lk 322° Pessoa: R\$ _____.
 ll 323° Pessoa: R\$ _____.
 lm 324° Pessoa: R\$ _____.
 ln 325° Pessoa: R\$ _____.
 lo 326° Pessoa: R\$ _____.
 lp 327° Pessoa: R\$ _____.
 lq 328° Pessoa: R\$ _____.
 lr 329° Pessoa: R\$ _____.
 ls 330° Pessoa: R\$ _____.
 lt 331° Pessoa: R\$ _____.
 lu 332° Pessoa: R\$ _____.
 lv 333° Pessoa: R\$ _____.
 lw 334° Pessoa: R\$ _____.
 lx 335° Pessoa: R\$ _____.
 ly 336° Pessoa: R\$ _____.
 lz 337° Pessoa: R\$ _____.
 ma 338° Pessoa: R\$ _____.
 mb 339° Pessoa: R\$ _____.
 mc 340° Pessoa: R\$ _____.
 md 341° Pessoa: R\$ _____.
 me 342° Pessoa: R\$ _____.
 mf 343° Pessoa: R\$ _____.
 mg 344° Pessoa: R\$ _____.
 mh 345° Pessoa: R\$ _____.
 mi 346° Pessoa: R\$ _____.
 mj 347° Pessoa: R\$ _____.
 mk 348° Pessoa: R\$ _____.
 ml 349° Pessoa: R\$ _____.
 mm 350° Pessoa: R\$ _____.
 mn 351° Pessoa: R\$ _____.
 mo 352° Pessoa: R\$ _____.
 mp 353° Pessoa: R\$ _____.
 mq 354° Pessoa: R\$ _____.
 mr 355° Pessoa: R\$ _____.
 ms 356° Pessoa: R\$ _____.
 mt 357° Pessoa: R\$ _____.
 mu 358° Pessoa: R\$ _____.
 mv 359° Pessoa: R\$ _____.
 mw 360° Pessoa: R\$ _____.
 mx 361° Pessoa: R\$ _____.
 my 362° Pessoa: R\$ _____.
 mz 363° Pessoa: R\$ _____.
 na 364° Pessoa: R\$ _____.
 nb 365° Pessoa: R\$ _____.
 nc 366° Pessoa: R\$ _____.
 nd 367° Pessoa: R\$ _____.
 ne 368° Pessoa: R\$ _____.
 nf 369° Pessoa: R\$ _____.
 ng 370° Pessoa: R\$ _____.
 nh 371° Pessoa: R\$ _____.
 ni 372° Pessoa: R\$ _____.
 nj 373° Pessoa: R\$ _____.
 nk 374° Pessoa: R\$ _____.
 nl 375° Pessoa: R\$ _____.
 nm 376° Pessoa: R\$ _____.
 nn 377° Pessoa: R\$ _____.
 no 378° Pessoa: R\$ _____.
 np 379° Pessoa: R\$ _____.
 nq 380° Pessoa: R\$ _____.
 nr 381° Pessoa: R\$ _____.
 ns 382° Pessoa: R\$ _____.
 nt 383° Pessoa: R\$ _____.
 nu 384° Pessoa: R\$ _____.
 nv 385° Pessoa: R\$ _____.
 nw 386° Pessoa: R\$ _____.
 nx 387° Pessoa: R\$ _____.
 ny 388° Pessoa: R\$ _____.
 nz 389° Pessoa: R\$ _____.
 oa 390° Pessoa: R\$ _____.
 ob 391° Pessoa: R\$ _____.
 oc 392° Pessoa: R\$ _____.
 od 393° Pessoa: R\$ _____.
 oe 394° Pessoa: R\$ _____.
 of 395° Pessoa: R\$ _____.
 og 396° Pessoa: R\$ _____.
 oh 397° Pessoa: R\$ _____.
 oi 398° Pessoa: R\$ _____.
 oj 399° Pessoa: R\$ _____.
 ok 400° Pessoa: R\$ _____.
 ol 401° Pessoa: R\$ _____.
 om 402° Pessoa: R\$ _____.
 on 403° Pessoa: R\$ _____.
 oo 404° Pessoa: R\$ _____.
 op 405° Pessoa: R\$ _____.
 oq 406° Pessoa: R\$ _____.
 or 407° Pessoa: R\$ _____.
 os 408° Pessoa: R\$ _____.
 ot 409° Pessoa: R\$ _____.
 ou 410° Pessoa: R\$ _____.
 ov 411° Pessoa: R\$ _____.
 ow 412° Pessoa: R\$ _____.
 ox 413° Pessoa: R\$ _____.
 oy 414° Pessoa: R\$ _____.
 oz 415° Pessoa: R\$ _____.
 pa 416° Pessoa: R\$ _____.
 pb 417° Pessoa: R\$ _____.
 pc 418° Pessoa: R\$ _____.
 pd 419° Pessoa: R\$ _____.
 pe 420° Pessoa: R\$ _____.
 pf 421° Pessoa: R\$ _____.
 pg 422° Pessoa: R\$ _____.
 ph 423° Pessoa: R\$ _____.
 pi 424° Pessoa: R\$ _____.
 pj 425° Pessoa: R\$ _____.
 pk 426° Pessoa: R\$ _____.
 pl 427° Pessoa: R\$ _____.
 pm 428° Pessoa: R\$ _____.
 pn 429° Pessoa: R\$ _____.
 po 430° Pessoa: R\$ _____.
 pp 431° Pessoa: R\$ _____.
 pq 432° Pessoa: R\$ _____.
 pr 433° Pessoa: R\$ _____.
 ps 434° Pessoa: R\$ _____.
 pt 435° Pessoa: R\$ _____.
 pu 436° Pessoa: R\$ _____.
 pv 437° Pessoa: R\$ _____.
 pw 438° Pessoa: R\$ _____.
 px 439° Pessoa: R\$ _____.
 py 440° Pessoa: R\$ _____.
 pz 441° Pessoa: R\$ _____.
 qa 442° Pessoa: R\$ _____.
 qb 443° Pessoa: R\$ _____.
 qc 444° Pessoa: R\$ _____.
 qd 445° Pessoa: R\$ _____.
 qe 446° Pessoa: R\$ _____.
 qf 447° Pessoa: R\$ _____.
 qg 448° Pessoa: R\$ _____.
 qh 449° Pessoa: R\$ _____.
 qi 450° Pessoa: R\$ _____.
 qj 451° Pessoa: R\$ _____.
 qk 452° Pessoa: R\$ _____.
 ql 453° Pessoa: R\$ _____.
 qm 454° Pessoa: R\$ _____.
 qn 455° Pessoa: R\$ _____.
 qo 456° Pessoa: R\$ _____.
 qp 457° Pessoa: R\$ _____.
 qq 458° Pessoa: R\$ _____.
 qr 459° Pessoa: R\$ _____.
 qs 460° Pessoa: R\$ _____.
 qt 461° Pessoa: R\$ _____.
 qu 462° Pessoa: R\$ _____.
 qv 463° Pessoa: R\$ _____.
 qw 464° Pessoa: R\$ _____.
 qx 465° Pessoa: R\$ _____.
 qy 466° Pessoa: R\$ _____.
 qz 467° Pessoa: R\$ _____.
 ra 468° Pessoa: R\$ _____.
 rb 469° Pessoa: R\$ _____.
 rc 470° Pessoa: R\$ _____.
 rd 471° Pessoa: R\$ _____.
 re 472° Pessoa: R\$ _____.
 rf 473° Pessoa: R\$ _____.
 rg 474° Pessoa: R\$ _____.
 rh 475° Pessoa: R\$ _____.
 ri 476° Pessoa: R\$ _____.
 rj 477° Pessoa: R\$ _____.
 rk 478° Pessoa: R\$ _____.
 rl 479° Pessoa: R\$ _____.
 rm 480° Pessoa: R\$ _____.
 rn 481° Pessoa: R\$ _____.
 ro 482° Pessoa: R\$ _____.
 rp 483° Pessoa: R\$ _____.
 rq 484° Pessoa: R\$ _____.
 rr 485° Pessoa: R\$ _____.
 rs 486° Pessoa: R\$ _____.
 rt 487° Pessoa: R\$ _____.
 ru 488° Pessoa: R\$ _____.
 rv 489° Pessoa: R\$ _____.
 rw 490° Pessoa: R\$ _____.
 rx 491° Pessoa: R\$ _____.
 ry 492° Pessoa: R\$ _____.
 rz 493° Pessoa: R\$ _____.
 sa 494° Pessoa: R\$ _____.
 sb 495° Pessoa: R\$ _____.
 sc 496° Pessoa: R\$ _____.
 sd 497° Pessoa: R\$ _____.
 se 498° Pessoa: R\$ _____.
 sf 499° Pessoa: R\$ _____.
