



ISSN 1415-5273

Volume 18 | Número 6
Novembro - Dezembro • 2005

Revista de Nutrição
Brazilian Journal of Nutrition

Editora / Editor

Profa. Maria Angélica Tavares de Medeiros

Editora Adjunta / Assistant Editor

Profa. Dra. Rosa Wanda Diez Garcia

Editores Associados / Associate Editors

Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira - Unicamp, Campinas
Profa. Dra. Márcia Regina Vítolo - Unisinos, São Leopoldo
Profa. Dra. Maria Cristina Faber Boog - Unicamp, Campinas
Profa. Dra. Rossana Pacheco da Costa Proença - UFSC, Florianópolis
Profa. Dra. Semíramis Martins Álvares Domene - PUC-Campinas

Editora Gerente / Manager Editor

Maria Cristina Matoso - SBI/PUC-Campinas

Conselho Editorial / Editorial Board

Ana Marlúcia Oliveira Assis - UFBA, Salvador
César Gomes Victora - UFPel, Pelotas
Daisy B. Wolkoff - UERJ, Rio de Janeiro
Francisco A.G. de Vasconcelos - UFSC, Florianópolis
Jean-Pierre Poulain - Université de Toulouse 2, França
Josefina B. R. Monteiro - UFV, Viçosa
Júlio Sérgio Marchini - FMRP/USP, Ribeirão Preto
Lúcia Kiyoko O. Yuyama - INPA, Manaus
Maria Lúcia M. Bosi - UFRJ, Rio de Janeiro
Maria Margareth Veloso Naves - UFG, Goiânia
Rosely Síchieri - UERJ, Rio de Janeiro
Valdemiro Carlos Sgarbieri - ITAL, Campinas

Comitê Editorial / Editorial Committee

Maria Angélica Tavares de Medeiros
Semíramis Martins Álvares Domene
Silvana Mariana Srebernick

Normalização e Indexação / Standardization and Indexing

Maria Cristina Matoso

Revisão de texto / Text revision

Hilary Castle de Menezes **Inglês / English**
Maria Cecília Abramides Testa **Português / Portuguese**

Editoração Eletrônica / DTP

Fátima Cristina Camargo

Apoio Administrativo / Administrative Support

Denise Peres Sales

O Conselho Editorial não se responsabiliza por conceitos emitidos em artigos assinados.

The Board of Editors does not assume responsibility for concepts emitted in signed articles.

A eventual citação de produtos e marcas comerciais não expressa recomendação do seu uso pela Instituição.

The eventual citation of products and brands does not express recommendation of the Institution for their use.

Copyright © Revista de Nutrição

É permitida a reprodução parcial, desde que citada a fonte. A reprodução total depende da autorização da Revista.

Partial reproduction is permitted if the source is cited. Total reproduction depends on the authorization of the Revista de Nutrição.

Revista de Nutrição é continuação do título Revista de Nutrição da Puccamp, fundada em 1988. É uma publicação bimestral e é de responsabilidade da Faculdade de Nutrição, Centro de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Publica trabalhos da área de Nutrição e Alimentos.

Revista de Nutrição is former Revista de Nutrição da Puccamp, founded in 1988. It is a bimonthly publication every four months and it is of responsibility of the Faculdade de Nutrição, Centro de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas. It publishes works in the field of Nutrition and Food.

COLABORAÇÕES / CONTRIBUTIONS

Os manuscritos (quatro cópias) devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV conforme as "Instruções aos Autores", publicadas no final de cada fascículo.

All manuscripts (four copies) should be sent to the Núcleo de Editoração SBI/CCV and should comply with the "Instructions for Authors", published in the end of each issue.

ASSINATURAS / SUBSCRIPTIONS

Pedidos de assinatura ou permuta devem ser encaminhados ao Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: assinaturasccv@puc-campinas.edu.br

Anual: • Pessoas físicas: R\$70,00
• Institucional: R\$100,00

Subscription or exchange orders should be addressed to the Núcleo de Editoração SBI/CCV.

E-mail: assinaturasccv@puc-campinas.edu.br

Anual: • Individual rate: R\$70,00
• Institutional rate: R\$100,00

Exchange is accepted

CORRESPONDÊNCIA / CORRESPONDENCE

Toda a correspondência deve ser enviada à Revista de Nutrição no endereço abaixo:

All correspondence should be sent to Revista de Nutrição at the address below:

Núcleo de Editoração SBI/CCV - Campus II - Av. John Boyd Dunlop, s/n. - Prédio de Odontologia - Jd. Ipaussurama - 13060-904 Campinas, SP.

Fone/Fax: +55-19-3729-6875

E-mail: revistas.ccv@puc-campinas.edu.br

Web: <http://www.puc-campinas.edu.br/ccv>
<http://www.scielo.br/rn>

INDEXAÇÃO / INDEXING

A Revista de Nutrição é indexada nas Bases de Dados internacionais: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), CAB Abstract, Food Science and Technology Abstracts, Excerpta Medica, Chemical Abstract, SciELO, Popline, NISC. Qualis A-Nacional.

Revista de Nutrição is indexed in the following international Databases: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), CAB Abstract, Food Science and Technology Abstracts, Excerpta Medica, Chemical Abstract, SciELO, Popline, NISC. Qualis A-Nacional.



CT BRASIL
Ministério da Ciência e Tecnologia

GOVERNO FEDERAL

Revista de Nutrição é associada à Associação Brasileira de Editores Científicos



PUC
CAMPINAS
PONTIFÍCA UNIVERSIDADE CATÓLICA



ISSN 1415-5273

Revista de Nutrição

Brazilian Journal of Nutrition

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas e
Informação – SBI – PUC-Campinas

Revista de Nutrição = Brazilian Journal of Nutrition. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Faculdade de Nutrição. – Campinas, SP, v.16 n.1 (jan./mar. 2003-)

v.18 n.6 nov./dez. 2005

Semestral 1988-1998; Quadrimestral 1999-2002; Trimestral 2003-2004;
Bimestral 2005-

Resumo em Português e Inglês.

Apresenta suplemento.

Continuação de Revista de Nutrição da PUCCAMP 1988-2001 v.1-v.14;

Revista de Nutrição = Journal of Nutrition 2002 v.15.

ISSN 1415-5273

1. Nutrição – Periódicos. 2. Alimentos – Periódicos. I. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Faculdade de Nutrição.

CDD 612.3

Artigos Originais | Original Articles

- 709 Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares de alto nível socioeconômico em Londrina, Paraná, Brasil
Prevalence of overweight and obesity in schoolchildren of high socioeconomic level in Londrina, Paraná, Brazil
- Enio Ricardo Vaz Ronque, Edilson Serpeloni Cyrino, Valfredo Ribeiro Dórea, Helio Serassuelo Júnior, Enori Helena Gemente Galdi, Miguel de Arruda
- 719 Short time L-glutamine supplementation of malnourished rats
Suplementação de ratos desnutridos com L-glutamina por tempo curto
- Andréa Ferreira Schuwartz Tannus, Márcia Morandi Junqueira-Franco, Vivian Marques Miguel Suen, Guilherme Vannucchi Portari, Júlio Sérgio Marchini
- 727 Thrombospondin in protein malnutrition induced hypoplasia
Trombospondina na hipoplasia induzida por desnutrição protéica
- Cidônia de Lourdes Vituri, Márcio Alvarez-Silva, Andréa Gonçalves Trentin, Vera Lúcia Cardoso Garcia Tramonte, Primavera Borelli
- 733 Transcrição reversa na determinação da expressão do mRNA para a enzima conversora de angiotensina testicular em animais tratados com zinco
Assessment of the reverse transcriptase polymerase chain reaction technique in the determination of the mRNA expression for the testicular angiotensin-converting enzyme in zinc treated rats
- Gilberto Simeone Henriques, Adriana Gisele Hertzog da Silva, Rosário Dominguez Crespo Hirata, Sílvia Maria Franciscato Cozzolino

Artigos de Revisão | Review Articles

- 743 Possíveis mecanismos trombogênicos da hiper-homocisteinemia e o seu tratamento nutricional
Possible thrombogenic mechanisms of hyperhomocysteinemia and its nutritional treatment
- Sofia Kimi Uehara, Kátia Baluz, Glorimar Rosa
- 753 Regulação da expressão gênica das UCP2 e UCP3 pela restrição energética, jejum e exercício físico
UCP2 and UCP3 genic expression: regulation by food restriction, fasting and physical exercise
- Renata Polesi Boschini, Jair Rodrigues Garcia Júnior

Comunicações | Communications

- 765 Análise crítica do uso do índice de massa corporal para idosos
Critical analysis of the use of the body mass index for the elderly
- Adriane Cervi, Sylvia do Carmo Castro Franceschini, Sílvia Eloiza Priore
- 777 Atuação da equipe multidisciplinar na terapia nutricional de pacientes sob cuidados intensivos
The action of a multidisciplinary team in the nutritional care of critically ill patients
- Heitor Pons Leite, Werther Brunow de Carvalho, Juliana Fernandez Santana e Meneses

- 785 Pirâmides alimentares: uma leitura semiótica
Food guide pyramids: a semiotic way of reading
• Haydée Serrão Lanzillotti, Sílvia Regina Magalhães Couto, Fernanda da Motta Afonso

Nota Científica | *Research Note*

- 793 Padrão alimentar de crianças menores de cinco anos
Alimentary profile of under-five year old children
• Gilvo de Farias Júnior, Mônica Maria Osório

803 Índices | *Index*

- 809 Instruções aos Autores
Instructions for Authors

Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares de alto nível socioeconômico em Londrina, Paraná, Brasil

Prevalence of overweight and obesity in schoolchildren of high socioeconomic level in Londrina, Paraná, Brazil

Enio Ricardo Vaz RONQUE^{1,2,3}
Edilson Serpeloni CYRINO¹
Valfredo Ribeiro DÓREA^{1,4}
Helio Serassuelo JÚNIOR¹
Enori Helena Gemente GALDI²
Miguel de ARRUDA²

RESUMO

Objetivo

Verificar a prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares na faixa etária entre sete e dez anos, de ambos os sexos e de alto nível socioeconômico.

Métodos

Quinhentos e onze escolares (274 meninos e 237 meninas) foram submetidos a medidas antropométricas de massa corporal, estatura e espessuras de dobras cutâneas (tricipital e subescapular). Valores de índice de massa corporal maiores ou iguais ao percentil 85 e menores do que percentil 95 foram utilizados para a determinação de sobrepeso, ao passo que valores de índice de massa corporal maior ou igual ao percentil 95 foram adotados como indicadores de obesidade. O nível socioeconômico foi estabelecido a partir de informações produzidas por um questionário, de acordo com o grau de instrução dos pais e os bens de consumo familiar.

Resultados

A prevalência total de sobrepeso foi de 19,7% nos meninos e 17,3% nas meninas, sem diferenças significantes entre sexo e faixa etária ($p > 0,05$). Por outro lado, a prevalência de obesidade em meninos e meninas foi de

¹ Grupo de Estudo e Pesquisa em Metabolismo, Nutrição e Exercício. Centro de Educação Física e Desportos. Universidade Estadual de Londrina. Rod. Celso Garcia Cid, km 380, Campus Universitário, 86051-990, Londrina, PR, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: E.R.V. RONQUE. E-mail: <enioronque@sercomtel.com.br>.

² Departamento de Ciências do Esporte, Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, Brasil.

³ Grupo de Estudo e Pesquisa em Atividade Física e Exercício, Departamento de Educação Física, Universidade Estadual Paulista. Presidente Prudente, SP, Brasil.

⁴ Departamento de Educação, Universidade do Estado da Bahia. Teixeira de Freitas, BA, Brasil.

17,5% e 9,3%, respectivamente, com diferenças significantes entre os sexos aos nove ($p < 0,01$) e dez anos ($p < 0,05$), bem como no conjunto de todas as idades ($p < 0,01$).

Conclusão

Os resultados indicam taxas de prevalência de sobrepeso (~19%) e de obesidade (~14%) bastante superiores à média da população brasileira na faixa etária entre os sete e dez anos. Portanto, diferentemente do observado em países desenvolvidos, o alto nível socioeconômico parece afetar negativamente a prevalência de sobrepeso e obesidade, aumentando os riscos para o desenvolvimento de disfunções metabólicas em idades precoces.

Termos de indexação: criança, hábitos alimentares, obesidade, prevalência.

ABSTRACT

Objective

To verify the prevalence of overweight and obesity in 7 to 10 year old schoolchildren of both sexes and high socioeconomic level.

Methods

Five hundred and eleven schoolchildren (274 boys and 237 girls) were submitted to anthropometrical measurements of body mass, stature and subscapular and triceps skin-fold thickness. Body mass indexes ≥ 85 th percentile and < 95 th percentile were used to determine overweight, whereas body mass indexes ≥ 95 th percentile were adopted as indicators of obesity. The socioeconomic level was established based on information obtained from a questionnaire, considering the degree of education of the parents and the familiar consumables.

Results

The total prevalence for overweight was 19.7% for the boys and 17.3% for the girls, with no significant differences amongst ages and sexes ($p > 0.05$). On the other hand, the prevalence for obesity in the boys and girls was 17.5% and 9.3%, respectively, with significant differences between the sexes at 9 years ($p < 0.01$) and 10 years ($p < 0.05$) of age, as well as amongst the entire group of ages ($p < 0.01$).

Conclusion

The results indicated a high prevalence ratio for overweight (~19%) and obesity (~14%), much greater than the average for the 7-10 year old Brazilian population. Therefore, different from that observed in developed countries, a high socioeconomic level seems to negatively affect the prevalence for overweight and obesity, increasing the risk of the precocious development of metabolic dysfunctions.

Indexing terms: child, food habits, obesity, prevalence.

INTRODUÇÃO

O controle da obesidade tem sido, sobretudo ao longo das duas últimas décadas, um dos maiores desafios de pesquisadores e profissionais da área de saúde, uma vez que o acúmulo excessivo de gordura corporal está associado ao desenvolvimento ou agravamento de inúmeras disfunções metabólicas, tais como cardiopatias, hipertensão arterial, diabetes, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, entre outras¹⁻⁴.

Embora muitos recursos financeiros venham sendo investidos em pesquisas e

campanhas de conscientização da população para a prevenção e controle da obesidade, as perspectivas não são nada promissoras, visto que a epidemia da obesidade tem crescido assustadoramente em diferentes populações (crianças, adolescentes, adultos e idosos). Esse fenômeno tem se alastrado além dos países desenvolvidos, atingindo um contingente cada vez maior, também, dos países em desenvolvimento⁵, como o Brasil. Nesse sentido, de acordo com as informações apresentadas no Consenso Latino-Americano sobre Obesidade⁶, a prevalência de obesidade no Brasil sofreu um incremento de aproximadamente 53% entre meados da

década de 70 e o final da década de 80 do século XX.

Um fato que tem preocupado os especialistas é que o desenvolvimento do sobrepeso e da obesidade tem sido constatado em idades cada vez mais precoces. Desse modo, a prevalência da obesidade na infância e na adolescência tem ocupado papel de destaque nas discussões relacionadas à saúde de jovens, motivando a realização de diversos estudos⁷⁻¹², uma vez que o excesso de gordura corporal em crianças e adolescentes, assim como em populações com idades mais avançadas, pode representar um perigoso fator de risco para a saúde¹³.

Com relação à prevalência de obesidade infantil, o Brasil já apresentava na segunda metade do século XX (final da década de 80), índices por volta de 7% no sexo masculino e 9% no sexo feminino¹⁴. Acredita-se que atualmente essa taxa possa ter avançado perigosamente, visto o exemplo de outros países nos quais as taxas de prevalência de obesidade vêm crescendo assustadoramente nas últimas décadas^{15,16}.

No Brasil, bem como na maioria dos países em desenvolvimento, a prevalência tanto do sobrepeso quanto da obesidade parece ser maior na população mais favorecida economicamente¹⁰, ao contrário do que ocorre nos países desenvolvidos onde a grande maioria das crianças com sobrepeso ou obesas pertence a famílias de classe socioeconômica baixa¹⁷.

Considerando que por volta de 20% da obesidade diagnosticada em indivíduos adultos parece originar-se na infância¹⁸ e que o monitoramento da quantidade de gordura corporal na população jovem pode ser um importante aliado na prevenção da saúde, o propósito do presente estudo foi verificar a prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares na faixa etária entre sete e dez anos de idade, de ambos os sexos e de alto nível socioeconômico.

MÉTODOS

As informações a serem apresentadas neste estudo foram obtidas entre os meses de

setembro e novembro de 2003 e fazem parte da coleta de dados inicial de um projeto de pesquisa mais amplo, de caráter longitudinal, intitulado "Análise do crescimento e da aptidão física relacionada à saúde em escolares de alto nível socioeconômico".

A população alvo deste estudo foi composta por escolares de sete a dez anos, de ambos os sexos, de alto nível socioeconômico, residentes na área urbana do município de Londrina, Paraná, Brasil. Para a seleção da amostra foi realizado, inicialmente, um levantamento para identificação do número de escolares matriculados na rede particular de ensino desse município, no ano letivo de 2002. De acordo com o setor de estatística do Núcleo Regional de Ensino da Secretaria de Educação do Estado do Paraná, estavam matriculados, somente na região urbana, 15 778 estudantes, sendo 1 551 no ensino pré-escolar (9,8%); 3 874 no primeiro e segundo ciclos do ensino fundamental I (24,0%); 4 134 no terceiro e quarto ciclos do ensino fundamental II (26,2%); 3 976 no ensino médio (25,2%); 46 no ensino normal (0,3%); 1 857 no ensino técnico (11,8%) e 430 no ensino supletivo (2,7%).

Com base nessas informações, foi selecionada uma escola da região central que atendia os critérios estabelecidos para o desenvolvimento do presente estudo quanto ao nível socioeconômico, possuía um número expressivo de escolares matriculados na rede particular de ensino do município (~15%) e apresentava infra-estrutura adequada para a coleta de dados.

Assim, a amostra foi composta por 511 escolares (274 meninos e 237 meninas), na faixa etária dos sete aos dez anos. Portanto, considerando os dados apresentados anteriormente, foram investigados 13,2% do total de estudantes nessa faixa etária, matriculados na rede de ensino particular do município de Londrina.

Os grupos etários foram estabelecidos em idades decimais conforme os procedimentos descritos por Ross & Marfell-Jones¹⁹. Para o agrupamento por idade, para cada sexo (Tabela

Tabela 1. Distribuição da amostra de escolares de sete a dez anos de idade, de alto nível socioeconômico, de acordo com o sexo e a idade.

Grupo etário	Meninos	Meninas	Total
±7 anos	38	36	74
±8 anos	86	61	147
±9 anos	65	64	129
±10 anos	85	76	161
Total	274	237	511

1), foram utilizados os intervalos de 0,50 a 0,49 convencionado com o sinal \pm , de acordo com Eveleth & Tanner²⁰.

Todos os responsáveis pelos escolares, após serem informados sobre o propósito dessa investigação e os procedimentos a serem adotados, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi desenvolvido em conformidade com as instruções contidas na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde para estudos com seres humanos, do Ministério da Saúde, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina.

Apesar das informações preliminares fornecidas pelo próprio estabelecimento de ensino de que a maioria dos estudantes pertencia às classes média alta e alta, para a classificação do nível socioeconômico foi aplicado um questionário desenvolvido pela Associação Brasileira de Anunciantes/Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercado (ABA/ABIPEME) e adaptado por Almeida & Wickerhauser²¹, com escalas de classificação subdivididas em cinco categorias (A, B, C, D, E), de acordo com o grau de instrução dos pais e os bens de consumo familiar. Com base nesse instrumento, todos os participantes deste estudo foram classificados como pertencentes ao nível socioeconômico elevado (categorias A e B).

A massa corporal dos sujeitos foi obtida em uma balança digital, da marca Filizolla, com precisão de 0,05kg, e a estatura foi determinada em um estadiômetro de madeira, com precisão de 0,1cm, de acordo com os procedimentos descritos por Gordon et al.²². A partir dessas

medidas calculou-se o índice de massa corpórea (IMC) por meio do quociente massa corporal/(estatura)², sendo a massa corporal expressa em quilogramas (kg) e a estatura em metros (m).

Para a avaliação do comportamento da adiposidade subcutânea foram medidas as espessuras das dobras cutâneas subescapular e tricúspita. Tais medidas foram realizadas por um único avaliador com um adipômetro científico da marca Lange (*Cambridge Scientific Industries, Inc., Cambridge, Maryland*), conforme os procedimentos descritos por Harrison et al.²³. O coeficiente teste-reteste excedeu 0,95 para cada um dos pontos anatômicos com erro de medida de no máximo $\pm 1,0$ mm. Todas as medidas foram tomadas de forma rotacional e replicadas três vezes, sendo registrado o valor mediano. Com base nos valores das espessuras de dobras cutâneas, a gordura corporal relativa foi estimada por meio das equações propostas por Slaughter et al.²⁴.

Neste estudo foram estabelecidos como pontos de corte para determinação de sobrepeso valores de IMC \geq percentil 85 e $<$ percentil 95. Por outro lado, valores de IMC \geq percentil 95 foram utilizados como indicadores de obesidade. Como padrão de referência foram adotadas as curvas de crescimento do *National Center for Health Statistics* (NCHS), revisadas recentemente (<http://www.cdc.gov/growthcharts>), de acordo com o sexo e a idade.

Para as comparações entre os diferentes grupos etários e de sexo, foi empregada análise de variância por dois fatores (Anova *two-way*). O teste *post hoc* de Scheffé, para comparações múltiplas, foi utilizado para a identificação das diferenças entre as médias. A prevalência de sobrepeso e obesidade foi determinada com base em tabelas de frequência, sendo utilizado o teste de comparação entre proporções para a análise das diferenças de comportamento entre meninos e meninas nos diferentes grupos etários. O nível de significância estabelecido para todas as comparações foi de $p < 0,05$. As informações foram tratadas no pacote computacional *Statistica*™, versão 5.1.

RESULTADOS

A Tabela 2 apresenta as características antropométricas dos escolares investigados, de acordo com sexo e idade. Uma interação entre idade e sexo foi encontrada somente para a estatura ($p < 0,05$). Por outro lado, um efeito isolado tanto do sexo ($p < 0,01$) quanto da idade ($p < 0,05$) foi identificado na massa corporal e no IMC, com os meninos apresentando valores mais elevados do que as meninas. As diferenças observadas entre as crianças de sete e dez anos foram na ordem de 46,5% e 34,6%, na massa corporal; 13,5% e 11,6%, na estatura; e de 7,8% e 8,4%, no IMC; em meninos e meninas, respectivamente.

Embora nenhuma interação entre idade e sexo (Tabela 3) tenha sido identificada por Anova ($p > 0,05$), o efeito isolado da idade foi verificado nas espessuras das dobras cutâneas subescapular e tricótipal, bem como nos valores da gordura corporal relativa ($p < 0,01$). As diferenças encontradas entre sete e dez anos foram na ordem de 40,8% e 32,2%, na dobra subescapular; 36% e 26,9%, na dobra tricótipal; e de 25,8% e 22,6%, na gordura corporal relativa; em meninos e meninas, respectivamente. Além disso, na dobra tricótipal foi verificado, também, o efeito do sexo ($p < 0,05$), com as meninas apresentando valores superiores aos dos meninos.

Tabela 2. Características antropométricas de escolares de sete a dez anos de idade, de alto nível socioeconômico, de acordo com o sexo e a idade.

Idade (anos)	Massa corporal (kg)						Estatura (cm)						IMC (kg/m ²)					
	Meninos			Meninas			Meninos			Meninas			Meninos			Meninas		
	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP
±7	25,6	±	4,0	26,6	±	5,3	123,3	±	3,7	125,6	±	4,7	16,7	±	2,0	16,7	±	2,5
±8	29,7	±	7,1	28,2	±	6,5	130,1	±	6,2	127,4	±	5,9	17,3	±	2,9	17,2	±	2,8
±9	34,9	±	9,5	31,5	±	7,1	135,3	±	7,0	133,6	±	6,5	18,8	±	4,0	17,5	±	2,9
±10	37,5	±	8,4	35,8	±	7,5	140,0	±	6,4	140,2	±	7,0	18,9	±	3,1	18,1	±	2,9
Fsexo				4,10**						0,72						4,28**		
Fidade				46,16*						139,46*						8,17*		
Fsexo x idade				1,39						3,18**						1,29		

* $p < 0,01$ e ** $0,01 < p < 0,05$.

Tabela 3. Espessura de dobras cutâneas (subescapular e tricótipal) e gordura corporal relativa de escolares de sete a dez anos de idade, de alto nível socioeconômico, de acordo com o sexo e a idade.

Idade (anos)	Subescapular (mm)						Tricótipal (mm)						% Gordura					
	Meninos			Meninas			Meninos			Meninas			Meninos			Meninas		
	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP	M	±	DP
±7	7,6	±	3,4	8,7	±	4,2	11,1	±	3,3	13,0	±	4,3	17,8	±	5,2	19,5	±	5,8
±8	8,4	±	5,0	9,1	±	4,7	12,0	±	5,1	13,5	±	3,9	18,9	±	7,5	20,3	±	5,7
±9	11,3	±	7,6	10,6	±	5,9	15,1	±	6,8	14,9	±	5,3	23,4	±	10,7	22,1	±	7,1
±10	10,7	±	6,5	11,5	±	6,3	15,1	±	6,0	16,5	±	5,2	22,4	±	9,4	23,9	±	6,9
Fsexo				0,88						5,25**						1,42		
Fidade				7,65*						13,70*						9,50*		
Fsexo x idade				0,60						0,90						1,01		

* $p < 0,01$ e ** $0,01 < p < 0,05$.

Na Tabela 4 são apresentadas as taxas, absoluta e relativa, de prevalência de sobrepeso em escolares de sete a dez anos, de alto nível socioeconômico. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os sexos, na faixa etária analisada ($p > 0,05$). Embora os escores médios observados nas diferentes idades tenham sido bastante variados, verificou-se, no conjunto de todas as idades, uma elevada taxa de prevalência de sobrepeso tanto nos meninos (54 casos ou 19,7%) quanto nas meninas (41 casos ou 17,3%).

Foram verificadas as taxas de prevalência de obesidade, em meninos e meninas de 7 a 10 anos (Tabela 5). A prevalência de obesidade em meninos e meninas foi de 17,5% (48 casos) e 9,3% (22 casos), respectivamente, com diferenças significantes entre os sexos aos nove ($p < 0,01$) e 10 anos ($p < 0,05$), bem como no conjunto de todas as idades ($p < 0,01$).

Tabela 4. Prevalência (%) de sobrepeso entre escolares de sete a dez anos de idade, de alto nível socioeconômico, de acordo com o sexo e a idade.

Idade (anos)	Meninos		Meninas		p
	n	%	n	%	
±7	6	15,8	9	25,0	ns
±8	14	16,3	7	11,5	ns
±9	14	21,5	11	17,2	ns
±10	20	23,5	14	18,4	ns
Total	54	19,7	41	17,3	ns

ns= não-significante.

Tabela 5. Prevalência (%) de obesidade entre escolares de sete a dez anos de idade, de alto nível socioeconômico, de acordo com o sexo e a idade.

Idade (anos)	Meninos		Meninas		p
	n	%	n	%	
±7	6	15,8	5	13,9	ns
±8	15	17,5	9	14,8	ns
±9	12	18,5	3	4,7	<0,05
±10	15	17,6	5	6,6	<0,05
Total	48	17,5	22	9,3	<0,01

ns= não-significante.

Estudos de tendência secular têm indicado que atualmente crianças e adolescentes apresentam maior quantidade de gordura corporal do que seus pares de gerações passadas^{15,16,25}. Esse fato pode estar associado a inúmeras causas, dentre as quais se destaca o aumento do balanço energético positivo, produto da redução acentuada dos níveis de atividade física diária e/ou de hábitos alimentares inadequados.

Embora muitos acreditem que os crescimentos do sobrepeso e da obesidade tenham sido causados pelo aumento do consumo de alimentos com alto valor energético e, sobretudo, ricos em lipídios e carboidratos simples, esse fator, de forma isolada, provavelmente não consiga explicar o aumento exponencial das taxas de prevalência de sobrepeso e de obesidade no mundo. A redução dos níveis de atividade física diária parece exercer, também, um papel fundamental nesse processo.

Apesar de os hábitos de vida não terem sido controlados no presente estudo, o elevado nível socioeconômico dos escolares estudados pode ter afetado negativamente as taxas de prevalência de sobrepeso (19,7% nos meninos e 17,3% nas meninas) e obesidade (17,5% nos meninos e 9,3% nas meninas), uma vez que de acordo com as respostas identificadas no questionário socioeconômico aplicado, todos os escolares possuíam em suas residências mais do que um aparelho de televisão, além do que a grande maioria possuía também aparelhos de vídeo, *videogames* e/ou microcomputadores.

Nesse sentido, alguns estudos recentes têm indicado que muitas crianças e adolescentes têm trocado as práticas de atividades físicas de intensidade moderada ou vigorosa por atividades de baixa intensidade e, conseqüentemente, de baixo gasto energético, como assistir televisão, navegar na *Internet*, jogar *videogame* ou outros jogos eletrônicos durante as horas de lazer e tempo livre^{15,26,27}. Desse modo, parece existir uma forte relação entre o crescimento do sobrepeso e da

obesidade infanto-juvenil e as mudanças no estilo de vida dos jovens, visto que, via de regra, a quantidade de gordura corporal estimada é inversamente proporcional ao nível de atividade física diária realizada²⁷.

Vale destacar que o incremento observado nos valores dos indicadores de adiposidade utilizados (espessura de dobras cutâneas), bem como nas taxas de prevalência da obesidade, com o avançar da idade, tanto em meninos quanto em meninas, sugere que esse comportamento possa ser ainda mais agravado na adolescência e na idade adulta. Esse fato fortalece a hipótese de que um adolescente obeso possa ser identificado ainda na infância, uma vez que uma criança obesa na infância pode apresentar entre 68% e 77% de probabilidade de permanecer obesa durante a adolescência²⁸.

Além disso, acredita-se que a prevalência da obesidade na adolescência possa responder por cerca de 30% a 50% da obesidade na idade adulta, favorecendo o crescimento das taxas de morbidade e mortalidade nessa população²⁹.

Por outro lado, a literatura tem indicado a presença de dimorfismo sexual, com relação aos depósitos de gordura corporal, somente a partir da puberdade, com as moças apresentando valores superiores aos dos rapazes¹⁷. Essas informações vão ao encontro dos resultados do presente estudo, que não constatou diferenças significativas na gordura corporal relativa entre os sexos, dos sete aos dez anos.

Entretanto, quando analisadas as taxas de prevalência de obesidade verificou-se a presença de dimorfismo sexual, com os rapazes apresentando escores absolutos e relativos superiores aos das moças, a partir dos nove anos e no conjunto de todas as idades. Todavia essas informações devem ser analisadas com certa cautela, uma vez que a identificação de obesidade em crianças e adolescentes por meio dos valores de IMC \geq percentil 95, de acordo com as curvas de crescimento do NCHS, tem sido questionada^{4,30}.

Nesse sentido, Sardinha et al.³⁰, assumindo os pontos de corte estabelecidos por Williams

et al.⁴ para a definição de obesidade ($\geq 25\%$ e $\geq 30\%$ de gordura corporal relativa para meninos e meninas, respectivamente), analisaram o potencial discriminatório do IMC, da espessura da dobra cutânea tricípital e do perímetro de braço para identificação de obesidade em crianças e adolescentes de 10 a 15 anos, de ambos os sexos. Para tanto, o método de referência utilizado foi absorptometria radiológica de dupla energia (Dexa). Esse método tem sido apontado por diversos pesquisadores como um método adequado para avaliação da composição corporal em crianças e adolescentes, visto que é um modelo de três compartimentos no qual informações sobre a massa de gordura, massa isenta de osso e gordura e o conteúdo mineral ósseo podem ser acessadas com boa confiabilidade.

De acordo com os resultados relatados nesse estudo³⁰, além do IMC apresentar um potencial discriminatório relativamente limitado para a identificação dos casos de obesidade, as informações produzidas na faixa etária dos dez aos onze anos indicaram maiores taxas de erro de predição nas meninas (30%) do que nos meninos (18%). Com base nessas informações, embora as idades de sete a nove anos não tenham sido investigadas, acredita-se que as diferenças nas taxas de prevalência de obesidade, na comparação entre os sexos, encontradas no presente estudo possam ser atribuídas, pelo menos em parte, às limitações do indicador utilizado (IMC).

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados pelo presente estudo indicaram uma taxa de prevalência de sobrepeso (~19%) e obesidade (~14%) bastante superior à média da população brasileira de sete a dez anos.

Assim, diferente do observado em países desenvolvidos, o alto nível socioeconômico parece afetar negativamente a prevalência de sobrepeso e obesidade, aumentando os riscos para o

desenvolvimento de disfunções metabólicas em idades precoces.

Os achados deste estudo reforçam a necessidade de implementação de programas de reeducação alimentar e de prática de atividade física relacionados à promoção da saúde já nas séries iniciais do ensino fundamental. Outras investigações que incorporem informações sobre nível de atividade física habitual e hábitos alimentares em escolares de diferentes níveis socioeconômicos podem contribuir para uma análise mais criteriosa do processo de desenvolvimento do sobrepeso e obesidade em populações jovens.

REFERÊNCIAS

1. Ball GDC, MacCargar LJ. Childhood obesity in Canada: a review of prevalence estimates and risk factors for cardiovascular diseases and type 2 diabetes. *Can J Appl Physiol*. 2003; 28(1):117-40.
2. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for children overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000; 302(7244):1-6.
3. Hopper CA, Gruber MB, Munoz KD, MacConnie SE, Pflingston YM, Nguyen K. Relationship of blood cholesterol to body composition, physical fitness, and dietary intake measures in third-grade children and their parents. *Res Q Exerc Sport*. 2001; 72(2):182-8.
4. Williams DP, Going SB, Lohman TG, Harsha DW, Srinivasan SR, Webber LS, et al. Body fatness and risk for elevated blood pressure, total cholesterol, and serum lipoprotein ratios in children and adolescents. *Am J Public Health*. 1992; 82(3):358-63.
5. De Onis M, Blossner M. Prevalence and trends of overweight among preschool children in developing countries. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72(4):1032-9.
6. Consenso Latino Americano sobre Obesidade [citado em 2004 mar 16]. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/pdf/consenso.pdf>
7. Abrantes MM, Lamounier JA, Colosimo EA. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das Regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. *J Pediatr*. 2002; 78(4):335-40.
8. Barbeau P, Gutin B, Litaker M, Owens S, Riggs S, Okuyama T. Correlates of individual differences in body-composition changes resulting from physical training in obese children. *Am J Clin Nutr*. 1999; 69(4):705-11.
9. Chinn S, Rona RJ. Prevalence and trends in overweight and obesity in three cross-sectional studies of British children. *BMJ*. 2001; 322(7277):24-6.
10. Leão LSCS, Araújo LMB, Moraes LTL, Assis AM. Prevalência de obesidade em escolares de Salvador, Bahia. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003; 47(2):151-7.
11. Magalhães VC, Mendonça GAS. Prevalência e fatores associados a sobrepeso e obesidade em adolescentes de 15 a 19 anos das regiões Nordeste e Sudeste do Brasil, 1996 a 1997. *Cad Saúde Pública*. 2003; 19(Sup 1):129-39.
12. Monteiro POA, Victora CG, Barros FC, Tomasi E. Diagnóstico de sobrepeso em adolescentes: estudo do desempenho de diferentes critérios para o índice de massa corporal. *Rev Saúde Pública*. 2000; 34(5):506-13.
13. Barlow SE, Dietz WH. Obesity evaluation and treatment: Expert Committee Recommendations. *Pediatrics*. 1998; 102(3):E29.
14. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição. Brasília: Ministério da Saúde do Brasil; 1989.
15. Berkey CS, Rockett HR, Field AE, Gillman MW, Frazier AL, Camargo CA Jr, et al. Activity, dietary intake, and weight changes in a longitudinal study of preadolescent and adolescent boys and girls. *Pediatrics*. 2000; 105(4):E56.
16. Bundred P, Kitchiner D, Buchan I. Prevalence of overweight and obese children between 1989 and 1998: population based series of cross sectional studies. *BMJ*. 2001; 322(7282):1-4.
17. Malina RM, Bouchard C, Bar-Or O. Growth, maturation, and physical activity. 2nd ed. Champaign: Human Kinetics Books; 2004.
18. Fulton JE, McGuire MT, Caspersen CJ, Dietz WH. Interventions for weight loss and weight gain prevention among youth. *Sports Med*. 2001; 31(3):153-65.
19. Ross WD, Marfell-Jones MJ. Kinanthropometry. In: MacDougall JD, Wenger HA, Green HJ, editors. *Physiological testing of the elite athlete*. Ottawa: Mutual; 1982. p.75-115.
20. Eveleth PH, Tanner JM. *Worldwide variation in human growth*. Cambridge: Cambridge University Press; 1976.
21. Almeida PM, Wickerhauser H. *O critério Aba-Abipeme: em busca de uma atualização*. São Paulo: Abipeme; 1991.

22. Gordon CC, Chumlea WC, Roche AF. Stature, recumbent length, and weight. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell R, editors. Anthropometric standardization reference manual. Champaign: Human Kinetics Books; 1988. p.3-8.
23. Harrison GG, Buskirk ER, Carter LJE, Johnston FE, Lohman TG, Pollock ML, et al. Skinfold thickness and measurement technique. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell R, editors. Anthropometric standardization reference manual. Champaign: Human Kinetics Books; 1988. p.55-80.
24. Slaughter MH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, Van Loan MD, et al. Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. *Hum Biol.* 1988; 60(5): 709-23.
25. Post CL, Victora CG, Barros FC, Horta BL, Guimarães PRV. Desnutricao e obesidade infantil em duas coortes de base populacional no Sul do Brasil: tendências e diferenciais. *Cad Saúde Pública.* 1996; 12(Sup 1):49-57.
26. Andersen RE, Crespo CJ, Bartlett SJ, Cheskin LJ, Pratt M. Relationship of physical activity and television watching with body weight and level of fatness among children: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 1998; 279(12):938-42.
27. Ball EJ, O'Connor J, Abbott R, Steinbeck KS, Davies PS, Wishart C, et al. Total energy expenditure, body fatness, and physical activity in children aged 6-9 y. *Am J Clin Nutr.* 2001; 74(4):524-8.
28. Zack PM, Harlan WR, Leaverton PE, Cornoni-Huntley J. A longitudinal study of body fatness in childhood and adolescence. *Pediatrics.* 1979; 95(1):126-30.
29. Dietz WH. Childhood weight affects adult morbidity and mortality. *J Nutr.* 1998; 128(Suppl 2):411S-4S.
30. Sardinha LB, Going SB, Teixeira PJ, Lohman TG. Receiver operating characteristic analysis of body mass index, triceps skinfold thickness, and arm girth for obesity screening in children and adolescents. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70(6):1090-5.