 sg 500° Pessoa: R\$ _____.
 sh 501° Pessoa: R\$ _____.
 si 502° Pessoa: R\$ _____.
 sj 503° Pessoa: R\$ _____.
 sk 504° Pessoa: R\$ _____.
 sl 505° Pessoa: R\$ _____.
 sm 506° Pessoa: R\$ _____.
 sn 507° Pessoa: R\$ _____.
 so 508° Pessoa: R\$ _____.
 sp 509° Pessoa: R\$ _____.
 sq 510° Pessoa: R\$ _____.
 sr 511° Pessoa: R\$ _____.
 ss 512° Pessoa: R\$ _____.
 st 513° Pessoa: R\$ _____.
 su 514° Pessoa: R\$ _____.
 sv 515° Pessoa: R\$ _____.
 sw 516° Pessoa: R\$ _____.
 sx 517° Pessoa: R\$ _____.
 sy 518° Pessoa: R\$ _____.
 sz 519° Pessoa: R\$ _____.
 ta 520° Pessoa: R\$ _____.
 tb 521° Pessoa: R\$ _____.
 tc 522° Pessoa: R\$ _____.
 td 523° Pessoa: R\$ _____.
 te 524° Pessoa: R\$ _____.
 tf 525° Pessoa: R\$ _____.
 tg 526° Pessoa: R\$ _____.
 th 527° Pessoa: R\$ _____.
 ti 528° Pessoa: R\$ _____.
 tj 529° Pessoa: R\$ _____.
 tk 530° Pessoa: R\$ _____.
 tl 531° Pessoa: R\$ _____.
 tm 532° Pessoa: R\$ _____.
 tn 533° Pessoa: R\$ _____.
 to 534° Pessoa: R\$ _____.
 tp 535° Pessoa: R\$ _____.
 tq 536° Pessoa: R\$ _____.
 tr 537° Pessoa: R\$ _____.
 ts 538° Pessoa: R\$ _____.
 tt 539° Pessoa: R\$ _____.
 tu 540° Pessoa: R\$ _____.
 tv 541° Pessoa: R\$ _____.
 tw 542° Pessoa: R\$ _____.
 tx 543° Pessoa: R\$ _____.
 ty 544° Pessoa: R\$ _____.
 tz 545° Pessoa: R\$ _____.
 ua 546° Pessoa: R\$ _____.
 ub 547° Pessoa: R\$ _____.
 uc 548° Pessoa: R\$ _____.
 ud 549° Pessoa: R\$ _____.
 ue 550° Pessoa: R\$ _____.
 uf 551° Pessoa: R\$ _____.
 ug 552° Pessoa: R\$ _____.
 uh 553° Pessoa: R\$ _____.
 ui 554° Pessoa: R\$ _____.
 uj 555° Pessoa: R\$ _____.
 uk 556° Pessoa: R\$ _____.
 ul 557° Pessoa: R\$ _____.
 um 558° Pessoa: R\$ _____.
 un 559° Pessoa: R\$ _____.
 uo 560° Pessoa: R\$ _____.
 up 561° Pessoa: R\$ _____.
 uq 562° Pessoa: R\$ _____.
 ur 563° Pessoa: R\$ _____.
 us 564° Pessoa: R\$ _____.
 ut 565° Pessoa: R\$ _____.
 uu 566° Pessoa: R\$ _____.
 uv 567° Pessoa: R\$ _____.
 uw 568° Pessoa: R\$ _____.
 ux 569° Pessoa: R\$ _____.
 uy 570° Pessoa: R\$ _____.
 uz 571° Pessoa: R\$ _____.
 va 572° Pessoa: R\$ _____.
 vb 573° Pessoa: R\$ _____.
 vc 574° Pessoa: R\$ _____.
 vd 575° Pessoa: R\$ _____.
 ve 576° Pessoa: R\$ _____.
 vf 577° Pessoa: R\$ _____.
 vg 578° Pessoa: R\$ _____.
 vh 579° Pessoa: R\$ _____.
 vi 580° Pessoa: R\$ _____.
 vj 581° Pessoa: R\$ _____.
 vk 582° Pessoa: R\$ _____.
 vl 583° Pessoa: R\$ _____.
 vm 584° Pessoa: R\$ _____.
 vn 585° Pessoa: R\$ _____.
 vo 586° Pessoa: R\$ _____.
 vp 587° Pessoa: R\$ _____.
 vq 588° Pessoa: R\$ _____.
 vr 589° Pessoa: R\$ _____.
 vs 590° Pessoa: R\$ _____.
 vt 591° Pessoa: R\$ _____.
 vu 592° Pessoa: R\$ _____.
 vv 593° Pessoa: R\$ _____.
 vw 594° Pessoa: R\$ _____.
 vx 595° Pessoa: R\$ _____.
 vy 596° Pessoa: R\$ _____.
 vz 597° Pessoa: R\$ _____.
 wa 598° Pessoa: R\$ _____.
 wb 599° Pessoa: R\$ _____.
 wc 600° Pessoa: R\$ _____.
 wd 601° Pessoa: R\$ _____.
 we 602° Pessoa: R\$ _____.
 wf 603° Pessoa: R\$ _____.
 wg 604° Pessoa: R\$ _____.
 wh 605° Pessoa: R\$ _____.
 wi 606° Pessoa: R\$ _____.
 wj 607° Pessoa: R\$ _____.
 wk 608° Pessoa: R\$ _____.
 wl 609° Pessoa: R\$ _____.
 wm 610° Pessoa: R\$ _____.
 wn 611° Pessoa: R\$ _____.
 wo 612° Pessoa: R\$ _____.
 wp 613° Pessoa: R\$ _____.
 wq 614° Pessoa: R\$ _____.
 wr 615° Pessoa: R\$ _____.
 ws 616° Pessoa: R\$ _____.
 wt 617° Pessoa: R\$ _____.
 wu 618° Pessoa: R\$ _____.
 wv 619° Pessoa: R\$ _____.
 ww 620° Pessoa: R\$ _____.
 wx 621° Pessoa: R\$ _____.
 wy 622° Pessoa: R\$ _____.
 wz 623° Pessoa: R\$ _____.
 xa 624° Pessoa: R\$ _____.
 xb 625° Pessoa: R\$ _____.
 xc 626° Pessoa: R\$ _____.
 xd 627° Pessoa: R\$ _____.
 xe 628° Pessoa: R\$ _____.
 xf 629° Pessoa: R\$ _____.
 xg 630° Pessoa: R\$ _____.
 xh 631° Pessoa: R\$ _____.
 xi 632° Pessoa: R\$ _____.
 xj 633° Pessoa: R\$ _____.
 xk 634° Pessoa: R\$ _____.
 xl 635° Pessoa: R\$ _____.
 xm 636° Pessoa: R\$ _____.
 xn 637° Pessoa: R\$ _____.
 xo 638° Pessoa: R\$ _____.
 xp 639° Pessoa: R\$ _____.
 xq 640° Pessoa: R\$ _____.
 xr 641° Pessoa: R\$ _____.
 xs 642° Pessoa: R\$ _____.
 xt 643° Pessoa: R\$ _____.
 xu 644° Pessoa: R\$ _____.
 xv 645° Pessoa: R\$ _____.
 xw 646° Pessoa: R\$ _____.
 xx 647° Pessoa: R\$ _____.
 xy 648° Pessoa: R\$ _____.
 xz 649° Pessoa: R\$ _____.
 ya 650° Pessoa: R\$ _____.
 yb 651° Pessoa: R\$ _____.
 yc 652° Pessoa: R\$ _____.
 yd 653° Pessoa: R\$ _____.
 ye 654° Pessoa: R\$ _____.
 yf 655° Pessoa: R\$ _____.
 yg 656° Pessoa: R\$ _____.
 yh 657° Pessoa: R\$ _____.
 yi 658° Pessoa: R\$ _____.
 yj 659° Pessoa: R\$ _____.
 yk 660° Pessoa: R\$ _____.
 yl 661° Pessoa: R\$ _____.
 ym 662° Pessoa: R\$ _____.
 yn 663° Pessoa: R\$ _____.
 yo 664° Pessoa: R\$ _____.
 yp 665° Pessoa: R\$ _____.
 yq 666° Pessoa: R\$ _____.
 yr 667° Pessoa: R\$ _____.
 ys 668° Pessoa: R\$ _____.
 yt 669° Pessoa: R\$ _____.
 yu 670° Pessoa: R\$ _____.
 yv 671° Pessoa: R\$ _____.
 yw 672° Pessoa: R\$ _____.
 yx 673° Pessoa: R\$ _____.
 yy 674° Pessoa: R\$ _____.
 yz 675° Pessoa: R\$ _____.
 za 676° Pessoa: R\$ _____.
 zb 677° Pessoa: R\$ _____.
 z

g Renda total da família: R\$ __.____,____

6 Participa de algum programa de transferência de renda do governo?

SIM () NÃO ()

7 Na casa da criança tem luz elétrica? (Considerar “Gato” como não tendo luz elétrica)

SIM () NÃO ()

8 Qual o tipo de esgotamento sanitário da casa?

- a REDE PÚBLICA (Quando o aparelho sanitário estiver ligado a uma rede coletora geral) ()
- b FOSSA SÉPTICA (Quando o aparelho sanitário estiver ligado a esse tipo de fossa) ()
- c FOSSA RUDIMENTAR (Quando não houver aparelho sanitário e o domicílio for servido por fossa negra, poço, buraco, etc) ()
- d OUTRO ESCOADOURO (Quando a instalação sanitária ,havendo ou não aparelho, estiver ligada a um escoadouro qualquer, que não rede de esgoto ou fossa, tais como rios, lagos, etc) ()
- e NÃO SABE ()

9 Quantos itens abaixo a família possui?

	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4 ou mais
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada Mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de Lavar	0	2	2	2	2
Videocassete ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente da geladeira)	0	2	2	2	2

Fonte: ABEP, 2012

10 Qual o grau de instrução do chefe da família?

Grau	Pontuação
Analfabeto / Primário Incompleto / Até a 3° série Fundamental	0
Primário Completo / Até 4° Série Fundamental / Ginásial Incompleto	1
Ginásial Completo / Fundamental Completo / Colegial Incompleto	2
Colegial Completo / Médio Completo / Superior incompleto	4
Superior Completo	8