Recebido para publicacao em 29 de junho de 2004 e aceito em 30 de março de 2005.

Short time L-glutamine supplementation of malnourished rats¹

Suplementação de ratos desnutridos com L-glutamina por tempo curto

Andréa Ferreira Schuwartz TANNUS²
Márcia Morandi JUNQUEIRA-FRANCO²
Vivian Marques Miguel SUEN²
Guilherme Vannucchi PORTARI²
Júlio Sérgio MARCHINI²

ABSTRACT

Objective

Considering that in malnourished patients supplemented with L-glutamine the negativity of the nitrogen balance tends to decrease, the present study aimed to determine whether malnourished Wistar rats supplemented with L-glutamine would show lower urinary nitrogen excretion, a greater deposition of nitrogen content in different tissues, and/or an alteration in the plasma amino acid levels.

Methods

The rats were divided into groups: 1) protein-energy malnutrition, 2) protein malnutrition and 3) normally nourished group. The urinary and tissue nitrogen contents were determined by the Kjeldahl method and plasma amino acids by liquid chromatography.

Results

Weight, urinary and tissue nitrogen accumulation were significantly reduced in the group with protein-energy malnutrition, but did not improve with L-glutamine supplementation supplied for a short time. The plasma amino acid concentrations showed no special pattern with L-glutamine supplementation.

Conclusion

It was concluded that it was not possible to detect any positive effect of L-glutamine supplementation on the tissue and urinary nitrogen metabolism in malnourished rats.

Indexing terms: amino acids, dietary supplements, glutamine, malnutrition, nitrogen, rats.

¹ This paper was taken from the M.Sc. dissertation of the A.R.S. TANNUS, with the title "Urinary and tissue nitrogen in rat malnutrition with supplementary glutamine". Medical School of Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2001. Scholarship from FAPESP, process 00/03679-4.

² Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Av. Bandeirantes, 3900, 14049-900, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: J.S. MARCHINI. E-mail: <jsmarchi@fmrp.usp.br>.

RESUMO

Objetivo

Considerando que em pacientes desnutridos suplementados com L-glutamina, a negatividade do balanço de nitrogênio tende a diminuir, o presente estudo visou determinar se a suplementação com L-glutamina em ratos Wistar desnutridos poderia diminuir a excreção de nitrogênio urinário, melhorar a deposição de nitrogênio em diferentes tecidos e/ou alterar as concentrações plasmáticas de aminoácidos.

Métodos

Os animais foram divididos em grupos: 1) desnutrido protéico-energético, 2) desnutrido protéico e 3) nutrido. O nitrogênio urinário e tecidual foi determinado pelo método de Kjeldahl e as concentrações plasmáticas de aminoácido por cromatografia líquida.

Resultados

Pesos, nitrogênio urinário e teciduais foram significativamente reduzidos no grupo com desnutrição protéico-energética, não tendo sido encontrada melhora no grupo com suplementação aguda de glutamina. Não foram observadas mudanças nas concentrações plasmáticas de aminoácidos com a suplementação de glutamina.

Conclusão

Não foi possível detectar um efeito positivo da suplementação de glutamina sobre o metabolismo de nitrogênio urinário e tecidual de ratos desnutridos.

Termos de indexação: aminoácidos, suplementos dietéticos, glutamina, desnutrição, nitrogênio, ratos.

INTRODUCTION

Protein-energy malnutrition (PCM) is defined by the World Health Organization¹ as a pathological condition resulting from a deficient supply of energy and protein. PCM occurs in about 35% of the hospitalized patients². In Brazil, the prevalence of hospital malnutrition is 40%-60%^{2,3}. In addition to offering standard diet therapy⁴, several attempts have been made to supplement patients with specific amino acids^{5,6} such as alanine, lysine and glutamine. In parallel, both the amounts of energy and protein offered are implicated in a greater or lesser urinary excretion of nitrogen, that may cause a negative nitrogen balance^{7,8}, aggravating PCM.

L-glutamine (Gln), $\text{NH}_2\text{-C(O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-NH}_2\text{-COOH}$, is the most abundant amino acid in the plasma of mammals and, since it is synthesized in practically all tissues, is considered to be non-essential^{9,10}. Two nitrogen groups, amino and amide, are characteristic of Gln, causing it to be important for nitrogen transport between the various tissues and for ammonia transport from the periphery to the visceral organs^{11,12}. In addition to participating in protein and peptide structures,

Gln is also a precursor of gluconeogenesis, of renal ammoniogenesis and neurotransmitters such as α -aminobutyric acid and glutamate, also providing nitrogen for the synthesis of purines, pyrimidines and nucleotides^{13,14}. Considering the multiple functions of Gln in the organism, its use has been recommended as an adjuvant in both enteral and parenteral diet therapy for malnourished patients^{13,15,16} and for low birth weight infants¹⁷. However, no effect of Gln on protein turnover was observed in healthy people or dogs^{15,18}.

The aim of the present study was to determine the effect of supplementation with Gln (0.42g/kg/day) offered through a gastric tube (gavage), for 3 days, on urinary excretion and tissue incorporation of protein nitrogen, and on the plasma amino acid levels of malnourished rats. The possibilities of enriching dietary sources with Gln and the clinical usefulness of such supplementation for the treatment of PCM were considered.

METHODS

Thirty non-obese Wistar rats at 7-8 months of age, weighing 500-550 g, obtained from the

Central Animal House of the School of Medicine of *Ribeirão Preto*, *São Paulo* University (USP), fed with chow diet (19.9g protein/% and 3.71kcal/g Nuvilab® Cr-1, Nuvital Nutrientes, Ltda., Colombo, Brazil), were used for the present protocol. They continued on the chow diet for another 7 days, considered as the control period, in individual cages. These animals were then evenly divided, at random, into 5 groups, receiving different supplies of energy and protein throughout the experiment.

Group (N): with 6 animals, considered as the nourished control rats, ingested 74kcal diet/day and 4g of protein /day (14%) for 25 days.

Group (PCM): 6 animals, called the protein-energy malnutrition group, received 50.0% less total food for 25 days, that is, 37kcal/day and 2 g protein/day (6.5%).

Group (PCMRGln): 6 animals received 50% less total food for 21 days, similar to the PCM group. Then on days 22, 23 and 24 they received 65%-75% of the total food plus Gln supplementation (see below).

Group (PCMGLn): 6 animals received 50% less total food for 21 days, similar to the PCM group. Then on days 22, 23 and 24 they maintained with the same amount of food plus Gln supplementation (see below).

Group (PMGLn): 6 animals received 100.0% the caloric diet (similar to Group N), but only half of the amount of nitrogen, that is 2g of protein/day (6.5%), for 21 days. Then on days 22, 23 and 24 they also received Gln supplementation (see below).

Gln supplementation was supplied through a gastric tube (gavage) at the rate of 0.42g/kg/day, equivalent to 0.12g of nitrogen (Dipeptiven®, Fresenius Kabi Brazil, Ltda *Campinas- São Paulo*) for 3 days. On the 25th day the animals from the five groups were sacrificed for sample collection (urine, tissue nitrogen and plasma amino acid concentrations).

Twenty-four hour urine samples were also collected on the 1st, 7th, 14th, 21st and 25th days

for total nitrogen determination (Kjeldahl micromethod)¹⁹. To kill the animals, on the last day of the experiment, they were anesthetized with 99% tribromoethanol (Aldrich Chemical Company, Inc. Milwaukee, USA) at the rate of 1mL/kg body weight. Peripheral blood (1mL into a heparinized tube) for the analysis of the plasma amino acids by liquid chromatography and tissue was then collected. Laparotomy for removal of the viscera was performed by way of an abdominal median longitudinal incision. The following tissues were collected: 1) muscle: 2cm fragment of abdominal muscle located on the left side of the paramedial wall; 2) intestinal tissue: the duodenojejunal ligament was localized and the jejunum was measured up to a point located approximately 10cm distally, and removed²⁰, 3) the left kidney; 4) the whole liver; 5) the heart. The right and left heart ventricles were separated by longitudinal section using the aorta as reference²⁰. After removal, the wet tissues were immediately weighed and stored at -70°C. Total nitrogen was determined in all tissue samples¹⁹ and amino acid concentrations were determined in the plasma²¹. The statistical test occurred on to the results obtained for the first and last days of supplementation. The data were analyzed using the non-parametric Friedman test and multiple comparisons by the Dunn test, with the level of significance set at $p < 0.05$.

RESULTS

Experimentally induced malnutrition resulted in 35% weight loss compared to the initial weight in the PCM groups, with no improvement of weight loss after Gln supplementation. However, the PM group (protein malnutrition) maintained its weight throughout the experiment (Table 1).

The data concerning urinary nitrogen excretion over a 24h period are presented in Table 2. In contrast to the weight evolution, the PM group presented an intense fall in urinary nitrogen, especially during the first week of malnutrition. Over the course of the experiment there was a

recovery of the levels of urinary nitrogen excretion. No change in urinary nitrogen was observed in the groups supplemented with Gln, showing that the use of Gln supplementation did not reduce the nitrogen loss of the malnourished animals. In the first days, the PM group has shown a decrease in urinary nitrogen excretion, but did not after receiving glutamine supplementation.

Table 3 shows the nitrogen concentrations per tissue (wet weight). The use of Gln did not

lead to a difference in tissue nitrogen between the various groups studied, suggesting that Gln had no effect on tissue nitrogen incorporation in this experimental model. In the PCM group all the tissue showed a decrease in tissue nitrogen, but with no statistically significant difference.

The plasma amino acid concentrations presented in Table 4 showed no consistent pattern. As an example, the alanine levels were significantly

Table 1. Weight of the experimental groups (g).

Group (n)	Basal	7 th day	14 th day	21 st day	25 th day
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
N (6)	575 ± 25	467 ± 40	461 ± 41	461 ± 32	471 ± 27 ^c
PCM (6)	524 ± 20	470 ± 10	408 ± 16	355 ± 21 ^a	320 ± 30
PCMRGln (6)	520 ± 45	463 ± 42	406 ± 43	328 ± 18 ^b	327 ± 24 ^c
PCMGln (6)	571 ± 33	518 ± 35	470 ± 38	416 ± 40 ^d	364 ± 44 ^d
PMGln (6)	552 ± 39	530 ± 39	528 ± 40	521 ± 40 ^{ab}	507 ± 36 ^c

Data are reported as means±SD; PCM= protein-energy malnutrition; PCMRGln= protein-energy malnutrition re-fed and supplemented with Gln; PCMGln= protein-energy malnutrition supplemented with Gln (no re-feeding); PMGln= protein malnutrition with Gln supplementation; The same letters in the same column or on the same line indicate a significant difference ($p<0.05$).

Table 2. Urinary nitrogen excreted by the experimental groups (mg/24h).

Group (n)	Basal	7 th day	14 th day	21 st day	25 th day
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
N (6)	389 ± 61	378 ± 58	376 ± 43	378 ± 44	380 ± 61
PCM (6)	361 ± 87	233 ± 42	286 ± 81	280 ± 57	283 ± 50
PCMRGln (6)	403 ± 43	311 ± 158	300 ± 121	315 ± 126	360 ± 123
PCMGln (6)	514 ± 103	236 ± 80	270 ± 103	332 ± 68	442 ± 197
PMGln (6)	505 ± 68	130 ± 40	226 ± 54	231 ± 37	398 ± 178

Data are reported as means ± SD; PCM= protein-energy malnutrition; PCMRGln= protein-energy malnutrition re-fed and supplemented with Gln; PCMGln= protein-energy malnutrition supplemented with Gln (no re-feeding); PMGln= protein malnutrition with Gln supplementation.

Table 3. Tissue nitrogen for the various groups at the end of the experiment ($\times 10^{-3}$ g N/g tissue, wet weight).

Tissues	N (6)	PCM (6)	PCMRGln (6)	PCMGln (6)	PMGln (6)
	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
AM	11 ± 7 ^a	3 ± 1	2 ± 0	1 ± 0 ^{ab}	5 ± 0 ^b
Fasting	3 ± 1	1 ± 0	1 ± 0 ^c	1 ± 0	3 ± 0 ^c
Left kidney	7 ± 5 ^d	2 ± 0	1 ± 0 ^d	2 ± 1	5 ± 1
Total liver	7 ± 4 ^e	2 ± 0	2 ± 1 ^f	1 ± 0 ^{eg}	8 ± 2 ^{fg}
Right V	3 ± 0 ^h	2 ± 0	1 ± 1 ^j	1 ± 0 ^{hj}	4 ± 0 ^{ji}
Left V	5 ± 2 ⁱ	2 ± 0	2 ± 0	1 ± 0 ^{lm}	4 ± 1 ^m

Data are reported as means±SD; AM= abdominal rectus muscle; V= ventricle; N= nourished; PCM= protein-energy malnutrition; PCMRGln= protein-energy malnutrition re-fed and supplemented with Gln; PCMGln= protein-energy malnutrition supplemented with Gln (no re-feeding); PMGln= protein malnutrition with Gln supplementation; The same letters in the same line indicate a significant difference ($p<0.05$).

Table 4. Plasma amino acid concentrations for the experimental groups after death ($\mu\text{mol/L}$).

Amino acids	N (6)	PCM (6)	PCMRGln (6)	PCMGlN (6)	PMGlN (6)
	M \pm SD	M \pm SD	M \pm SD	M \pm SD	M \pm SD
Glycine	41 \pm 29	60 \pm 24	75 \pm 42	51 \pm 18	72 \pm 10
Serine	41 \pm 16 ^a	55 \pm 9	79 \pm 26 ^a	48 \pm 5	58 \pm 21
Arginine	57 \pm 24 ^b	99 \pm 19 ^{bc}	77 \pm 20 ^{bd}	17 \pm 7 ^d	29 \pm 8 ^{cd}
Tyrosine	35 \pm 19 ^e	99 \pm 27	98 \pm 91 ^{ef}	37 \pm 16 ^f	33 \pm 3 ^f
Glutamic acid	23 \pm 2	33 \pm 7	67 \pm 7	40 \pm 1	27 \pm 4
Alanine	136 \pm 89 ^g	419 \pm 61	668 \pm 69 ^g	141 \pm 9	161 \pm 7
Aspartic acid	6 \pm 1	5 \pm 0 ^h	5 \pm 2	8 \pm 0 ^h	5 \pm 1 ^h
Leucine	43 \pm 23	95 \pm 60	117 \pm 76 ^l	35 \pm 15	29 \pm 5 ⁱ
Methionine	30 \pm 20	48 \pm 14	56 \pm 28 ^j	14 \pm 3 ^j	23 \pm 3
Valine	88 \pm 22 ^l	185 \pm 71 ^{lm}	134 \pm 23	79 \pm 14 ^m	61 \pm 21 ^m
Threonine	63 \pm 19 ^o	94 \pm 17	96 \pm 48 ^o	55 \pm 19 ^o	98 \pm 28

Data are reported as mean \pm SD; N= nourished; PCM= protein-energy malnutrition; PCMRGln= protein-energy malnutrition re-fed and supplemented with Gln; PCMGlN= protein-energy malnutrition supplemented with Gln (no re-feeding); PMGlN= protein malnutrition with Gln supplementation; The same letters in the same line indicate a significant difference ($p < 0.05$).

higher in the PCMRGln group (animals that received 65% total food and glutamine supplementation after protein caloric restriction), but not in the PCMGlN or PMGlN groups.

DISCUSSION

Animal mortality during this experiment was 40%, regardless of the experimental group. This mortality rate was similar to that reported in other studies using a similar experimental model²².

The weight loss observed in the groups with protein-energy malnutrition was probably related to the deficient energy supply. In the group with only protein malnutrition, the weight loss was smaller, suggesting that the maintenance of an energy supply is important to control weight loss. Thus it is suggested that the reduction in energy supply was the major factor responsible for the reduction in body weight and that the supply of Gln did not change this loss.

Urinary nitrogen excretion was significantly reduced in the group with protein malnutrition, starting on the 7th day of the experiment. In parallel, the lower nitrogen loss in the groups with protein-energy malnutrition may suggest that adaptation to the deficiency was more effective

among these animals. In addition, supplementation with Gln did not change the rhythm of urinary nitrogen excretion. However, considering that Gln supplementation corresponded to 1/3 of the ingested nitrogen and that nitrogen was not lost in the urine, one can speculate that this nitrogen supply was retained as nonspecific nitrogen, as observed in malnourished animals that received a greater dietary protein supply in addition to Gln supplementation (group PCMRGln). Similarly, Felgines et al.²³, in a rat study on the influence of age in prolonged diet restriction, observed the occurrence of an adaptive mechanism in diet restriction in terms of nitrogen balance and weight loss in 19% rats fasted for 3 days. Hill et al.²⁴ in a rat study on re-feeding, as also reported by Kirsch et al.²⁵, also showed that Gln supplementation for 3 days did not affect urinary nitrogen losses.

The overall reduction in tissue nitrogen observed here in the malnourished animals suggests that, with restriction of the protein and energy sources, this nitrogen is rapidly consumed, suggesting animal adaptation to the new catabolic condition. However, tissue nitrogen was not reduced in any of the tissues studied in the presence of protein malnutrition. These results indicate that the energy source may be related to tissue protein degradation. The present data

showed that re-feeding and/or Gln supplementation after malnutrition did not change the concentrations of tissue nitrogen in any of the groups studied. The nitrogen concentrations in the kidney and liver of young nourished rats²⁶ were similar to those for the N group studied here.

The plasma concentrations of essential and non-essential amino acids showed some differences, without a consistent pattern. As an example, alanine increased after Gln supplementation in the protein-energy deficient group, but did not increase in the protein deficient group. One may consider that this protocol used the alanine-glutamine dipeptide as a Gln carrier. Since alanine increased in one group one would expect the same in other groups, but this did not occur. Protein malnutrition alone is probably responsible for these amino acid alterations, but this remains to be studied in future investigations. These findings may also be due to the increased nitrogen requirements of the different tissues, but may also reflect greater peripheral tissue degradation with a resulting increase in circulating amino acids, both in protein and in protein-energy malnutrition, regardless of Gln supplementation or a greater dietary supply (nonspecific nitrogen). In general, the present results agree with those reported by Anderson et al.²⁷ and Peng et al.²⁸, showing that the lower the protein supply the higher the plasma concentration of essential amino acids.

The present study on the effect of Gln supplementation showed no differences in the evolution of weight loss, urinary nitrogen excretion, tissue nitrogen or plasma amino acid concentrations, during the 3 days of Gln supplementation. These results agree with previous studies that showed no relationship between the Gln supply and different aspects of protein metabolism, such as those conducted by Hiramatsu et al.¹⁸ on young eutrophic subjects, by Marchini et al.¹⁵ on eutrophic dogs and by Tavares & Takahashi²⁹ on rats submitted to gamma radiation. Thus, no beneficial effect of Gln in terms of nitrogen metabolism was observed, even in

malnourished animals, suggesting that Gln, specifically, has no influence on the recovery of malnourished animals. Perhaps Gln functioned as a nonspecific nitrogen source and was used as a source of protein nitrogen.

REFERENCES

1. World Health Organization. Management of severe malnutrition: a manual for physicians and other senior health workers. 2. Nutrition disorders. World Health Organization Library Cataloguing in Publication data. Geneva: WHO; 1996. Available from: http://who.int/nut/documents/manage_severe_malnutrition_eng.pdf
2. Thomas DR, Zdrowski CD, Wilson MM, Conright KC, Lewis C, Tariq S, et al. Malnutrition in subacute care. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75(2):308-13.
3. Addison E, Marchini JS, Silva MR, Vannucchi H. Estudo nutricional de pacientes hospitalizados, subsidio a favor da criação de comissões de suporte nutricional. *Res Soc Br Nutr Parent.* 1986; 3(1):9-12.
4. Marchini JS, Vannucchi H, Souza DA, Dutra-de-Oliveira JE. Uso clínico da glutamina. *Rev Metabol Nutr.* 1997; 4(1-2):10-7.
5. Deo MG, Sood SK, Ramalingaswami V. Experimental protein deficiency. *Arch Pathol.* 1965; 80(1):14-23.
6. Smith EB, Johnson BC. Studies of amino acid requirements of adult rats. *Br J Nutr.* 1967; 21(1):17-27.
7. Souba WW. Nutrition support. *N Engl J Med.* 1997; 336(1):41-8.
8. Calloway DH, Spector H. Nitrogen utilization during caloric restriction. II. The effect of variation in nitrogen intake. *J Nutr.* 1955; 56(4):545-54.
9. Waterlow JC. Observation on the mechanism of adaptation to low protein intakes. *Lancet.* 1968; 2(7578):1091-7.
10. Lacey JM, Wilmore DW. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutr Rev.* 1990; 48(8): 297-309.
11. Waterlow JC. The requirements of adult man for indispensable amino acids. *Eur J Clin Nutr.* 1996; 50(1):S151-76.
12. Hartmann F, Plauth M. Intestinal glutamine metabolism. *Metabolism.* 1989; 38(8 Suppl1): 18-24.
13. Fürst P. Conditionally indispensable amino acids (glutamine, cysteine, tyrosine, arginine, ornithine,

- taurine) in enteral feeding and the dipeptide concept. In: Fürst P, Young V, editors. *Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition*. Nestlé Nutrition Workshop Series. Clinical & Performance Program. 2000; p.199-219.
14. Alpers D. Is glutamine a unique fuel for intestinal cells? *Curr Opin Gastroenterol*. 2000; 16(1):155-9.
 15. Marchini JS, Nguyen P, Deschamps Jack-Yves, Maugère P, Krempf M, et al. Effect of intravenous glutamine on duodenal mucosa protein synthesis in healthy growing dogs. *Am J Physiol*. 1999; 276(4pt1):E747-53.
 16. Jackson NC, Carroll PV, Russell-Jones DL, Sonksen PH, Treacher DF, Umpleby AM. The metabolic consequences of critical illness: acute effects on glutamine and protein metabolism. *Am J Physiol*. 1999; 276(1 Pt 1):E163-70.
 17. Robert C, Le Bacquer O, Piloquet H, Roze JC, Darmaun D. Acute effects of intravenous glutamine supplementation on protein metabolism in very low birth weight infants: a stable isotope study. *Pediatr Res*. 2002; 51(1):87-93.
 18. Hiramatsu T, Cortiella J, Marchini JS, Chapman TE, Young VR. Source and amount of dietary nonspecific nitrogen in relation to whole-body leucine, phenylalanine, and tyrosine kinetics in young men. *Am J Clin Nutr*. 1994; 59(6):1347-55.
 19. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 13th ed. Washington (DC): AOAC; 1980.
 20. Jorge IF. Esvaziamento gástrico com ^{99m}Tecnécio após ressecção ou exclusão jejunoileal extensa - estudo experimental em ratos [thesis]. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas, Santa Casa de São Paulo: 1998.
 21. Jones BN, Gilligan JP. α -Phthaldialdehyde precolumn derivatization and reversed-phase high-performance liquid chromatography of polypeptide hydrolysates and physiological fluids. *J Chromatogr A*. 1983; 266(1):471-82.
 22. Chambon-Savanovitch C, Felgines C, Farges MC, Pernet P, Cézard JP, Raul F. Severe dietary restriction initiated in aged rats: evidence for poor adaptation in terms of protein metabolism and intestinal functions. *Eur J Clin Invest*. 1999; 29(6):504-11.
 23. Felgines C, Savanovitch C, Farges MC, Cynober L, Vasson MP. Protein metabolism in rats during long term dietary restriction: influence of aging. *J Parenter Enteral Nutr*. 1999; 23(1):32-7.
 24. Hill JO, Fried SK, Digirolamo M. Effects of fasting and restricted refeeding on utilization of ingested energy in rats. *Am J Physiol*. 1984; 247(2 Pt 2):R318-27.
 25. Kirsch RE, Brock JF, Saunders SJ. Experimental protein-calorie malnutrition. *Am J Clin Nutr*. 1968; 21(8):820-6.
 26. Marchini JS, Matsui E, Souza N, Dutra-De-Oliveira JE. Liver and kidney nitrogen uptake in rats fed beans enriched with ¹⁵nitrogen through (¹⁵NH₄)₂SO₄ used as soil fertilizer. *Braz J Med Biol Res*. 1990; 23(8):667-9.
 27. Anderson HL, Benevenga NJ, Harper AE. Associations among food and protein intake, serine dehydratase, and plasma amino acids. *Am J Physiol*. 1968; 214(5):1008-13.
 28. Peng Y, Tews JK, Harper AE. Amino acid imbalance, protein intake, and changes in rat brain and plasma amino acid. *Am J Physiol*. 1972; 222(2):314-21.
 29. Tavares DC, Takahashi CS. Effects of the amino acid glutamine on frequency of chromosomal aberrations induced by gamma radiation in Wistar rats. *Mutat Res*. 1996; 370(2):121-6.

Received for publication on September 22nd 2004 and accepted on March 9th 2005.

Thrombospondin in protein malnutrition induced hypoplasia

Trombospondina na hipoplasia induzida por desnutrição protéica

Cidônia de Lourdes VITURI¹

Márcio ALVAREZ-SILVA²

Andréa Gonçalves TRENTIN³

Vera Lúcia Cardoso Garcia TRAMONTE³

Primavera BORELLI⁴

ABSTRACT

Objective

The objective of the present study was to measure the concentration of bone marrow extracellular matrix thrombospondin in mice, following hypoplasia induced by protein malnutrition.

Methods

Two-month-old male Swiss mice were submitted to protein malnutrition by way of a low-protein diet containing 4.0% casein until they lost 20.0% of their original body weight, while the control group mice were fed 14.0% casein for 15 days. The bone marrows of the animals were aspirated and transferred to phosphate-buffered saline tubes for extraction. The extracellular matrix protein was analyzed by 7.5% SDS-PAGE and thrombospondin by Enhanced Chemiluminescence Light Western blotting.

Results

The amount of thrombospondin was 30% higher in the undernourished samples when compared to the control samples.

Conclusion

This study suggests that the hypoplasia induced by protein malnutrition probably alters the functioning of the bone marrow microenvironment resulting in a higher thrombospondin concentration.

Indexing terms: bone marrow, extracellular matrix, hypoplasia, protein malnutrition, thrombospondin.

¹ Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina. Campus Universitário, 88010-970, Florianópolis, SC, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: C.L. VITURI. E-mail: <cids@ccs.ufsc.br>.

² Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, Brasil.

³ Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, Brasil.

⁴ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

Objetivo

O objetivo do presente estudo foi verificar a concentração de trombospondina da matriz extracelular da medula óssea em camundongos após indução de hipoplasia por desnutrição protéica.

Métodos

Camundongos machos Swiss foram submetidos à desnutrição protéica com uma dieta contendo 4,0% de caseína até que perdessem 20,0% do peso original, enquanto o grupo-controle foi mantido com uma dieta contendo 14,0% de caseína por 15 dias. A medula óssea dos dois grupos foi então aspirada e extraída com tampão fosfato. A matriz extracelular foi analisada por SDS-PAGE 7,5% e a concentração de trombospondina foi quantificada por Enhanced Chemiluminescence Light Western blotting, com luminescência química avançada.

Resultados

A quantidade de trombospondina foi 30% superior nas amostras obtidas de animais desnutridos em relação às amostras do grupo-controle.

Conclusão

Este estudo sugere que a concentração de trombospondina está aumentada na hipoplasia induzida por desnutrição protéica, provavelmente por alterar o microambiente da medula óssea.

Termos de indexação: medula óssea, matriz extracelular, hipoplasia, desnutrição protéica, trombospondina.

INTRODUCTION

Thrombospondin (TSP) is a multifunctional glycoprotein of the extracellular matrix (ECM) with a homotrimeric structure of 450kDa. It is made up of identical subunits covalently interlaced in their amino-terminal groupings by disulfide bridges, and contains an RGD sequence at the carboxy-terminal of each subunit. This molecule is synthesized and secreted by a variety of cells, including platelets, fibroblasts, smooth muscle cells and endothelial cells, also being involved in cell adhesion and binding by other components such as glycosaminoglycans and fibrinogen¹.

TSP is abundant in the microenvironment of the bone marrow, being capable of acting as an adhesive ligand for the development of hematopoietic cells². The production and liberation of blood cells is a function of several factors, and is interfered with in many situations. Protein malnutrition induces a decrease in the production of blood cells, interfering in the processes of phagocytosis, immune response and cell mobilization³. Cell mobilization depends on the interaction between blood cells and the ECM of bone marrow. Protein malnutrition induces a particular type of medullary hypoplasia⁴, with

architectural modifications that are different from those caused by ordinary hypoplasia and severe medullary aplasia as induced by benzene and its derivatives⁵.

Considering that ECM is essential for the correct functioning of hematopoiesis and that previous studies have shown modifications in the concentrations of laminin and fibronectin in the bone marrow of undernourished animals⁶, this work aimed to evaluate another glycoprotein of great importance in this mechanism, that is, to verify the concentration of thrombospondin in the bone marrow ECM of mice following hypoplasia induced by protein malnutrition.

METHODS

Male Swiss mice were obtained from the *Universidade Federal de Santa Catarina*. The two month-old mice were placed in individual metabolic cages. The undernourished group received a diet containing 4% casein (n=23), and the control group was fed 14% casein (n=19) for 15 days, according the AIN-93 protocol⁷. The two groups were maintained under the regular light/dark cycle of 12 hours, with free access to

diet and water. Their body weight was measured every 48 hours, and the mice were submitted to experimental assays when the undernourished group attained a weight 20% below their original body weight. The differences between the control and undernourished mice were analyzed by means of the unpaired Student t-test.

The medial portion of the sternum was immediately fixed in Carnoy alcohol and paraffin, and 3 μ m thick sections produced and stained with Hematoxylin and Eosin.

Bone marrow ECM was obtained from the femurs of the mice. The aspirated marrow was collected in phosphate-buffered saline (80mM NaH₂PO₄, 20mM Na₂HPO₄, 100mM NaCl), pH 7.3, containing 2mM dithiothreitol, 100mM 6-aminohexanoic acid, 1mM benzamidine-HCl, and 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF). All the reagents were from Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA, and were maintained at 4°C as previously described⁸. The samples were pooled and centrifuged at 2,500g for 15min, and the ECM/soluble protein-containing supernatant recovered.

The protein was quantified by Bradford's method⁹, using electrophoresis in 7.5% SDS-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) as previously described⁶. The determination of the molecular weight was performed using basis calibration kits (Pharmacia Biotech, SP). The wells were loaded with 45 μ g of protein obtained from the bone marrow ECM. The electrophoretic transfer of proteins from SDS-PAGE gels to nitrocellulose membranes was performed with a mini V8 system (Gibco BRL). The primary antibodies used were rabbit anti-thrombospondin (a gift from Dra. *Veronica Morandi, Universidade Federal do Rio de Janeiro*). They were then submitted to the streptavidin-biotin peroxidase method (Sigma, B-7389 and E-2886). Immunodetection was performed by the luminescence method (ECL, Amersham Life Science, UK).

A densitometric analysis was performed using the scanned images from SDS-PAGE gels or with x-ray films from Western blot. The images were analyzed and the band areas quantified with the Scion Image program of the National Institutes

of Health, and the TSP concentration obtained by densitometric analysis and calculated using the GraphPad Prism program.

RESULTS AND DISCUSSION

The mice treated with the low-protein diet showed a reduction in body weight (median= 24.1 \pm 6.6%), while a small reduction in body weight was observed (median= 4.9 \pm 5.6%) in mice treated with the control diet. The differences between the groups were significant ($p < 0.0001$). The undernourished mice developed hypoplasia, presenting a lower than 25.0% hematopoietic cellularity, with gelatinous degeneration and a widening of the sinusoids (Figures 1 and 2).

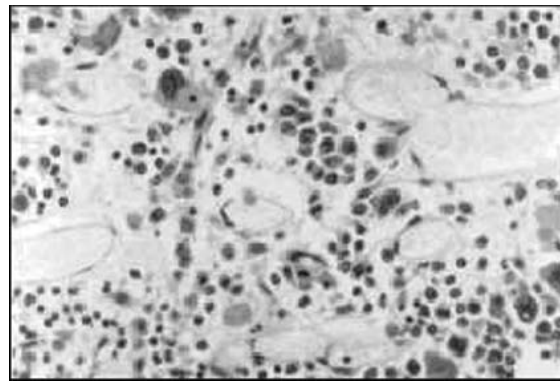


Figure 1. Bone marrow biopsy section from undernourished mice, presenting a lower than 25% hematopoietic cellularity with gelatinous degeneration and a widening of the sinusoids. Embedded in paraffin, HE stain X 400.

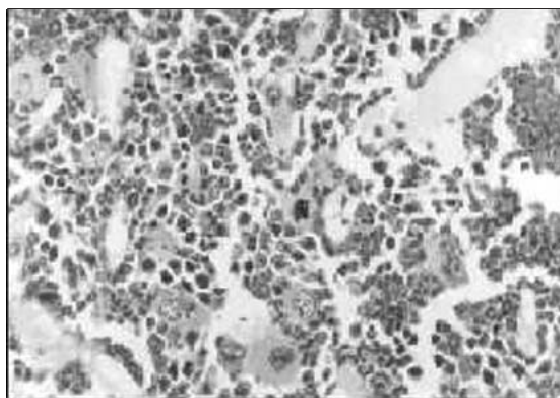


Figure 2. Bone marrow biopsy section from control mice, presenting normal hematopoietic cellularity (over 75%). Embedded in paraffin, HE stain X 400.

Extracellular matrix samples obtained from the femoral bone marrow of undernourished and control mice showed many overlapping protein bands but a few differences were observed in both the control and undernourished groups (Figure 3). The molecular weight of the altered protein corresponded to the TSP subunits (182kDa).

The thrombospondin expression was studied for the control and undernourished samples (Figure 4A), as demonstrated by the densitometric analysis (Figure 4B). The amount of thrombospondin was 30% higher in the undernourished sample when compared to the control sample. Different groups of control and undernourished mice were tested, with similar results.

Using a protein malnutrition model⁸ alterations in the protein content of the bone marrow ECM were demonstrated, suggesting alterations in the hematopoietic microenvironment. In this respect Vituri et al. observed quantitative alterations in the concentrations of laminin and fibronectin in the bone marrow ECM of undernourished mice.

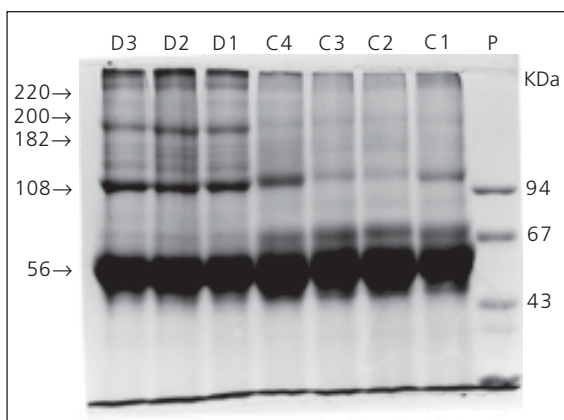


Figure 3. SDS-PAGE profile of ECM proteins obtained from control and undernourished mice. **Lane D** refers to samples obtained from the undernourished mice group. **Lane C** refers to samples obtained from the control group. Differences were observed in the intensity of the proteins with molecular weights of 240, 182 and 108kDa in both the groups analyzed. Different groups of control and undernourished mice were tested, with similar results.

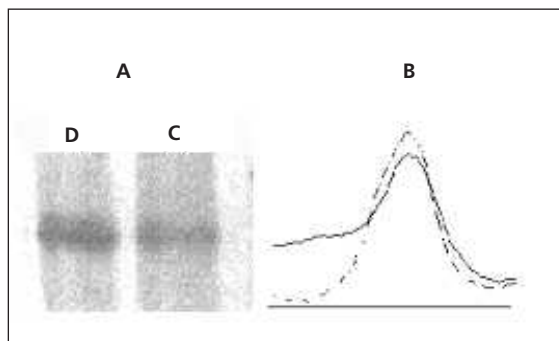


Figure 4. Western blot reaction against extracellular matrix protein thrombospondin (TSP). These data were obtained from SDS-PAGE blotted against thrombospondin (A). **Lane D** refers to samples obtained from the undernourished group. **Lane C** refers to samples obtained from the control group. Densitometric analysis of thrombospondin bands (B). Solid line refers to control samples. Dashed line refers to undernourished samples.

TSP is a large multifunctional protein that regulates cell adhesion, angiogenesis, cell proliferation and survival, transforming growth factor (TGF) beta activation and protease function¹⁰. The results of this study suggest that protein malnutrition may be the cause of architectural alterations in the bone marrow as well as a higher expression of thrombospondin in undernourished mice. Since TSP is involved in angiogenesis, this may explain the modifications found in the medullary sinusoids (Figure 1). The production of blood cells in a constant pattern depends on the microenvironment components existing in the medullary cavity. The sequence of events is not quite clear: one hypothesis is that the initial event may be related to the hematopoietic stem cell or with some of its progenitors, and that the hypoplasia may cause a particular kind of architectural lesion, introducing alterations in cell proliferation of the medullary stroma or modifications in the ECM molecule synthesis. However, other deviations may be involved in the metabolic mechanisms. The matrix composition is not static; it is modified during normal development and under conditions of tissue repair and regeneration^{11,12}. The remodeling process may act by splicing growth factors sequestered by ECM, and also through cell surface

receptors important in cell signaling¹³. Discreet alterations in the ECM structure may then occur, resulting in significant alterations in cell behavior.

It has recently been demonstrated that variations in TSP concentration may modify proteoglycan metabolism, the stoichiometry being critical in the maintenance of the ECM molecules¹⁴. The present study showed that protein malnutrition-induced-hypoplasia modified the TSP concentration in the bone marrow of mice. Previous studies showed that protein malnutrition induced a delay in the migration of defense cells to an inflammatory focus³. Therefore, it is suggested that these quantitative alterations in ECM also modify the functioning of the marrow microenvironment, altering cell proliferation and the release of haematopoietic cells into circulation. In conclusion, it is proposed that the expression of TSP is modified in hypoplasia due to protein malnutrition and that architectural modifications of the medullary sinusoids may be related to the higher concentration of TSP in the bone marrow. Nonetheless, the *in vitro* biological effects of bone marrow ECM obtained from undernourished animals deserve further investigation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Supported in part by FUNPESQUISA/2002, UFSC and FAPESP 97/13347-4. We thank Prof Dr. José Guilherme Xavier for his help in the histopathological assays.

REFERENCES

- Bornstein P. Thrombospondins: structure and regulation of expression. *FASEB J.* 1992; 6(14):3290-9.
- Klein G. The extracellular matrix of the hematopoietic microenvironment. *Experientia.* 1995; 51(9-10):914-26.
- Borelli P, Mariano M, Borojevic R. Protein malnutrition: effect on myeloid cell production and mobilization into inflammatory reactions in mice. *Nutr Res.* 1995; 15(10):1477-85.
- Krause JR. The bone marrow in nutritional deficiencies. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1988; 2(4):557-67.
- Yong NS, Alter BP. Drugs and chemicals. In: Young NS, Alter BP. *Aplastic acquired and inherited.* Philadelphia: WB Saunders; 1994. p.24-31.
- Vituri CL, Alvarez-Silva M, Trentin AG, Borelli P. Alterations in proteins of bone marrow extracellular matrix in undernourished mice. *Braz J Med Biol Res.* 2000; 33(8):889-95.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(5):1939-51.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72(1-2):248-54.
- Vituri CL, Alvarez-Silva M, Borelli P. Desnutrição protéica altera o microambiente hematopoietico. *Rev Bras Cienc Farm.* 1999; 35(1):8.
- Silverstein RL. The face of TSP revealed: an extracellular signaling domain is exposed. *J Cell Biol.* 2002; 159(2):203-6.
- Yurchenco PD, O'Rear JJ. Basal lamina assembly. *Curr Opin Cell Biol.* 1994; 6(5):674-81.
- Sottile J, Hocking DC. Fibronectin polymerization regulates the composition and stability of extracellular matrix fibrils and cell-matrix adhesions. *Mol Biol Cell.* 2002; 13(10):3546-59.
- Streuli C. Extracellular matrix remodeling and cellular differentiation. *Curr Opin Cell Biol.* 1999; 11(5):634-40.
- Grzesik WJ, Frazier CR, Shapiro JR, Sponseller PD, Robey PG, Fedarko NS. Age-related changes in human bone proteoglycan structure. Impact of osteogenesis imperfecta. *J Biol Chem.* 2002; 277(46):43638-47.

Received for publication on July 16th 2004 and accepted on April 12th 2005.

Transcrição reversa na determinação da expressão do mRNA para a enzima conversora de angiotensina testicular em animais tratados com zinco

Assessment of the reverse transcriptase polymerase chain reaction technique in the determination of the mRNA expression for the testicular angiotensin-converting enzyme in zinc treated rats

Gilberto Simeone HENRIQUES¹

Adriana Gisele Hertzog da SILVA¹

Rosário Dominguez Crespo HIRATA²

Mario Hiroiuki HIRATA²

Sílvia Maria Franciscato COZZOLINO¹

RESUMO

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi otimizar as condições reacionais capazes de ocasionar variabilidade e de introduzir erros sistemáticos na reação em cadeia pela polimerase aplicada à análise da expressão gênica da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina.

Métodos

Avaliaram-se a concentração de cDNA, a concentração dos iniciadores, a temperatura de hibridização e o número de ciclos de desnaturação, hibridização e extensão. Para tanto, extraiu-se o RNA total por meio da reação com fenol-clorofórmio e isotiocianato de guanidina de amostras de testículos de ratos *Wistar* alimentados com uma ração contendo zinco. Em seguida, gerou-se o cDNA por transcrição reversa. Utilizando-se iniciadores específicos, amplificaram-se o gene de interesse (isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina) e o gene controle Gliceraldeído-3-Fosfato-Desidrogenase. As amostras foram então aplicadas em gel de agarose e submetidas à eletroforese, coradas em brometo de etídio e visualizadas sob luz ultravioleta.

¹ Laboratório de Nutrição-Minerais, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. Av. Lineu Prestes, 580, Bloco 14, 05389-970, São Paulo, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: G.S. HENRIQUES. E-mail: <nativo@usp.br>.

² Laboratório de Biologia Molecular Aplicada ao Diagnóstico, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

Resultados

Demonstrou-se que a melhor condição reacional para a reação em cadeia pela polimerase da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina e do Gliceraldeído-3-Fosfato-Desidrogenase foi: (1) concentração inicial de cDNA de 2µg, (2) concentração de iniciadores de 200nM, (3) temperatura de hibridização entre 57,5°C e 60,1°C e (4) 33 ciclos.

Conclusão

Com essa otimização pôde-se minimizar as interferências sobre a técnica, contribuindo-se para a obtenção de dados comparativos a respeito da expressão gênica da enzima conversora de angiotensina testicular.

Termos de indexação: dieta, enzima conversora de angiotensina, expressão gênica, reação em cadeia de polimerase via transcriptase reversa, zinco.

ABSTRACT

Objective

The aim of the present work was to optimize the reaction conditions capable of generating variability and introducing systematic errors in the chain reaction of the polymerase used to analyze the gene expression for the testicular isoform of the angiotensin-converting enzyme.

Methods

The cDNA concentration, primer concentration, hybridization temperature and number of denaturation, hybridization and extension cycles were evaluated. For this purpose, samples of testis from Wistar rats fed a zinc containing diet were used to extract total RNA using the phenol-chloroform-isothiocyanate reaction. Stable cDNA was then generated by the reverse transcription reaction. Using specific primers, the gene of interest (testicular isoform of the angiotensin-converting enzyme) and the housekeeping gene for the expression of Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase were amplified. The samples were then submitted to gel electrophoresis in agarose gel, stained with ethide bromide and visualized in a UV chamber.

Results

The results showed that the best reaction conditions for the chain reaction by the testicular isoform polymerase of the angiotensin-converting enzyme and for Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase were: (1) initial cDNA concentration of 2 µg, (2) primer concentration of 200nM, (3) hybridization temperature between 57.5°C and 60.1°C and (4) 33 cycles.

Conclusion

It was concluded that this optimization minimized interference of the technique, contributing to the production of true, comparative data for the testicular angiotensin- converting enzyme gene expression.

Indexing terms: diet, angiotensin-converting enzyme, gene expression, reverse transcriptase polymerase chain reaction, zinc.

INTRODUÇÃO

Historicamente, vários estudos têm sido conduzidos com o objetivo de experimentar e se possível validar métodos e medidas de avaliação do estado nutricional relativo ao zinco. Dentre esses, estão aqueles que buscam mensurar parâmetros funcionais e de expressão de enzimas dependentes desse elemento. Álcool desidrogenase, anidrase carbônica, fosfatase alcalina e enzima conversora de angiotensina parecem ser

as enzimas mais promissoras e capazes de fornecer dados bioquímicos e moleculares que reflitam de maneira precisa o efeito da biodisponibilidade do metal sobre tecidos-alvo¹. Levando-se em conta que a regulação da expressão gênica de proteínas chave para o metabolismo dos organismos vivos pode ser mensurada com acurácia por técnicas de biologia molecular, tornou-se possível o estabelecimento de protocolos para avaliação da variação desse parâmetro de acordo com a ingestão dietética de zinco^{2,3}.

Zinco e Expressão da ECA testicular

A isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina (ECA) é exemplo desse tipo de interação, estando sujeita a um controle regulatório pelo zinco, a ponto de a deficiência do metal poder causar a redução do RNA mensageiro (mRNA) que codifica para a ECA. A diminuição da expressão do mRNA correlaciona-se positivamente com a redução da atividade enzimática⁴. A ECA é uma metaloenzima dependente de zinco expressa nos órgãos que compõem o sistema reprodutor masculino quando os animais atingem a puberdade, período no qual ocorre grande aumento em sua atividade, estabilizando-se na idade adulta⁵. Trata-se de um polipeptídeo constituído de 732 resíduos de aminoácidos, dos quais os primeiros 67 aminoácidos aminoterminais são exclusivos dessa isoforma, enquanto o restante da proteína é idêntica à metade carboxiterminal da isoforma sistêmica da enzima⁶.

Diversos métodos freqüentemente são utilizados para a avaliação da expressão gênica em vários tipos de tecidos. O método de RT-PCR tem-se mostrado um dos mais versáteis e eficazes⁷. Porém, padronizações são necessárias para que se possa atingir graus elevados de precisão e confiabilidade.

Baseando-se nesses fatos, o presente trabalho objetivou padronizar as condições reacionais que poderiam levar a uma grande variabilidade e introduzir erros sistemáticos à técnica de transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* - RT-PCR) aplicada à avaliação da expressão gênica da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina como parâmetro da biodisponibilidade de zinco em dietas experimentais.

MÉTODOS

Foram selecionadas amostras de testículos de 12 ratos Wistar provenientes de um estudo no

qual se administrou zinco por meio de dietas semipurificadas semelhantes à AIN-93. A composição centesimal média da ração experimental (n=5) apresentou concentração de 16,25% ($p=0,88$) de proteínas, 11,00% ($p=0,79$) de lipídios, 32,53 ($p=5,04$) mg/kg de zinco, percentual de umidade de 8,14 ($p=0,16$) e de cinzas totais de 3,02 ($p=0,12$). Todos os animais cujas amostras foram utilizadas para este trabalho receberam em média 35mg de Zn/kg de ração, segundo a recomendação do *American Institute of Nutrition*⁸. Os testículos foram retirados sob anestesia (Sódio-Pentobarbital, 50mg/kg de peso), 50 dias após o desmame e armazenados congelados com nitrogênio (-80°) até a extração de RNA.

Extração do RNA total das amostras de testículo coletadas

O RNA total foi obtido a partir da extração com isotiocianato de guanidina, fenol e clorofórmio baseado no método de Chomczynsky & Sacchi⁹, utilizando-se o reagente TRIZOL[®]. Pesou-se em média 70mg de tecido (corte contendo uma secção do testículo revestido pelo epidídimo) ainda congelado, transferindo-o para um tubo homogeneizador de Potter. Em seguida, adicionou-se 1mL de reagente TRIZOL[®] (1mL para cada 50 a 80mg de tecido) e iniciou-se a extração do tecido, pressionando um pistilo de vidro esmerilhado contra as paredes do tubo. Transferiu-se o homogeneizado para tubos Ependorff, e com o auxílio de uma seringa estéril de 3mL, completou-se a homogeneização, puncionando gentilmente o seu conteúdo. Adicionaram-se então 200 μ L de clorofórmio e incubaram-se as amostras homogeneizadas por cinco minutos à temperatura ambiente, quando, então, elas foram centrifugadas a 12 000 x g por 15 minutos sob temperaturas de 2 a 8°C. Após essa fase, o RNA encontrava-se na fase aquosa. Removeu-se a fase aquosa com uma pipeta automática equipada com ponteira de barreira física, tomando-se o cuidado de não remover a interface. Em seguida, precipitou-se o RNA, utilizando 500 μ L de álcool

isopropílico para cada 1 mL de reagente TRIZOL® adicionado anteriormente. Incubaram-se as amostras por dez minutos a uma temperatura entre 15 e 30°C, centrifugando-as em seguida a 12.000 x g por 10 minutos, sob temperaturas de 2 a 8°C. O sobrenadante foi desprezado, e o sedimento foi redissolvido com 1 mL de etanol a 75%; os tubos foram agitados e centrifugados a 7 500 x g por 5 minutos a temperaturas de 2 a 8°C. Finalmente, redissolveu-se o RNA em 50 µL de água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC), aliquotando-o em frações de 15 µL e procedendo-se à leitura espectrofotométrica das soluções nos comprimentos de onda 260 e 280 nm para a determinação da concentração de RNA total em cada amostra extraída e de uma estimativa do seu grau de pureza a partir da relação A_{260}/A_{280} .

Avaliação eletroforética do RNA total extraído

A integridade das amostras de RNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1,00% contendo formaldeído a 2,2M e tampão MOPS [MOPS a 20mM (pH 7,0), acetato de sódio a 8mM e EDTA a 1mM (pH 8,0)] preparado com água esterelizada tratada com DEPC, segundo as recomendações de Sambrook et al.¹⁰. Pipetou-se em tubos de microcentrifuga de 0,2mL, 4,5µL de RNA total, 2µL de tampão MOPS [MOPS a 100mM (pH 7,0), acetato de sódio a 40mM e EDTA a 5 mM (pH 8,0)], 3,5µL de formaldeído a 37,00% e 10µL de formamida. A seguir, os tubos foram incubados por quinze minutos a 65°C e imediatamente transferidos para um banho de gelo. Após rápida centrifugação, 2µL do tampão de amostra preparado com água tratada com DEPC [glicerol a 50,00%, azul de bromofenol a 0,25%, xilenocianol FF a 0,25% e EDTA a 1mM (pH 8,0)] foram acrescentados a cada tubo. Em seguida, as amostras foram aplicadas no gel imerso em tampão MOPS [MOPS a 20mM (pH 7,0), acetato de sódio a 8mM e EDTA a 1mM (pH 8,0)], previamente submetido a pré-eletroforese por cinco minutos a 5V/cm. Aplicaram-se também 5µL

do marcador de tamanho molecular de RNA de 0,24 a 9,5kb diluído 1:6 em tampão de amostra. A separação eletroforética foi feita a 4 V/cm até que o corante azul de bromofenol migrasse 8cm, utilizando a fonte modelo EPS 200. Após a separação eletroforética, cada gel foi cuidadosamente removido e visualizado por meio da incidência de radiação ultravioleta em uma câmara escura equipada com um transluminador e uma câmera digital acoplada a um microcomputador dotado de um *software* de captura e análise de imagens em tempo real (ChemImager™). Após os devidos ajustes de exposição cada imagem foi documentada e armazenada em formato digital.

Transcrição reversa (RT) - Síntese do cDNA

Para obter-se o DNA complementar (cDNA) que serviria posteriormente como molde para amplificação pela reação em cadeia pela polimerase (PCR), uma alíquota equivalente a 1 µg de RNA total foi utilizada na reação de transcrição reversa, utilizando-se os seguintes reagentes: - Tampão 5X concentrado (Tris/HCl a 250mM, pH 8,3; KCl a 375mM; MgCl₂ a 15mM e ditiotreitól a 100mM), mistura de desoxinucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP) com concentração de 10mM cada, iniciadores randômicos (2µL, 200ng), 200 unidades (1µL) de transcriptase reversa - MMLV (vírus da mieloblastose de aves murino, produzida em bactéria *E. coli*) *SuperScript II*®. Seguiu-se o seguinte protocolo experimental, recomendado pelo fabricante da enzima: Em tubos eppendorf de 0,2mL distribuíram-se alíquotas de 1µL da mistura de desoxinucleotídeos, 1µL da solução de iniciador randômico e 2µg de RNA total extraídos dos testículos, completando-se o volume do tubo para 12µL, com água destilada estéril. Essa mistura foi então aquecida por cinco minutos a 65°C, resfriando-a logo em seguida em um banho de gelo. Adicionaram-se então 5µL de tampão de RT (5X) e 2µL de DTT (100 mM), misturando o conteúdo e submetendo-o a novo aquecimento a

42°C por dois minutos, após os quais adicionou-se 1µL da enzima transcriptase reversa (MMLV), deixando-a reagir por 50 minutos à temperatura de 42°C. Aqueceu-se ainda a solução a 70°C por 15 minutos, para que ocorresse a inativação da reação.

Amplificação do cDNA, utilizando-se a reação em cadeia pela polimerase (PCR) em duplex

A amplificação dos segmentos de cDNA foi feita utilizando iniciadores que flanqueiam uma região da seqüência correspondente à isoforma testicular da ECA, conforme descrito por Ramaraj et al.¹¹. Concomitantemente, utilizaram-se iniciadores para um gene constitutivo (GAPDH) como controle da reação, de acordo com o trabalho de Tokunaga et al.¹². Adicionaram-se a 2µL da mistura diluída de cDNA de cada gene obtido por transcrição reversa, 5µL de tampão de PCR (Tris/HCl a 75mM, pH 9,0; KCl a 50mM; MgCl₂ a 2,0mM, (NH₄)₂SO₄ a 20mM), 2,0µL de mistura de desoxinucleotídeos a 0,4mM cada (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 1µL de cada iniciador específico (*sense* e *antisense*) a 200nM, 1,0µL de Taq DNA polimerase (1U/µL), completando-se o volume final para 50µL, com água deionizada estéril.

Os iniciadores específicos para o gene da ECA testicular foram sintetizados nos laboratórios da *Life Technologies* (São Paulo, Brasil). A seqüência de bases dos iniciadores utilizados na amplificação por PCR e suas respectivas posições nas seqüências do DNA complementar de origem foram (5' → 3'): ECA - Isoforma Testicular - CTGAGTCAGGTGGCCACTGA (*sense*, posição 79 - 98), e GGGCATAACAAGTGCCATTG (*antisense*, posição 551-570). GAPDH - GAAGGTGAAGGTCGGAGTC (*sense*) e GAAGATGGTGATGGGATTC (*antisense*).

A reação em cadeia pela polimerase foi realizada em um termociclador modelo PTC-200, obedecendo-se à seqüência de um ciclo de desnaturação inicial a 98°C por 3 minutos, seguido

de 30 ciclos compostos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, hibridação a 60°C por um minuto e 30 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto e 30 segundos e finalmente um ciclo de extensão final a 72°C por 10 minutos. Terminada a etapa dos ciclos, a reação foi interrompida por resfriamento a 4°C. Todas as etapas necessárias à padronização dessas condições estão descritas no item resultados.

Avaliação eletroforética dos produtos de amplificação

A partir da obtenção dos produtos da reação de PCR, alíquotas de 5µL de cada amostra foram adicionadas a 1µL de tampão de amostra (azul de bromofenol a 0,25%, xilenocianol-FF a 0,25% e glicerol a 30,00%) e então analisadas por meio de eletroforese em gel de agarose a 2,00% em tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) contendo Tris-HCl a 0,45mM, ácido bórico a 0,45mM e ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) a 2,5mM em pH 8,0. Os parâmetros de eletroforese adotados foram 100 V de corrente por 30 minutos. O número de bases do DNA amplificado foi determinado por comparação a um marcador de tamanho molecular de DNA de 100bp.

Após a separação eletroforética, cada gel foi cuidadosamente removido e corado por imersão em uma solução de brometo de etídio a 0,5µg/mL por 3 minutos. Dessa solução os géis de agarose contendo os produtos de PCR eram lavados com água destilada (dez minutos) e visualizados por meio da incidência de radiação ultravioleta em uma câmara escura equipada com um transluminador e uma câmera digital acoplada a um microcomputador dotado de um *software* de captura e análise de imagens em tempo real (ChemImager™). Após os devidos ajustes de exposição cada imagem foi documentada e armazenada em formato digitalizado, tornando-se disponível para a etapa de análise de imagem.

Medida semiquantitativa da expressão gênica da ECA

Após a documentação, os géis foram submetidos à análise densitométrica utilizando-se o *software ChemImager*TM.

Para as provas finais, utilizaram-se os géis nos quais amplificaram-se concomitantemente o gene de interesse (ECA testicular) e o gene constitutivo utilizado como controle (GAPDH), possibilitando o cálculo da expressão relativa do gene de interesse. O GAPDH foi escolhido como controle pelo fato de ser expresso de maneira constante e abundante nas células de mamíferos. A medida da expressão do RNA mensageiro da ECA foi obtida em valores relativos (expressão relativa) entre a densidade óptica da banda correspondente ao produto de amplificação do gene da ECA e a densidade óptica da banda correspondente ao produto de amplificação do gene da GAPDH. Selecionaram-se áreas iguais para cada banda analisada e a interferência de fundo foi corrigida pela medida de dez pontos em torno da região utilizada como branco da reação.

Controle de qualidade das análises moleculares

Verificou-se a cada amplificação realizada a partir da reação em cadeia pela polimerase (PCR) o aparecimento de bandas que não representassem os genes para os quais os iniciadores haviam sido desenhados e o acontecimento de reações inespecíficas. Utilizou-se o controle de reagentes, colocando-se no tubo controle todos os reagentes para a reação de amplificação, exceto o cDNA. Para a obtenção das provas finais, mais de 10% das reações foram repetidas aleatoriamente. A contaminação com DNA genômico durante a execução da técnica de RT-PCR foi excluída utilizando-se oligonucleotídeos desenhados exclusivamente, tomando-se por referência as seqüências de exons do cDNA dos genes em estudo. Sendo assim, evidenciaria-se a

presença de DNA genômico por meio da amplificação de fragmentos maiores contendo também os introns. Utilizou-se também o controle de reagentes durante as reações de transcrição reversa.

A descrição estatística dos dados foi realizada com o auxílio do *software Statistica 5.0*[®]. A variação total dos dados de cada tratamento foi decomposta a partir de uma análise de variância de uma via (Anova *one-way*). As diferenças entre as médias foram testadas aplicando-se o teste "t" não pareado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para que se pudesse fazer a determinação da expressão do mRNA da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina, uma série de testes e de padronizações foram necessárias para que o procedimento fosse realizado com acurácia e precisão. A aplicação conjunta dos cDNA's do gene de interesse e do gene controle (técnica duplex) foi utilizada para que se diminuísse ao máximo a variabilidade intra e interensaio¹³. Com base no trabalho de Kessler et al.¹⁴ e nas temperaturas de desnaturação dos iniciadores, foram determinadas as condições iniciais da PCR. Quatro parâmetros básicos foram avaliados: (1) A concentração inicial de RNA total necessária para a amplificação do cDNA; (2) a concentração de iniciadores; (3) a temperatura de hibridização dos genes de interesse e controle e (4) o número de ciclos de desnaturação, hibridização e extensão para cada um deles.

Primeiramente, variou-se a quantidade de RNA utilizado para a síntese do cDNA, mantendo-se as concentrações dos demais reagentes da RT e PCR constantes. Como pode ser observado na Figura 1, há uma diferença significativa porém pequena na amplificação quando comparadas as três concentrações de RNA utilizadas. Quando utilizou-se a concentração de 2µg de RNA de partida, observou-se uma melhor amplificação quando comparada com 1 ou 3µg, ainda que para as três condições avaliadas a relação

ECA/GAPDH tenha sido baixa. A quantidade de RNA de partida necessária à detecção da expressão gênica da ECA_t parece ser influenciada pelo estado nutricional relativo ao zinco. Stallard & Reeves¹⁵, trabalhando com ratos *Wistar* deficientes em zinco, só conseguiram obter dados significativos de expressão da ECA_t ao utilizar concentrações maiores do que 3µg de RNA total de partida, indicando menor expressão do gene de interesse.

Em seguida avaliou-se a concentração de iniciadores de 100, 200 ou 300nM na amplificação dos genes da ECA testicular e da GAPDH. Como se pode observar na Figura 2, encontrou-se uma

diferença significativa entre o primeiro tratamento (100nM) e os demais (200 e 300nM). Esses últimos apresentaram a melhor amplificação para ambos os genes, o que pode ser comprovado pela análise densitométrica, revelando relações ECA/GAPDH iguais (a diferença encontrada não foi estatisticamente significativa ao nível de $p < 0,05$).

As temperaturas de hibridização para os genes estudados também foram analisadas. Para tanto, utilizou-se um gradiente de temperatura que permitiu variar a temperatura de hibridização em cada tubo separadamente. Continuou-se utilizando amostras escolhidas para os ensaios anteriores, que haviam amplificado de maneira

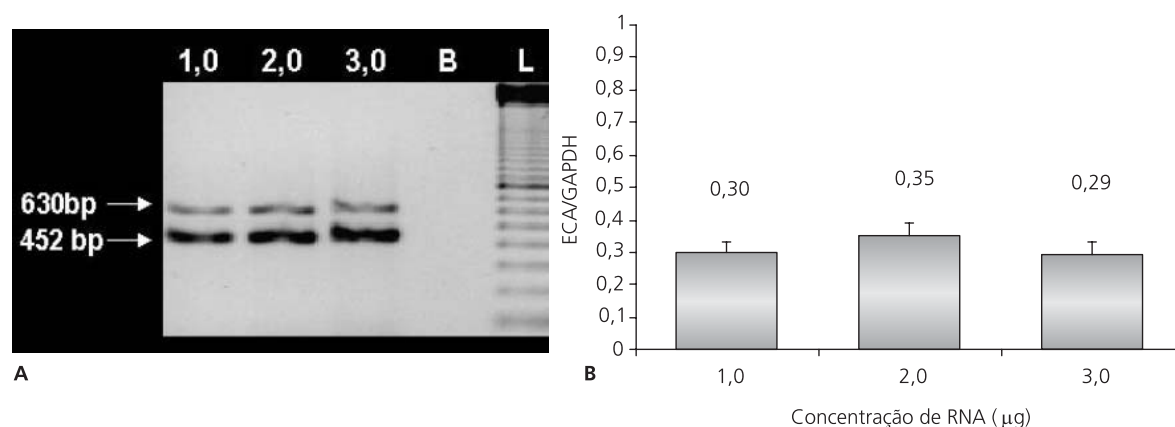


Figura 1. Eletroforese (A) e densitometria (B) dos produtos de PCR da GAPDH (452bp) e da ECA_t (630bp) de cDNA sintetizado com 1, 2 e 3µg de RNA total. B= controle; L= marcador de peso molecular (100bp).

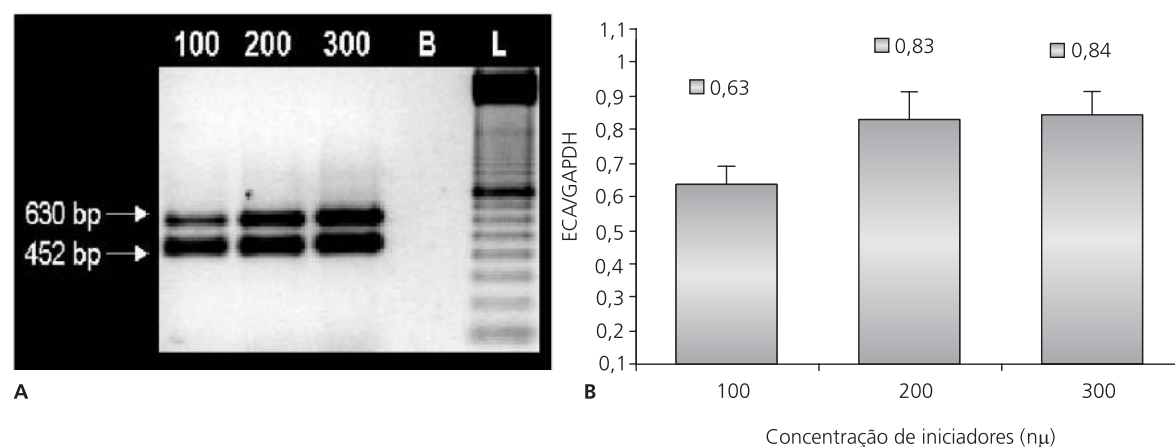


Figura 2. Eletroforese (A) e densitometria (B) dos produtos de PCR da GAPDH (452bp) e da ECA_t (630bp) amplificados com iniciadores de 100, 200 e 300nM. B= controle; L= marcador de peso molecular (100bp).

satisfatória para que se pudesse determinar a melhor temperatura de hibridização. Como se pode observar no gel (Figura 3), a temperatura em que o fragmento apareceu mais nítido e que apresentou a melhor relação densitométrica ECA/GAPDH encontrou-se entre 57,5 e 60,1°C, havendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre esses dois tratamentos. A partir de 62°C notou-se que a amplificação do gene da ECA diminuiu sensivelmente.

A partir da definição da temperatura ideal de hibridização, partiu-se para a determinação do número de ciclos da reação de PCR necessário para a amplificação dos segmentos de cDNA de

interesse. Isso implicou determinar um número de ciclos constante de um intervalo que compreendesse um sinal mínimo de amplificação (como o que pode ser visto aos 27 ciclos na Figura 4) e um sinal máximo (como pode ser visto aos 33 ciclos também na Figura 4, mais notadamente para o gene da GAPDH). Aos 33 ciclos, a reação apresentou a melhor relação densitométrica ECA/GAPDH, existindo diferenças significativas ao nível de $p < 0,05$ entre todos os tratamentos avaliados. Trabalhos que avaliaram a expressão gênica de metaloproteínas frente à suplementação com zinco por meio da RT-PCR obtiveram resultados significativos de amplificação com um número de

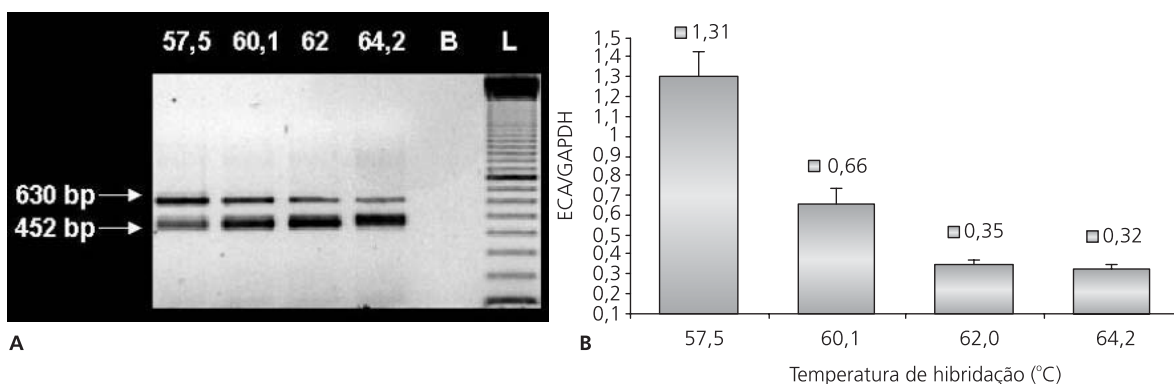


Figura 3. Eletroforese (A) e densitometria (B) dos produtos de PCR da GAPDH (452bp) e da ECA₁ (630bp) amplificados com diferentes temperaturas de hibridização. B= controle, L= marcador de peso molecular (100bp).

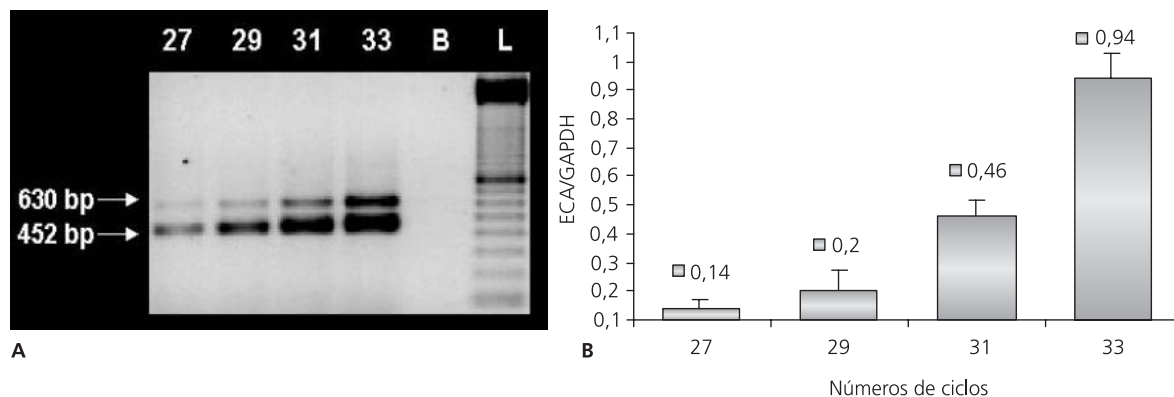


Figura 4. Eletroforese (A) e densitometria (B) dos produtos de PCR da GAPDH (452bp) e da ECA₁ (630bp) amplificados utilizando 27, 29, 31 e 33 ciclos. B= controle, L= marcador de peso molecular (100bp).

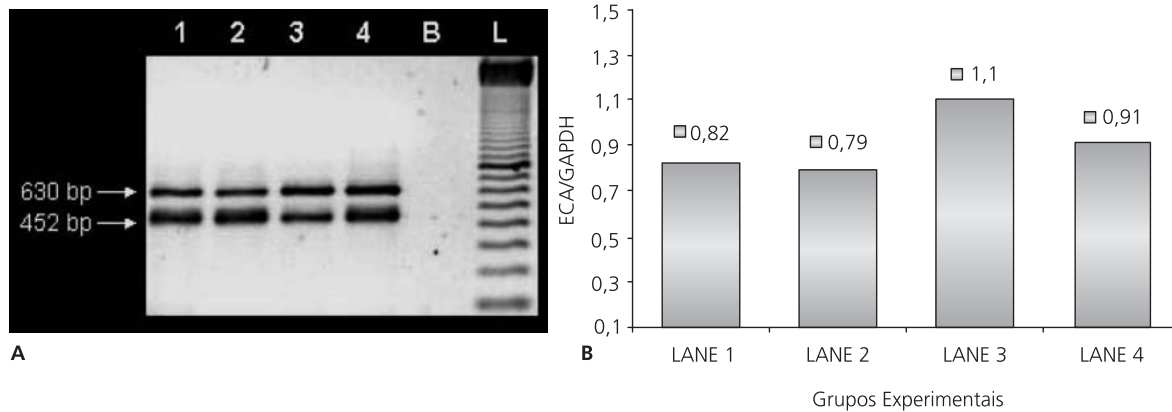


Figura 5. Eletroforese (A) e densitometria (B) dos produtos de PCR da GAPDH (452bp) e da ECA_t (630bp) amplificados nas melhores condições determinadas neste trabalho.

ciclos semelhante (30 ciclos para as metalotioneínas)¹⁶. O contrário acontece quando os animais são deficientes em zinco^{15,17}, observando-se um aumento do número de ciclos de PCR necessários à amplificação do gene de interesse, o que por si só pode se constituir um importante limitante da técnica, pela probabilidade de amplificação de segmentos inespecíficos do DNA complementar.

Após o estabelecimento das condições experimentais acima descritas, foi possível determinar de forma rápida a expressão do mRNA da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina em amostras de testículos de ratos Wistar submetidos à alimentação com uma ração experimental contendo zinco a partir de parâmetros seguros de aplicação da técnica de RT-PCR (Figura 5).

CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos pode-se concluir que com a otimização de parâmetros da técnica de RT-PCR, como a concentração inicial de cDNA, a concentração de iniciadores, a temperatura de hibridização, o número de ciclos da reação além de ajustes em outras variáveis (e.g. concentrações de DNTP e de MgCl₂) foi possível minimizar interferências importantes que influenciam negativamente a avaliação da expressão gênica

da ECA testicular, levando à obtenção de dados mais precisos e passíveis de comparação científica confiável.

A G R A D E C I M E N T O

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

REFERÊNCIAS

- Henriques GS, Hirata MH, Cozzolino, SMF. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da Enzima Conversora de Angiotensina. *Rev Nutr.* 2003; 16(3):333-45.
- Blanchard RK, Cousins RJ. Differential display of intestinal mRNA's regulated by dietary zinc. *Proc Acad Sci USA.* 1996; 93:6863-8.
- Blanchard RK, Cousins RJ. Regulation of intestinal gene expression by dietary zinc: induction of uroguanylin mRNA by zinc deficiency. *J Nutr.* 2000; 130(5 Suppl):1393S-98S.
- Stallard L, Reeves PG. Zinc deficiency in adult rats reduces the relative abundance of testis-specific angiotensin-converting enzyme mRNA. *J Nutr.* 1997; 127(1):25-9.
- Strittmatter SM, Thiele EA, De Souza EB, Snyder SH. Angiotensin-converting enzyme in the testes and epididymis: differential development and pituitary regulation of isozymes. *Endocrinology.* 1985; 117(4):1374-9.
- Ehlers MR, Fox EA, Strydom DJ, Riordan JF. Molecular cloning of human testicular angiotensin-

- converting enzyme: the testis isozyme is identical to the C-terminal half of endothelial angiotensin-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; 86(20):7741-5.
7. Siebert P. The PCR technique: RT-PCR. BioTechniques Books, Eaton Publishing; 1998.
 8. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993; 123(11):1939-51.
 9. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987; 162(1):156-9.
 10. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor (CSH); 1989. v.1. cap. 7 – Extraction, purification and analysis of messenger RNA from eukaryotic cells. p. 7.3-7.87.
 11. Ramaraj P, Kessler SP, Colmenares C, Sen GC. Selective restoration of male fertility in mice lacking angiotensin-converting enzymes by sperm-specific expression of the testicular enzyme. *J Clin Invest*. 1998; 102(2):371-8.
 12. Tokunaga K, Nakamura Y, Sakata K, Fujimori K, Okubo M, Sawada S. Enhanced expression of a glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase gene in human lung cancers. *Cancer Res*. 1987; 47(21):5616-9.
 13. Spencer WE, Christensen MJ. Multiplex relative RT-PCR method for verification of differential gene expression. *BioTechniques*. 1999; 27(5):1044-6, 1048-50, 1052.
 14. Kessler SP, Rowe TM, Blendy JA, Erickson RP, Sen GC. A cyclic AMP response element in the angiotensin-converting enzyme gene and the transcription factor CREM are required for transcription of the mRNA for the testicular isozyme. *J Biol Chem*. 1998; 273(16):9971-5.
 15. Stallard L, Reeves PG. Zinc deficiency in adult rats reduces the relative abundance of testis-specific Angiotensin-converting enzyme mRNA. *J Nutr*. 1997; 127(1): 25-9.
 16. Sullivan VK, Burnett FR, Cousins RJ. Metallothionein expression is increased in monocytes and erythrocytes of young men during zinc supplementation. *J Nutr*. 1998; 128(4): 707-13.
 17. Reeves PG, Rossow KL. Zinc deficiency affects the activity and protein concentration of angiotensin-converting enzyme in rat testes. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1993; 203(3):336-42.

Recebido para publicação em 15 de março e aceito em 15 de dezembro de 2004.

Possíveis mecanismos trombogênicos da hiper-homocisteinemia e o seu tratamento nutricional

Possible thrombogenic mechanisms of hyperhomocysteinemia and its nutritional treatment

Sofia Kimi UEHARA¹

Kátia BALUZ²

Glorimar ROSA³

RESUMO

A hiper-homocisteinemia é um fator de risco independente para as doenças vasculares oclusivas. Os mecanismos exatos pelos quais a hiper-homocisteinemia favorece o desenvolvimento dessas doenças não são totalmente compreendidos. Sugere-se que o dano ao endotélio vascular, promovido pelas espécies de oxigênio reativas, oriundas da oxidação da homocisteína, seja a causa dos eventos tromboembólicos. Estudos indicam que a homocisteína interfere em vários mecanismos anticoagulantes mediados pelo endotélio vascular, tais como: redução da ativação da proteína C, inibição da trombomodulina e supressão da expressão do sulfato de heparan. Sabe-se que os níveis de homocisteína são influenciados por diversos fatores, dentre eles destaca-se a deficiência de vitaminas do complexo B (especialmente folato, cobalamina e piridoxina). A suplementação de folato, isoladamente ou em combinação com a cobalamina e piridoxina, reduz os níveis de homocisteína plasmática mesmo em pessoas que não apresentam deficiência dessas vitaminas. Esta revisão tem como objetivos abordar os possíveis mecanismos pelos quais a hiper-homocisteinemia poderia levar ao desenvolvimento de eventos tromboembólicos e o tratamento nutricional da hiper-homocisteinemia.