Fonte: ABEP, 2012

PONTUAÇÃO TOTAL: _____

ANEXO F – Ficha do aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

89131 - 7908717/1 - Bruna Zavarize Reis

Email: brunareis@usp.br
Data de Nascimento: 24/01/1989
Cédula de Identidade: RG - 1.546.292 - SE
Local de Nascimento: Estado de Sergipe
Nacionalidade: Brasileira
Graduação: Nutricionista - Universidade Federal de Sergipe - Sergipe - Brasil - 2011

Curso: Mestrado
Programa: Nutrição Humana Aplicada (1)
Data de Matrícula: 27/02/2012
Início da Contagem de Prazo: 27/02/2012
Data Limite para o Depósito: 27/08/2014
Orientador Acadêmico: Prof(a). Dr(a). Julio Orlando Tirapegui Toledo - 27/02/2012 a 14/08/2012 E.Mail: tirapegu@usp.br
Orientador: Prof(a). Dr(a). Sílvia Maria Franciscato Cozzolino - 15/08/2012 até o presente. E.Mail: smfcozzo@usp.br
Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 27/02/2012
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 04/04/2013
Data do Depósito do Trabalho:
Título do Trabalho:
Data Máxima para Aprovação da Banca:
Data de Aprovação da Banca:
Data Máxima para Defesa:
Data da Defesa:
Resultado da Defesa:
Histórico de Ocorrências: Ingressou no Mestrado em 27/02/2012
 Matrícula Regular em 10/02/2014

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 5473 em vigor de 18/09/2008 até 19/04/2013)

Última ocorrência: Matrícula Regular em 10/02/2014**Impresso em:** 14/07/14 13:07:11

Universidade de São Paulo
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

89131 - 7908717/1 - Bruna Zavarize Reis

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
HEP5800-3/1	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	01/03/2012	10/05/2012	90	6	100	A	N	Concluída
FBA5899-2/2	Biodisponibilidade de Nutrientes e de Substâncias Bioativas em Alimentos e Dietas (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	05/03/2012	15/04/2012	90	6	100	A	N	Concluída
FBA5712-5/4	Fisiologia da Nutrição I (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	16/04/2012	27/05/2012	90	6	100	A	N	Concluída
NHA5705-2/4	Fundamentos da Biologia Molecular Aplicados à Nutrição Humana	28/05/2012	01/07/2012	60	4	100	A	N	Concluída
EAE5876-4/5	Economia da Alimentação e Nutrição (Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade - Universidade de São Paulo)	06/08/2012	30/11/2012	120	8	88	A	N	Concluída
SCS5703-2/1	Metodologia e Divulgação do Artigo Científico (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	10/08/2012	07/12/2012	60	4	95	A	N	Concluída
EDM5791-5/9	Metodologia do Ensino Superior (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	15/08/2012	30/11/2012	120	0	0	-	N	Matrícula cancelada
FBA5728-3/6	Aprimoramento Didático (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo)	16/10/2012	12/11/2012	60	4	75	A	N	Concluída
BMH5760-3/3	Biologia das Mucosas Gástrica e Intestinal (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo) (2)	08/04/2014	13/05/2014	60	4	100	A	S	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	25	25	42
Estágios:			
Total:	25	25	42

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Observações:

- 1) Unidades de Ensino responsáveis pelo programa: Faculdade de Saúde Pública - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade.
- 2) Disciplina(s) cursada(s) voluntariamente pelo(a) candidato(a) após ter cumprido as exigências regulamentares.

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula Regular em 10/02/2014

Impresso em: 14/07/14 13:07:11

ANEXO G – Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Secretaria de Pós-Graduação**Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de
Mestrado/Doutorado**

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.
2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.
 - 2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.
3. A sessão de defesa será aberta ao público.
4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.
 - 4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.
 - 4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.
5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 23 de maio de 2014.

Prof. Dr. Adalberto Pessoa Junior
Presidente da CPG/FCF/USP

ANEXO H – Currículo Lattes

Dados pessoais**Nome** Bruna Zavarize Reis**Nome em citações bibliográficas** REIS, B. Z.;
ZAVARIZE REIS, BRUNA;
REIS, BRUNA ZAVARIZE**Endereço eletrônico**

E-mail para contato : brunazreis@yahoo.com.br

Formação acadêmica/titulação

- 2012** Mestranda em Nutrição Humana Aplicada.
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil
Título: Avaliação do estado nutricional relativo ao zinco em crianças e sua relação com a expressão gênica das proteínas transportadoras de zinco ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4)
Orientador: Silvia Maria Franciscato Cozzolino
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 2007 - 2010** Graduação em Nutrição.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil
Título: Composição de nutrientes da dieta está associada à obesidade em mulheres ativas
Orientador: Raquel Simões Mendes Netto

Atuação profissional

- 1. Universidade de São Paulo - USP**
Vínculo institucional
2012 - 2014
- 2. Universidade Federal de Sergipe - UFS**
Vínculo institucional
2009 - 2010 Vínculo: Colaborador , Enquadramento funcional: Estagiária , Carga horária: 20, Regime: Dedicação exclusiva

Projetos

Projetos de pesquisa

2012 - 2014 AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO ZINCO EM CRIANÇAS E SUA RELAÇÃO COM A EXPRESSÃO GÊNICA DAS PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE ZINCO ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4).

Descrição: A deficiência de zinco é considerada uma das deficiências nutricionais de maior importância epidemiológica, possuindo grandes repercussões no contexto da saúde pública em todo o mundo. Acredita-se que aproximadamente um terço de toda a população mundial apresente deficiência desse micronutriente. Vários métodos podem ser utilizados na avaliação do estado nutricional do indivíduo relativo ao zinco, destacando-se a avaliação do mineral no plasma e no eritrócito. No entanto, estas avaliações não detectam o estado subclínico dessa deficiência em indivíduos, devido principalmente à eficiente homeostase deste mineral. Avanços metodológicos na avaliação de aspectos moleculares constituem uma nova ferramenta para a investigação do estado nutricional dos indivíduos relativo ao zinco, por meio da avaliação da expressão gênica das proteínas transportadoras, destacando-se os transportadores ZnT1 (SLC30A1) e ZIP4 (SLC39A4). O objetivo

desse trabalho é avaliar o estado nutricional relativo ao zinco de pré-escolares e sua relação com a expressão de genes codificantes de proteínas transportadoras de zinco.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Bruna Zavarize Reis; Silvia Maria Franciscato Cozzolino (Responsável)

Financiador(es): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPE

Número de produções C,T & A: 1/

2011 - Atual AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE ALIMENTOS BIOFORTIFICADOS NA ALIMENTAÇÃO ESCOLAR.