Termos de indexação: doenças cardiovasculares, doenças vasculares, homocisteína, nutricionista.

ABSTRACT

Hyper-homocysteinemia is an independent risk factor for occlusive vascular disease. The exact mechanisms by which hyperhomocysteinemia promotes the development of these diseases are still unclear. It has been

¹ Mestranda em Nutrição Humana, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Hospital do Câncer, Serviço de Nutrição, Instituto Nacional do Câncer. São Paulo, SP, Brasil.

³ Departamento de Nutrição e Dietética, Centro de Ciências da Saúde, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Av. Brigadeiro Trompovsky, s/n, Bloco J, 2º andar, Sala 24, 21949-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: G. ROSA. E-mail: <glorimar@nutricao.ufrj.br>.

suggested that damage to the vascular endothelium caused by reactive oxygen species produced during the auto-oxidation of homocysteine, may be the cause of the thrombo-embolic events. Studies have indicated that homocysteine interferes in various anticoagulant mechanisms mediated by the vascular endothelium, for example, reduction in protein C activation, inhibition of thrombomodulin and suppression of heparan sulfate expression. It is known that many factors influence the homocysteine levels including deficiency of the vitamin B complex (mainly folate, pyridoxine and cobalamin). Folate supplementation, alone or combined with pyridoxine and cobalamin, reduces plasmatic homocysteine levels even in people who are not vitamin deficient. This paper will address the possible mechanisms by which hyper-homocysteinemia could favor the development of thrombo-embolic events as well as addressing its nutritional treatment.

Indexing terms: cardiovascular diseases, vascular diseases, homocysteine, nutritionist.

INTRODUÇÃO

A homocisteína é um aminoácido sulfurado que não participa da síntese protéica, sendo formada a partir do metabolismo da metionina¹. Em 1969, McCully observou uma importante correlação entre os níveis aumentados de homocisteína plasmática (hiper-homocysteinemia) e a ocorrência das doenças vasculares oclusivas (infarto agudo do miocárdio, trombose e doença aterosclerótica)². Desde então, estudos têm confirmado essa hipótese, isto é, apontam a hiper-homocysteinemia como um novo e importante fator de risco para o desenvolvimento dessas doenças³.

A concentração normal de homocisteína plasmática varia de 5 a 15 µmol/L. A hiper-homocysteinemia pode ser assim classificada: a) moderada, entre 15 e 30 µmol/L; b) intermediária, entre 30 e 100 µmol/L e c) grave, acima de 100 µmol/L⁴.

Segundo Okumura & Aso⁵, o processo de indução das doenças vasculares oclusivas pela hiper-homocysteinemia ainda não é totalmente conhecido. Os fatores genéticos (deficiência enzimática ou mutações), patológicos (redução da função renal) e nutricionais (deficiência de folato, cobalamina e piridoxina) estão associados ao aumento dos níveis de homocisteína plasmática⁶.

Esta revisão visa abordar os prováveis mecanismos pelos quais a hiper-homocysteinemia poderia levar ao desenvolvimento de doenças vasculares oclusivas assim como o tratamento nutricional da hiper-homocysteinemia.

Metabolismo da homocisteína

Duas reações estão envolvidas no metabolismo da homocisteína: transulfuração e remetilação. Na reação de transulfuração, a homocisteína condensa-se irreversivelmente com a serina para formar a cistationina, sendo tal reação catalisada pela enzima cistationina β sintase (CBS) que é dependente de piridoxina age como um co-fator⁶.

Na reação de remetilação, a homocisteína é revertida a metionina ao receber o grupamento metil do 5-metiltetraidrofolato proveniente do folato dietético⁶. A enzima metilenetetraidrofolato redutase (MTHF redutase) é a enzima responsável pela conversão do 5,10-metilenetetraidrofolato em 5-metiltetraidrofolato. O grupo metil também pode ser doado pela betaína. A reação com o 5-metiltetraidrofolato ocorre em todos os tecidos e é dependente de cobalamina, enquanto a reação com a betaína ocorre, principalmente, no fígado e é independente de cobalamina⁶ (Figura 1).

Associação entre a hiper-homocysteinemia e doenças cardiovasculares

O mecanismo exato pelo qual a homocisteína exerce seu efeito aterotrombótico ainda não foi esclarecido⁸. Segundo Sydow & Boger⁹, a disfunção endotelial pode ser a causa base para a ação pró-aterogênica associada à hiper-homocysteinemia. Entretanto, os mecanismos pelos quais a hiper-homocysteinemia promove a disfunção endotelial também não são totalmente compreendidos⁹.

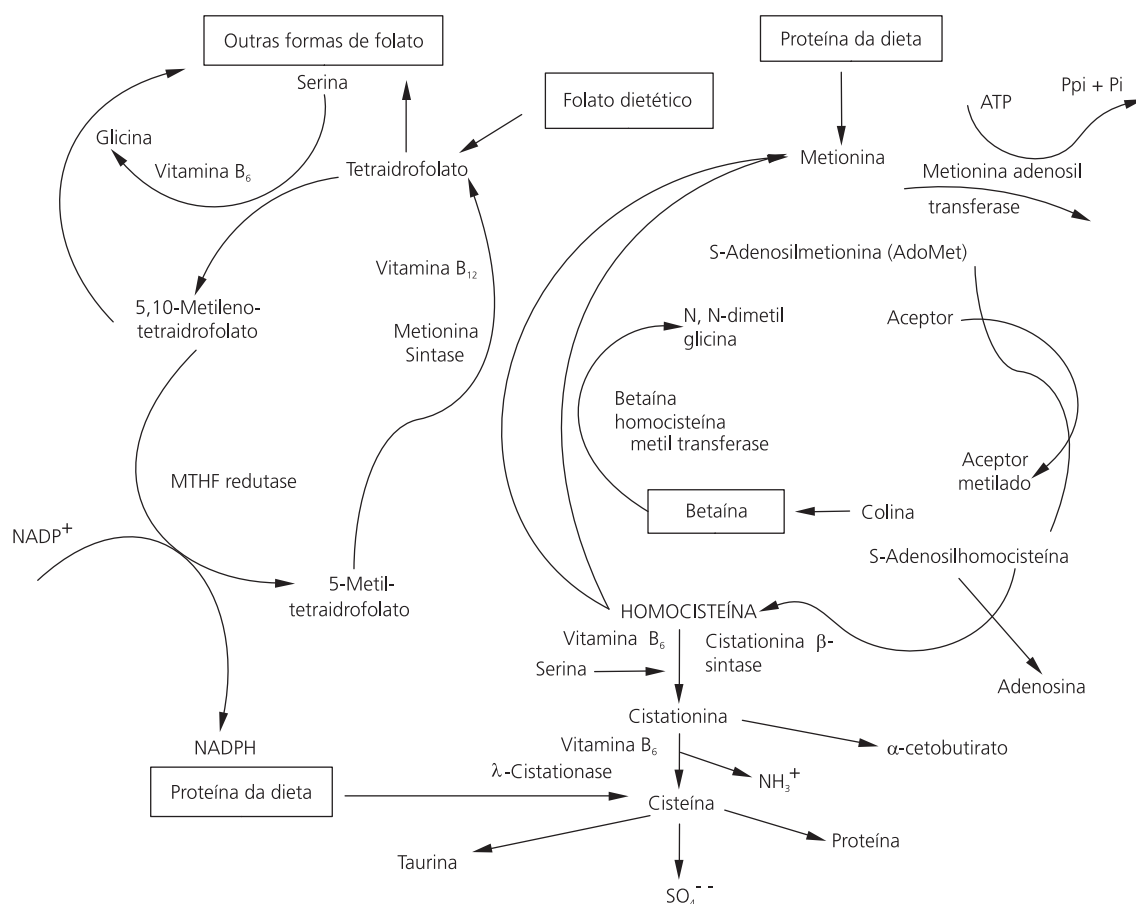


Figura 1. Metabolismo da homocisteína.

Fonte: Adaptado de Lentz⁷.

Segundo Weiss et al.¹⁰, a disfunção endotelial associada à hiper-homocisteinemia é manifestada pelo prejuízo da regulação do tônus vascular, do fluxo sanguíneo e perda da função antitrombótica das células endoteliais. Segundo Domagala et al.⁸, a produção de radicais livres durante a oxidação da homocisteína favorece a disfunção endotelial.

Quando adicionada ao plasma, a homocisteína é rapidamente auto-oxidada, originando a homocistina e homocisteína tiolactona¹¹, bem como outras formas ativas de oxigênio consideradas citotóxicas, tais como o superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila¹². Observou-se que o radical hidroxila e

o radical ânion superóxido estão envolvidos no início da peroxidação lipídica e da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), respectivamente¹¹. Foi demonstrado que a homocisteína prejudica a expressão da peroxidase glutatona pelas células endoteliais, favorecendo a peroxidação lipídica¹³.

Segundo Domagala et al.⁸, a hiper-homocisteinemia estimula a proliferação de células musculares lisas e inibe o crescimento de células endoteliais, favorecendo a aterosclerose. Um dos mecanismos pelos quais a hiper-homocisteinemia favorece a proliferação de células musculares lisas é pela inativação do óxido nítrico a partir dos peróxidos de lipídios produzidos

pela oxidação da homocisteína¹². A inibição da proliferação e migração de células musculares lisas é dada pelo óxido nítrico¹². A inativação do óxido nítrico deixa o endotélio mais vulnerável aos danos promovidos pela homocisteína¹².

Sugere-se que o aumento moderado dos níveis de homocisteína seja o principal fator de risco para as doenças aterotrombóticas, uma vez que afeta o sistema de coagulação sanguínea¹⁴. Segundo Harpel et al.¹⁵, a hiper-homocisteinemia inibe vários mecanismos anticoagulantes que são mediados pelo endotélio vascular.

Segundo Welch et al.¹², a atividade pró-coagulante do endotélio é estimulada pela hiper-homocisteinemia através dos seguintes mecanismos: aumento da atividade dos fatores XII e V, redução da ativação da proteína C, indução da expressão do fator tecidual (ativando a via extrínseca de coagulação), supressão da expressão do sulfato de heparan pelo endotélio e inibição da atividade da trombosmodulina. Todos esses mecanismos facilitam a formação de trombina, aumentando a propensão de eventos trombóticos e aterogênicos¹².

Lauricella et al.¹⁶ investigaram os efeitos da hiper-homocisteinemia na formação e na estrutura das fibras de fibrina e verificaram que essas fibras eram mais compactas e mais curtas, sendo mais resistentes à ação do sistema fibrinolítico. Convém destacar que a velocidade da fibrinólise sofre grande influência do tamanho e densidade das fibras. As fibras densas sofrem dissolução mais lentamente do que as finas.

Segundo Domagala et al.⁸, um outro possível mecanismo pelo qual a hiper-homocisteinemia pode promover a aterogênese é por meio da redução da biodisponibilidade do óxido nítrico, um potente agente antiagregante que exerce um importante papel na regulação da função plaquetária. Leoncini et al.¹⁷ observaram que a hiper-homocisteinemia leva a uma diminuição do transporte de arginina, importante para a biossíntese do óxido nítrico.

Stamler et al.¹⁸ demonstraram que as células endoteliais detoxificam a homocisteína por meio da liberação do óxido nítrico que, em presença do oxigênio, combina-se com a homocisteína, formando o S-nitroso-homocisteína. Os efeitos adversos da hiper-homocisteinemia são abrandados pela formação do S-nitroso-homocisteína que, por sua vez, não promove a formação de peróxido de hidrogênio e homocisteína tiolactona, produtos que contribuem para a toxicidade endotelial. Assim como os demais S-nitrosotióis, o S-nitroso-homocisteína é um vasodilatador e inibidor plaquetário¹⁸. Entretanto, a exposição prolongada a níveis elevados de homocisteína compromete o efeito protetor mediado pelo óxido nítrico, limitando a produção do mesmo pelo endotélio¹¹.

Segundo Harpel et al.¹⁵ e Coppola et al.¹⁹, a maioria dos estudos que investigaram os possíveis mecanismos trombogênicos da hiper-homocisteinemia empregou experimentos *in vitro*, nos quais foram utilizadas concentrações elevadíssimas de homocisteína; em geral, concentrações maiores do que aquelas observadas nos casos de hiper-homocisteinemia. Há poucos registros na literatura científica de estudos *in vivo* com humanos¹⁹.

A compreensão dos mecanismos *in vivo* pelos quais a hiper-homocisteinemia se relaciona com as doenças vasculares oclusivas pode fornecer novas abordagens para a prevenção e tratamento da aterotrombose⁸.

Tratamento nutricional da hiper-homocisteinemia

O estado nutricional de folato, cobalamina, e piridoxina parece ser o mais importante na redução dos níveis de homocisteína plasmática²⁰. Segundo Robinson et al.²¹, os níveis de homocisteína plasmática aumentam à medida que os níveis plasmáticos de folato, cobalamina e piridoxina diminuem. O aumento dos níveis de homocisteína plasmática é comum em indivíduos que apresentam comprometimento do estado

nutricional dessas vitaminas²¹. Segundo Ward²², a deficiência de folato, piridoxina e cobalamina é a responsável por aproximadamente dois terços de todos os casos de hiper-homocisteinemia, sendo que dessas três vitaminas, o folato parece ser o mais importante.

A deficiência das vitaminas do complexo B envolvidas no metabolismo da homocisteína é caracterizada por níveis inferiores a 372nmol/L, 125µmol/L e 20nmol/L para folato, cobalamina e piridoxina, respectivamente²¹.

O tratamento da hiper-homocisteinemia varia de acordo com a causa base¹¹. Entretanto, a suplementação de folato, piridoxina e cobalamina é, em geral, eficiente na redução dos níveis de homocisteína plasmática, independente da causa da hiper-homocisteinemia¹¹. Sugere-se que o folato, isoladamente ou em combinação com a piridoxina e a cobalamina, possa reduzir os níveis de homocisteína plasmática, mesmo em pessoas que não apresentam deficiência dessas vitaminas²³. A suplementação de folato é um meio barato e eficaz na redução dos níveis de homocisteína plasmática²³. A dose exata de folato, cobalamina e piridoxina necessária para o tratamento da hiper-homocisteinemia ainda não foi determinada, sendo que diferentes doses dessas vitaminas têm sido utilizadas em muitos estudos²⁴.

Na maioria dos pacientes, pequenas doses de folato (1 000µg a 5 000µg/dia) reduzem rapidamente os níveis de homocisteína plasmática¹¹. Existem dados que sugerem que doses menores do que 1 000µg/dia de folato sejam suficientes para a redução dos níveis de homocisteína plasmática²⁵. A administração de 200 a 15 000µg/dia de suplemento de folato pode reduzir os níveis de homocisteína plasmática sem causar toxicidade²⁶. Considera-se que a dose diária mínima de folato que apresenta eficácia máxima na redução da homocisteína plasmática seja de aproximadamente 400µg²⁷.

Em muitos casos, torna-se necessária a combinação de folato, piridoxina e cobalamina no tratamento da hiper-homocisteinemia²⁴. A

combinação de folato (650µg/dia), piridoxina (10mg/dia) e cobalamina (400µg/dia) demonstrou ser bastante eficiente nos casos de hiper-homocisteinemia moderada²⁶.

Schnyder et al.²⁸ avaliaram o efeito da combinação de folato (1 000µg), cobalamina (400µg) e piridoxina (10mg) na redução dos níveis de homocisteína plasmática em 205 pacientes submetidos à angioplastia coronariana. Verificou-se que a combinação dessas vitaminas promoveu uma redução significativa dos níveis de homocisteína plasmática, além de reduzir a ocorrência de novos eventos tromboembólicos, após a angioplastia. Embora existam outros métodos terapêuticos que possam ser utilizados para se alcançar os mesmos resultados, o baixo custo e o menor risco de complicações torna bastante freqüente a utilização dessas três vitaminas²⁸.

Ubbink et al.²⁹ avaliaram o efeito da suplementação de folato, piridoxina e cobalamina na redução dos níveis de homocisteína plasmática. Nesse estudo, cem indivíduos com hiper-homocisteinemia foram divididos em cinco grupos e tratados com dose diária de placebo, folato (650µg/dia), cobalamina (400µg/dia), piridoxina (10mg/dia) e a combinação dessas três vitaminas, durante seis semanas. Verificou-se que a suplementação de folato e de cobalamina promoveu uma redução de 41,7% e 14,8% nos níveis de homocisteína plasmática, respectivamente. Não houve redução nos níveis de homocisteína plasmática com o uso de piridoxina. Entretanto, o grupo que recebeu a combinação das três vitaminas apresentou uma redução de 49,8% nos níveis de homocisteína plasmática.

Brattstrom et al.²³ realizaram uma meta-análise de estudos que avaliaram os efeitos do folato, cobalamina e piridoxina na redução dos níveis de homocisteína. A suplementação de folato (500 a 5 000µg/dia) apresentou um maior efeito, reduzindo os níveis de homocisteína em 25%. A adição de cobalamina (20 a 1 000µg/dia) promoveu um adicional de 7% na redução dos níveis de homocisteína, enquanto que a piridoxina (dose média de 16,5mg/dia) não apresentou nenhum efeito significativo.

Nos casos em que a hiper-homocisteinemia é decorrente da deficiência de cobalamina, a mesma não responde com a terapia de folato. Desse modo, antes de iniciar o tratamento da hiper-homocisteinemia, a deficiência de cobalamina precisa ser descartada²⁵. Recomenda-se que a ingestão máxima de folato seja de 1 000µg/dia., uma vez que doses maiores poderiam mascarar os sinais de deficiência de cobalamina em alguns indivíduos²⁶.

Em 1996, a *Food and Drug Administration* (FDA) regulamentou a fortificação de cereais matinais com folato (140µg/100g de produto) com o objetivo de reduzir o risco de defeitos no tubo neural em recém-nascidos³⁰. Em seu estudo, Jacques et al.³⁰ verificaram que a fortificação de cereais com folato, proposta pela FDA, promoveu uma importante melhora do estado nutricional de folato. Segundo Krauss et al.³¹, estudos têm demonstrado que essa fortificação já tenha promovido uma redução dos níveis de homocisteína plasmática da população.

Em seu estudo, Malinow et al.²⁷ avaliaram os efeitos do consumo de cereais matinais, fortificados com três diferentes quantidades de folato (127µg/dia - quantidade que se aproxima daquela proposta pela FDA, 499µg/dia e 665µg/dia) sobre os níveis plasmáticos de folato e homocisteína. A fortificação de cereais com 127µg/dia de folato promoveu um aumento de 30,8% e redução de apenas 3,7% nos níveis plasmáticos de folato e homocisteína, respectivamente. Os cereais matinais fortificados com 499µg e 665µg de folato promoveram um aumento de 64,8% e 105,7% nos níveis plasmáticos de folato, respectivamente, e redução de 11,0% e 14,0% nos níveis de homocisteína plasmática, respectivamente. Segundo esses autores, os resultados do estudo sugerem que a fortificação de cereais matinais com uma quantidade de folato superior à recomendada pela FDA deve ser assegurada. Segundo Boushey et al.³², um aumento da ingestão de folato de 350µg/dia para homens e 280µg/dia para mulheres reduziria as mortes por doenças vasculares.

Riddell et al.³³ verificaram que o consumo diário de cereais matinais enriquecidos com folato e o uso de suplementos dessa vitamina parecem ser os métodos mais eficientes para o aumento dos níveis de folato plasmático e a redução dos níveis de homocisteína plasmática, quando comparados com o consumo de alimentos ricos em folato. O aumento da ingestão de folato (1 000µg/dia), piridoxina (12,2mg/dia) e cobalamina (50µg/dia), por meio da ingestão de alimentos fonte, não foi eficiente para a manutenção dos níveis normais de homocisteína, manutenção alcançada pelo uso de suplementos²⁶. É improvável que a dieta isoladamente seja suficiente para aumentar os níveis circulantes de folato e reduzir os níveis de homocisteína³⁴. A biodisponibilidade do folato dietético para a absorção intestinal é de 60% e do folato medicamentoso, 98%³⁵.

Os diferentes tipos de frutas e hortaliças apresentam variações no que diz respeito à biodisponibilidade do folato³³. A realização de pesquisas a respeito da biodisponibilidade do folato a partir do consumo de alimentos fonte resultará em subsídios para elaboração de estratégias governamentais para a melhora do estado nutricional de folato e redução dos níveis de homocisteína plasmática. Entretanto, é claro que recomendar o aumento do consumo de alimentos ricos em folato não é, propriamente, um meio eficiente para a redução dos níveis de homocisteína plasmática³³.

Existem outros fatores que podem comprometer a biodisponibilidade do folato dietético, tais como: a estabilidade dessa vitamina nos alimentos estocados e processados industrialmente e a ação de agentes físicos, como oxidação, calor, cozimento e luz ultravioleta³⁶.

Apesar da existência de estudos que demonstram que a ingestão de alimentos ricos em folato não seja suficiente para aumentar e diminuir os níveis de folato e homocisteína plasmáticos, respectivamente, Venn et al.³⁷ observaram que com o aumento da ingestão de folato dietético, há uma melhora do estado nutricional

Tabela 1. Folato, piridoxina e cobalamina em alguns alimentos.

Folato (µg/100g)	Piridoxina (mg/100g)	Cobalamina (µg/100g)
Fígado de galinha cru = 590	Banana = 0,51	Fígado de boi cru = 110,0
Farelo de trigo = 260	Abacate = 0,42	Fígado de galinha cru = 56,0
Espinafre cozido = 140	Fígado de galinha cru = 0,40	Salmão cru = 5,0
Brócolis cozido = 110	Batata cozida = 0,18	Ostra cozida = 2,0
Farinha de aveia = 60	Noz = 0,17	Lombo de porco cru = 2,0
Laranja = 37	Brócolis cozido = 0,13	Ovo cozido = 1,7
Aspargo cozido = 30	Farinha de aveia = 0,12	Queijo parmesão = 1,5
Pão branco = 27	Lentilha cozida = 0,11	Lombo de vaca cru = 1,0
Banana = 22	Cenoura cozida = 0,09	Camarão cozido = 1,0
Arroz cozido = 6	Alface = 0,07	Leite de vaca = 0,3

Fonte: Adaptado de *The Composition of Foods*³⁸.

de folato e dos níveis de homocisteína plasmática a uma extensão que torna possível uma significativa redução dos riscos de doenças vasculares oclusivas.

Na Europa, a ocorrência de mortalidade por doenças vasculares oclusivas é menor nos países da região Sul, quando comparada com os países da região Norte. Segundo Ward²², o alto consumo de frutas e hortaliças pelos países da região Sul parece ser o fator que contribui para a baixa incidência de doenças vasculares oclusivas. O efeito protetor das frutas e hortaliças era atribuído à presença de antioxidantes nesses alimentos. Uma vez que as frutas e hortaliças são uma das principais fontes de folato dietético, o efeito protetor do consumo desses alimentos, na ocorrência de doenças vasculares oclusivas, poderia se dar através da redução dos níveis de homocisteína plasmática, via ingestão de folato dietético.

Segundo Malinow et al.²⁶, a dieta da maioria da população não atinge as recomendações nutricionais de folato. Desse modo, é importante o aumento da ingestão de alimentos fontes de folato bem como de piridoxina e cobalamina. A Tabela 1 expõe o conteúdo de folato, piridoxina e cobalamina em alguns alimentos e a Tabela 2 expõe a quota diária recomendada para o folato, piridoxina e cobalamina para os indivíduos do sexo masculino e feminino.

Tabela 2. Valores de ingestão dietética de referência (IDR) para folato, piridoxina e cobalamina.

Sexo/Faixa etária (anos)	Folato (µg/dia)		Piridoxina (mg/dia)		Cobalamina (µg/dia)	
	RDA	EAR	RDA	EAR	RDA	EAR
Homens						
19-30	400	320	1,3	1,1	2,4	2,0
31-50	400	320	1,3	1,1	2,4	2,0
51-70	400	320	1,7	1,4	2,4	2,0
71 e mais	400	320	1,7	1,4	2,4	2,0
Mulheres						
19-30	400	320	1,3	1,1	2,4	2,0
31-50	400	320	1,3	1,1	2,4	2,0
51-70	400	320	1,5	1,3	2,4	2,0
71 e mais	400	320	1,5	1,3	2,4	2,0

RDA= quota diária recomendada; EAR= necessidade média estimada.
Fonte: Adaptado de *Institute of Medicine - Dietary Reference Intakes*³⁹.

CONCLUSÃO

Os estudos relatam que níveis elevados de homocisteína inibem os mecanismos anticoagulantes do endotélio vascular, favorecendo a gênese de eventos tromboembólicos. É importante salientar que os estudos que investigaram essa relação foram realizados *in vitro*, empregando doses de homocisteína maiores daquelas observadas nos casos de hiper-homocisteinemia, o que resulta em críticas aos mesmos. Desse modo, os efeitos *in vivo* da hiper-homocisteinemia nos mecanismos anticoagulantes ainda não foram esclarecidos.

Em geral, a suplementação combinada de folato, piridoxina e cobalamina promove a redução dos níveis de homocisteína plasmática. Entretanto, isoladamente, a suplementação com folato é a mais eficiente.

O estado nutricional deficiente em folato, piridoxina e cobalamina é a causa mais comum da hiper-homocisteinemia moderada. Desse modo, estimular o consumo de alimentos fontes dessas vitaminas do complexo B constitui um método simples, eficaz e econômico na prevenção da hiper-homocisteinemia e, conseqüentemente, na redução dos riscos de doenças vasculares oclusivas.

Estudos que investiguem a hiper-homocisteinemia na população brasileira, objetivando detectar sua prevalência e seus possíveis fatores determinantes, são de grande importância, permitindo ao profissional nutricionista atuar na prevenção da hiper-homocisteinemia e intervir no tratamento a fim de minimizar a ocorrência das doenças vasculares oclusivas na população brasileira.

REFERÊNCIAS

- Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWF, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(3):613-21.
- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol.* 1969; 56(1):111-28.
- Oron-Herman M, Rosenthal T, Sela B. Hyperhomocysteinemia as a component of Syndrome X. *Metabolism.* 2003; 52(11):1491-5.
- Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Ann Rev Nutr.* 1992; 12:279-98.
- Okumura K, Aso Y. High plasma homocysteine concentrations are associated with plasma concentrations of thrombomodulin in patients with type 2 diabetes and link diabetic nephropathy to macroangiopathy. *Metabolism.* 2003; 52(11):1517-22.
- Saw SM, Yuan JM, Ong CN, Arakawa K, Lee HP, Coetzee GA, et al. Genetic, dietary, and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and older Chinese men and women in Singapore. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(2):232-9.
- Lentz SR. Minireview: Homocysteine and vascular dysfunction. *Life Sci.* 1997; 61(13):1205.
- Domagala TB, Undas A, Libura M, Szczeklik A. Pathogenesis of vascular disease in hyperhomocysteinemia. *J Cardiovasc Risk.* 1998; 5(4):239-47.
- Sydow K, Boger RH. Homocysteine, endothelial dysfunction and cardiovascular risk: pathomechanisms and therapeutic options. *Z Kardiol.* 2001; 90(1):1-11.
- Weiss N, Keller C, Hoffmann U, Loscalzo J. Endothelial dysfunction and atherothrombosis in mild hyperhomocysteinemia. *Vasc Med.* 2000; 7(3):227-39.
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med.* 1998; 338(15):1042-50.
- Welch GN, Upchurch JR, Loscalzo J. Hyperhomocyst(e)inemia and atherothrombosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1997; 811:48-58.
- Upchurch GR Jr, Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF Jr, et al. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem.* 1997; 272(27):17012-7.
- Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest.* 2001; 81(5):645-72.
- Harpel PC, Zhang X, Borth W. Homocysteine and hemostasis: pathogenetic mechanisms predisposing to thrombosis. *J Nutr.* 1996; 126(4):1285S-9S.
- Lauricella AM, Quintana IL, Kordich LC. Effects of homocysteine thiol group on fibrin networks: another possible mechanism of harm. *Thromb Res.* 2002; 107(1-2):75-9.
- Leoncini G, Pascale R, Signorello MG. Effects of homocysteine on L-arginine transport and nitric oxide formation in human platelets. *Eur J Clin Invest.* 2003; 33(8):713-9.
- Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest.* 1993; 91(1):308-18.
- Coppola A, Davi G, De Stefano V, Mancini FP, Cerbone AM, Di Minno G. Homocysteine,

- coagulation, platelet function, and thrombosis. *Semin Thromb Hemost.* 2000; 26(3):243-54.
20. Kang SS. Treatment of hyperhomocyst(e)inemia: physiological basis. *J Nutr.* 1996; 126(4): 1273S-5S.
 21. Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattstrom L, Boers G, Ueland P, et al. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations – risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European Comac Group. *Circulation.* 1998; 97(5):437-43.
 22. Ward M. Homocysteine, folate, and cardiovascular disease. *Int J Vitam Nutr Res.* 2001; 71(3):173-8.
 23. Brattstrom L, Landgren F, Israelsson B, Lindgren A, Hultberg B, Andersson A, et al. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. *BMJ.* 1998; 316(7135):894-8.
 24. Guba SC, Fink LM, Fonseca V. Hyperhomocysteinemia. An emerging and important risk factor for thromboembolic and cardiovascular disease. *Am J Clin Pathol.* 1996; 106(6):709-22.
 25. Brattström L. Vitamins as homocysteine-lowering agents. *J Nutr.* 1996; 126:1276S-80.
 26. Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation.* 1999; 99(1):178-82.
 27. Malinow MR, Duell PB, Hess DL, Anderson PH, Kruger WD, Phillipson BE, et al. Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *N Engl J Med.* 1998; 338(15): 1009-15.
 28. Schnyder G, Roffi M, Pin R, Flammer Y, Lange H, Eberli FR, et al. Decreased rate of coronary restenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *N Engl J Med.* 2001; 345(22):1593-600.
 29. Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ, Delpont R, Potgieter HC. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *J Nutr.* 1994; 124(10):1927-33.
 30. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med.* 1999; 340(19): 1449-54.
 31. Krauss RM, Eckel RH, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, et al. AHA Dietary Guidelines. Revision 2000: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation.* 2000; 102(18):2284-99.
 32. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA.* 1995; 274(13):1049-57.
 33. Riddell LJ, Chisholm A, Williams S, Mann JJ. Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(6): 1448-54.
 34. Omenn GS, Beresford SA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease: B vitamins and homocysteine. *Circulation.* 1998; 97(5):421-4.
 35. Baluz K, Carmo MGT, Rosa G. O papel do ácido fólico na prevenção e na terapêutica oncológica: revisão. *Rev Bras Cancerol.* 2002; 48(4):597-607.
 36. Thurmon TF. Folic acid: miscarriages, anomalies, thromboses, cancers. *J La State Med Soc.* 2001; 153(2):98-103.
 37. Ven BJ, Williams SM, Riddell LJ, Chisholm A, Harper MJ, Aitken W. Dietary counseling to increase natural folate intake: a randomized, placebo-controlled trial in free-living subjects to assess effects on serum folate and plasma total homocysteine. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76(4):758-65
 38. Paul AA, Southgate DAT. *The Composition of foods.* 4th ed. London; 1978.
 39. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. *Dietary Reference Intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and coline.* Washington (DC): National Academy Press; 2000.

Recebido para publicação em 5 de janeiro e aceito em agosto de 2004.

Regulação da expressão gênica das UCP2 e UCP3 pela restrição energética, jejum e exercício físico

UCP2 and UCP3 genic expression: regulation by food restriction, fasting and physical exercise

Renata Polessi BOSCHINI¹
Jair Rodrigues GARCIA JÚNIOR¹

RESUMO

O tecido adiposo marrom, onde se localiza a proteína desacopladora 1 (UCP1 - *uncoupling protein 1*), é um tecido termogênico presente somente nos pequenos mamíferos e neonatos, com função de manter temperatura e peso corporal estáveis quando da exposição ao frio ou consumo de dietas hipercalóricas. Como a UCP1 está localizada exclusivamente no tecido adiposo marrom, tecido pouco expressado em adultos, os estudos dão ênfase às proteínas desacopladoras 2 e 3 (UCP2 e UCP3), proteínas homólogas à UCP1, expressas em múltiplos tecidos e nos músculos esqueléticos, respectivamente. A atividade física provoca aumento do RNAm da UCP2 e UCP3, questiona-se, porém, se este aumento é devido a mudanças no metabolismo de gordura ou a mudanças no metabolismo energético. Durante a restrição energética ou jejum, há depleção de gordura corporal e aumento da concentração plasmática de ácidos graxos livres, com regulação positiva da UCP2 e da UCP3 no músculo e aumento da oxidação lipídica. A concentração elevada de ácidos graxos representa sinal intracelular importante na indução da expressão das UCP no músculo, o que pode estar ligado à sua utilização como combustível até que ocorra aumento da demanda do organismo para dissipação da energia. No entanto, discute-se se a UCP2 e a UCP3 no músculo esquelético têm como função mediar a termogênese ou regular a oxidação de lipídios.

Termos de indexação: dieta com restrição de proteínas, expressão gênica, exercício, gordura marrom, jejum, UCP2, UCP3.

ABSTRACT

The brown adipose tissue, where the uncoupling protein 1 (UCP1) is located, is a thermogenetic tissue only present in small mammals and neonates, with the function of keeping the temperature and body weight

¹ Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Rod. Raposo Tavares, km 572, Limoeiro, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: J.R GARCIA JÚNIOR. E-mail: <igjunior@unoeste.br>.

stable when exposed to either cold or a hypercaloric diet. Since the UCP1 is located exclusively in brown adipose tissue, and this tissue has little expression in human adults, the studies have emphasized the UCP2 and UCP3, homologous proteins to the UCP1, expressed in multiple tissues and skeletal muscle, respectively. Physical activity increases UCP2 and UCP3 mRNA but it is now being questioned if this is due to changes in lipid metabolism or energy metabolism. During food restriction and fasting, there is a decrease in the amount of body adipose tissue and increase in the plasmatic free fatty acid concentration, with up-regulation of the UCP2 and UCP3 in the muscle, and an increase in lipid oxidation. The increase in free fatty acids represents an important intracellular indication of the induction of the UCP expression in the muscle, which can be connected to its use as fuel until there is an increased demand by the organism to dissipate energy. However the discussion continues about whether the UCP2 and UCP3 in the skeletal muscle function to mediate thermogenesis or in the regulation of lipid oxidation.

Indexing terms: diet, protein-restricted, gene expression, exercise, brown fat, fasting, UCP2, UCP3.

INTRODUÇÃO

As proteínas desacopladoras (UCP) localizam-se na membrana interna da mitocôndria e têm função de translocação dos prótons e elétrons do espaço intermembranas para a matriz mitocondrial, dissipando o gradiente de prótons através da membrana interna da mitocôndria¹.

No processo de síntese de trifosfato de adenosina (ATP), a cadeia respiratória transporta prótons e elétrons através da membrana interna da mitocôndria para o espaço intermembranas, criando um gradiente de prótons. No retorno dos prótons para a matriz mitocondrial, as proteínas ATP-sintases, numa reação acoplada, utilizam a energia para fosforilar o ADP (+ Pi) e sintetizar o ATP. Assim como a ATP-sintase, a UCP também está localizada na membrana interna e serve como um canal alternativo para que os prótons atravessem de volta para a matriz. Quando a UCP é estimulada, a energia não é aproveitada para a fosforilação do ADP, gerando apenas calor. A ativação desse caminho de translocação de prótons para a matriz mitocondrial resulta, indiretamente, em maior oxidação de substratos energéticos, diminuindo a eficiência da síntese de ATP e produzindo mais calor, com implicações na regulação da temperatura, do gasto energético e do peso corporal^{2,3}. Portanto, o mecanismo de ação da UCP é desacoplar a fosforilação oxidativa da molécula de ADP⁴.

O tecido adiposo marrom (TAM) tem papel importante na regulação do balanço energético por ser o principal sítio de termogênese induzida

pela dieta e de termogênese sem calafrios (termogênese adaptativa). Essa última tem, recentemente, despertado interesse devido ao fato de seu mecanismo ser dependente da ação das proteínas desacopladoras⁵.

A termogênese adaptativa promove dissipação de energia na forma de calor por estímulos externos, estando implicada no balanço energético e na regulação da temperatura corporal. Pode ser induzida pela estimulação do sistema nervoso simpático, administração de hormônios da tireóide, exposição ao frio e ingestão alimentar⁶⁻⁸. Num interessante estudo de Levine et al.⁶ com dieta hipercalórica (excesso de 1 000kcal/dia) consumida durante oito semanas por sujeitos com peso normal, foi observada grande variação na termogênese adaptativa, que foi responsável pela dissipação de cerca de um terço do excesso de energia consumida.

O músculo esquelético é outro tecido de intensa atividade metabólica e elevado gasto energético, porém a termogênese no músculo parece não ser modulada pelo sistema nervoso simpático em resposta à dieta ou ao frio, como ocorre no TAM. Por sua vez, o tecido adiposo branco (TAB) possui baixa atividade metabólica, mas também dispõe de mecanismos moleculares relacionados à termogênese, como a atividade das UCP, principalmente quando estimulada pelo hormônio leptina^{9,10}. Tais proteínas, seus mecanismos de funcionamento e regulação podem explicar a função de ambos os tecidos na homeostase energética⁷.

Em 1997, duas novas isoformas da UCP (UCP2 e UCP3) foram identificadas por Fleury et al.¹¹ e Boss et al.¹², respectivamente. A UCP2 é ubiquamente expressa nos tecidos corporais e, de acordo com Ricquier & Bouillaud⁴, sua função fisiológica tem relação com a regulação do metabolismo, da termogênese induzida pela dieta e controle do peso corporal.

A UCP3, expressa especificamente no tecido muscular e no TAM, está relacionada com o consumo de substratos energéticos e também com o controle do peso corporal, sendo regulada pela disponibilidade e metabolismo de substratos energéticos como lipídios e glicose¹³. A entrada desses substratos no músculo resulta no aumento da expressão da UCP3, levando ao aumento do gasto energético. Desde que o músculo esquelético e o TAM são considerados como importantes locais para o gasto de energia em humanos e roedores, a UCP3 pode ser um importante mediador da termogênese adaptativa¹⁴.