Descrição: O objetivo desse trabalho será avaliar o efeito do consumo de alimentos biofortificados na melhoria e/ou manutenção do estado nutricional de ferro, zinco e vitamina A de pré-escolares do município de Aracaju, Sergipe. Será realizado um estudo intervenção em crianças matriculadas em creches filantrópicas de período integral. Durante 5 meses do período letivo será avaliada a eficácia dos alimentos biofortificados no estado nutricional de ferro e vitamina A de crianças pré-escolares. Os alimentos biofortificados avaliados serão arroz, feijão, feijão caupi, mandioca, abóbora, batata doce e milho. As crianças serão divididas em dois grupos, o G1 (grupo intervenção) e o G2 (controle) e durante este período receberão regularmente três refeições por dia (café da manhã, almoço e lanche da tarde), no entanto, apenas o G1 terá em sua alimentação os produtos biofortificados. No início e final do semestre escolar, serão realizadas avaliações bioquímicas, antropométricas das crianças e de consumo alimentar. Realizar-se-á previamente um estudo preliminar no qual serão analisados dados referentes à avaliação antropométrica, avaliação dietética, aceitação dos alimentos biofortificados e prevalência de anemia ferropriva nessa população, sendo iniciado o tratamento nas crianças diagnosticadas anêmicas, antes do início do estudo.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (2); Mestrado acadêmico (2); Doutorado (2);

Integrantes: Bruna Zavarize Reis; Diva Aliete dos Santos Vieira; Raquel Simões Mendes-Netto (Responsável); Danielle Goes da Silva; Silvia Maria Franciscato Cozzolino

Financiador(es): Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA, Fundação Arthur Bernardes-FUNARBE

Número de produções C,T & A: 5/

2009 - 2010 EFEITO DA ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL EM INDIVÍDUOS ENGAJADOS NO PROGRAMA DE ATIVIDADE FÍSICA REGULAR

Descrição: O presente projeto tem como objetivo avaliar o efeito de um programa nutricional sobre parâmetros antropométricos entre mulheres participantes de um programa de atividade física regular. O estudo será desenvolvido em três etapas: a primeira referente à seleção, caracterização e formação de dois grupos de estudo (GO grupo orientação e GC grupo controle); a segunda referente ao período de acompanhamento nutricional com quatro meses de duração e; a última etapa refere-se ao período de dois meses sem orientação nutricional para o grupo GO. As atividades de orientação nutricional serão em grupo e terão abordagens teóricas e/ou práticas. Neste contexto, o projeto surge com a perspectiva de definir protocolos dietéticos eficientes para prevenção/tratamento das DCNT, além de proporcionar melhores conhecimentos de saúde e nutrição na população estudada.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (5);

Integrantes: Bruna Zavarize Reis; Diva Aliete dos Santos Vieira; Dayanne da Costa; Jamille O. Costa; Pryscila Dryelle Sousa Teixeira; ELMA REGINA S. ANDRADE-WARTHA; Raquel Simões Mendes-Netto (Responsável)

Financiador(es): Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe-FAPITEC/SE

Número de produções C,T & A: 12/

2009 - 2010 PRÁTICAS ALIMENTARES, PERFIL DIETÉTICO E ANTROPOMÉTRICO DE USUÁRIOS DE UM PROGRAMA DE ATIVIDADE FÍSICA REGULAR (ACADEMIA DA CIDADE)

Descrição: Avaliar o estado nutricional, hábitos alimentares e conhecimento em nutrição de mulheres adultas (20-60 anos) praticantes de atividade física regular do programa Academia da Cidade (Aracaju/SE).

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (6);

Integrantes: Bruna Zavarize Reis; Pryscila Dryele; Diva Aliete dos Santos Vieira; Dayanne da Costa; Jamille Oliveira Costa; Raquel Simões Mendes Netto (Responsável); Maria Edivânia Alves dos Santos

Número de produções C,T & A: 21/

Projeto de extensão

2009 - 2009 EDUCAÇÃO ALIMENTAR COMO FERRAMENTA PARA ADOÇÃO DE HÁBITOS ALIMENTARES SAUDÁVEIS ENTRE USUÁRIOS DE UM PROGRAMA DE ATIVIDADE FÍSICA REGULAR 'ACADEMIA DA CIDADE'

Descrição: A Prefeitura de Aracaju juntamente com o NUPAFISE (Núcleo de Pesquisa da Aptidão Física de Sergipe/ UFS / DEF) desenvolve desde 2004 o programa Academia da Cidade onde semanalmente são orientadas práticas desportivas para população com o objetivo de promoção e manutenção da saúde e bem-estar. Dentro deste contexto, torna-se essencial a inclusão de ações e estratégias nutricionais que auxiliem a obtenção de resultados satisfatórios no combate ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Considerando a inexistência de medidas anteriores que tenham como perspectiva a orientação nutricional, o presente projeto tem como objetivo diagnosticar o estado nutricional e alimentar destes indivíduos e propor atividades de educação nutricional bem como o desenvolvimento de materiais educativos e realização de eventos que divulguem a importância da prática de hábitos alimentares saudáveis.

Situação: Concluído Natureza: Projeto de extensão

Alunos envolvidos: Graduação (5);

Integrantes: Bruna Zavarize Reis; Pryscila Dryele; Diva Aliete dos Santos Vieira; Dayanne da Costa; Jamille Oliveira Costa; Raquel Simões Mendes Netto (Responsável)

Financiador(es): Universidade Federal de Sergipe-UFS

Número de produções C,T & A: 10/

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. COSTA, D., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., TEIXEIRA, P. D. S., RAPOSO, O.F.F., LIMA, F. E. L., MENDES-NETTO, R. S.

Índice de qualidade da dieta de mulheres usuárias de um programa de atividade física regular 'Academia da Cidade', Aracaju, SE. Revista de Nutrição (Impresso). , v.25, p.731 - 741, 2012.

2. **ZAVARIZE REIS, BRUNA**, COSTA, DAYANNE DA, SANTOS VIEIRA, DIVA ALIETE DOS, OLIVEIRA COSTA, JAMILLE, SOUSA TEIXEIRA, PRYSCILA DRYELLE, FALCÃO RAPOSO, OSCAR FELIPE, MENDES-NETTO, RAQUEL SIMÕES

DIET COMPOSITION IS ASSOCIATED WITH OBESITY IN ACTIVE WOMEN. Revista Chilena de Nutrición (Impresa). , v.39, p.126 - 135, 2012.