O processo de termogênese não é induzido somente por exposição ao frio e hibernação em algumas espécies, mas também por uma variedade de situações fisiológicas e fisiopatológicas como jejum, consumo alimentar, exercício físico, hipo e hipertireoidismo⁴.

Em estados de jejum, infecção e câncer, por exemplo, quando a concentração de ácidos graxos circulantes está elevada, a expressão gênica da UCP3 também aumenta comparativamente ao estado de homeostase. Essa observação encontrada num estudo de Argilés et al.¹⁵ indica que a UCP3 e, possivelmente, a UCP2, podem fazer parte de um mecanismo de proteção celular contra as conseqüências do metabolismo aumentado de substratos lipídicos e da estocagem excessiva de gordura, ou seja, a obesidade.

Estudos de Samec et al.¹⁶ e de Schrauwen et al.¹⁷ com animais em jejum prolongado demonstraram aumento da expressão da UCP2 e da UCP3 em músculo esquelético. Weigle et al.¹⁸ acreditam que tal efeito esteja relacionado à maior concentração plasmática de ácidos graxos e sua utilização no metabolismo energético, já que

numa situação como o jejum, o aumento da dissipação de energia pelo organismo seria um efeito paradoxal. Nosso objetivo nesta revisão é descrever e discutir as informações acerca da regulação da expressão gênica da UCP2 e UCP3 em condições de restrição energética crônica associada ao exercício físico.

Localização das UCPs 2 e UCP3

O TAM está presente em proporção significativa somente nos pequenos mamíferos e neonatos, com a função de manter a temperatura e o peso corporal estáveis quando da exposição ao frio ou consumo de dietas hipercalóricas¹⁹.

Morfologicamente e funcionalmente o TAM é distinto do tecido adiposo branco (TAB). É altamente vascularizado, contém gotículas de triacilglicerol, numerosas mitocôndrias com elevado grau de desenvolvimento da membrana interna e alta capacidade de oxidar ácidos graxos. Ao contrário, o TAB está capacitado para estocar grandes quantidades de ácidos graxos na forma de triacilglicerol. Em humanos, devido à pequena quantidade de TAM, a ativação dessa via termogênica é considerada insignificante em termos de gasto de energia^{4,20}.

No final da década de 90 duas novas proteínas desacopladoras, UCP2 e UCP3, foram identificadas. A UCP2 apresenta 59% de homologia dos aminoácidos com a UCP1 e é expressa em vários tecidos e órgãos, como músculo esquelético, coração, placenta, linfócitos, intestino, pulmão, fígado, rins, pâncreas e TAB⁴.

A UCP2 é regulada positivamente no TAB no período pós-prandial, estando envolvida com a termogênese característica desse período. Relaciona-se também com a função imune, sendo ativada durante a resposta termogênica de infecções, e é responsável pela prevenção da formação de espécies reativas de oxigênio (ERO)²⁰.

A UCP3 apresenta 57% de homologia com a UCP1 e 73% com a UCP2. É sintetizada de duas formas: longa (UCP3L) com 312 aminoácidos

e curta (UCP3S) com 275 aminoácidos²¹. É expressa seletivamente no TAM e músculo esquelético, tendo nesse último a função metabólica alterada sob condições de depleção de combustível durante o jejum e o exercício²².

Enquanto a UCP1 é conhecida pela sua função de produzir calor durante exposição ao frio, as funções da UCP2 e UCP3 não estão bem esclarecidas. Suas possíveis funções incluem: 1) controle da termogênese adaptativa em resposta à exposição ao frio e à dieta; 2) controle da produção de espécies reativas de oxigênio na mitocôndria; 3) regulação da síntese de ATP; 4) regulação da oxidação de ácidos graxos^{4,13,20,23,24}.

Os mecanismos de regulação da oxidação de ácidos graxos, o controle da produção de espécies reativas de oxigênio na mitocôndria e a taxa de peroxidação lipídica estão diretamente relacionados entre si e com as UCP, que atuam em grau de ativação dependente da disponibilidade e fluxo de ácidos graxos no interior das células. Ricquier & Bouillaud²¹ demonstraram as possibilidades de transporte de prótons para a matriz mitocondrial envolvendo a UCP e ácidos graxos. Uma delas é o transporte dos prótons apenas pela UCP, enquanto a outra é o transporte dos prótons em conjunto com ácidos graxos (na forma protonada R-COOH) também através da UCP, porém em maior taxa, mesmo quando da existência de baixas concentrações de ácidos graxos. Numa outra situação de elevada concentração de ácidos graxos, esses também transportariam os prótons para a matriz mitocondrial, porém nesse mecanismo o papel da UCP seria de transporte reverso da forma aniônica dos ácidos graxos (R-COO⁻) para fora da mitocôndria (Figura 1).

Nesse sentido, os músculos esqueléticos, com sua intensa taxa metabólica e elevada capacidade de oxidação de ácidos graxos, podem depender do papel da UCP3 no transporte dos ânions de ácidos graxos para minimizar a produção de espécies reativas de oxigênio e a peroxidação lipídica. A regulação da atividade da UCP3, portanto, se daria por meio da concentração

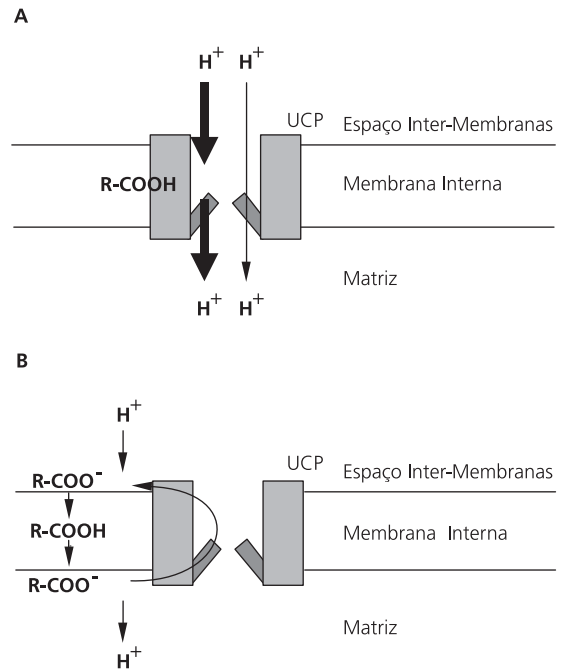


Figura 1. Representação esquemática do transporte de prótons (H^+) através da proteína desacopladora (UCP) na membrana interna da mitocôndria. Devido à concentração maior de H^+ no espaço intermembranas há um gradiente que os move em direção à matriz. **A)** Os H^+ podem ser transportados de forma independente como observado na seta mais fina à direita ou ligados ao grupo carboxila (COOH) de um ácido graxo em maior taxa como mostra a seta mais espessa da esquerda. **B)** Em concentrações mais elevadas de ácidos graxos, a forma protonada (R-COOH) pode atravessar livremente a membrana em direção à matriz, transportando os H^+ independentemente da UCP. O ácido graxo na forma aniônica (R-COO⁻) retorna ao espaço intermembranas, com ajuda da UCP, completando um ciclo.

Nota: Modificado de Ricquier & Bouillaud²¹.

intracelular de ácidos graxos e sua entrada nas mitocôndrias, tendo conseqüências não apenas na eficiência da ressíntese do ATP (e geração de calor) mas também na eficiência de parte dos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo, ao qual as células musculares estão especialmente susceptíveis durante exercícios físicos prolongados e exaustivos.

No estudo de Abu-Elheiga et al.²⁵ foram criados animais que não expressavam a enzima acetil-CoA carboxilase, responsável pela produção

do malonil-CoA, um substrato que controla o armazenamento e a oxidação dos ácidos graxos. Entre os resultados, destacaram-se o menor acúmulo de gordura, maior oxidação de ácidos graxos e aumento da expressão da UCP2 no tecido adiposo e da UCP3 no tecido muscular esquelético. Os próprios autores sugeriram que tal aumento das proteínas desacopladoras se caracterizou como um mecanismo para minimizar a produção de espécies reativas de oxigênio nas células que continuamente estavam oxidando ácidos graxos.

Os ácidos graxos são substratos energéticos importantes durante o jejum e o exercício físico. Um dos passos para sua utilização é a entrada na mitocôndria, num processo que depende da ligação com a carnitina, catalizado pela enzima carnitina aciltransferase I (CAT I). A administração de etomoxir, um bloqueador da CAT I, inibe a entrada e a oxidação dos ácidos graxos na mitocôndria, o que provoca a diminuição da expressão gênica do RNAm da UCP3, mesmo havendo concentrações elevadas de AGL no plasma e no meio intracelular²⁶. Isso leva a sugerir que a expressão da UCP3 esteja relacionada com a oxidação de ácidos graxos e não apenas sua disponibilidade no citossol.

Tecidos que expressam a UCP2 e UCP3 podem atuar na regulação da oxidação lipídica, concomitantemente com a prevenção de danos oxidativos induzidos pelos lipídios²⁷. A oxidação lipídica está diretamente relacionada à concentração de AGL no plasma, à disponibilidade de ácidos graxos no citossol e à demanda de energia principalmente pelos músculos esqueléticos. Situações como o jejum, estresse e algumas patologias provocam aumento da concentração plasmática de AGL, porém sem aumento significativo da demanda, como ocorre na contração muscular intensa durante o exercício físico. Nas situações de elevada concentração de ácidos graxo e baixa demanda de ATP, a ativação das UCP seria uma forma de aumentar a oxidação dos ácidos graxos disponíveis, gerando principalmente

calor²³ (Figura 2). Tal mecanismo apresenta-se também vantajoso no sentido de diminuir a redução do oxigênio, processo que normalmente gera de 2 a 5% de espécies reativas de oxigênio²⁸, os quais podem causar danos irreversíveis ao DNA da mitocôndria, membranas e proteínas intracelulares, provocando disfunção mitocondrial e posteriormente morte celular²⁴.

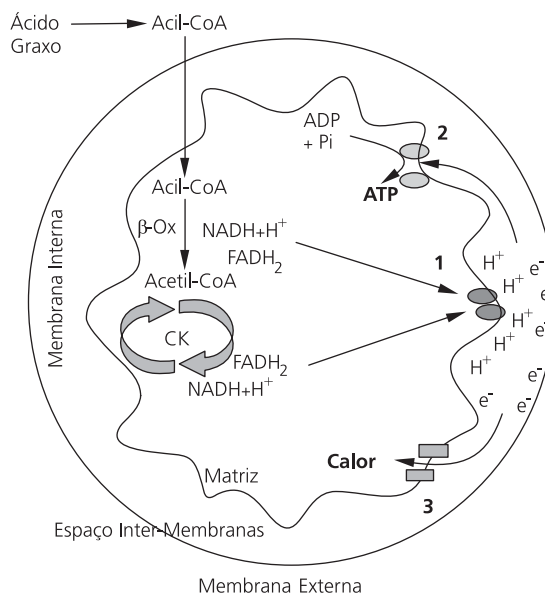


Figura 2. Representação esquemática da oxidação dos ácidos graxos e retorno dos prótons (H^+) e elétrons (e^-) para a matriz mitocondrial. Dentro da mitocôndria os ácidos graxos são oxidados nas reações de β -oxidação (β -Ox) e ciclo de Krebs (CK), liberando os H^+ e e^- que são carreados ($NADH+H^+$ e $FADH_2$) até a cadeia respiratória (1). O gradiente de H^+ e e^- entre o espaço intermembranar e a matriz determina seu retorno, passando pela proteína ATP sintase (2) com síntese de ATP (reação acoplada) ou pela proteína desacopladora (3) com produção de calor.

Restrição energética

Alguns estudos têm relacionado a restrição energética com a regulação das UCP2 e UCP3. O jejum prolongado e o consumo de dietas com severa restrição de energia afetam de forma diferente a expressão gênica das UCP, como demonstrado em estudos de Weigle et al.¹⁸,

Samec et al.²⁹ e Pedersen et al.³⁰. Os primeiros mantiveram ratos em jejum durante 72 horas e observaram aumento da expressão gênica da UCP3 em músculos, sugerindo como causa o aumento da concentração intracelular de ácidos graxos. Situações de jejum prolongado impõem o aumento da lipólise e da concentração plasmática de AGL. Tal aumento provoca elevação da captação dos ácidos graxos e, juntamente com a disponibilidade relativamente baixa de glicose, determina a maior oxidação dos ácidos graxos, principalmente nos músculos esqueléticos e coração.

No estudo de Samec et al.²⁹ o tempo de jejum foi de 46 horas e, observou-se aumento de três a sete vezes na expressão do RNAm da UCP2, UCP3 e das enzimas relacionadas à oxidação dos ácidos graxos carnitina palmitoiltransferase 1 e acil-CoA desidrogenase. O dado mais interessante desse estudo é que a expressão continuou aumentada mesmo com a administração do ácido nicotínico (agente antilipolítico) e a diminuição da concentração de ácidos graxos para valores compatíveis ao estado alimentado.

Pedersen et al.³⁰ ofereceram dieta hipocalórica restrita durante quatro semanas para mulheres obesas e, além da diminuição do peso corporal (média de 5,2kg), observaram também diminuição do gasto energético de repouso (4,1%) e do RNAm da UCP3 (24,0%), estabelecendo uma relação direta entre essas duas últimas variáveis. A diminuição do gasto energético de repouso é uma adaptação fisiológica comum em condições de jejum e restrição energética. A diminuição da taxa metabólica permite menor mobilização de substratos, tais como ácidos graxos dos triacilgliceróis, porque a demanda de energia é menor. De forma diferente do jejum, numa dieta hipocalórica há fornecimento de substratos exógenos, inclusive glicose, que estimulam a secreção da insulina e não permitem taxas de lipólise e oxidação dos ácidos muito intensas. A UCP3, vista sob a função de dissipação de energia e como componente ativo da termogênese adaptativa, pode também estar envolvida nas

alterações para diminuição do gasto energético conseqüente da deficiência de energia na dieta^{4,22}.

Em se confirmando a função de dissipação de energia da UCP3 de forma semelhante à UCP1 do TAM de roedores, uma informação a ser buscada será quanto a sua relevância na diminuição da taxa metabólica.

A inibição da UCP3 em condição de restrição energética, apesar de parecer lógica, não é sempre presente. Millet et al.³ estudaram indivíduos magros e obesos e mostraram correlação direta entre o índice de massa corporal (IMC) e a expressão do RNAm da UCP2. Enquanto a dieta era proporcional ou excessiva à necessidade de energia, a UCP2 permanecia aumentada, provavelmente como um mecanismo para evitar o acúmulo de gordura. Quando os indivíduos magros e obesos foram submetidos a uma restrição energética de aproximadamente 250 calorias em relação a uma dieta normocalórica, ocorreu aumento de 2 a 2,5 vezes na expressão do RNAm da UCP2 e da UCP3.

Num estudo de Simoneau et al.³¹ com humanos, também foi observado que a expressão gênica da UCP2 no músculo esquelético é maior (1,5 vez) nos indivíduos obesos em comparação aos indivíduos magros. Por outro lado, num estudo de Oberkofler et al.³² foi observada expressão gênica do RNAm da UCP2 significativamente menor no tecido adiposo de obesos em comparação aos indivíduos magros. Nos indivíduos obesos, mesmo após a redução do peso corporal (23±12kg em um ano), a expressão gênica do RNAm da UCP2 continuou menor. Nesse grupo de indivíduos a correlação positiva entre massa de gordura e expressão da UCP2 observada no estudo de Millet et al.³ não foi confirmada, assim como parece não ter havido influência significativa da dieta sobre a expressão da proteína desacopladora.

No TAM de ratos, a expressão do RNAm da UCP2 aumenta por exposição ao frio, enquanto no músculo esquelético sua expressão é significativamente elevada com o jejum³³. Lentes et al.³⁴ acreditam que a UCP2, devido a sua ampla

distribuição em vários tecidos, pode ter um papel muito importante na determinação da taxa de metabolismo basal (TMB). A própria leptina, que é secretada pelos adipócitos proporcionalmente ao seu volume, exerce seu papel no controle do peso corporal por ação autócrina, regulando a expressão e atividade da UCP2 presente nos adipócitos. Orci et al.¹⁰ demonstraram de forma inequívoca a ação autócrina da leptina nos adipócitos e seu efeito no metabolismo lipídico, inibindo enzimas lipogênicas e estimulando a oxidação intracelular dos ácidos graxos. Em seus experimentos, a indução da hiperlipidemia em ratos transformou os adipócitos em células especialmente aptas à oxidação de gordura, apresentando maior expressão gênica e atividade das UCP1 e UCP2.

Uma situação paradoxal tem sido observada repetidamente durante o jejum, quando há depleção de gordura corporal, aumento da concentração plasmática de AGL, aumento da oxidação lipídica e regulação positiva da UCP2 e da UCP3 nos músculos esqueléticos²⁷. Em tal situação a lógica seria a diminuição da expressão de tais proteínas para permitir a diminuição da taxa metabólica basal; no entanto há aumento, que ocorre, provavelmente, para que o tecido muscular possa oxidar todo o ácido graxo à disposição.

Também uma dieta rica em gordura consumida durante quatro semanas resulta em elevada concentração plasmática de ácidos graxos, levando a mudanças no metabolismo lipídico e estimulando o aumento na expressão gênica da UCP3. Outro resultado interessante é que, em períodos mais prolongados com tal dieta, a concentração plasmática de ácidos graxos não mais se altera e a expressão gênica da UCP3 permanece estabilizada²⁶.

Durante o jejum, a oxidação lipídica e a regulação positiva da UCP3 no músculo esquelético são aumentadas de forma mais significativa em fibras de contração rápida do que em fibras de contração lenta. É bem estabelecido que essas últimas têm predominância do metabolismo

oxidativo e, portanto, são mais aptas à utilização dos ácidos graxos como combustível. Na condição de jejum, as fibras rápidas são forçadas a se adaptarem para utilizar os ácidos graxos como combustível. Tais resultados levam a sugerir que os músculos que dependem mais de glicose do que da oxidação de ácidos graxos para ressíntese de ATP, ao expressarem mais intensamente a UCP3, perdem eficiência com o treinamento físico^{16,27}.

O papel das UCP2 e UCP3 no músculo esquelético ainda não está completamente entendido e discutem-se as possibilidades de mediar a termogênese ou regular a oxidação de lipídios, principalmente quando da elevada disponibilidade e baixa demanda desse combustível^{35,36}. De acordo com Gong et al.³⁷, a expressão gênica das UCP2 e UCP3 no músculo esquelético é elevada durante o jejum para manter a temperatura, pois o músculo assume a função de termorregulação do corpo.

A transição do estado alimentado para o jejum é marcada por mudanças na concentração de hormônios e de substratos energéticos. Gong et al.³⁷, demonstraram que a regulação da expressão do RNAm da UCP3 por hormônios em dietas foi mais significativa em comparação à regulação da expressão do RNAm da UCP2, e que a concentração de UCP3 nos músculos diminuiu três vezes no hipotireoidismo e aumentou seis vezes no hipertireoidismo. Tais resultados da regulação da expressão gênica das UCP foram também confirmados por de Lange et al.³⁸ que demonstraram correlação positiva entre concentração da triiodotironina (T3), expressão gênica da UCP3 e taxa metabólica de repouso. Numa revisão recente de Lanni et al.³⁹ são mostrados resultados sobre a interação do hormônio T3 com as UCP e a taxa metabólica, sendo sugerido que a estimulação da UCP pode se dar por via direta (via clássica de ativação da expressão gênica por hormônios) ou por meio de um processo metabólico integrado envolvendo principalmente a concentração de ácidos graxos, atividade da coenzima Q e produção de espécies reativas de oxigênio.

Weigle et al.¹⁸ buscaram explicações para o paradoxo de que no jejum, condição na qual há redução do gasto energético basal, há aumento da expressão das UCP2 e UCP3 nos músculos. Eles estudaram a relação desse mecanismo com os hormônios e AGL. Os resultados confirmaram que o hipotireoidismo e o hipertireoidismo causam redução e aumento da expressão gênica da UCP3, respectivamente. Observaram também que a concentração de AGL elevava-se significativamente dentro de 24 horas de jejum, período no qual ocorre indução das UCP. Os hormônios da tireóide são reguladores do gasto energético basal e o jejum condiz com uma situação de hipotireoidismo, no entanto, a expressão da UCP3 é aumentada, levando a crer que os ácidos graxos são estimuladores tão eficientes quanto a triiodotironina.

UCP2 e UCP3 e atividade física

Em termos de homeostase energética, alguns tecidos e órgãos são particularmente importantes. O fígado e o TAB são os principais responsáveis pela conversão, armazenamento e liberação dos substratos energéticos. O músculo esquelético, por sua vez, armazena glicogênio, mas principalmente utiliza os substratos em diferentes taxas e atua como termogênico, de acordo com seu grau de atividade e de dissipação do gradiente mitocondrial de prótons, podendo elevar a taxa metabólica de repouso em 50%^{13,23}.

A proteína mitocondrial translocadora essencialmente termogênica, a UCP1, está localizada exclusivamente no TAM, um tecido escasso em humanos adultos; por isso, nos últimos anos os estudos vêm dando ênfase às UCP2 e UCP3, que são expressas em nosso tecido mais abundante, o músculo esquelético.

Além de sua abundância, o tecido muscular é particularmente interessante devido a sua ampla variação no grau de ativação, desde a inatividade até atividade máxima durante contração muscular intensa. Por isso, o exercício físico agudo (única sessão) e o crônico (treina-

mento) podem ser moduladores da expressão gênica e atividade das UCPs⁴⁰.

Boss et al.²³ estudaram ratos treinados e observaram diminuição de 60% a 76% na expressão gênica da UCP3 nos músculos sóleo e tibial anterior. A contração muscular impõe maior demanda de energia na forma de ATP, por isso obriga os músculos a se adaptarem para tornar cada vez mais eficiente sua ressíntese. A UCP3, atuando como dissipadora de energia, não contribui para a eficiência da ressíntese de ATP, razão pela qual se torna lógica sua inibição com o treinamento (Figura 3).

Num estudo de Tonkonogi et al.⁴¹ foi sugerido que o treinamento físico causa mudanças na função mitocondrial no sentido de aumentar a capacidade aeróbica de ressíntese de ATP e minimizar a produção de espécies reativas de oxigênio. Adaptações da atividade das UCP, juntamente com outras que ocorrem nas demais organelas celulares e no citossol, contribuem para o aumento da taxa de metabolismo basal e de repouso.

Boss et al.³³ analisaram a expressão do RNAm da UCP2 e da UCP3 no período de recuperação após oito semanas de treinamento com ratos e encontraram diminuição da expressão dessas proteínas em ambos os músculos sóleo e tibial anterior. Tal adaptação favorece o armazenamento de substratos energéticos no período de recuperação e proporciona melhor capacidade de trabalho em exercícios subseqüentes. Schrauwen & Hesselink⁸ relatam estudo no qual foi observada concentração 46% menor da UCP3 em indivíduos submetidos a treinamento de *endurance* em comparação a sujeitos sedentários.

Em contrapartida alguns outros estudos com realização de exercício agudo são caracterizados por marcante aumento no gasto energético durante e após o exercício. Tsuboyama-Kasaoka et al.⁴² demonstraram em estudo com ratos que a expressão do RNAm da UCP3 foi regulada positivamente três horas após exercício de natação de uma hora, retornando ao basal 22 horas após o exercício. Consumo de oxigênio (VO₂) elevado,

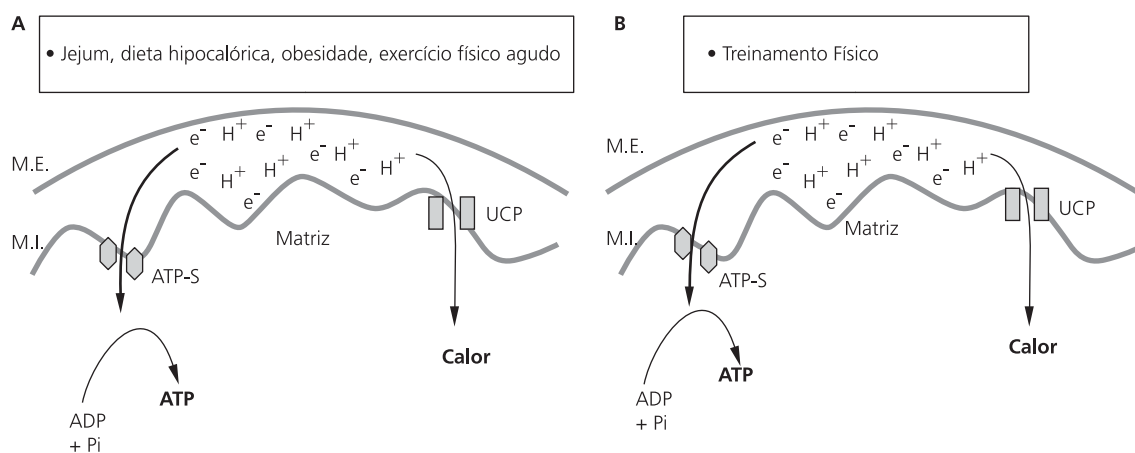


Figura 3. Representação esquemática da atividade das proteínas carreadoras da membrana mitocondrial, a ATP sintase (ATP-S) e a proteína desacopladora (UCP), em diferentes condições metabólicas. Nas setas de retorno dos H^+ e e^- para a matriz a espessura representa a taxa de atividade das proteínas. **A)** nas condições listadas há aumento da concentração e oxidação dos ácidos graxos, maior expressão e atividade da UCP. **B)** no treinamento físico ocorrem adaptações celulares diversas para aumentar a eficiência de síntese do ATP, sendo também reduzida a expressão e atividade da UCP.

acima da taxa de repouso, é uma característica do período de recuperação, após exercício físico. Ao final do exercício ocorre uma queda brusca do VO_2 , seguida por uma queda lenta e depois ultralenta que pode durar horas⁴³. O aumento da expressão e da atividade da UCP3 no período de recuperação talvez possa responder por parte desse maior VO_2 e gasto energético que ocorre durante período prolongado da recuperação⁸.

Cortright et al.⁴⁴ realizaram experimento com ratos exercitados durante uma hora em esteira e observaram que a expressão do RNAm da UCP3 estava elevada 63% em músculos vermelhos e 252% em músculos brancos, imediatamente após o esforço. Similarmente, Zhou et al.²⁴ observaram que a expressão do RNAm da UCP3 aumentou sete vezes em músculo de ratos após 30 minutos de exercício de corrida em esteira. Além da natureza do exercício, outra característica comum desses protocolos é o aumento da concentração plasmática de AGL e da oxidação nos músculos, o que provavelmente estimulou a maior expressão da UCP3.

Em humanos, Pilegaard et al.⁴⁵ demonstraram que a expressão do RNAm da UCP3 estava aumentada quatro horas após exercício agudo.

Schrauwen et al.²⁶, por sua vez, questionaram se o aumento de RNAm da UCP3 após exercício agudo está mais relacionado com mudanças no metabolismo de gordura ou com mudanças no metabolismo energético, consequência da maior demanda muscular. Num estudo, observaram que após duas horas de exercício de intensidade moderada a expressão do RNAm da UCP3 não foi afetada diretamente pelo exercício e sim pela elevada concentração plasmática de AGL, com consequente aumento de sua oxidação. Quando foi administrada glicose, a concentração plasmática de AGL diminuiu e não ocorreu aumento significativo da expressão do RNAm da UCP3. Esse resultado é um indicativo de que a função primária da UCP3 no músculo esquelético durante o exercício não é regular o metabolismo energético, mas sim o fluxo de ácidos graxos em sua via de oxidação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da expressão gênica e da atividade das UCP induzida pelo jejum e a sua diminuição durante o estado alimentado são fortes evidências de que a UCP2 e a UCP3 estão mais envolvidas com a disponibilidade e metabolismo

dos AGL do que com o metabolismo energético. A elevação da concentração plasmática de AGL implica aumento de sua captação celular, entrada e utilização nas mitocôndrias, o que representa um sinal importante na indução da expressão das UCP no músculo, principalmente quando a quantidade de ácidos graxos excede a capacidade oxidativa da mitocôndria.

Portanto, as UCP parecem estar envolvidas na proteção da mitocôndria contra o acúmulo de ácidos graxos dentro da matriz mitocondrial, a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e a peroxidação lipídica. Essa função, dentre outras, pode preservar o equilíbrio da célula, mesmo com aumento da oxidação de ácidos graxos induzido pelo jejum. Por outro lado, a indução da expressão das UCP nos músculos pelo jejum mantém a dúvida sobre a função dessas proteínas como mediadoras da termogênese. Por isso, mais estudos são necessários para esclarecer se a UCP2 e a UCP3 têm papel na homeostase energética e na taxa metabólica quando da diminuição ou aumento do consumo de energia durante dietas hipo- ou hiper-calóricas.

REFERÊNCIAS

- Ricquier D, Casteilla L, Bouillaud F. Molecular studies of the uncoupling protein. *FASEB J*. 1991; 5(9):2237-42.
- Harrold JA, Widdowson PS, Clapham JC, Williams G. Individual severity of obesity in unselected Wistar rats: relationship with hyperphagia. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000; 279(2): E340-E347.
- Millet L, Vidal H, Andrielli F, Larrouy D, Rion JP, Ricquier D, et al. Increased uncoupling protein-2 and-3 mRNA expression during fasting in obese and lean humans. *J Clin Invest*. 1997; 100(11): 2665-70.
- Ricquier D, Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *J Physiol*. 2000; 529(Pt1):3-10.
- Matamala JC, Gianotti M, Pericás J, Quevedo S, Roca P, Palou A, et al. Changes induced by fasting and dietetic obesity in thermogenic parameters of rat brown adipose tissue mitochondrial subpopulations. *Biochem J*. 1996; 319(Pt2): 529-34.
- Levine JA, Eberhardt NL, Jensen MD. Role of nonexercise activity thermogenesis in resistance to fat gain in humans. *Science*. 1999; 283(5399): 212-4.
- Margareto J, Marti A, Martinez JA. Changes in UCP mRNA expression levels in brown adipose tissue and skeletal muscle after feeding a high-energy diet and relationships with leptin, glucose and PPARgamma. *J Nutr Biochem*. 2001; 12(3):130-7.
- Schrauwen P, Hesselink M. UCP2 and UCP3 in muscle controlling body metabolism. *J Exp Biol*. 2002; 205(Pt15):2275-85.
- Ceddia RB, Willian WN, Jr Lima FB, Flandin P, Curi R, Giacobino JP. Leptin stimulates uncoupling protein-2 mRNA expression and Krebs cycle activity and inhibits lipid synthesis in isolated rat white adipocyte. *Eur J Biochem*. 2000; 267(19):5952-8.
- Orci L, Cook WS, Ravazzola M, Purelet A, Eng WS, Di Liberto M, et al. Rapid transformation of white adipocytes into fat-oxidizing machines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(7):2058-63.
- Fleury C, Neverova M, Collins S, Raimbault S, Champigny O, Levi-Meyrueis, et al. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nature Genet*. 1997; 15(3): 269-72.
- Boss O, Samec S, Paoloni-Giacobino A, Rossier C, Sullo A, Seydoux V, et al. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett*. 1997; 408(1):39-42.
- Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O. Mitochondrial uncoupling proteins 3 (UCP3) in skeletal muscle. *Front Biosc*. 2001; 1(6):570-4.
- Vidal-Puig A, Solanes G, Grujic D, Flier JS, Lowell BB. UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997; 235(1):79-82.
- Argilés JM, Busquets S, López-Soriano FJ. The role of uncoupling proteins in pathophysiological states. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 293(4):1145-52.
- Samec S, Seydoux J, Dullo AG. Interorgan signaling between adipose tissue metabolism and skeletal muscle uncoupling protein homologs: is there a role for circulating free fatty acids? *Diabetes*. 1998; 47(11):1693-8.
- Schrauwen P, Walder K, Ravussin E. Human uncoupling proteins and obesity. *Obes Res*. 1999; 7(1):97-105.

18. Weigle DS, Selfridge LE, Schwartz MW, Seeley RJ, Cumming DE, Havel PJ, et al. Elevated free fatty acids induce uncoupling protein 3 expression in muscle: a potential explanation for the effect of fasting. *Diabetes*. 1998; 47(2):298-302.
19. Rial E, González-Barroso MM. Physiological regulation of the transport activity in the uncoupling proteins UCP1 and UCP2. *Biochim Biophys Acta*. 2001; 1504(1):70-81.
20. Nordfors L, Hoffstedt J, Nyberg B, Thome A, Arner P, Schalling M, et al. Reduced gene expression of UCP2 but not UCP3 in skeletal muscle of human obese subjects. *Diabetologia*. 1998; 41(8): 935-9.
21. Ricquier D, Bouillaud F. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem J*. 2000; 345(Pt2):161-79.
22. Hesselink MKC, Mensink M, Schrauwen P. Human uncoupling protein-3 and obesity: an update. *Obes Res*. 2003; 11(12):1429-43.
23. Boss O, Hagen T, Lowell BB. Uncoupling proteins 2 and 3: potential regulators of mitochondrial energy metabolism. *Diabetes*. 2000; 49(2): 143-56.
24. Zhou M, Lin BZ, Coughlin S, Vallega G, Pilch PF. UCP3 expression in skeletal muscle: effects of exercise, hypoxia, and AMP-activated protein kinase. *Am J Physiol*. 2000; 279(3):E622-E629.
25. Abu-Elheiga L, Oh W, Kordari P, Wakil SJ. Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against obesity and diabetes induced by high-fat/high-carbohydrate diets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(18):10207-12.
26. Schrauwen P, Hesselink MK, Vaartjes I, kornips E, Saris WH, Giacobino JP, et al. Effect of acute exercise on uncoupling protein 3 is a fat metabolism-mediated effect. *Am J Physiol*. 2001; 282(1): E11-E17.
27. Dulloo AG, Samec S, Seydoux J. Uncoupling protein 3 and fatty acid metabolism. *Biochem Soc Trans*. 2001; 29(Pt6):785-91.
28. Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korhuis RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *J Appl Physiol*. 1990; 68(6):2337-43.
29. Samec S, Seydoux J, Russel AP, Montani JP, Dulloo AG. Skeletal muscle heterogeneity in fasting-induced upregulation of genes encoding UCP2, UCP3, PPARgamma and key enzymes of lipid oxidation. *Pflugers Arch*. 2002; 445(1):80-6.
30. Pedersen SB, Borgeum JD, Kristensen K, Norrelund H, Otto J, Jorgensen L, et al. Regulation of uncoupling protein (UCP) 2 and 3 in adipose and muscle tissue by fasting and growth hormone treatment in obese humans. *Int J Obes Metab Disord*. 2000; 24(8):968-75.
31. Simoneau JA, Kelley DE, Neverova M, Warden CH. Overexpression of muscle uncoupling protein 2 content in human obesity associates with reduced skeletal muscle lipid utilization. *FASEB J*. 1998; 12(15):1739-45.
32. Oberkofler H, Liu YM, Esterbauer H, Hell E, Krempler F, Patsch W. Uncoupling protein-2 gene: reduced mRNA expression in intraperitoneal adipose tissue of obese human. *Diabetologia*. 1998; 41(8): 940-6.
33. Boss O, Samec S, Desplanches D, Mayet MH, Seydoux J, Muzzin P, et al. Effect of endurance training on mRNA expression of uncoupling proteins 1, 2 and 3 in the rat. *FASEB J*. 1998; 12(3):335-9.
34. Lentjes KU, Tu N, Chen H, Winnikes U, Reinert I, Marmann G, et al. Genomic organization and mutational analysis of the human UCP2 gene a prime candidate gene for human obesity. *J Recept Signal Transduct Res*. 1999; 19(1-4):229-44.
35. Noland RC, Hickner RC, Jimenez-Linan M, Vidal-Puig A, Zheng D, et al. Acute endurance exercise increases skeletal muscle uncoupling protein-3 gene expression in untrained but not trained humans. *Metabolism*. 2003; 52(2):152-8.
36. Samec S, Seydoux J, Dulloo AG. Post-starvation gene expression of skeletal muscle uncoupling protein 2 and uncoupling protein 3 in response to dietary fat levels and fatty acid composition: a link with insulin resistance. *Diabetes*. 1999; 48(2):436-41.
37. Gong D, He Y, Karas M, Reitman M. Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, beta3-adrenergic agonists and leptin. *J Biol Chem*. 1997; 272(39): 24129-32.
38. de Lange P, Lanni A, Beneduce L, Moreno M, Lombardi A, Silvestri E, et al. Uncoupling protein-3 is a molecular determinant for the regulation of resting metabolic rate by thyroid hormone. *Endocrinology*. 2001; 142(8):3414-20.
39. Lanni A, Moreno M, Lombardi A, Goglia F. Thyroid hormone and uncoupling proteins. *FEBS Lett*. 2003; 543(1-3):5-10.
40. Schrauwen P & Hesselink M. Uncoupling protein 3 and physical activity: the role of uncoupling protein 3 in energy metabolism revisited. *Proc Nutr Soc*. 2003; 62(3):635-43.
41. Tonkonogi M, Krook A, Walsh B, Sahlin K. Endurance training increases stimulation of

- uncoupling of skeletal muscle mitochondria in humans by non-esterified fatty acids: an uncoupling-protein-mediated effect? *Biochem J.* 2000; 351(Pt3):805-10.
42. Tsuboyama-Kasaoka N, Tsunoda N, Maruyama K, Takahashi M, Kim H, Ikemote S, et al. Up-regulation of uncoupling protein 3 (UCP3) mRNA by exercise training and down-regulation of UCP3 by denervation in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 247(2):498-503.
43. Newsholme EA, Leech AR. *Biochemistry for the medical sciences.* New York: John Wiley & Sons. 1995.
44. Cortright RN, Zheng D, Jones JP, Fluckey JD, DiCarlo SE, Grujic D, et al. Regulation of skeletal muscle UCP-2 and UCP-3 gene expression by exercise and denervation. *Am J Physiol.* 1999; 276(1 Pt1):E217-E221.
45. Pilegaard H, Ordway GA, Saltin B, Neufer PD. Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 279(4):E806-14.

Recebido para publicação em 6 de novembro de 2003 e aceito em 12 abril de 2005.

Análise crítica do uso do índice de massa corporal para idosos

Critical analysis of the use of the body mass index for the elderly

Adriane CERVI^{1,2}

Sylvia do Carmo Castro FRANCESCHINI³

Sílvia Eloiza PRIORE³

RESUMO

Esta comunicação discute a utilização do índice de massa corporal, suas limitações e aplicações na avaliação do estado nutricional de idosos. Há um consenso entre os pesquisadores de que um aumento no peso corporal em indivíduos de idade mais avançada seja aconselhável, mudando os pontos de corte até então utilizados. Atualmente, recomendam-se pontos de corte para definição de baixo peso (índice de massa corporal $<22\text{kg/m}^2$), eutrofia (índice de massa corporal entre 22 a 27kg/m^2) e sobrepeso (índice de massa corporal $>27\text{kg/m}^2$) que diferem dos valores recomendados para adultos e freqüentemente utilizados para idosos. Esta proposta leva em consideração as mudanças na composição corporal que ocorrem com o envelhecimento. Apesar de não representar a composição corporal dos indivíduos, a facilidade de obtenção de dados de peso e estatura bem como sua boa correlação com morbidade e mortalidade justificam a utilização do índice de massa corporal em estudos epidemiológicos e na prática clínica desde que se usem pontos de corte específicos para a idade, especialmente se associados a outras medidas antropométricas que expressem a composição e a distribuição da gordura corporal.

Termos de indexação: antropometria, estado nutricional, idoso, índice de massa corporal, mortalidade.

ABSTRACT

This communication discusses the use of the body mass index, its limitations and applications in the assessment of the nutritional status of the elderly. There is consensus between researchers that an increase in body weight in individuals of more advanced age is advisable, changing the cut-off points previously used. Currently, the

¹ Mestranda em Ciência da Nutrição, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, Brasil.

² Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Rua do Comércio, 3000, Bairro Universitário, 98700-000, Ijuí, RS, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: A. CERVI. E-mail: <adriane.cervi@unijui.tche.br>.

³ Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, Brasil.

cut-off points recommended for the definition of underweight (body mass index $<22\text{kg/m}^2$), normal range (body mass index between 22 and 27kg/m^2) and overweight (body mass index $>27\text{kg/m}^2$), differ from the values recommended for adults and frequently used for the elderly. This proposal takes into consideration the changes in body composition that occur with aging. Although not representing the individual's body composition, the ease of obtaining weight and height data, as well as their good correlation with morbidity and mortality, justify the use of the body mass index in epidemiological studies and in clinical practice if age-specific cut-off values are used, especially if associated with other anthropometric measurements that express the composition and distribution of body fat.

Indexing terms: anthropometry, nutritional status, aged, body mass index, mortality.

INTRODUÇÃO

O interesse na nutrição de idosos tornou-se maior nos últimos anos devido ao grande aumento desse grupo etário na população em geral e suas implicações nos cuidados com a saúde. Segundo dados do censo de 2000, do total de habitantes, 15,5 milhões tinham 60 anos ou mais, representando 10% da população geral. Projeções para 2025 indicam que esse número poderá ser superior a 30 milhões, o que corresponderia a 14% da população total estimada¹. À medida que mais pessoas atingem a terceira idade, aumenta a prevalência de enfermidades em que a idade é fator de risco, tornando necessário um melhor conhecimento das doenças, do estado nutricional e das modificações corporais, psicológicas e sociais desse grupo etário².

Uma das formas para se conhecer o perfil de alimentação e nutrição do idoso é a pesquisa populacional, utilizando tanto a antropometria para diagnóstico do estado nutricional quanto a aplicação de questionários de consumo alimentar. No âmbito da saúde pública, os dados antropométricos de populações são de grande utilidade na identificação de grupos que necessitam de intervenção nutricional, na avaliação de respostas a uma intervenção, no estabelecimento de fatores determinantes do baixo peso e sobrepeso e como instrumento de vigilância nutricional³.

Na determinação do estado nutricional do idoso a partir da antropometria, medidas simples como peso, estatura, circunferências (do braço, da panturrilha, do quadril e do abdômen) e pregas cutâneas tricipital e subescapular são muito utilizadas devido às suas vantagens: simplicidade,

equipamentos de fácil aquisição e custo acessível⁴. O índice de massa corporal (IMC), que utiliza o peso e a estatura como critério diagnóstico, é útil tanto em nível individual como populacional, permitindo comparação com estudos nacionais e internacionais, além de expressar as reservas energéticas do indivíduo^{2,5}. Entretanto, a grande dúvida é se pontos de corte desenvolvidos, validados e estabelecidos para adultos jovens podem ser aplicados com confiança para indivíduos idosos, considerando as modificações corporais que ocorrem nesse grupo etário. Dessa forma, a presente revisão descreve a utilização do IMC, suas limitações e aplicações na avaliação do estado nutricional de idosos.

Índice de massa corporal

A avaliação da composição corporal é uma medida importante do estado nutricional de indivíduos. Muitos métodos são utilizados para avaliar a composição corporal⁶, no entanto, somente poucos são aplicáveis a grandes grupos de indivíduos, como em estudos epidemiológicos, devido principalmente ao alto custo dos mesmos. Um dos métodos mais simples é o cálculo do IMC^{7,8}.

O IMC, também conhecido como índice de Quételet, em homenagem ao seu criador Adolphe Quételet, utilizado na avaliação do estado nutricional de populações, é obtido a partir da divisão da massa corporal em quilogramas, pela estatura em metro, elevada ao quadrado (kg/m^2). Em seus estudos, Quételet observou que após o término do crescimento, ou seja, na vida adulta,

o peso de indivíduos de tamanho normal era proporcional ao quadrado da estatura. Assim, Keys et al. propuseram em 1972 que o peso dividido pela estatura ao quadrado fosse chamado de índice de massa corporal, embora algumas vezes seja referido como índice de Quételet, hoje muito usado como um índice de adiposidade^{3,9}.

O IMC mostra uma alta correlação com o peso corporal ($r=0,8$), baseado em estudos realizados em diversos grupos populacionais. Em uma série de análises comparativas¹⁰, a correlação do IMC com a estatura variou de 0,0 a 0,2. Assim, o IMC é altamente correlacionado com peso corporal, que tem uma proximidade com os estoques de energia corporal e é relativamente independente da estatura. A maior parte do diferencial de peso corporal entre os adultos é devida à gordura, sendo essa uma das razões de o IMC ser considerado um indicador de adiposidade¹⁰, entretanto essa relação pode ser diferente entre idosos.

Embora o IMC tenha alta correlação com massa corporal e baixa com estatura, é importante que seus valores se correlacionem com outras medidas independentes de composição corporal, que determinam a composição em termos de gordura corporal e massa muscular⁵. Vários estudos têm mostrado que o IMC apresenta boa correlação com a quantidade de gordura corporal determinada por medidas diretas como densitometria¹¹, bioimpedância elétrica (BIA)¹², pregas cutâneas^{11,13}, relação cintura/quadril (RCQ)¹⁴ e circunferência da cintura (CC)¹⁵.

Nagaya et al.¹², estudando indivíduos entre 30 e 69 anos de idade, mostraram que o IMC teve boa correlação com porcentagem de gordura corporal (GC) ($r=0,743 - 0,924 p<0,001$), medida pela BIA. Mulheres tiveram maiores coeficientes de correlação ($r=0,855 - 0,924 p<0,001$) do que os homens ($r=0,743 - 0,848 p<0,001$), em todas as faixas etárias. Entretanto, houve um pequeno declínio com o aumento da idade, em ambos os sexos, representado pelos menores valores dos coeficientes de correlação encontrados na faixa etária acima de 60 anos. De acordo com os

autores, essa diminuição na correlação entre IMC e porcentagem de GC deve-se às mudanças na composição corporal que acompanham o envelhecimento, como diminuição óssea, muscular e da água corporal e aumento e redistribuição GC. Dessa forma, em idosos, a gordura corporal não pode ser simplesmente determinada por medidas de peso e estatura, como em adultos.

Micozzi & Harris¹³ observaram que o IMC teve maior correlação com estimativas de gordura corporal entre jovens ($r=0,8$) do que entre idosos ($r=0,7$), determinadas pela prega cutânea subescapular e pela área de gordura do braço. No entanto, o IMC apresentou melhor correlação com massa muscular em idosos ($r=0,6 - 0,7$) do que em adultos jovens ($r=0,5 - 0,6$), estimada pela área muscular do braço.

Estudo realizado por Foucan et al.¹⁶, utilizando IMC e CC como instrumento para *screening* de fator de risco cardiovascular em mulheres de 18 a 74 anos, mostrou valores de sensibilidade e especificidade em níveis entre 52% e 70% para IMC e 55% e 80% para CC, respectivamente. Valores de sensibilidade e especificidade que identificaram maior número de indivíduos com e sem fatores de risco foram IMC de 27kg/m² (sensibilidade e especificidade de 60%) e CC de 85cm (sensibilidade e especificidade de 64%). Os achados desse estudo revelam que, com a idade, há uma modificação na habilidade discriminante de parâmetros como IMC e CC em identificar fatores de risco para doenças cardiovasculares, contudo a CC foi a medida com maior habilidade em identificar presença ou ausência de fatores de risco.

Limitações do IMC

Pode-se dizer que o IMC possui dois objetivos teóricos maiores: promover facilmente estimativas comparáveis e interpretáveis de peso corporal padronizado pela estatura e promover estimativa de gordura e composição corporal¹³.

No entanto, alguns autores vêm discutindo a utilização desse índice como um indicador do

estado nutricional de adultos e também de idosos. Garn et al.¹⁷ enumeraram três limitações para o uso do IMC: a correlação com a estatura, que apesar de baixa ainda é significativa; a correlação com a massa livre de gordura, principalmente nos homens; e a influência da proporcionalidade corporal (relação tamanho das pernas/tronco), tal que indivíduo com menor comprimento da perna tenha um valor de IMC maior, em cerca de cinco unidades. Essas limitações poderiam pôr em risco a utilização do IMC como indicador de gordura corporal.

Baseado nesses aspectos e ainda no fato de o IMC não expressar a distribuição de gordura corporal andróide e ginecóide, que tem grande influência na saúde, McLaren¹⁸ sugeriu o abandono do uso do IMC em estudos de obesidade. Garrow¹⁹, mesmo concordando com essas limitações, enfatizou o não abandono do IMC em estudos epidemiológicos devido, principalmente, à ausência de outro indicador que seja tão simples e conveniente.

Além dessas limitações, que se aplicam à população em geral, somam-se as mudanças que ocorrem na composição corporal com o envelhecimento, tornando ainda mais difícil a utilização do IMC para avaliação do estado nutricional desse grupo. Lipschitz²⁰ acrescenta que esse problema é agravado pela heterogeneidade que acompanha o envelhecimento e pela presença de doenças idade-dependentes. Além disso, essas dificuldades podem ser exacerbadas quando a gordura corporal é um potencial fator de confusão para risco de doenças e as populações em estudo diferirem substancialmente na idade¹³.

Com o avanço da idade, ocorrem mudanças na composição corporal de tal forma que a massa livre de gordura (MLG) diminui²¹ e a massa gorda geralmente aumenta²², sendo armazenada intra-abdominal e intramuscularmente, em vez de subcutaneamente, como no adulto jovem²³. Também o conteúdo de minerais da MLG²¹ e a quantidade de água intra e extracelular mudam²⁴. Essas alterações afetam os parâmetros de avaliação antropométrica do idoso, levando a uma

provável mudança na relação entre adiposidade corporal e IMC, com o avanço da idade⁷.

Segundo Landi et al.²⁵, como o IMC não distingue adequadamente massa gorda e massa magra, pode ser um indicador menos útil de adiposidade entre idosos, que possuem maior quantidade de GC em um determinado IMC do que entre indivíduos jovens, devido à redução na massa muscular relacionada com a idade. Sendo assim, o IMC não pode ser utilizado como única estimativa de obesidade ou massa corporal gorda, em idosos.

Burr & Phillips²⁶ estudaram indivíduos acima de 75 anos de idade e concluíram que o IMC diminui com a idade depois de 70 anos, em ambos os sexos. Medidas como circunferência média do braço e prega cutânea tricipital (PCT) também diminuíram com a idade, particularmente em mulheres. Já a área muscular do braço e a circunferência muscular do braço mostraram um declínio constante ao longo da idade, com aproximadamente o mesmo índice em ambos os sexos.

Jackson²⁷ mostrou que, para um mesmo IMC, a porcentagem GC de mulheres foi 10,4% maior do que a dos homens. Assim, a relação entre IMC e porcentagem GC não é independente da idade e do sexo, sendo esses as maiores fontes de variação, devendo ser considerados juntamente com o grupo étnico, quando se define a prevalência de obesidade pelo uso do IMC.

Durante o envelhecimento há um declínio progressivo na estatura, resultado da cifose torácica, escoliose, osteoporose e compressão dos discos intervertebrais^{28,29}, além de redução no peso corpóreo. Essas alterações levam a mudanças no IMC que são menores do que seriam nos grupos mais jovens com uma estatura estável, nos quais as mudanças no IMC refletiriam principalmente alteração no peso corporal^{4,3}.

Outro aspecto a ser considerado diz respeito à obtenção dos dados de peso e estatura. É comum indivíduos idosos estarem em cadeiras de rodas ou acamados, sendo incapazes de permanecer em pé para aferição de medidas, ou com

deformidade espinhal, tornando difícil a aplicação da antropometria e por conseguinte levando a medidas errôneas da estatura³⁰. Nessas situações, pode-se melhorar a avaliação antropométrica pelo uso de medidas recumbentes, já que problemas com mobilidade não afetam esse método para coleta das medidas, reduzindo, assim, a incidência de erros^{28,29,30}. Existem várias fórmulas de prever a estatura e peso de indivíduos idosos ou acamados a partir de medidas recumbentes.

Najas³¹, em seu estudo, utilizou a medida do comprimento da perna como preditor da estatura em um grupo de idosos brasileiros, cuja média de idade foi de 80 anos, e verificou que, controlando a cor, o nível socioeconômico e o sexo, houve alta correlação entre estatura predita a partir da medida do comprimento da perna e aquela aferida em antropômetro ($r=0,89$ para homens e $r=0,83$ para mulheres). Observou ainda que, utilizando o comprimento da perna na determinação da estatura para cálculo do IMC, houve aumento na prevalência de desnutrição e eutrofia e diminuição em 5% na prevalência de obesidade graus I e II, em ambos os sexos. O estudo mostra a importância de se estimar a estatura em idosos para corrigir os problemas de curvatura, especialmente nos de idade mais avançada.

Segundo Anjos⁵, deve-se ter a preocupação de adequação dos pontos de corte de IMC em função da faixa etária, sexo e do grupo étnico, que reflitam os menores riscos para a saúde do indivíduo idoso. Embora a necessidade de adequação exista, não há um consenso sobre como deve ser feita.

Pontos de corte para sobrepeso e baixo peso

No que diz respeito ao critério de diagnóstico nutricional na determinação do sobrepeso e baixo peso a partir do IMC, há poucos padrões de peso corporal específicos para essa faixa etária. A Organização Mundial da Saúde (OMS)³ tem sugerido a adoção dos mesmos pontos de corte para adultos, os quais se baseiam na população

norte-americana. Poucos padrões antropométricos nacionais estão disponíveis em nosso meio e os internacionais, geralmente utilizados, limitam-se aos oriundos de uma base populacional distinta, de padrão socioeconômico e constituição racial diversa²⁸. Não há ainda uma definição clara dos limites de corte de IMC para classificação do estado nutricional do idoso, mas atualmente alguns estudos têm sido realizados considerando as características distintas desse grupo etário.

Obesidade pode ser definida como uma doença em que a gordura corporal em excesso foi acumulada em uma extensão que pode ter efeitos adversos à saúde. A distribuição da gordura tem sérias conseqüências também na saúde do idoso. Embora grosseira, o IMC é a mais útil medida do nível de obesidade de uma população. Porém não mostra a ampla variação na distribuição de gordura, podendo assim, subestimar o real aumento da gordura corporal, especialmente a gordura central, em indivíduos de idade mais avançada³²⁻³⁴.

Além do diagnóstico de sobrepeso, a determinação do baixo peso também é problemática em idosos. Segundo Chumlea et al.³⁵ as condições associadas ao baixo peso são sérias em indivíduos idosos e estes são particularmente vulneráveis à desnutrição. Além disso, suas necessidades nutricionais não são bem definidas devido à dificuldade em se avaliar a ingestão de nutrientes, visto que os métodos dietéticos disponíveis possuem uma série de limitações quando aplicados em idosos⁴.

Bray, em 1992³³, definiu peso normal como IMC entre 19 e 25kg/m² para homens e mulheres entre 19 e 34 anos e 21 a 27kg/m² para indivíduos acima de 35 anos. Sobrepeso seria o IMC de 25 ou 27-30kg/m², de acordo com a respectiva faixa etária, e estaria associado a um menor risco de morbidade, já IMC >30kg/m² está quase sempre associado com aumento na gordura corporal, que é sinônimo de obesidade. O autor sugeriu ainda pontos de corte para definição de sobrepeso dependendo da idade. Sua proposta foi acrescentar uma unidade de IMC para cada década de vida, a partir dos 25 anos.

Em 1994, Lipschitz²⁰ propôs uma classificação que considera as modificações na composição corporal do indivíduo idoso. Esse autor recomenda como limite aceitável para esse grupo etário, IMC entre 24 e 29kg/m², sendo os pontos de corte para baixo peso e sobrepeso, respectivamente, IMC abaixo de 22kg/m² e acima de 27kg/m².

A OMS³ em 1995, baseando-se nos riscos de mortalidade associada com o baixo IMC, definiu a presença de IMC baixo como magreza ou baixo peso e estabeleceu os seguintes pontos de cortes, de acordo com os graus de baixo peso: grau I - magreza leve (IMC 17,0 - 18,49kg/m²); grau II - magreza moderada (IMC 16,0 - 16,99kg/m²); grau III - magreza intensa (IMC < 16,0). Esses pontos de corte, embora desenvolvidos para adultos, são muito utilizados para classificar o estado nutricional de idosos.

Ainda baseando-se no risco de mortalidade associado ao IMC a *World Health Organization* (WHO)³⁴, em 1998, propôs a utilização dos seguintes pontos de corte para classificação do estado nutricional de adultos e idosos: baixo peso (IMC < 18,5kg/m²), eutrofia (IMC 18,5-24,9kg/m²), sobrepeso (IMC ≥ 25kg/m²) e obesidade (IMC ≥ 30kg/m²). Essa classificação também propôs a separação de obesidade em graus, de acordo com risco de mortalidade: pré-obeso (IMC 25-29,9kg/m²), obesidade classe I (IMC 30,0-34,9kg/m²), obesidade classe II (35,0-39,9kg/m²) e obesidade classe III (IMC ≥ 40,0kg/m²).

Segundo Bray³³, a utilização da terminologia classe ou grau de obesidade deve ser feita com cautela, já que, por definição, obesidade significa excesso de gordura corporal, a qual não é medida realmente através do IMC, pois não distingue peso associado com massa magra e peso associado com gordura corporal. Além disso, a porcentagem de massa gorda aumenta com a idade a partir dos 60-65 anos, em ambos os sexos, sendo maior em mulheres do que em homens de IMC equivalentes³⁶.

Outra metodologia para definição de pontos de corte é a determinação dos valores do IMC correspondentes aos percentis⁵. Lipschitz²⁰

sugeriu que, como regra geral, indivíduos que estejam abaixo do percentil 10 ou acima de 120% do peso corporal ideal devem ser considerados como tendo baixo peso e sobrepeso, respectivamente. Com essa metodologia, estabelecem-se limites de corte específicos para a população em estudo, valores que poderão não servir para outros grupos populacionais, já que esses dados devem ser associados às características de saúde da população em estudo⁵.

Problema associado a qualquer metodologia de determinação dos pontos de corte é o fato de não se saber claramente como levar em consideração a idade, já que com o envelhecimento ocorrem simultaneamente aumento na deposição de gordura e uma perda da massa livre de gordura³⁷.

Deurenberg et al.⁷ estudaram a composição corporal de 72 idosos com idade entre 60 e 83 anos, aparentemente saudáveis, de ambos os sexos, para verificar a relação entre IMC e gordura corporal, determinada pela pesagem hidrostática. Embora o IMC médio tenha ficado dentro de níveis aceitáveis (25 e 25,9kg/m² para homens e mulheres, respectivamente), o percentual de gordura corporal foi alto, sendo 44% para mulheres e 31% para homens. Os autores sugeriram que os valores normalmente utilizados de IMC devem ser adaptados para esse grupo, já que o IMC indica um percentual de gordura corporal muito maior para idosos do que para indivíduos mais jovens.

Lerario et al.¹⁴ avaliaram a prevalência de excesso de peso e adiposidade central em um grupo de nipo-brasileiros de 40 a 79 anos de idade e sua relação com distúrbios metabólicos. Para isso, utilizaram como ponto de corte para excesso de peso, IMC ≥ 26,4kg/m², segundo o critério do *Japan Society for the Study of Obesity*, que leva em conta o fenótipo do grupo: pessoas não obesas, porém com predominância de tecido adiposo na região abdominal, uma predisposição para síndrome metabólica. A adiposidade central foi definida como RCQ ≥ 0,85 para mulheres e ≥ 0,95 para homens. A prevalência de excesso de peso foi de 22,4% e a de adiposidade central, de

67,0%. Utilizando o IMC de 30kg/m², proposto pela OMS, a prevalência da obesidade seria reduzida para 6,9%, incompatível com as elevadas freqüências de co-morbidades encontradas nessa população associadas à adiposidade central, mesmo com valores de IMC baixos.

Deurenberg et al.³⁸ também ressaltam que há diferenças no IMC entre os grupos étnicos, tendo implicações para saúde pública, especialmente na definição de limites de corte que precisam ser específicos para os grupos populacionais, considerando o impacto da constituição corporal. Assim, embora o IMC seja útil, permitindo comparação entre diferentes estudos, deve-se ter precaução em interpretar o resultado do IMC como fator de risco para doença crônica, particularmente em comparação com diferentes faixas etárias e grupos étnicos.

As dificuldades relacionadas ao poder preditivo do IMC em idosos no diagnóstico da obesidade, o padrão de distribuição de gordura corporal, bem como a falta de controle de algumas variáveis de confundimento, como o tabagismo, na maioria dos estudos, podem estar subestimando o impacto da obesidade nos resultados em saúde^{23,39}.

Abreu⁴⁰ avaliou o estado nutricional de 183 idosos residentes em Viçosa, utilizando, como critério diagnóstico para o IMC, a proposta de Lipschitz²⁰. Houve diminuição na estatura e no peso, especialmente a partir dos 80 anos, para homens e mulheres, respectivamente. A média do IMC foi de 24,9kg/m² para homens e de 27,2kg/m² para mulheres, sendo que 59,2% estavam eutróficos, 40,8% com sobrepeso (27,0% dos homens e 46,5% das mulheres) e 15,1% com baixo peso (23,0% dos homens e 11,8% das mulheres). A proporção de baixo peso aumentou com a faixa etária para ambos os sexos, atingindo 40,0% nos homens e 44,0% nas mulheres com 80 anos ou mais, enquanto o sobrepeso diminuiu com o aumento da idade, especialmente a partir dos 80 anos. Idosos com IMC > 27kg/m² apresentaram valores de RCQ e CC inadequados e estavam associados com maior freqüência de morbidades, como hipercolesterolemia, hipertensão arterial, diabetes e artrites.

Outros estudos mostram valores diferentes de prevalência de sobrepeso e baixo peso na população idosa brasileira. Tavares & Anjos⁴¹ registraram uma prevalência geral de sobrepeso (IMC > 25kg/m²) de 30,4% em homens e de 50,2% em mulheres, enquanto a prevalência geral de magreza (IMC < 18,5kg/m²) foi de 7,8% em homens e de 8,4% em mulheres. Martins et al.⁴², utilizando os mesmos pontos de corte, verificaram que a prevalência de sobrepeso foi de 34,1% em homens e de 40,3% em mulheres e a de baixo peso foi de 7,3% em homens e de 8,1% em mulheres, tendo o baixo peso (IMC 18,8-19,9kg/m²) atingido 19,5% dos homens e 4,8% das mulheres.

Esses dados mostram uma variação na prevalência de sobrepeso e baixo peso na população idosa devido à utilização de valores de corte diferentes entre os estudos, os quais, na maioria, são os mesmos aplicados para adultos devido à falta de pontos de corte específicos para idosos. Segundo Stevens et al.⁴³, a escolha do ponto de corte do IMC pode ter efeito político, porque são utilizados para avaliar a saúde da população e a necessidade de atividades de promoção à saúde. No entanto, para profissionais da saúde, a utilização de maior ponto de corte do IMC para baixo peso e menor para obesidade seria mais interessante, pois estaria considerando as modificações corporais que ocorrem durante o envelhecimento e dessa forma permitindo diagnosticar mais precisamente o estado nutricional desse grupo etário.

Índice de massa corporal e morbimortalidade

Problemas nutricionais estão associados ao aumento da morbidade e mortalidade e com impacto negativo na qualidade de vida entre idosos⁴⁴. Vários pesquisadores têm sugerido a utilização do IMC em estudos para investigar a relação entre sobrepeso e baixo peso com o risco de mortalidade^{8,45-51}. Embora o IMC não possibilite determinar a composição corporal e não expresse a distribuição de gordura, é importante na determinação do risco de muitas doenças.

Em vários estudos^{8,48,52} a relação entre risco de mortalidade por todas as causas e IMC tem sido mostrada como uma curva em forma de “U” ou de “J” invertido, esse especialmente em idosos, com o menor risco ocorrendo na base da curva. No entanto, os valores correspondentes ao menor risco têm sido diferentes em várias pesquisas. A maioria dos estudos^{49,53-55} tem apontado que os valores da base da curva de idosos são maiores do que os correspondentes para adultos, sugerindo que idosos com maior IMC teriam menor risco de mortalidade. Por outro lado, o maior risco nesse grupo ocorre com os valores de IMC baixo que parecem sustentar um risco aumentado de morte prematura.

Alguns autores têm sugerido que o risco de mortalidade por todas as causas, associado ao baixo IMC, pode ser atribuído a fatores de confusão como doença pré-existente ou fumo^{46,56,57}. Entretanto, outros autores têm mostrado alta mortalidade com baixo IMC, mesmo depois de controlar tais fatores⁴⁹.

Na meia idade (50 a 65 anos), o maior problema nutricional é o sobrepeso, estando associado às doenças crônico-degenerativas. Acima dos 80 anos, magreza e perda de massa magra são os maiores problemas. As doenças associadas com baixo IMC são tuberculose, enfermidades pulmonares obstrutivas, câncer de pulmão e de estômago, enquanto as que se associam com o alto IMC são as doenças cerebrovasculares, cardiovasculares, diabetes e, nos homens, o câncer de cólon³.

Allison et al.⁴⁹ avaliaram a relação entre IMC e mortalidade em amostra representativa dos Estados Unidos da América, com indivíduos acima de 70 anos, de ambos os sexos, e constataram que a relação foi claramente em forma de “U” para homens e mulheres. A base da curva foi ampla, sugerindo que ampla escala de IMC (27 a 30kg/m² para homens e 30 a 35kg/m² para mulheres) são bem toleradas pelos idosos. Entre as mulheres, a menor mortalidade foi observada com IMC de 31,7kg/m² e entre os homens, com IMC de 28,8kg/m².

Diferentemente, Lindsted & Singh⁵⁶ estudaram a relação entre IMC e risco de morta-

lidade em indivíduos nas faixas etárias de 30 a 54 anos e 55 a 74 anos e encontraram relação linear entre IMC e mortalidade por todas as causas, em ambos os grupos de idade.

Em estudo realizado com homens e mulheres, da Finlândia, de 85 anos de idade ou mais, foi encontrado um IMC médio de 23,1kg/m² ± 4,1, sendo a mais alta mortalidade em cinco anos de seguimento observada no grupo com IMC abaixo de 20,0kg/m² e a mais baixa mortalidade, com IMC ≥ 30,0kg/m², mostrando que a mortalidade diminui consistentemente com o aumento de peso⁴⁵.

Rissanen et al.⁴⁶ mostraram que, entre homens da Finlândia, a mortalidade por todas as causas teve distribuição em forma de “U”, sendo maior nos homens magros e com excesso de peso, ou cerca de 1,5 vezes maior para aqueles com IMC < 19,0kg/m² e IMC ≥ 34,0kg/m², quando comparados aos de peso normal. A curva mostrou aumento da mortalidade nos extremos da distribuição, entretanto, o menor risco ocorreu entre homens de 75 anos com IMC mais alto. Nos homens magros, a mortalidade por doença cardiovascular aumentou com o aumento do IMC além da escala normal nas coortes mais jovens, porém não nas de 55 a 90 anos de idade. Em outro estudo realizado com mulheres, também ficou evidente a relação em forma de “U” entre IMC e mortalidade nas jovens e uma relação mais incerta entre aquelas de maior idade. O sobrepeso não reduziu a esperança de vida nas mulheres de 65 a 79 anos de idade. Já a magreza esteve associada com uma mortalidade maior nas mulheres com menos de 65 anos. O IMC⁴⁷ mais favorável ao grupo foi de 27 a 31kg/m².

Taylor & Ostbye⁵² mostraram que com baixo IMC (<18,5kg/m²) a mortalidade foi alta entre indivíduos de 65 anos ou mais, ao contrário do que ocorreu entre os de 50 anos, em que houve a mais baixa mortalidade nessa categoria de IMC. Observaram, ainda, que a perda de peso na idade adulta esteve associada à redução da mortalidade, na idade mais avançada. Da mesma forma, Grabowski & Ellis⁵⁴ encontraram resultados semelhantes ao analisar o risco de mortalidade e IMC entre idosos.

Embora os estudos mostrem que um aumento no peso seja benéfico, o excesso de gordura, principalmente gordura abdominal, representa um importante fator de risco para doenças crônicas também em indivíduos de idade avançada. Kalmijin et al.⁵⁰ constataram que o IMC e a prega cutânea mostraram consistente associação inversa com mortalidade. Já a RCQ esteve positivamente relacionada com mortalidade, especialmente quando associada a valores de IMC maiores, mostrando que a gordura abdominal ou visceral é mais importante determinante da mortalidade no idoso do que a gordura subcutânea, justificando a preocupação da existência do sobrepeso e suas conseqüências metabólicas associadas ao excesso de gordura.

Cabrera & Jacob Filho¹⁵ observaram que, com o avanço da idade, houve uma diminuição da estatura, peso e IMC em ambos os sexos e aumento da RCQ em mulheres. Houve boa correlação ($r=0,5$) entre circunferência abdominal e IMC nas mulheres ($p<0,001$), fato não identificado na análise com RCQ. O padrão de distribuição de gordura corpórea foi caracterizado pela $RCQ>0,96$ e $CC>98\text{cm}$ para mulheres e $RCQ>1,02$ e $CC>100\text{cm}$ para homens. Homens obesos e com adiposidade central apresentavam maiores freqüências de hipertensão arterial (HA), diabetes mellitus (DM), HDL-c baixo e hipertrigliceridemia. Já as mulheres apresentavam maiores freqüências apenas de HA e DM.

Hanson et al.⁴⁸ alertam que as variedades de fatores biológico, comportamental e social que podem influenciar a mortalidade podem também causar desvios extremos na média de IMC da população. Assim, a mortalidade pode não ser o melhor critério pelo qual se desenvolvem padrões de peso. Segundo os autores, é necessário cautela ao se aplicar padrões de peso baseados no risco de mortalidade em determinada população em outra população.

CONCLUSÃO

Pelo fato de ter boa correlação com morbidade e mortalidade, pela facilidade na

obtenção dos dados e sua importância em sistemas de vigilância nutricional, o IMC pode ser um bom indicador do estado nutricional de idosos, desde que sejam usados pontos de corte específicos para a idade, especialmente se associados a medidas antropométricas que expressem a composição e a distribuição da gordura corporal, como a medida da circunferência da cintura. No entanto, como a maioria dos estudos que visam determinar os pontos de corte se baseia no risco de mortalidade, o qual pode não ser o melhor critério, recomenda-se cautela ao utilizar os valores de corte de IMC para idosos, especialmente se esses não consideram o aspecto da idade.

Sendo assim, até que novos estudos sejam desenvolvidos, sugere-se a utilização da proposta de Lipschitz²⁰ (baixo peso - $IMC<22\text{kg/m}^2$, eutrofia - IMC entre 22 e 27kg/m^2 e sobrepeso - $IMC>27\text{kg/m}^2$), que leva em consideração as modificações na composição corporal que ocorrem com o envelhecimento. No entanto, é importante que esses valores bem como de outras medidas antropométricas, como da circunferência da cintura, sejam validados nas diferentes populações e grupos étnicos. É urgente a necessidade de se desenvolver referências para dados antropométricos e de composição corporal para idosos, analisando adequação dos pontos de corte para essa faixa etária, especialmente no Brasil, onde os dados ainda são escassos.

REFERÊNCIAS

1. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [homepage on the Internet]. Censos Demográficos 2000. Brasília: IBGE Diretoria de Pesquisas [Acesso em 2003 jun 26]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
2. Najas MS, Andrezza R, Souza ALM, Sachs A, Guedes ACB, Sampaio LR, et al. Padrão alimentar de idosos de diferentes estratos socioeconômicos residentes em localidade urbana da região sudeste, Brasil. Rev Saúde Pública. 1994; 28(3):187-91.
3. Organización Mundial de la Salud. El estado físico: uso e interpretación de la antropometría. Ginebra: OMS; 1995. p.452. OMS, Serie de Informes Técnicos, 854.

4. Bowman BB, Rosenberg IH. Assessment of the nutritional status of the elderly. *Am J Clin Nutr.* 1982; 35(5 Suppl):1142-51.
5. Anjos LA. Índice de massa corporal (massa corporal.estatura²) como indicador do estado nutricional de adultos: revisão da literatura. *Rev Saúde Pública.* 1992; 26(6):431-36.
6. Lukaski HC. Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *Am J Clin Nutr.* 1987; 46(4):537-56.
7. Deurenberg P, Kooy K, Hulshof T, Evers P. Body mass index as a measure of body fatness in the elderly. *Eur J Clin Nutr.* 1989; 43(4):231-6.
8. Allison DB, Zhu SK, Plankey M, Faith MS, Heo M. Differential associations of body mass index and adiposity with all-cause mortality among men in the first and second National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES I and NHANES II) follow-up studies. *Int J Obesity.* 2002; 26(3): 410-16.
9. Weigley ES. Adolphe Quetelet (1796-1874): pioneer anthropometrist. *Nutr Today.* 1989; 24(2):12-6
10. Shetty PS, James WPT. Body mass index - a measure of chronic energy deficiency in adults. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1994.
11. Womersley J. A comparison of the skinfold method with extent of 'overweight' and various weight-height relationships in the assessment of obesity. *Br J Nutr.* 1977; 38(2):271-84.
12. Nagaya T, Yoshida H, Takahashi H, Matsuda Y, Kawai M. Body mass index (weight/height²) or percentage body fat by bioelectrical impedance analysis: which variable better reflects serum lipid profile? *In J Obesity.* 1999; 23(7):771-4.
13. Micozzi MS, Harris TM. Age variations in the relation of body mass indices to estimates of body fat and muscle mass. *Am J Phys Anthropol.* 1990; 81(3):375-9.
14. Lerario DDG, Gimeno SG, Franco LJ, Lunes M, Ferreira SRG. Excesso de peso e gordura abdominal para a síndrome metabólica em nipo-brasileiros. *Rev Saúde Pública.* 2002; 36(1):4-11.
15. Cabrera MAS, Jacob Filho W. Obesidade em idosos: prevalência, distribuição e associação com hábitos e co-morbidades. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2001; 45(5):494-501.
16. Foucan L, Hanley J, Deloumeaux J, Suissa S. Body mass index (BMI) and waist circumference (WC) as screening tools for cardiovascular risk factors in Guadeloupe an women. *J Clin Epidemiol.* 2002; 55(10):990-6.
17. Garn SM, Leonard WR, Hawthorne VM. Three limitations of the body mass index. *Am J Clin Nutr.* 1986; 44(6):996-7.
18. McLaren DS. Three limitations of the body mass index. *Am J Clin Nutr.* 1987; 46(1):121.
19. Garrow JS. Three limitations of the body mass index. *Am J Clin Nutr.* 1988; 47(3):553.
20. Lipschitz DA. Screening for nutritional status in the elderly. *Primary Care.* 1994; 21(1):55-67.
21. Heymsfield SB, Wang J, Lichtman S, Kamen Y, Kehayias J, Pierson RN Jr. Body composition in elderly subjects: a critical appraisal of clinical methodology. *Am J Clin Nutr.* 1989; 50(5 Suppl):1167-75.
22. Durnin JVGA, Womersley J. Body fat assessed from total body density and estimations from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr.* 1974; 32(1):77-97.
23. Kuczmarski RJ. Need for body composition in elderly subjects. *Am J Clin Nut.* 1989; 50(5 Suppl):1150-7.
24. Schoeller DA. Changes in total body water with age. *Am J Clin Nutr.* 1989; 50(5 Suppl):1176-81.
25. Landi F, Onder G, Gambassi G, Pedone C, Carbonin P, Bernabei R. Body mass index and mortality among hospitalized patients. *Arch Intern Med.* 2000; 160(17):2641-4.
26. Burr ML, Phillips KM. anthropometric norms in the elderly. *Br J Nur.* 1984; 51(2):165-9.
27. Jackson AS, Stanforth PR, Gagnon J, Rankinen T, Leon AS, Rao DC, et al. The effect of sex, age and race on estimating percentage body fat from body mass index: The Heritage Family Study. *In J Obesity.* 2002; 26(6):789-96.
28. Costa OL, Santos DM, Nespoli CA, Centoducatte F, Souza EF, Lima EG, et al. Padrões de normalidade para medidas antropométricas - estudo sistemático em uma população adulta brasileira. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo.* 1987; 42(2):49-54.
29. Chumlea WC, Guo S, Roche AF. Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry. *J Am Diet Assoc.* 1988; 88(5):564-8.
30. Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc.* 1985; 33(2):116-20.
31. Najas MS. Avaliação do estado nutricional de idosos a partir da utilização da medida do comprimento da perna - *Knee Height* - como método preditor da estatura [mestrado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1995.