3. TEIXEIRA, P. D. S., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., COSTA, D., COSTA, J. O., RAPOSO, O.F.F., ANDRADE-WARTHA, E. R. S., MENDES-NETTO, R. S.

Intervenção nutricional educativa como ferramenta eficaz para mudança de hábitos alimentares e peso corporal entre praticantes de atividade física. Ciência e Saúde Coletiva (Impresso). , v.18, p.347 - 356, 2013.

4. MENDES-NETTO, RAQUEL SIMÕES, TEIXEIRA, P. D. S., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., COSTA, D., COSTA, J. O.

Ações Educativas para Promoção de Hábitos Alimentares Saudáveis: relato de uma experiência. Revista de Extensão. , v.1, p.191 - 199, 2013.

5. COSTA, J. O., **REIS, B. Z.**, COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., TEIXEIRA, P. D. S., RAPOSO, O.F.F., MENDES-NETTO, R. S.

Perfil de saúde, estado nutricional e nível de conhecimento em nutrição de usuárias do Programa Academia da Cidade - Aracaju, SE. Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde. , v.17, p.93 - 99, 2012.

6. **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., COSTA, D., RAPOSO, O.F.F.,

MENDES-NETTO, R. S.

Associação de medidas antropométricas para diagnosticar a obesidade em mulheres usuárias de um Programa de atividade física regular "Academia da Cidade", Aracaju, SE. Scientia Plena. , v.7, p.096501-1 - , 2011.

Livros publicados

1. MENDES-NETTO, R. S., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., BRAGA, W. C., ANDRADE-WARTHA, E. R. S.
Receitas Biofortificadas. Brasília : EMBRAPA, 2013, v.1. p.54.

Capítulos de livros publicados

1. GUERREIRO, L. M. G., **REIS, B. Z.**, MENDES-NETTO, RAQUEL SIMÕES
Estratégias Nutricionais para Prevenção de Lesões Musculares e Articulares In: Tratado de Nutrição Esportiva Funcional.1 ed.São Paulo : Roca, 2014, v.1, p. 353-363.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. TEIXEIRA, P. D. S., **REIS, B. Z.**, COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S.
Ação educativa para promoção de Hábitos Alimentares Saudáveis In: VII Semana de Extensão da UFS, 2010, São Cristóvão.
Anais Eletrônicos. , 2010. v.7.
2. **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., Caroso, J., COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S.
Promovendo hábitos alimentares saudáveis: Elaboração de material educativo In: VI Semana de Extensão, 2009, Aracaju.
Anais Eletrônicos. São Cristóvão: , 2009.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., COSTA, D., SILVA, D. G., MENDES-NETTO, R. S., COZZOLINO, S. M. F.
Prevalence of zinc deficiency and stunting among preschool children In: Bioavailability 2014, 2014, Foz do Iguaçu.
Nutrire. São Paulo: SBAN, 2014. v.39. p.17 - 17
2. ROCHA, A. V., ALMONDES, K. G. S., ALMEIDA, I. S., **REIS, B. Z.**, COZZOLINO, S. M. F., FAVARO, D. I. T.
Selenium nutritional status of women living in risk area of mercury contamination In: Bioavailability 2014, 2014, Foz do Iguaçu.
Nutrire. São Paulo: SBAN, 2014. v.39. p.41 - 41
3. VIEIRA, D. A. S., **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., COSTA, D., MENDES-NETTO, R. S., FISBERG, R. M.
AGREEMENT BETWEEN METHODS OF BODY COMPOSITION EVALUATION IN WOMEN PRACTITIONERS OF REGULAR PHYSICAL ACTIVITY In: XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición, 2012, Havana, Cuba.
Anais do XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición. , 2012.
4. **REIS, B. Z.**, SILVA, G. B., ALMEIDA, I. S., COZZOLINO, S. M. F.
ARG213GLY polymorphism in EC-SOD gene and its relationship with cardiovascular disease In: 6th Congress of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics, 2012, São Paulo.
Annals of the 6th Congress of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics. , 2012.
5. **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., COSTA, D., RAPOSO, O.F.F.,

MENDES-NETTO, R. S.

Índice de conicidade associado a variáveis antropométricas para prever o risco associado à obesidade em mulheres adultas In: World Nutrition Rio2012, 2012, Rio de Janeiro.

World Nutrition Rio2012., 2012.

6. VIEIRA, D. A. S., COSTA, D., **REIS, B. Z.**, COSTA, J. O., TEIXEIRA, P. D. S., MENDES-NETTO, R. S.

Ângulo de fase como indicador de saúde em mulheres participantes de um programa regular de atividade física In: 11º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2011, Fortaleza.

Nutrire. São Paulo: SBAN, 2011. v.36.

7. TEIXEIRA, P. D. S., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., COSTA, D., COSTA, J. O., ANDRADE-WARTHA, E. R. S., RAPOSO, O.F.F., MENDES-NETTO, R. S.

Conhecimento em nutrição após participação em um programa de intervenção nutricional In: 11º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2011, Fortaleza.

Nutrire. São Paulo: SBAN, 2011. v.36.

8. MENDES-NETTO, R. S., COSTA, J. O., **REIS, B. Z.**, COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., TEIXEIRA, P. D. S., RAPOSO, O.F.F.

Índice de massa corporal e circunferência da cintura como preditores da hipertensão arterial em mulheres praticantes de atividade física In: 11º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2011, Fortaleza.

Nutrire. São Paulo: SBAN, 2011. v.36.

9. MENDES-NETTO, R. S., COSTA, D., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., TEIXEIRA, P. D. S., RAPOSO, O.F.F., LIMA, F. E. L.

Índice de qualidade da dieta de usuárias de um programa de atividade física regular In: 11º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2011, Fortaleza.

Nutrire. São Paulo: SBAN, 2011. v.36.

10. **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S.

Prevalência de ingestão inadequada de micronutrientes de mulheres participantes de um programa de atividade física regular In: 11º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2011, Fortaleza.

Nutrire. São Paulo: SBAN, 2011. v.36.

11. LOURENÇO, R.P., **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., RAPOSO, O.F.F., MENDES-NETTO, R. S.

Análise dos indicadores antropométricos para diagnosticar a obesidade em mulheres usuárias de um programa de atividade física regular "Academia da Cidade", Aracaju, SE. In: 20º Encontro de Iniciação Científica da UFS, 2010, São Cristóvão.

Livro de resumos. São Cristóvão: , 2010. v.20. p.551 - 551

12. **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S.

Avaliação dietética e antropométrica de mulheres usuárias de um programa de atividade física regular "Academia da Cidade". Aracaju, SE. In: 20º Encontro de Iniciação Científica da UFS, 2010, São Cristóvão.

Livro de resumos. São Cristóvão: , 2010. v.20. p.106 - 106

13. SANTOS, M. E. A., TEIXEIRA, P. D. S., **REIS, B. Z.**, COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S.

Análise do balanço energético em mulheres adultas do programa Academia da Cidade In: 19º encontro de Iniciação Científica, 2009, Aracaju.

Livro de resumos. São Cristóvão: , 2009. v.19. p.555 - 555

14. MENDES-NETTO, R. S., **REIS, B. Z.**, COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., TEIXEIRA, P. D. S.

Comparação da gordura corporal predita por Índice de Massa Corporal, espessuras de dobras cutâneas e Bioimpedância In: XV Congresso Latinoamericano de Nutrición, 2009, Santiago.

Revista Chilena de Nutrición (Impresa). Santiago, Chile: , 2009. v.36. p.745 - 745

15. TEIXEIRA, P. D. S., **REIS, B. Z.**, Caroso, J., COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S.

Comparação entre dois indicadores de obesidade centralizada em mulheres usuárias de um programa de atividade física regular In: 19º encontro de Iniciação Científica, 2009, Aracaju.

Livro de resumos. São Cristóvão: , 2009. v.19. p.556 - 556

16. **REIS, B. Z.**, COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., TEIXEIRA, P. D. S., MENDES-NETTO, R. S.

Nível de conhecimento nutricional de integrantes do Programa Academia da Cidade In: 10º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2009, São Paulo.

Nutrire. São Paulo: , 2009. v.34. p.437 - 437

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. GOIS, I. C. M., VIEIRA, D. A. S., **REIS, B. Z.**, MENDES-NETTO, R. S., SILVA, D. G.

Aceitabilidade de alimentos regionais em grupos de escolares In: XXII Congresso Nacional de Nutrição, 2012, Olinda/PE.

Anais do XXII Congresso Nacional de Nutrição. , 2012. v.4.

2. NASCIMENTO, V. T., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., MENDES-NETTO, R. S., SILVA, D. G.

Educação nutricional com pré-escolares de instituições filantrópicas de Aracaju-SE In: XXII Congresso Nacional de Nutrição, 2012, Olinda/PE.

Anais do XXII Congresso Nacional de Nutrição. , 2012. v.4.

3. MATOS, R. C., BRAGA, W. C., **REIS, B. Z.**, RAPOSO, O.F.F., MENDES-NETTO, R. S.

PERFIL ANTROPOMÉTRICO DE JUDOCAS ADOLESCENTES DE ALTO NÍVEL PARTICIPANTES DO CAMPEONATO BRASILEIRO DE JUDÔ In: XXII Congresso Brasileiro de Nutrição, 2012, Recife.

Anais do XXII Congresso Brasileiro de Nutrição. São Paulo: ASBRAN, 2012. v.4. p.1 - 4

4. MACHADO, A. C. S. B., LEITE, M. M. R., **REIS, B. Z.**, MENDES-NETTO, R. S.

Elaboração de material educativo para promoção da alimentação saudável entre adolescentes praticantes de atividade física In: VIII Semana de Extensão da UFS, 2011, São Cristóvão.

Anais Eletrônicos da VIII Semex. São Cristóvão: UFS, 2011. v.8. p.69 - 72

Apresentação de trabalho e palestra

1. MARINS, M. L. C. L., COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., **REIS, B. Z.**, MENDES-NETTO, R. S., ANDRADE-WARTHA, E. R. S.

ACEITABILIDADE DE VARIEDADE DE ARROZ BIOFORTIFICADO COZIDO, 2012. (Comunicação,Apresentação de Trabalho)

2. **REIS, B. Z.**, TEIXEIRA, P. D. S., VIEIRA, D. A. S., COSTA, J. O., COSTA, D., RAPOSO, O.F.F., MENDES-NETTO, R. S.

ÍNDICE DE CONICIDADE ASSOCIADO A VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS PARA PREDIZER O RISCO ASSOCIADO À OBESIDADE EM MULHERES ADULTAS, 2012. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

3. MACHADO, A. C. S. B., LEITE, M. M. R., **REIS, B. Z.**, MENDES-NETTO, R. S.

Elaboração de material educativo para promoção da alimentação saudável entre adolescentes praticantes de atividade física, 2011. (Comunicação,Apresentação de Trabalho)

4. NETTO, R. S. M., COSTA, J. O., **REIS, B. Z.**, COSTA, D., VIEIRA, D. A. S., TEIXEIRA, P. D. S., RAPOSO, O.F.F.

Índice de massa corporal e circunferência da cintura como preditores da hipertensão arterial em mulheres praticantes de atividade física, 2011. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

5. TEIXEIRA, P. D. S., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S., COSTA, D., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S.

Ação educativa para promoção de Hábitos Alimentares Saudáveis, 2010.

(Comunicação, Apresentação de Trabalho)

6. **REIS, B. Z.**, Caroso, J., COSTA, D., TEIXEIRA, P. D. S., COSTA, J. O., MENDES-NETTO, R. S., VIEIRA, D. A. S.

Promovendo hábitos alimentares saudáveis: elaboração de material educativo., 2009. (Comunicação, Apresentação de Trabalho)

Produção técnica

Demais produções técnicas

1. **REIS, B. Z.**

Pesquisa em Nutrição, 2013. (Ministrou aula na disciplina 'Ciência da Nutrição' do curso de Nutrição da Universidade Federal de Sergipe)

2. **REIS, B. Z.**

Composição da dieta e obesidade, 2011. (Ministrou palestra na I Semana Interdisciplinar da Faculdade Estácio de Sergipe/Fase)

3. **REIS, B. Z.**

Interfaces da Nutrição na Odontologia, 2011. (Ministrou palestra no IX Curso de Atualização em Clínica Odontológica)

4. MENDES-NETTO, R. S., ANDRADE-WARTHA, E. R. S., **REIS, B. Z.**, VIEIRA, D. A. S.

Oficina de Capacitação de Merendeiras "Utilizando os Alimentos Biofortificados", 2011. (Extensão, Curso de curta duração ministrado)

5. **REIS, B. Z.**, DRYELE, P., OLIVEIRA, J., VIEIRA, D. A. S., COSTA, D., NETTO, R. S. M.