32. Prentice AM, Jebb SA. Beyond body mass index. *Obes Rev.* 2001; 2(3):141-7.
33. Bray GA. Pathophysiology of obesity. *Am J Clin Nutr.* 1992; 55(2 Suppl):488S-94S.
34. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Geneva, World Health Organization; 1998. Technical Report Series, 894.
35. Chumlea WC, Roche AF, Mukherjee C. Nutritional assessment in the elderly through anthropometry. 2nd ed. Columbus, OH: Ross Laboratories; 1984.
36. Ross R, Shaw KD, Rissanen J, Martel Y, de Guise J, Avruch L. Sex differences in lean and adipose tissue distribution by magnetic resonance imaging anthropometric relationships. *Am J Clin Nutr.* 1994; 59(6):1277-85.
37. Cohn SH, Ellis KJ, Vartsky D, Sawitsky A, Gartenhaus W, Yasumura S, et al. Comparison of methods of estimating body fat in normal subjects and cancer patients. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34(12):2839-47.
38. Deurenberg P, Yap M, van Staveren WA. Body mass index and percent body fat: a meta analysis among different ethnic groups. In *J Obesity.* 1998; 22(12):1164-71.
39. Manzon JE, Stampfer MJ, Hennekens CH, Willet WC. Body weight and longevity. *JAMA.* 1987; 257(14):593-7.
40. Abreu WC. Aspectos socioeconômicos, de saúde e nutrição, com ênfase no consumo alimentar, de idosos atendidos pelo Programa Municipal da Terceira Idade (PMTI), de Viçosa - MG [mestrado]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2003.
41. Tavares EL, Anjos LA. Perfil antropométrico da população idosa brasileira. Resultados da Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição. *Cad Saúde Pública.* 1999; 15(4):759-768.
42. Martins IS, Velásquez-Meléndez G, Cervato AM. Estado nutricional de grupamentos sociais da área metropolitana de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 1999; 15(1):71-8.
43. Stevens J, Juhaeri, Cai J, Jones DW. The effect of decision rules on the choice of a body mass index cutoff for obesity: examples from African American and white women. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75(6):986-92.
44. Johnson LE, Dooley PA, Gleick JB. Oral nutritional supplement use in elderly nursing home patients. *J Am Geriatric Soc.* 1993; 41(9):947-52.
45. Mattila K, Haavisto M, Rajala S. Body mass index and mortality in the elderly. *Br Med J.* 1986; 292(6524):867-8.
46. Rissanen A, Heliovaara M, Knekt P, Aromaa A, Reunanen A, Maatela J. Weight and mortality in Finnish men. *J Clin Epidemiol.* 1989; 42(8):781-9.
47. Rissanen A, Knekt P, Heliovaara M, Aromaa A, Reunanen A, Maatela J. Weight and mortality in Finnish women. *J Clin Epidemiol.* 1991; 44(8):787-95.
48. Hanson RL. The U-shaped association between body mass index and mortality: relationship with weight gain in a native American population. *J Clin Epidemiol.* 1995; 48(7):903-916.
49. Allison DB, Gallagher D, Heo M, Pi-Sunyer FX, Heymsfield SB. Body mass index and all-cause mortality among people age 70 and over: the longitudinal Study of Aging. *Int J Obesity.* 1997; 21(6):424-31.
50. Kalmijn S, Cutb JD, Rodriguez BL, Yano K, Abbott RD. The association of body weight and anthropometry mortality in elderly men: the Honolulu Herat Program. In *J Obesity.* 1999; 23(4):395-402.
51. Heitmann BL, Erikson H, Ellsinger BM, Mikkelsen KL, Larsoon B, et al. Mortality associated with body fat, fat free mass and body mass index among 60-year-old Swedish men - a 22-year follow-up. The study of men born in 1913. In *J Obesity.* 2000; 24(1):33-7.
52. Taylor DH Jr, Ostbye T. The effect of middle- and old-age body mass index on short-term mortality in older people. *J Am Geriatr Soc.* 2001; 49(10):1319-26.
53. Scott WK, Macera CA, Connman CB, Sharpe PA. Functional health status as a predictor of mortality in men and women over 65. *J Clin Epidemiol.* 1997; 50(3):291-96.
54. Grabowski DC, Ellis JE. High body mass index does not predict mortality in older people: analysis of the longitudinal study of aging. *J Am Geriatr Soc.* 2001; 49(7):968-79.
55. Woo J, Ho SC, Sham A. Longitudinal changes in body mass index and body composition over 3 years and relationship to health outcomes in Hong Kong Chinese age 70 and older. *J Am Geriatr Soc.* 2001; 49(6):737-46.
56. Lindsted KD, Singh PN. Body mass and 26 risk of mortality among men who never smoked: a re-analysis among men from the Adventist Mortality Study. *Int J Obesity.* 1998; 22(6):544-8.
57. Deurenberg-Yap M, Schmidt G, van Staveren WA, Deurenberg P. The paradox of low body mass index and high body fat percentage among Chinese, Malays and Indians in Singapore. In *J Obesity.* 2000; 24(8):1011-7.

Recebido para publicação em 26 de fevereiro e aceito em 23 de setembro de 2004.

Atuação da equipe multidisciplinar na terapia nutricional de pacientes sob cuidados intensivos

The action of a multidisciplinary team in the nutritional care of critically ill patients

Heitor Pons LEITE^{1,2}

Werther Brunow de CARVALHO^{1,2}

Juliana Fernandez SANTANA e MENESES^{3,4}

RESUMO

Pacientes hospitalizados podem ter necessidades nutricionais especiais em função da desnutrição e dos desequilíbrios metabólicos impostos pelas doenças. A terapia nutricional, principalmente nos estágios críticos das enfermidades, deve ser administrada de modo seguro e eficaz. Vários estudos têm avaliado o papel da equipe multidisciplinar na administração da terapia nutricional. Com o objetivo de identificar os problemas inerentes à administração da terapia nutricional em pacientes hospitalizados e verificar o impacto da atuação de uma equipe multidisciplinar na qualidade dos procedimentos, foi realizada uma revisão que analisou artigos publicados entre 1980 e 2004 sobre o papel da atuação de equipes multidisciplinares no cuidado e na evolução nutricional de pacientes hospitalizados, principalmente os que se encontravam sob cuidados intensivos. Os termos utilizados na pesquisa foram: "multidisciplinary team", "nutritional support", "parenteral nutrition", "enteral feeding", "critically ill", "intensive care unit", "critically ill child". Dos 130 estudos inicialmente identificados, foram selecionados 24, dos quais 14 compararam o padrão de terapia nutricional com e sem a presença da equipe multidisciplinar. Os principais problemas detectados na administração de terapia nutricional em pacientes hospitalizados foram a oferta inadequada de nutrientes, as complicações infecciosas e metabólicas e o uso excessivo de nutrição parenteral. Nos estudos comparativos, a presença da equipe multidisciplinar melhorou o padrão de oferta nutricional, reduziu a incidência de complicações e os custos.

Termos de indexação: apoio nutricional, desnutrição, nutrição enteral, nutrição parenteral, unidade de cuidados intensivos.

¹ Departamento de Pediatria, Disciplina de Nutrologia, Universidade Federal de São Paulo. Rua Loefgreen, 1647, 04040-032, São Paulo, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: H.P. LEITE. E-mail: <bri1259@terra.com.br>.

² Unidade de Cuidados Intensivos Pediátricos, Hospital São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

³ Equipe Multidisciplinar de Terapia Nutricional, Hospital São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Mestranda, Disciplina de Nutrologia, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

ABSTRACT

Hospitalized patients may have special nutrient requirements imposed by a combination of malnutrition and enhanced utilization of nutrients resulting from the disease process. Nutritional support, mainly during critical stages of disease, should be provided safely and effectively. Several studies have evaluated the paper of a multidisciplinary team in the administration of a nutritional therapy. Individually, the majority of these studies are underpowered to evaluate an effect on the quality of nutritional care. With the objective to identify problems inherent to the supply of nutritional support to hospitalized patients and verify the impact of the actions of a multidisciplinary team on the quality of these procedures, we analysed articles that have been published between 1980 and 2004 about the role of the action of multidisciplinary teams in the care and nutritional outcome of hospitalized patients, especially those undergoing intensive care. The terms used for the search were: "multidisciplinary team", "nutritional support", "parenteral nutrition", "enteral feeding", "critically ill", intensive care unit, "critically ill child". Of 130 studies, initially identified, just 24 were selected, of which 14 compared the standard of nutritional therapy with and without the presence of a multidisciplinary team. The inadequate supply of nutrients, infection and metabolic complications and the excessive use of parenteral nutrition were the main problems detected in the supply of nutritional support to hospitalized patients. In the comparative studies, the presence of the multidisciplinary team improved the pattern of nutritional support, and reduced the incidence of complications and the costs.

Indexing terms: *nutritional support, malnutrition, enteral nutrition, parenteral nutrition, intensive care unit.*

INTRODUÇÃO

Mesmo com os avanços da terapia nutricional e metabólica nas últimas décadas, a desnutrição continua sendo comum em pacientes hospitalizados, com prevalência variando entre 30% e 65% nos diferentes estudos¹⁻³, e podendo estar presente no momento da admissão hospitalar ou desenvolver-se no decorrer da internação.

Em estudo realizado pela Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral (SBNPE), observou-se que aproximadamente 30% dos pacientes hospitalizados tornavam-se desnutridos nas primeiras 48 horas de internação. Em três a sete dias esse percentual aumentava em 15%, chegando a 60% depois de quinze dias de internação².

Pacientes com infecções graves, traumatismos ou em pós-operatório de grandes cirurgias são particularmente vulneráveis a desenvolver desnutrição. Ingestão diminuída, restrição de oferta hídrica, instabilidade hemodinâmica, diminuição da absorção e interação droga-nutriente³ podem ser situações de risco nutricional¹. Além desses fatores, a pouca atenção dos profissionais de saúde ao cuidado nutricional - levando à indicação inadequada, à falta de avaliação

nutricional e à monitoração pouco freqüente - é comumente observada e pode contribuir para a desnutrição¹⁻³.

Dada a complexidade dos fatores envolvidos na monitoração do paciente hospitalizado e no tratamento da desnutrição hospitalar, a formação de uma equipe multidisciplinar pode ser fundamental para assegurar atenção adequada aos pacientes hospitalizados⁴⁻⁶. O trabalho conjunto de especialistas com formações distintas permite integrar, harmonizar e complementar os conhecimentos e habilidades dos integrantes da equipe para cumprir o objetivo proposto, que é o de identificar, intervir e acompanhar o tratamento dos distúrbios nutricionais⁴.

Atualmente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamenta a formação de Equipe Multidisciplinar de Terapia Nutricional (EMTN), obrigatória nos hospitais brasileiros. Essa regulamentação é regida pelas portarias 272 (Regulamento Técnico de Terapia de Nutrição Parenteral) e 337 (Regulamento Técnico de Terapia de Nutrição Enteral). Fazem parte das atribuições da EMTN: definir metas técnico-administrativas, realizar triagem e vigilância nutricional, avaliar o estado nutricional, indicar terapia nutricional e metabólica, assegurar

condições ótimas de indicação, prescrição, preparação, armazenamento, transporte, administração e controle dessa terapia; educar e capacitar a equipe; criar protocolos, analisar o custo e o benefício e traçar metas operacionais da EMTN^{7,8}.

Na maioria dos hospitais brasileiros, a EMTN funciona como uma equipe de apoio, ou seja, a equipe assistencial conduz o doente, e a EMTN, por sua vez, estabelece diretrizes gerais e protocolos de conduta nutricional. Em outros hospitais, a EMTN tem atuação clínica avaliando diretamente os doentes mediante solicitação da equipe assistencial.

Em 1991, a ASPEN (Sociedade Americana de Nutrição Enteral e Parenteral) pesquisou 1 680 hospitais nos Estados Unidos, encontrando a presença de EMTN em apenas 29,0% deles. Um estudo realizado em 833 hospitais na Alemanha verificou que 5,6% contavam com a atuação da EMTN de forma satisfatória. No Reino Unido, a EMTN estava presente em 37,3% dos hospitais. No Brasil, a SBNPE, em 1997, pesquisando 232 hospitais dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, observou que apenas 20,0% tinham EMTN formada⁵.

Ao observar a importância da terapia nutricional em crianças internadas em Unidade de Cuidados Intensivos Pediátricos (UCIP), em 1992, um médico especialista na área iniciou o acompanhamento nutricional dos pacientes gravemente doentes no Hospital São Paulo. A partir de 1993, instituiu-se um programa de educação continuada para residentes e em 2001 foi implantada a equipe multidisciplinar com médicos e nutricionistas para o acompanhamento diário e sistemático da evolução nutricional dos pacientes internados na unidade.

Por meio de revisão criteriosa da literatura, procurou-se identificar os problemas inerentes à administração da terapia nutricional aos pacientes hospitalizados e verificar o impacto da atuação da equipe multidisciplinar na qualidade desse procedimento.

Foram utilizadas as bases de dados Pubmed e Lilacs, para revisão bibliográfica, tendo sido

pesquisados estudos publicados de 1980 a 2004 referentes à atuação da equipe multidisciplinar em hospitais e principalmente em pacientes sob cuidados intensivos. Procurou-se identificar estudos que comparassem grupos de pacientes com e sem monitoração de equipe multidisciplinar e os que relatavam a atuação dessa equipe na área clínica. Os termos utilizados para a busca foram: "*multidisciplinary team*", "*nutritional support*", "*parenteral nutrition*", "*enteral feeding*", "*critically ill*", "*intensive care unit*", "*critically ill child*".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados inicialmente 130 estudos, dos quais foram selecionados 24 por atenderem aos critérios desta pesquisa. Desses, 14 eram estudos comparativos e somente um foi feito com pacientes pediátricos.

Os estudos comparativos relatando o impacto da EMTN na qualidade da terapia nutricional e metabólica estão nos Anexos 1 e 2.

O suporte nutricional e metabólico adequado, principalmente em pacientes sob cuidados intensivos exige um planejamento que deve incluir avaliação e monitoramento sistemáticos do estado metabólico e nutricional. Contudo, freqüentemente são observadas falhas nesse aspecto. Estudos revelam que, quando não há monitoramento por EMTN a avaliação nutricional é feita em 3% a 7% dos pacientes hospitalizados. Já na presença dessa equipe, a avaliação ocorre em 37% a 68% dos doentes⁹⁻¹¹.

Tais pacientes apresentam limitações de ingestão e absorção dos nutrientes, o que os coloca em risco nutricional. Existem métodos para repor ou suplementar as necessidades individuais, porém, quando usados de maneira imprópria, podem levar a complicações metabólicas, infecciosas e mecânicas. Os trabalhos que compararam a administração da terapia nutricional e metabólica, com ou sem a presença de uma equipe multidisciplinar, mostraram diminuição significativa de complicações metabólicas^{9,12-15},

redução da incidência de infecção^{10,12,14-16} e das complicações mecânicas^{12,14-16}.

Além de redução das complicações, alguns estudos mostraram que a presença de equipe multidisciplinar aumentou a freqüência de avaliação nutricional^{9,10,17,18}, proporcionou oferta mais adequada de nutrientes¹⁸, indicação mais apropriada de NP^{19,20} e diminuição de custos^{9,19-21}.

Os estudos que relataram a diminuição do uso de NP e de custos não discriminaram se os pacientes estavam sob cuidados intensivos ou não^{9,19,20}, e não informaram sobre as características clínicas dos pacientes estudados²¹, impedindo uma melhor conclusão sobre os resultados obtidos.

Para avaliar a eficácia do trabalho multidisciplinar em um hospital britânico, Newton acompanhou durante um ano a qualidade no cuidado nutricional e a presença de complicações, a partir da formação de uma equipe multidisciplinar. Nesse período foi observada redução significativa dos custos da NP, assim como de perdas por bolsas desprezadas e diminuição de prescrição inapropriada da TNP. Outro dado relevante deste estudo foi a redução de complicações infecciosas. Provavelmente isso ocorreu devido ao fato da NP ter sido administrada em via exclusiva e também ter sido monitorada por um membro treinado da equipe. Programas de educação continuada foram ministrados, podendo ser esse outro fator que contribuiu para os resultados favoráveis²².

Em estudo retrospectivo e multicêntrico em hospitais alemães, avaliou-se a prevalência e a estrutura da EMTN e verificou-se se havia diferença em relação à terapia nutricional entre os que contavam e os que não contavam com a equipe multidisciplinar. Concluiu-se que há baixa prevalência de EMTN na Alemanha e que nos hospitais que contavam com essas equipes houve redução do tempo de internação, da incidência de complicações, redução de custos, maior uso de nutrição enteral em relação à parenteral e redução da morbidade⁸.

Embora tenha havido progresso na qualidade da terapia nutricional ao longo do

tempo, estudos revelam que a abordagem multidisciplinar tem se restringido principalmente à população adulta. Em crianças, especialmente no período neonatal, há maior necessidade de NP, atraso de crescimento secundário à prematuridade e intolerância à NE, fatores que tornam preocupante a ausência do cuidado multidisciplinar¹¹.

No único estudo pediátrico comparativo levantado, a avaliação do padrão da terapia nutricional e metabólica em pacientes internados na unidade de cuidados intensivos de um hospital-escola detectou deficiências como falta de avaliação nutricional e metabólica, oferta inadequada de macro e micronutrientes e uso preferencial da via parenteral em relação à enteral, sendo na ocasião sugerida a criação de uma equipe multidisciplinar¹. Após um programa de educação continuada para os médicos residentes, essas deficiências foram parcialmente solucionadas¹⁷, mas ainda assim foi reforçada a necessidade do acompanhamento multiprofissional.

Em que pesem os efeitos benéficos da equipe multidisciplinar na qualidade da terapia nutricional, nem todos os hospitais contam com uma equipe atuante. Estudos em países europeus têm revelado pouca aceitação da EMTN nos hospitais, fato atribuído ao possível aumento dos custos hospitalares^{2,8}. Por outro lado, há evidências recentes que sugerem que a atuação de uma equipe multidisciplinar na nutrição parenteral é um fator de redução de custos hospitalares²³.

Outro estudo retrospectivo em adultos que receberam NP durante sete meses comparou a qualidade da NP com e sem a presença de uma EMTN. Os resultados desse estudo revelaram redução significativa de complicações por cateter venoso, maior freqüência de avaliação nutricional, uso do balanço nitrogenado e maior número de pacientes com necessidades nutricionais alcançadas¹⁰. Não houve diferença para complicações metabólicas e em relação à mortalidade. Alguns desses resultados podem não ser fidedignos, pois os grupos comparados eram heterogêneos do ponto de vista nutricional e, além

disso, dizem respeito a pacientes gravemente doentes.

É oportuno ressaltar que a atuação dessa equipe nos hospitais em que a EMTN tem atuação direta no acompanhamento dos doentes, principalmente na área específica de cuidados intensivos, é um fato inovador e requer tempo para adaptação do corpo clínico envolvido no cuidado dos pacientes. Inicialmente podem ocorrer problemas de aceitação da EMTN por parte da própria equipe assistencial, o que pode prejudicar o trabalho e a qualidade da atenção ao doente. Para a atuação ser efetiva, é necessária a convivência harmoniosa entre essa equipe e o corpo clínico e assistencial. Por vezes, a equipe assistencial, responsabilizada pelo acompanhamento diário dos pacientes, pode se sentir insatisfeita frente às mudanças nas rotinas. Esse seria um dos motivos para a não aceitação da EMTN.

A pouca informação sobre nutrição durante a graduação profissional pode acarretar desinteresse por essa área e provavelmente aumentar a chance de indicação inadequada da terapia nutricional. Essa observação pode ser estendida ao nutricionista, que habitualmente não tem experiência com o uso de NP. Há também deficiência quantitativa no quadro de nutricionistas atuando na área clínica, com conseqüente prejuízo na assistência nutricional.

Pesquisa feita pela *British Association of Parenteral Enteral Nutrition* (BAPEN) em 1996 revelou que apenas 29% dos farmacêuticos têm atuação na área de nutrição clínica. Essa deficiência pode, por sua vez, favorecer o aumento da ocorrência de incompatibilidades droga-nutriente, evento que exige atenção especial, principalmente em pacientes que estão em uso concomitante de diversos medicamentos. A incompatibilidade droga-nutriente pode diminuir a absorção ou até inativar medicamentos²⁴.

Há que se considerar também a pouca ênfase ao trabalho em equipe durante a graduação e pós-graduação; o trabalho em conjunto deveria ser mais explorado ao formar os profissionais que irão para o ensino e para a

assistência^{24,25}. Ao perceber a necessidade de profissionais aptos a exercerem a prática clínica, relacionando-a aos avanços da pesquisa, uma universidade americana criou o doutorado em nutrição clínica. O programa de doutorado habilita o pós-graduando a trabalhar na prática clínica juntamente à pesquisa²⁵. Essa estratégia poderia melhorar os modelos assistenciais que priorizam o trabalho em equipe, refletindo no ensino, pesquisa e na assistência em geral.

Embora alguns estudos tenham confirmado a necessidade e os benefícios da presença da EMTN na terapia nutricional de pacientes hospitalizados^{11,26}, as dificuldades na implantação dessa equipe têm sido a falta de informação e de recursos disponíveis, as questões de política hospitalar e a pouca aceitação por parte da equipe assistencial, além das próprias dificuldades relacionadas à gravidade dos pacientes em estado crítico.

Esta revisão da literatura permitiu concluir que há falhas na terapia nutricional de pacientes hospitalizados e que a presença de uma equipe multidisciplinar pode reduzir as deficiências nutricionais, as complicações e os custos.

O processo de implantação dessa equipe deve ser gradual e as dificuldades deverão ser resolvidas pela informação e pela educação continuada em nutrição. As informações devem ser transmitidas e trabalhadas em conjunto com os profissionais das diversas áreas, de modo a favorecer a integração de todos os envolvidos no cuidado do paciente. A aplicação de protocolos, a integração e a colaboração entre os membros da equipe multidisciplinar e a equipe assistencial já existente no serviço na solução dos problemas devem se incorporar à rotina de trabalho, contribuindo assim para a melhoria na qualidade da assistência prestada aos doentes.

REFERÊNCIAS

1. Leite HP, Iglesias SBO, Faria CMS, Carvalho WB. Nutritional and metabolic assessment of critically ill children. *Rev Ass Med Brasil*. 1996; 42(4): 215-21.

2. Waitzberg DL, Caiaffa WT, Correia MI. Hospital malnutrition: the Brazilian national survey (IBRANUTRI): a study of 4000 patients. *Nutrition*. 2001; 17(7-8):573-80.
3. Han-Markey TL, Wesley JR. *Pediatric Critical Care*. American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. 1999. Chap. 34:34.1-34.10
4. Penié JB, Porbén SS, González CM, Ibarra AMS. Grupo de apoyo nutricional hospitalario: diseño, composición y programa de actividades. *Rev Cubana Aliment Nutr*. 2000; 14(1):55-64.
5. Silva MLT. A Importância da equipe multiprofissional em terapia nutricional. In: Waitzberg DL. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica*. São Paulo: Atheneu; 2000. p.1627-34.
6. Nehme AE. Nutritional support of the hospitalized patient. *JAMA*. 1980; 43(19):1906-8.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RDC nº63, de 6 de julho de 2000. Aprova o regulamento técnico para fixar requisitos mínimos exigidos para a terapia de nutrição enteral. *Diário Oficial da União; Poder Executivo*, de 7 de julho de 2000. Revoga a portaria nº 337 de 14 de abril de 1999.
8. Senkal M, Dormann A, Stehle P, Shang E, Suchner U. Survey on structure and performance of nutrition-support teams in Germany. *Clin Nutr*. 2002; 21(4):329-35.
9. ChrisAnderson D, Heimburger DC, Morgan SL, Geels WJ, Henry KL, Conner W, et al. Metabolic complications of total parenteral nutrition: effects of a nutrition support service. *JPEN*. 1996; 20(3):206-10.
10. PNG DJC, Ong C, Chan S. Surgical nutritional team and its impact on total parenteral nutrition in the National University Hospital, Singapore. *Int J Clin Pract*. 1997; 51(6):350-2.
11. Mayfield SR, Albrecht J, Roberts L, Lair C. The role of the nutritional support team in neonatal intensive care. *Semin Perinatol*. 1989; 13(2): 88-96.
12. Fettes SB, Lough M. An audit of the provision of parenteral nutrition in two acute hospitals: team versus non-team. *Scot Med J*. 2000; 45(4):121-5.
13. Newton R, Timmis L, Bowling TE. Changes in parenteral nutrition supply when the nutrition support team controls prescribing. *Nutrition*. 2001; 17(4):347-50.
14. Brown RO, Carlson SD, Cowan GSM, Powers DA, Luther RW. Enteral nutritional support management in a University Teaching Hospital: team vs nonteam. *JPEN*. 1987; 11(1):52-6.
15. O'Brien DD, Hodges RE, Day AT, Waxman KS, Rebello T. Recommendations of nutrition support team promote cost containment. *JPEN*. 1986; 10(3):300-2.
16. Dalton MJ, Schepers G, Gee JP, Alberts CC, Eckhauser FE, Kirking DM. Consultative total parenteral nutrition teams: the effect on the incidence of total parenteral nutrition-related complications. *JPEN*. 1984; 8(2):146-52.
17. Leite HP, Iglesias SBO, Faria CMS, Ikeda AM, Albuquerque MP, Carvalho WB. Evolution of the nutritional support pattern in pediatric intensive care. *São Paulo Med J*. 1998; 116(1):1606-12.
18. Goldstein M, Braitman LE, Levine GM. The medical and financial costs associated with termination of a nutrition support nurse. *JPEN*. 2000; 24(6): 323-7.
19. Schwartz DB. Enhanced enteral and parenteral nutrition practice and outcomes in an intensive care unit with a hospital-wide performance improvement process. *J Am Diet Assoc*. 1996; 96(5):484-9.
20. Traeger SM, Williams GB, Milliren G, Young DS, Fisher M, Haug T. Total parenteral nutrition by a nutrition support team: improved quality of care. *JPEN*. 1986; 10(4):408-12.
21. Gales BJ, Riley DG. Improved total parenteral nutrition therapy management by a nutritional support team. *Hosp Pharm*. 1994; 29(5):469-70, 473-5.
22. Powers DA, Brown RO, Cowan GSM, Luther RW, Sutherland DA, Drexler PG. Nutritional support team vs nonteam management of enteral nutritional support in a veterans administration medical center teaching hospital. *JPEN*. 1986; 10(6):635-8.
23. Naylor CJ, Griffiths RD, Fernandez RS. Does a multidisciplinary total parenteral nutrition team improve patient outcomes? A systematic review. *JPEN*. 2004; 28(4):251-8.
24. Pennington CR. *Current perspectives on parenteral nutrition in adults*. Maidenhead: BAPEN; 1996.
25. Touger-Decker R. The new advanced clinical nutrition degree: the practice doctorate in clinical nutrition. *Nutrition*. 2004; 20(5):494-5.
26. Gales BJ, Gales MJ. Nutritional support teams: a review of comparative trials. *Ann Pharmacother*. 1994; 28(2):227-35.
27. Maurer J, Weinbaum F, Turner J, Brady T, Pistone B, D'Addario V, et al. Reducing the Inappropriate Use of The Parenteral Nutrition in an Acute Care Teaching Hospital. *JPEN*. 1996; 20(4):272-4.

Recebido para publicação em 25 de setembro de 2003 e
aceito em 23 de agosto de 2004.

ANEXO 1

ESTUDOS COMPARATIVOS SOBRE A ATUAÇÃO DA EQUIPE MULTIDISCIPLINAR NA TERAPIA NUTRICIONAL E METABÓLICA

Estudos	Participantes	Métodos	Resultados
Nehme ⁶ (1980)	375 pacientes adultos recebendo NP.	Estudo prospectivo comparando 2 grupos: A: monitorado por EMTN. B: não monitorado por EMTN.	O grupo B apresentou: - maior incidência de complicações metabólicas, infecciosas e mecânicas, - menor frequência de avaliação nutricional.
Powers et al. ²² (1986)	101 pacientes adultos recebendo NE durante 5 meses.	Estudo prospectivo comparando pacientes com monitoração de EMTN (n=50) e em monitoração de EMTN (n=51).	Monitoração da EMTN: - reduziu complicações mecânicas, metabólicas, infecciosas, - aumentou número de pacientes com necessidades nutricionais contempladas, - houve maior uso de balanço nitrogenado.
ChrisAnderson et al. ⁹ (1995)	363 pacientes adultos clínicos e cirúrgicos recebendo NP.	Estudo prospectivo comparando o padrão da TN sem equipe multidisciplinar (1979) e posteriormente com equipe multidisciplinar (1992).	No grupo de pacientes monitorados por EMTN houve redução de complicações metabólicas (hiperglicemia e hipofosfatemia).
Schwartz ¹⁹ (1996)	Pacientes adultos críticos e cirúrgicos que utilizaram NE ou NP por 2 meses.	Estudo prospectivo que avaliou a TN antes e após 2 anos de programas educacionais e criação de equipe multidisciplinar.	Necessidades energético-protéicas atingidas em maior número de pacientes e aumento do uso da NE.
Maurer et al. ²⁷ (1996)	50 pacientes adultos clínicos e cirúrgicos que receberam NP.	Estudo prospectivo com formação de EMTN para avaliar o uso da NP.	Após criação da equipe houve diminuição de custos e de uso inapropriado da NP.
Fettes et al. ¹² (2000)	47 pacientes adultos recebendo NP.	Estudo prospectivo que comparou a TN em 2 hospitais. Um com monitoração da EM e outro sem a presença da EM.	No hospital com EMTN, a maioria dos pacientes tiveram as necessidades nutricionais estimadas, redução de custos, e de complicações metabólicas.
Newton ¹³ (2001)	Pacientes adultos, hospitalizados, recebendo NP.	Avaliou-se a NP durante um ano após a formação da EMTN.	- redução de custos - redução de prescrição inadequada. - redução de complicações infecciosas.

TN= terapia nutricional; NE= nutrição enteral; NP= nutrição parenteral.

ANEXO 2

ESTUDOS COMPARATIVOS SOBRE A ATUAÇÃO DA EQUIPE MULTIDISCIPLINAR NA TERAPIA NUTRICIONAL E METABÓLICA

Estudos	Participantes	Métodos	Resultados
Dalton et al. ¹⁶ (1984)	Adultos recebendo NP: Grupo A: 28 pacientes controle. Grupo B: 29 pacientes monitorados pela EMTN.	Estudo prospectivo avaliando o padrão de TN com e sem EMTN.	No grupo que recebeu monitoração houve redução de complicações metabólicas e infecciosas.
O'Brien et al. ¹⁵ (1986)	Pacientes que receberam NP ou NE (n=31) durante o período de dezesseis meses.	Estudo retrospectivo comparando a diferença de custo e a adequação da TN quando iniciada por EMTN e quando pela própria equipe assistencial.	A presença da EMTN aumentou o uso da NE e diminuiu os custos da TN.
Traeger et al. ²⁰ (1986)	Todos os pacientes adultos (69) que receberam NP durante sete meses.	Estudo retrospectivo que comparou o padrão da NP com e sem acompanhamento de EMTN.	No grupo com EMTN houve: avaliação nutricional em todos os pacientes, balanço nitrogenado feito com maior frequência e houve também redução das complicações infecciosas.
Brown et al. ¹⁴ (1987)	Pacientes adultos (n=102) recebendo NE durante três meses e meio.	Estudo prospectivo comparando pacientes com e sem monitoração de EMTN.	Os pacientes monitorados por EM tiveram necessidades nutricionais satisfeitas e redução de complicações mecânicas, metabólicas e infecciosas.
Gales et al. ²¹ (1994)	Pacientes adultos (n=28) que receberam NP durante duas semanas: Com EMTN: 11 pacientes. Grupo Controle: 17 pacientes.	Estudo prospectivo avaliando o padrão de TN com e sem EMTN.	No grupo monitorado por EMTN houve melhor planejamento nutricional e maior oferta energético protéica.
PNG et al. ¹⁰ (1997)	Pacientes cirúrgicos (54) durante 6 meses antes da formação da EMTN e (43) após a formação da EMTN.	Estudo de coorte histórico prospectivo comparando o padrão da TN antes e depois da formação da EMTN.	Após formação da EMTN houve maior adequação da TN e diminuição das complicações mecânicas e infecciosas.
Leite et al. ¹⁷ (1998)	Todas as crianças (72) que receberam TN durante no mínimo 5 dias: Fase I- 37 crianças. Fase II- 35 crianças após programa de educação.	Coorte histórico que avaliou a TN em crianças internadas em UCI antes e depois de um programa de educação continuada.	Após o programa houve aumento do uso de NE, adequação da oferta de energia e micronutrientes e aumento da frequência de avaliação nutricional.

TN= terapia nutricional; NE= nutrição enteral; NP= nutrição parenteral.

Pirâmides alimentares: uma leitura semiótica

Food guide pyramids: a semiotic way of reading

Haydée Serrão LANZILLOTTI^{1,2}

Sílvia Regina Magalhães COUTO²

Fernanda da Motta AFONSO²

RESUMO

A semiótica é uma ciência que sistematiza e desvela o mundo dos signos, descrevendo-os e classificando-os segundo uma lógica. Existem três espécies de signos: ícones, índices e símbolos. As pirâmides alimentares são, primeiramente, ícones que podem se desenvolver até símbolos. Sob o enfoque da Nutrição, as pirâmides alimentares são consideradas ferramentas de orientação que podem transmitir conhecimentos relativos a uma alimentação considerada adequada. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial comunicativo da pirâmide alimentar na perspectiva da semiótica. Neste ensaio, foram analisadas três pirâmides alimentares: *United State Department of Agriculture* de 1992, de Philippi, de 1999 e de Willet e Stampfer, de 2003. O nível hierárquico em que o grupo de alimentos se encontra é o elemento informativo fundamental.

Termos de indexação: hábitos alimentares, nutrição, pirâmide alimentar.

ABSTRACT

Semiotics is a science that systematizes and reveals the world of signs, describing and classifying them according to logic. There are three kinds of sign: icons, indexes and symbols. The food guide pyramids are, in first place, icons, which can develop into symbols. Considering the focus of Nutrition, the food guide pyramids are considered as orientation tools that can transmit knowledge related to feeding considered adequate. The objective of this paper was to show the communicative potential of the food guide pyramids from the semiotics perspective. In this trial, three food guide pyramids were analyzed. The United States Department of Agriculture, 1992, Philippi, 1999 and Willet & Stampfer, 2003. In every food guide pyramid the hierarchic "level" in which a group of foods is found is the primordial informative element.

Indexing terms: food habits, nutrition, food guide pyramid.

¹ Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rua São Francisco Xavier, 254, 12º andar, Bloco D-12001, Maracanã, 20550-013, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: H.S.LANZILLOTTI. E-mail: <haydeelan@uol.com.br>.

² Departamento de Nutrição, Universidade Gama Filho. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

INTRODUÇÃO

Os guias alimentares, ferramentas de orientação à população que visam à promoção da saúde por meio da formação de hábitos alimentares adequados, adapta conhecimentos científicos sobre recomendações nutricionais e composição de alimentos para veicular mensagens práticas que facilitem, ao maior número de pessoas, a seleção e o consumo adequados de alimentos, levando-se em consideração os fatores antropológicos, culturais, educativos, sociais e econômicos¹. Um dos motivos para a sua elaboração é prevenir excessos e carências nutricionais, uma vez que a essencialidade de sua mensagem é a moderação e a proporcionalidade².

A representatividade dos guias alimentares por meio de uma expressão gráfica para os diferentes países deve ter um símbolo que melhor os represente. Deve reunir os pressupostos da nutrição adequada e eleger uma forma de comunicação capaz de causar o impacto necessário. A representação gráfica tem o propósito de ajudar o público-alvo a recordar facilmente os alimentos a incluir na dieta e suas proporções¹.

As representações estão baseadas em alguns alvos ditados a partir de estudos epidemiológicos nutricionais: ingestão de uma dieta variada em alimentos, manutenção do peso ideal, redução ou aumento da massa corporal, redução dos níveis sanguíneos de gorduras saturadas e colesterol, aumento do consumo das fibras alimentares e redução da ingestão dos carboidratos simples, moderação do sódio da dieta, e consumo moderado de bebidas alcoólicas³.

Dentre os guias alimentares, destaca-se a pirâmide por sua maior divulgação. Nela os alimentos são reunidos em grupos e para estabelecer o tamanho das porções foram considerados quatro fatores: tamanho da porção típica de consumo da população, facilidade de uso, conteúdo de nutriente e tradição⁴.

Sua divulgação em grupos populacionais permite que seja reconhecida como um signo e

ainda que se reflita sobre em que condições da prática dietética pode ser repensada, de modo que os conceitos de uma dieta desejável fiquem claros.

É nesse sentido que ela necessita ser entendida e utilizada como ferramenta didática na operacionalidade do processo de educação nutricional. O destinatário é a garantia da comunicação quando o desejo é democratizar o saber em alimentação e nutrição.

O nutricionista ou outro profissional de saúde familiarizado com as cognições da alimentação e nutrição sabe que uma dieta inadequada pode representar risco. A Alimentação e a Nutrição são um sistema complexo, justificando o uso de guias alimentares na tentativa de formar hábitos alimentares adequados. A comunicação dos conceitos existentes no código da alimentação e nutrição deve ser capaz de prover as condições necessárias às mudanças de comportamento no ato de comer.

O princípio semiótico de uma pirâmide alimentar é a simultaneidade entre regras nutricionais emanadas do consenso técnico-científico e respeito aos aspectos culturais do sistema de significações que representam a alimentação de uma comunidade.

Toda a análise de um objeto pode ser considerada como um problema semiótico. Assim, a análise de representações pictóricas como as pirâmides alimentares em nutrição não se furtam desse desígnio semiótico.

Neste ensaio o objetivo é evidenciar o potencial comunicativo das pirâmides alimentares.

Pirâmides alimentares sob o enfoque semiótico

A semiótica é uma ciência que sistematiza e desvela o mundo dos signos, descrevendo e classificando-os de forma lógica⁵. Semiótica quer dizer todas as linguagens, uma vez que o homem não vive apenas com a linguagem verbal, mas

necessita de infinitas outras linguagens para se comunicar.

Partindo-se da definição de que a semiótica estuda todos os processos culturais que estabelecem um sistema de significações, é absolutamente necessário reconhecer que o processo de significação só existe quando existe um código. Um código é um sistema de significação que une entidades presentes e ausentes. Quando algo está presente à percepção do destinatário, sua compreensão sobre o seu significado depende de uma série de regras a que se chama código⁶.

Os guias alimentares e suas formas pictóricas representam um conjunto de regras (código), para alimentação adequada destinada a um determinado grupo populacional. O ato de percepção do destinatário e seu comportamento interpretativo não são condições necessárias de relação de significação⁶, basta que o código (leis alimentares) estabeleça uma correspondência entre a quantidade de alimentos e seu correlato (pirâmide).

Um sistema de significação é um construto semiótico, ou seja, um conjunto de princípios verdadeiros ou falsos de onde se deduzem conclusões coordenadas entre si, sobre as quais se estabelece uma doutrina, opinião ou teoria^{6,7}.