Alimentação Saudável: Pratique este hábito, 2009. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional)

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Painel no(a) **Bioavailability 2014**, 2014. (Congresso)
Prevalence of zinc deficiency and stunting among preschool children.

2. **Quantificação da Expressão Gênica: Métodos e Ferramentas de Análises Avançados**, 2013. (Oficina)

3. **Understanding food intake and food choice**, 2013. (Simpósio)

4. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición**, 2012. (Congresso)

AGREEMENT BETWEEN METHODS OF BODY COMPOSITION EVALUATION IN WOMEN PRACTITIONERS OF REGULAR PHYSICAL ACTIVITY.

5. Apresentação de Poster / Painel no(a) **6th Congress of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics**, 2012. (Congresso)

ARG213GLY polymorphism in EC-SOD gene and its relationship with cardiovascular disease.

6. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXII Congresso Nacional de Nutrição**, 2012. (Congresso)
Educação nutricional com pré-escolares de instituições filantrópicas de Aracaju-SE.

7. **World Nutrition Rio 2012**, 2012. (Congresso)

ÍNDICE DE CONICIDADE ASSOCIADO A VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS PARA PREDIZER O RISCO ASSOCIADO À OBESIDADE EM MULHERES ADULTAS.

8. **Espectrometria de Absorção Atômica: Fundamentos e Aplicações**, 2012. (Seminário)

9. **Semana de Inovações Biológicas e Biotecnológicas Aplicadas à Saúde**, 2012. (Seminário)

10. **Encontro SBAN: Nutrição Clínica**, 2012. (Encontro)
11. **Estatística Aplicada a Nutrição**, 2012. (Oficina)
12. **XVI Congresso Brasileiro de Nutrologia**, 2012. (Congresso)
13. **Seminário sobre Segurança Alimentar e Nutricional**, 2012. (Seminário)
14. **NUTRITIONAL GENOMICS INTRODUCTORY WORKSHOP**, 2012. (Oficina)
15. Conferencista no(a) **I Semana Interdisciplinar da Faculdade Estácio de Sergipe/Fase**, 2011. (Outra)
Composição da dieta e obesidade.
16. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **11º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, 2011. (Congresso)
Conhecimento em nutrição após participação em um programa de intervenção nutricional.
17. **VIII Semana de Extensão da UFS**, 2011. (Encontro)
Elaboração de material educativo para promoção da alimentação saudável entre adolescentes praticantes de atividade física.
18. Conferencista no(a) **IX Curso de Atualização em Clínica Odontológica**, 2011. (Seminário)
Interfaces da Nutrição na Odontologia.
19. **Workshop: Micronutrientes**, 2011. (Oficina)
20. **Contagem de Carboidratos na Prática Clínica**, 2011. (Oficina)
21. **II Curso de extensão: Elaboração de trabalhos acadêmicos**, 2011. (Outra)
22. **VII Semana de Extensão da UFS**, 2010. (Encontro)
Ação educativa para promoção de Hábitos Alimentares Saudáveis.
23. **20º Encontro de Iniciação Científica da UFS**, 2010. (Encontro)
Avaliação dietética e antropométrica de mulheres usuárias de um programa de atividade física regular.
24. **II Jornada de Terapia Nutricional do Hospital São Lucas**, 2010. (Simpósio)
25. **II Simpósio Sergipano de Terapia Intensiva**, 2010. (Simpósio)
26. **Curso de elaboração de Manual de Boas Práticas e Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) para Unidades Produtoras de Refeições**, 2010. (Outra)
27. **Perspectivas da Nutrição na era Pós-Genoma**, 2010. (Simpósio)
28. **I Encontro Científico do Centro Especializado de Nutrição**, 2010. (Encontro)
29. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **XV Congresso Latinoamericano de Nutrición**, 2009. (Congresso)
Comparação da gordura corporal predita por índice de massa corporal, espessuras de dobras cutâneas e bioimpedância.
30. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **19º Encontro de Iniciação Científica**, 2009. (Encontro)
Comparação entre dois indicadores antropométricos de obesidade centralizada em mulheres usuárias de um programa de atividade física regular.
31. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **10º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, 2009. (Congresso)

Nível de conhecimento nutricional de integrantes do programa Academia da Cidade.

32. **VI Semana de Extensão**, 2009. (Encontro)
Promovendo hábitos alimentares saudáveis: Elaboração de material educativo.
33. **III Encontro Sergipano de Nutrição: "Fases da Nutrição"**, 2009. (Encontro)
34. **Aplicações de análises de regressão múltipla**, 2009. (Oficina)
35. **Seminário de Capacitação dos Conselhos Municipais de Segurança Alimentar**, 2008. (Seminário)
36. **IV Congresso Nacional de Nutrição**, 2008. (Congresso)
37. **II Encontro Sergipano de Nutrição**, 2008. (Encontro)
38. **Aplicações Práticas Avançadas da Nutrição Funcional no Tratamento e Prevenção da Obesidade**, 2008. (Seminário)
39. **2ª Conferência Estadual de Segurança Alimentar e Nutricional**, 2007. (Seminário)
40. **Evento comemorativo ao Dia do Nutricionista**, 2007. (Encontro)
41. **1º Ciclo de Palestras do Dia do Nutricionista**, 2007. (Encontro)
42. **Curso de Culinária Trivial**, 2007. (Outra)

Totais de produção

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódico.....	6
Livros publicados.....	1
Capítulos de livros publicados.....	1
Trabalhos publicados em anais de eventos.....	22
Apresentações de trabalhos (Comunicação).....	4
Apresentações de trabalhos (Congresso).....	2

PRODUÇÃO TÉCNICA

Curso de curta duração ministrado (extensão).....	1
Desenvolvimento de material didático ou instrucional.....	1
Outra produção técnica.....	3

EVENTOS

Participações em eventos (congresso).....	10
Participações em eventos (seminário).....	7
Participações em eventos (simpósio).....	4
Participações em eventos (oficina).....	6
Participações em eventos (encontro).....	11
Participações em eventos (outra).....	4