Quando um código se associa aos elementos de um sistema de cognições, cada elemento se torna a expressão do seu correspondente, que, por seu turno, se torna o conteúdo do seu par. Sempre que ocorre uma correlação entre sinal e significação reconhecida por uma sociedade e em circunstâncias previstas pelo código, existe um signo. Assim, um signo intenta representar um objeto, mesmo que pareça ser de maneira falsa, uma vez que o sistema de significações não está concebido para estabelecer uma verdade, mas aproximações da verdade⁶.

Segundo Pierce⁸ são três os signos: ícones, índices e símbolos.

- Ícones estão na primeiridade dos signos e têm a função de substituir um objeto. Um signo por primeiridade é uma imagem de seu objeto, em termos mais estritos é uma idéia, pois só pode produzi-la como interpretante, ou seja, provoca a criação de uma imagem que fica retida no cérebro. Assim, a pirâmide é um ícone.

- O índice é aquele signo que gera indicações prováveis. Está na instância da secundidade. Se um leigo está num ambulatório de nutrição e se depara com uma pirâmide alimentar, ele é capaz de perceber apenas que a imagem é algo que se refere a alimentos. O leigo não pode relacionar a pirâmide a um código alimentar, ou seja, a um conjunto de regras que determina uma dieta nutricionalmente desejável. Se um intérprete lhe fornece as cognições sobre esse código ele começa a possuir indicações prováveis e nesse segundo momento a pirâmide torna-se um índice. A partir daí, pode-se conjecturar sobre uma dieta adequada.

- O símbolo já exige que existam regras criadas por um intérprete, que determinará seu interpretante. Se um nutricionista ou algum profissional de saúde familiarizado com o código nutricional observa um guia alimentar, imediatamente é possível associar à imagem a idéia de uma dieta equilibrada.

Na teoria Peirceana⁽³⁾ entende-se por semiose uma ação que envolva interação entre três entes: um signo, o seu objeto e o seu interpretante⁸. Um signo é qualquer coisa que está para alguém no lugar de algo sob determinados aspectos ou capacidades. O signo não é o objeto. Ele apenas está no lugar do objeto⁹. Dessa forma, as pirâmides alimentares são entes pictóricos representativos de uma alimentação equilibrada - concebida por diferentes estudiosos da nutrição -, que pretende contribuir para a melhoria da qualidade de vida de indivíduos e grupos populacionais. Assim, as pirâmides são figuras que representam padrões de uma alimentação considerada equilibrada por um grupo de especialistas, que são seus intérpretes. A

³ Teoria peirceana; relativo a Pierce; semioticista; um estudioso do conjunto de princípios, que busca explicar qualquer caso da função signica em termos de sistemas subjacentes correlatos de um ou mais códigos⁶.

representação produz na mente do intérprete a combinação adequada dos alimentos relacionada aos pressupostos da Ciência da Nutrição.

Os entes signos, e entre eles a pirâmide, têm três propriedades que lhes permitem funcionar como um signo: a qualidade, a existência e seu caráter de lei. A qualidade depende da natureza do signo; a existência é a experiência concreta ou ação, e seu caráter de lei manifesta por meio de pensamentos numa série infinita de casos, que faz com que um caso singular se conforme e se amolde à sua generalidade¹⁰. Transpondo o fundamento do signo para os guias alimentares, tem-se que a qualidade é a natureza de sua representatividade gráfica: uma pirâmide para os Estados Unidos e Brasil, um prato para Inglaterra e México; um pagode para a Coréia e para a China². A experiência é a utilização da pirâmide como um guia alimentar acessível aos leigos. Nesse sentido, se o signo é criado e não ocupa um lugar no tempo e no espaço, ele perde seu poder de funcionar como um signo. A lei, da qual a pirâmide é portadora, fará com que cada vez que uma pessoa faça sua dieta habitual seja entendida por ela a necessidade de escolher os alimentos de forma a obedecer princípios de quantidade, qualidade, harmonia e adequação.

Ainda sob o prisma da semiótica, é necessário entender o conceito de interpretante. O interpretante não é o intérprete; pois é algo que assegura a validade do signo, mesmo na ausência do intérprete, ou seja, consiste naquilo que o signo está apto a produzir numa mente interpretadora, sem interlocutores. Por outro lado, o especialista tem a pirâmide como uma ferramenta comunicativa de tradução pictórica de uma alimentação desejável, uma vez que possui cognições em Comunicação e Nutrição que ainda não foram democratizadas ao leigo. Então, o intuito do uso de um ícone no processo de comunicação em nutrição é aproximar as percepções dos intérpretes (leigo e especialista) na construção do interpretante. Mas se a pirâmide for adotada como uma forma de intervenção educativa para democratizar o saber em Nutrição, a fim de que todas as pessoas sejam capazes de compor sua dieta de forma equilibrada, a pirâmide

vai se tornando um interpretante na medida de seu uso como forma de comunicação. A partir desse momento ela se torna um signo de uma semiose ilimitada.

A semiose ilimitada da pirâmide alimentar

O intuito da criação de guias alimentares, traduzidos em pirâmides à semelhança dos ícones adotados nos Estados Unidos, vai além da formação de uma opinião, uma vez que se espera que a cognição abra passagem para um comportamento desejável.

Procura-se, durante décadas, buscar formas pictóricas que representem a distribuição adequada dos alimentos nas refeições e ainda que possibilite a compreensão da população sobre o arranjo harmonioso dos alimentos.

O desafio é encontrar a melhor forma comunicativa de realizar tal intento.

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) apresentou oficialmente o Guia da Pirâmide Alimentar em 1992¹¹, sendo propostos quatro níveis. O primeiro nível compreende o grupo dos pães, cereais, arroz e massas, com seis a onze porções; o segundo, o grupo das verduras e legumes, com três a cinco porções e o grupo das frutas, com duas a quatro porções; o terceiro nível, grupo do leite, iogurte, queijos, com duas a três porções e grupo das carnes, aves, peixes, leguminosas, ovos e nozes, com duas a três porções; e o quarto nível, grupo das gorduras, óleos e açúcares com a recomendação de uso moderado.

A mensagem principal propõe a diminuição do consumo de gorduras e óleos, e o consumo aumentado de carboidratos complexos, como pães, cereais e massas. A pirâmide também recomenda quantidades generosas de verduras e legumes, incluindo a batata com aproximadamente 20% de carboidrato complexo.

A introdução da pirâmide com as porções de alimentos de cada grupo alimentar como um

signo da alimentação considerada correta e sua favorável repercussão na população americana do Norte foi um dos fatores que incentivaram a criação de uma outra pirâmide que traduzisse o consumo e o modo de preparo dos alimentos brasileiros. Assim, Philippi¹² propôs uma pirâmide que leva em consideração os hábitos alimentares da população brasileira. A segurança alimentar leva em conta, entre suas premissas, que se considere a dimensão do patrimônio cultural intrínseco nas preferências alimentares das comunidades locais e nas suas práticas de preparo e consumo¹³.

A pirâmide brasileira também foi construída em quatro níveis. O primeiro nível compreende o grupo dos cereais, pães, tubérculos, raízes (farinhas, massas, bolos, biscoitos, cereais matinais, arroz) com cinco a nove porções; o segundo nível, o grupo das hortaliças, com quatro a cinco porções e grupo das frutas com três a cinco porções; o terceiro nível, o grupo do leite e produtos lácteos, com três porções e grupo das carnes e ovos com uma a duas porções e o grupo das leguminosas com uma porção; o quarto nível, o grupo dos óleos e gorduras, com uma a duas porções e o grupo dos açúcares e doces com uma a duas porções. Estabeleceu as porções de alimentos com base em três dietas com valores de energia de 1 600, 2 200 e 2 800kcal, segundo o que recomenda o *Continuing Survey of Food Intake*¹⁴. Os alimentos foram distribuídos em seis refeições com o peso em gramas e medidas caseiras correspondendo às respectivas porções. Os alimentos foram reunidos em seis grupos e alocados nos quatro níveis citados anteriormente.

Willet & Stampfer¹⁵ apresentaram um outro Guia da Pirâmide Alimentar, no qual os grupos de alimentos se apresentam em seis níveis, considerando-se o desgaste energético advindo da atividade física, que está representada na base de sustentação da pirâmide, o que a diferencia das anteriormente citadas. Os autores dividiram sua pirâmide nos seguintes níveis: o primeiro, compreendendo o grupo dos cereais integrais e

dos óleos vegetais; o segundo, o grupo das verduras e legumes e o grupo das frutas com duas a três porções; o terceiro nível, o grupo das nozes, castanhas e leguminosas com uma a três porções; o quarto, o grupo dos pescados, aves e ovos com zero a duas porções; o quinto nível, o grupo dos laticínios ou suplemento de cálcio com uma a duas porções; e finalmente o sexto nível, grupo das carnes vermelhas e manteiga e grupo do arroz branco, pão branco, batata e massas.

Enquanto na pirâmide do USDA as carnes, ovos e leguminosas encontram-se dentro de um mesmo grupo, na de Willet & Stampfer¹⁵ as leguminosas alocam-se em um único grupo juntamente com nozes e castanhas. Em Philippi, as leguminosas foram agrupadas isoladamente por serem comuns na alimentação básica do brasileiro, principalmente o feijão.

Note-se que nesse lexema não está explicitado para os grupos do primeiro nível e para o grupo das verduras no segundo nível o número de porções de consumo desejável. No segundo caso, sugere-se uso abundante. Nessa pirâmide, as nozes saem do grupo de alimentos eminentemente protéicos (creditado na pirâmide do USDA) e passam a figurar nos energéticos. Importante notar a inversão das posições que assumem o óleo vegetal, que sai do quarto nível na pirâmide do USDA¹¹ para o primeiro nível na de Willet & Stampfer¹⁵; provavelmente foi resultado da incorporação de novas informações nutricionais nos liames dos padrões de alimentação.

A carne vermelha com a recomendação de duas a três porções junta-se à manteiga e assume o topo da pirâmide¹⁵, agora como vilões de uma alimentação considerada adequada. Nessa nova pirâmide, se propõe o uso de suplemento de cálcio e vitaminas múltiplas e ainda o uso de álcool com moderação, além dos alimentos preconizados nas outras pirâmides em apreço. Se o desejo é democratizar o saber em Nutrição, faz-se necessário também indicar as doses de bebidas alcoólicas consideradas

desejáveis, uma vez que moderação pode ser interpretada de diferentes formas por abstinências e alcoólatras.

Willet & Stampfer¹⁵ alertam que um número crescente de pesquisas indica que a pirâmide proposta pelo USDA¹¹ estava adaptada ao paradigma nutricional e dietético da época.

No que tange às gorduras, as pirâmides do USDA¹¹ e de Philippi¹² concentram as gorduras saturadas e insaturadas no mesmo grupo e sugerem sua restrição, já que estão alocadas no topo da pirâmide. Willet & Stampfer¹⁵ separam as gorduras em dois grupos, alocando-as radicalmente contra a sugestão do USDA. Óleos vegetais estão na base da pirâmide, significando que devem ser consumidos abundantemente enquanto gorduras saturadas estão alocadas no topo.

Entretanto, os intérpretes das pirâmides USDA¹¹, Philippi¹² e Willet & Stampfer¹⁵ não levaram em consideração o grau de insaturação da molécula de ácido graxo quando criaram os grupos de alimentos em suas pirâmides.

Tanto o USDA¹¹ quanto Philippi¹² não fazem distinção entre os cereais refinados e integrais, alocando-os no mesmo grupo na base da pirâmide. Willet & Stampfer¹⁵ contribuíram significativamente para a informação do interpretante quando separam os cereais em dois grupos, alocando os integrais na base (consumo liberado) e os refinados no topo (consumo moderado). Essa dicotomia é relevante uma vez que consumir carboidratos refinados mesmo que moderadamente como indicado pelo USDA¹¹ e Philippi¹² pode elevar os níveis de glicose no sangue, que também estão associados a alto risco de doenças cardiovasculares. Nessa discussão não é suficiente no paradigma dietético indicar somente a quantidade e a classificação dos carboidratos que devem ser ingeridos, mas separá-los como proposto por Willet & Stampfer¹⁵.

O índice glicêmico é a ordenação de alimentos baseada na resposta de glicose sanguínea pós-prandial comparada com um alimento referência¹⁶. Ele funciona como um parâmetro complementar da composição dos

alimentos. Lang¹⁷ mostrou não existir relação entre o índice glicêmico e a classificação dos carboidratos, isto é, não importa o fato de eles serem simples ou complexos e nem a relação entre açúcares e amidos, confirmando que a distinção não reflete seu efeito fisiológico. A questão relevante na informação veiculada na pirâmide seria destacar o consumo de fibra solúvel que tem a capacidade de diminuir o índice glicêmico do alimento, já que ela aumenta a viscosidade no lúmen, diminuindo a velocidade de absorção da glicose. Essa é a razão para Willet & Stampfer¹⁵ privilegiarem alimentos ricos em fibras em sua pirâmide, como os cereais integrais, frutas e hortaliças.

Nenhum dos intérpretes dos ícones estudados subdividem o grupo dos cereais, tubérculos e raízes, o que leva a crer sobre a desatenção dispensada às gorduras hidrogenadas presentes em bolos, biscoitos e outros produtos de panificação. O processo de hidrogenação, segundo Moretto¹⁸, gera os ácidos graxos *trans* que estão sendo associados ao alto risco de doenças cardiovasculares por contribuírem com a formação de placas de ateroma no lúmen das artérias.

Willet & Stampfer¹⁵ sugerem o uso de suplemento vitamínico e atividade física. Deveria ser indicado que o somatório dos valores nutricionais da dieta mais o suplemento não podem ultrapassar os valores de referência *Reference Dietary Intake* (RDIs)¹⁹. Ao se ultrapassarem os valores de referência há mudança de paradigma, ou seja, do nutricional para o medicamentoso.

Em todas as pirâmides estudadas a indicação de consumo é a resultante da interação entre verticalidade (nível) e horizontalidade (grupos). O nível é o elemento informativo fundamental, uma vez que determina a liberação ou restrição dos grupos alimentares.

Considerando esses aspectos na análise semiótica dos guias alimentares, acredita-se que a maior dificuldade é encontrar um ícone que seja do domínio público, o qual tenha potencialmente

o poder comunicativo daquilo que se queira transmitir.

O processo semiótico tem possibilidades ilimitadas na construção do interpretante. É um devir, isto é, um “vir a ser” com sucessivas mudanças que se criam e se recriam. Ao olhar uma pirâmide pode-se imaginar outra capaz de incorporar outros elementos da contemporaneidade do código nutricional e alimentar. Aquele que percebe o “vir a ser” dos guias alimentares assume necessariamente a posição de um intérprete dinâmico daquela semiose específica, porque a semiose começa na criação de um ícone até atingir o status de símbolo, possibilitado por uma lógica que obriga ao intérprete ultrapassar a subjetividade da imagem de uma pirâmide com alimentos superpostos para uma lógica que sustente os conceitos de uma dieta equilibrada em substâncias alimentares (nutrientes e não nutrientes).

COMENTÁRIOS FINAIS

O nível em que os alimentos foram hierarquizados é o elemento informativo fundamental, uma vez que determina suas proporções. Das três pirâmides analisadas, a pirâmide proposta por Willet & Stampfer¹⁵ é a que mais se aproxima do código nutricional. A proposta por Philippi¹² tem o mérito de ter articulado recomendações dietéticas e aspectos culturais da alimentação brasileira.

A pirâmide alimentar ou qualquer outro signo é capaz de explicar, em seus próprios termos, a sucessão de informações sobre uma alimentação adequada num contínuo. As várias pirâmides criadas tornam-se um sistema auto-explicativo que denota a evolução do saber em Nutrição na intenção de transmitir à população as informações da maneira adequada de escolher os alimentos para compor sua refeição.

O interpretante de uma pirâmide alimentar deve ser algo mais do que uma distribuição de

alimentos hierarquizada; ele deve inferir o desenvolvimento de todas as possibilidades implícitas no signo.

O escopo deste ensaio foi revelar o potencial comunicativo das pirâmides alimentares e mostrar que os guias alimentares, entre eles as pirâmides, são sistemas de significações que abrigam um conjunto de princípios, dos quais se deduzem conclusões coordenadas entre si, sobre as quais se estabelecem modos de se alimentar. Não importa se os grupos alimentares são organizados e reorganizados à luz de novos conhecimentos, ou se a representação gráfica é uma pirâmide ou qualquer outro signo, o que importa é ampliar as redes de comunicação que facilitem o intercâmbio da experiência e de novas cognições. Nesse sentido, o código pode ser nutrido de novas informações por meio de uma cooperação técnico-científica.

O relevante nos guias alimentares não é seu contorno, mas sobretudo as possibilidades teóricas e as funções de comunicação da semiose atribuídas às pirâmides alimentares em termos de sistemas subjacentes correspondentes a um código nutricional que expressa as cognições do sistema complexo nutrição-saúde.

Uma das críticas possíveis de serem levantadas à proposta de Philippi¹² na escolha da representação do guia alimentar por uma pirâmide para representar a alimentação equilibrada no Brasil é a transferência de um signo que parece ter dado certo nos Estados Unidos. Será que o povo brasileiro adotou integralmente a expressão de uma alimentação correta sob a forma da pirâmide? Ou a pirâmide pode ter outra conotação para o destinatário?

REFERÊNCIAS

1. Pena M, Palma, VM. Guias de alimentación en America Latina. I Workshop Instituto Danone: Alimentação equilibrada para a população brasileira; 1998; Florianópolis, Brasil. Florianópolis: Instituto Danone, Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição; 1998.

2. Painter J, Rah JH, Lee YK. Comparison of international food guide pictorial representations. *J Am Diet Assoc.* 2002; 102(4):483-9.
3. Welsh S, Davis C, Shaw A. Development of the food guide pyramid. *Nutr Tod.* 1992; 27(6): 12-23.
4. United States Department of Agriculture. Serving sizes in the food guide pyramid and on the nutrition facts label: What's different and why? Washington (DC): Center of Nutrition Policy and Promotion; 2000. Insight 22.
5. Puppi AI. Semiótica e desenho industrial. In: *Semana de Semiótica 1.* Curitiba: SECE/Biblioteca Pública do Paraná; 1985. p.59-76.
6. Eco U. *Tratado geral de semiótica.* São Paulo: Perspectiva; 1991.
7. Ferreira ABH. *Dicionário Aurélio escolar da língua portuguesa.* Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 1988.
8. Pierce CS. *Semiótica.* São Paulo: Perspectiva; 1995.
9. Santaella L. *O que é semiótica.* 4.ed. São Paulo: Brasiliense; 1986.
10. Santaella L. *Semiótica aplicada.* São Paulo: Pioneira Thomson Learning; 2002.
11. *Food guide pyramid. A guide to daily food choices.* Washington (DC): US Department of Agriculture, Human Nutrition Information Service. 1992. Home and Garden Bulletin n.232.
12. Philippi ST, Latterza AR, Cruz, ATR, Ribeiro LC. Pirâmide alimentar adaptada: guia para a escolha dos alimentos. *Rev Nutr.* 1999; 12(3):65-80.
13. Kennedy ET, Ohls J, Carlson S, Fleming K. The healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc.* 1995; 95(10):1103-8.
14. Maluf RS, Menezes F. *Segurança alimentar [homepage on the Internet].* [Acessado 2003 jan 25]. Disponível em: <http://www.dhnet.org.br/direitos/sos/alimentação/tconferências.html>,2002
15. Willet WC, Stampfer MJ,. *As novas bases da pirâmide alimentar [homepage on the Internet].* 2003. [Acessado 2003 out 6]. Disponível em: URL:http://www.2.uol.com.br/sciam/materia_capa_14.html
16. Foster-Powel K, Holt SH, Brand-Miller JC. International tables of glycemic index and glycemic load values. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76(1):5-56.
17. Lang V. Alimentos à base de cereais no café da manhã: a importância do índice glicêmico. *Simpósio Novas Tendências sobre a Importância dos Carboidratos na Nutrição;* 1999 dez; São Paulo, Brasil. São Paulo: Danone; 1999.
18. Moretto E, Fett R. *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.* São Paulo: Varela; 1998.
19. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M. Food and Nutrition Board of the Institute of medicine, the National Academics. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc.* 2002; 102(11):1621-30.

Recebido para publicação em 10 de maio de 2004 e aceito em 12 de abril de 2005.

Padrão alimentar de crianças menores de cinco anos¹

Alimentary profile of under-five year old children

Gilvo de FARIAS JÚNIOR²
Mônica Maria OSÓRIO²

RESUMO

Objetivo

Caracterizar o padrão alimentar das crianças menores de cinco anos no Estado de Pernambuco segundo a área geográfica (região metropolitana do Recife, interior urbano e interior rural), faixa etária e sexo da criança, renda familiar *per capita* e escolaridade materna.

Métodos

Estudo transversal de base domiciliar com uma amostra aleatória probabilística estratificada de 969 crianças menores de cinco anos. O consumo alimentar foi registrado mediante o método recordatório de 24 horas. O teste de qui-quadrado foi utilizado para verificar associação entre o consumo alimentar e as variáveis estudadas.

Resultados

Os alimentos mais consumidos (30% das crianças) no Estado de Pernambuco foram: leite, açúcar, gordura, arroz, feijão e carne. Houve diferenças estatisticamente significativas no consumo da maioria dos alimentos por área geográfica, idade da criança, educação materna e renda familiar *per capita*. Não houve diferença significativa entre o consumo dos alimentos e o sexo da criança.

Conclusão

A alimentação das crianças menores de cinco anos do Estado de Pernambuco, apesar de algumas diferenças apresentadas nas variáveis estudadas, apresentou-se, de maneira geral, monótona e pouco diversificada, constituída basicamente por uma dieta láctea, com consumo elevado de açúcar e de gordura, e reduzido consumo de frutas e verduras.

Termos de indexação: alimentos, consumo de alimentos, pré-escolar, desmame, leite materno.

ABSTRACT

Objective

To characterize the alimentary profile of under-five year old children in the State of Pernambuco, Brazil, according to geographical area (metropolitan region of Recife, urban inland, rural inland), the child's age and sex, family income and mother's schooling.

¹ Artigo elaborado a partir da dissertação de autoria de G. FARIAS JÚNIOR, intitulada "Consumo alimentar em crianças menores de 5 anos de idade no Estado de Pernambuco". Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

² Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco. Brasil. Av. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: M.M. OSÓRIO. E-mail: <mosorio@ufpe.br>.

Methods

Cross-sectional home based study with a stratified sample of 969 under-five year old children. Food consumption was registered by a 24-hour recording method. The chi-square test was used to verify the association between food consumption and the studied variables.

Results

The most consumed food items (30% of the children) in the State of Pernambuco were: milk, sugar, fat, rice, beans and meat. There were statistically significant differences between the consumption of most food items and geographical area, child's age, family income and mother's schooling. There was no significant difference between the consumption foods and the child's sex.

Conclusion

The food consumption by under-five year old children in the State of Pernambuco, although presenting some differences in the studied variables, was generally monotonous, with little diversification. It was basically made up of a lacteous diet, with a high intake of sugar and fats and low intake of fruits and vegetables.

Indexing terms: *foods, food consumption, child, preschool, weaning, milk, human.*

INTRODUÇÃO

O estado nutricional de uma população é resultante da disponibilidade dos alimentos no domicílio, das condições ambientais e das condições socioeconômicas, e pode ser influenciado pela qualidade da assistência à saúde e pelas políticas compensatórias¹.

A nutrição humana é uma das áreas mais importantes do ponto de vista da saúde e do bem-estar das populações, uma vez que reporta à relação entre o homem e o alimento e aos fatores desencadeantes desse processo. Portanto, para se compreender a situação alimentar de uma população é necessária uma abordagem multidisciplinar, uma vez que a alimentação pode ser analisada sob várias perspectivas ao mesmo tempo independentes e complementares, que revelam a importância dos fatores econômicos, sociais, nutricionais e culturais na sua determinação².

Devido às suas características biológicas, as crianças menores de cinco anos de idade merecem atenção especial, tendo em vista que uma alimentação inadequada pode colocar em risco o seu crescimento e desenvolvimento, além de causar problemas como a anemia ferropriva, a desnutrição ou a obesidade, e outros distúrbios nutricionais^{1,3}.

Pesquisas realizadas no Estado de Pernambuco mostraram que apesar do declínio da

desnutrição, a anemia⁴ e a hipovitaminose A⁵ apresentaram prevalências da ordem de 40,9% e 18,8%, respectivamente. Dessa maneira, ressalta-se a importância da realização de estudos atualizados sobre o padrão alimentar dessa população a fim de se ter uma dimensão mais exata do consumo alimentar como fator condicionante do seu estado nutricional em suas especificidades. Os últimos dados de consumo abrangendo todas as regiões brasileiras, coletados mediante inquérito alimentar, datam de 1974/1975, quando da realização do Estudo Nacional de Despesa Familiar, que trabalhou com a família como unidade de análise, não se obtendo dados específicos do consumo alimentar das crianças⁶. Em Pernambuco, o último estudo de consumo alimentar em menores de seis anos foi realizado em 1974⁷ no município de Ferreiros. A falta de informações atualizadas provenientes de inquéritos alimentares populacionais constitui-se uma omissão que dificulta a análise da problemática nutricional existente no Brasil e em seus estados.

O propósito do presente trabalho é caracterizar o consumo alimentar das crianças menores de cinco anos no Estado de Pernambuco, segundo a área geográfica (região metropolitana do Recife, interior urbano e interior rural), faixa etária e sexo da criança, renda familiar *per capita* e escolaridade materna.

MÉTODOS

Este estudo utilizou o banco de dados da II Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição: saúde, nutrição, alimentação e condições socioeconômicas no Estado de Pernambuco (II PESN/1997)⁸, na qual, mediante visitas domiciliares, foram coletados dados socioeconômicos, de saúde, nutrição e alimentação das crianças, durante o período de fevereiro a maio de 1997.

O estudo foi do tipo transversal e a seleção da amostra representativa para o Estado de Pernambuco se processou em três estágios, considerando sucessivamente: município, setor censitário e domicílio. No primeiro estágio, a fim de viabilizar a logística do trabalho de campo, foram sorteados 18 municípios, cerca de 10% do total existente no Estado de Pernambuco (178), através da amostragem aleatória proporcional ao tamanho da população, ou seja, os municípios com maior população tiveram maior probabilidade de serem sorteados, refletindo a distribuição populacional do Estado. Esses municípios já haviam sido sorteados anteriormente na Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição (PESN/1992)⁹ e foram os mesmos utilizados nessa II PESN/1997⁸, visando à comparação dos resultados. Definiu-se, previamente, que seriam investigadas 46 crianças em cada setor censitário, seguindo o critério de pesquisas de campo com amostra por conglomerado em que se considera cada setor censitário um conglomerado, não atingindo o número máximo de 50 unidades amostrais. Em função dessa prévia definição, no segundo estágio, uma amostra sistemática foi realizada para sorteio de 45 setores censitários (do total de 2 655) desses municípios, de modo a alcançar 2 070 crianças previstas na amostra. Finalmente, em cada um dos setores sorteados foi tomado como marco inicial o ponto extremo do setor voltado para o nascente e, a partir daí, foram identificadas, consecutivamente, as unidades domiciliares em que residiam crianças menores de cinco anos, até atingir a amostra desejada. A amostra total resultou em 2 078 crianças, das quais, por meio de sorteio sistemático, foram selecionadas 992

(cerca de 50,0% do total), assegurando representatividade para a realização do inquérito de consumo alimentar. Essa subamostra foi suficiente para estimar o consumo dos alimentos mais consumidos por no mínimo 20,0% da população com 95,0% de confiança e erro máximo de 2,5%. Dos questionários obtidos, 23 foram excluídos devido a inconsistências no preenchimento, finalizando o estudo com 969 inquéritos de consumo alimentar.

O inquérito de consumo alimentar foi realizado através do método recordatório de 24 horas, comumente utilizado em estudo do tipo transversal para estimar a ingestão alimentar da população, sendo de fácil aplicabilidade e de baixo custo, principalmente quando se trabalha com grande número de indivíduos^{10,11}. Em sociedades em desenvolvimento, a variabilidade diária no consumo de alimentos não chega a ser significativa por causa da alimentação pouco diversificada, e a utilização desse método não interfere na ingestão habitual dos indivíduos. Além disso, a sua precisão aumenta quando se utiliza um número elevado de indivíduos, como no caso deste estudo^{11,12}.

A coleta dos dados foi realizada de segunda a sexta-feira por pesquisadores previamente treinados. A mãe ou pessoa responsável pela alimentação da criança foi entrevistada em relação ao que a criança comeu "desde a meia-noite de anteontem até a meia-noite de ontem", obtendo-se o horário das refeições, os alimentos, marcas comerciais dos alimentos industrializados e preparações consumidas pelas crianças, mensuradas em medidas caseiras.

Os dados foram digitados em dupla entrada e processados mediante a utilização dos *softwares* Virtual Nutri, versão 1.0 de 1996, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo e Epi Info, versão 6.04, de 1994 do *Centers of Disease Control and Prevention*. Os alimentos registrados no inquérito recordatório de 24 horas foram listados e cada um foi computado uma única vez para a mesma criança. Para cada alimento foi atribuído um código e analisado o percentual de

crianças que o consumia no Estado de Pernambuco e por área geográfica, sexo e idade da criança, renda familiar *per capita* e escolaridade materna. Para verificar diferenças significativas do consumo dos alimentos e tendências lineares entre as categorias de prevalências estudadas, utilizaram-se os testes de qui-quadrado e qui-quadrado para tendência, com níveis de significância de 5% ($p < 0,05$) e 1% ($p < 0,01$).

Em função do tamanho da subamostra, foram considerados apenas os alimentos consumidos por 20% ou mais das crianças que compuseram a amostra, totalizando 12 alimentos. O leite materno e os alimentos à base de cereal (alimentos industrializados utilizados na alimentação infantil) foram inseridos nesta análise por constituírem alimentos característicos do consumo dos menores de dois anos de idade, totalizando, então, 14 alimentos.

RESULTADOS

Foram consumidos 24 alimentos por mais de 10,0% das crianças do Estado de Pernambuco, 12 alimentos consumidos por mais de 20,0% das crianças e apenas 6 por mais de 30,0% delas (Figura 1). Desses, destacam-se o leite de vaca e o açúcar como sendo os alimentos consumidos por maior número de crianças, com percentuais de 86,8% e 84,2%, respectivamente. O terceiro alimento mais ingerido foi a gordura (sob a forma de óleos vegetais, margarina, manteiga, banha, toucinho, entre outros), diferenciando-se do açúcar em mais de 30 pontos percentuais (52,4%), seguido pelo arroz (50,1%), feijão (41,6%) e carne (36%).

Ao analisar o consumo por área geográfica, renda familiar *per capita* e educação materna, salienta-se que apesar de o consumo de alguns alimentos apresentarem diferenças estatisticamente significativas nessas categorias, tais diferenças podem ser devidas aos grandes tamanhos amostrais, uma vez que os percentuais de consumo dos alimentos, de maneira geral, apresentam-se próximos, sem que tenham

importância substancial no que se refere ao padrão alimentar da população. No entanto, com relação ao consumo de alimentos por faixa etária da criança, o significado estatístico torna-se relevante.

Analisando-se o consumo por área geográfica (Figura 2), verifica-se que alimentos como açúcar, feijão e milho foram mais freqüentes no interior rural, apresentando significância estatística; o feijão e o milho apresentaram percentuais bem mais elevados em relação às outras áreas geográficas. Por outro lado, o consumo de gordura, carne, banana, biscoito, amido de milho, pão, batata-inglesa e alimentos à base de cereal foi menos freqüente nessa área, também com diferenças estatisticamente significativas. No interior urbano, apenas o leite de vaca e o arroz foram consumidos por maior percentual de crianças, embora a diferença fora estatisticamente

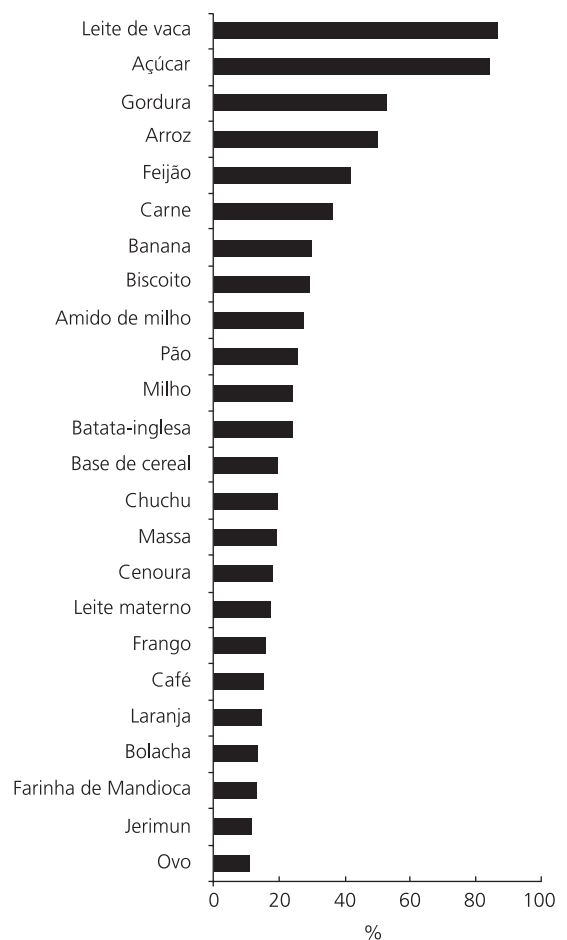


Figura 1. Freqüência de consumo dos alimentos em crianças menores de 5 anos de idade. Pernambuco, 1997.

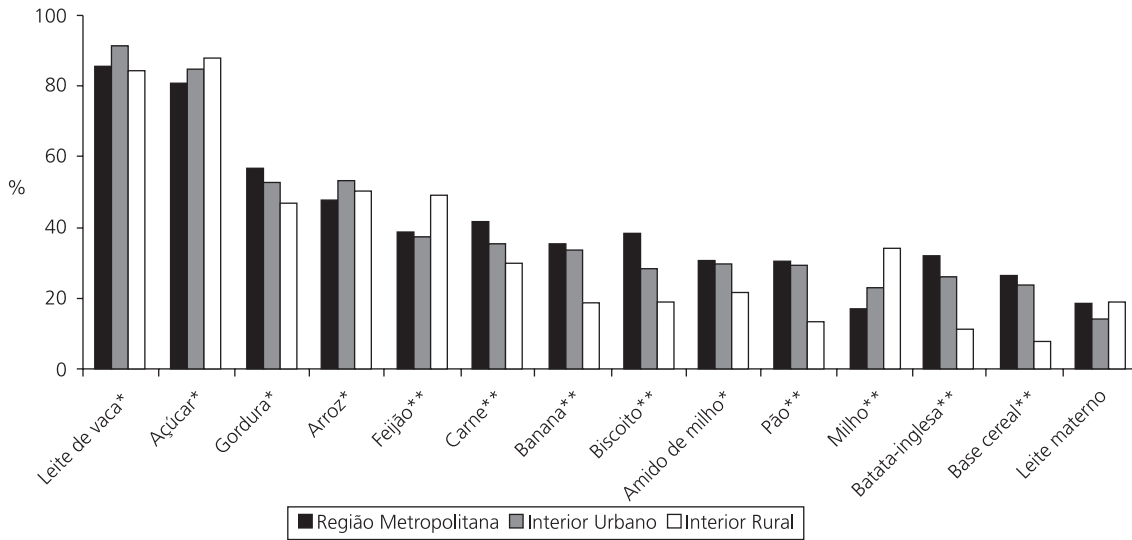


Figura 2. Alimentos mais consumidos pelas crianças menores de 5 anos por áreas geográficas. Pernambuco, 1997.

Nota: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

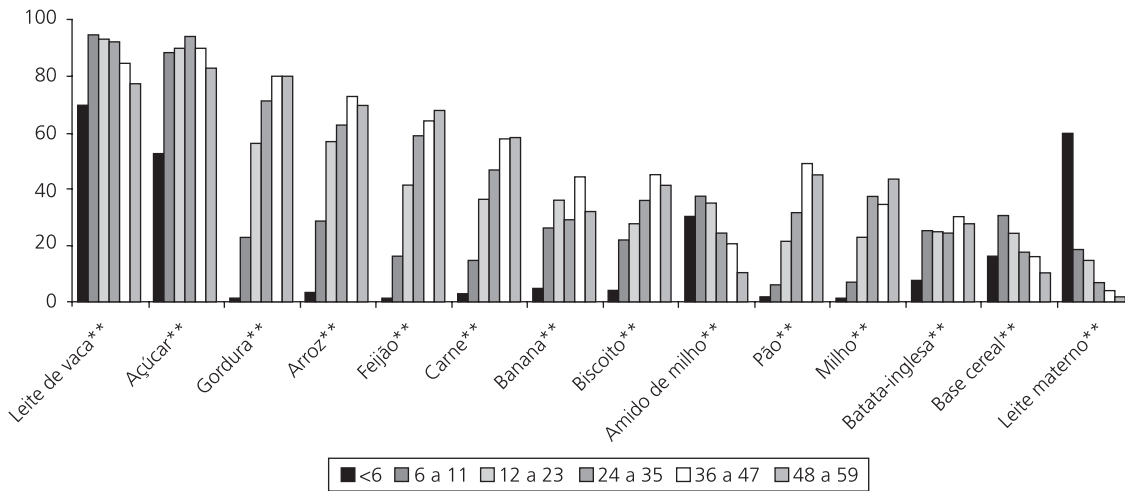


Figura 3. Alimentos mais consumidos pelas crianças menores de 5 anos por faixas etárias (meses). Pernambuco, 1997.

Nota: ** $p < 0,01$.

significante apenas para o primeiro desses alimentos.

Em relação às faixas etárias, verifica-se (Figura 3) que para as crianças menores de seis meses de idade, os alimentos mais consumidos foram: leite de vaca (69,3%), leite materno (60,0%), açúcar (52,9%), amido de milho (30,0%) e alimentos à base de cereal (15,7%). A partir dos seis meses de idade, alguns alimentos, como

leite de vaca, amido de milho, alimentos à base de cereal e leite materno, apresentaram percentuais decrescentes com a elevação da idade. Comportamento inverso ocorreu com o consumo de gordura, arroz, feijão, carne, biscoito, pão, milho e batata-inglesa, que apresentaram os percentuais mais baixos nos menores de seis meses, elevando-se a partir das faixas etárias subsequentes. As diferenças do consumo de

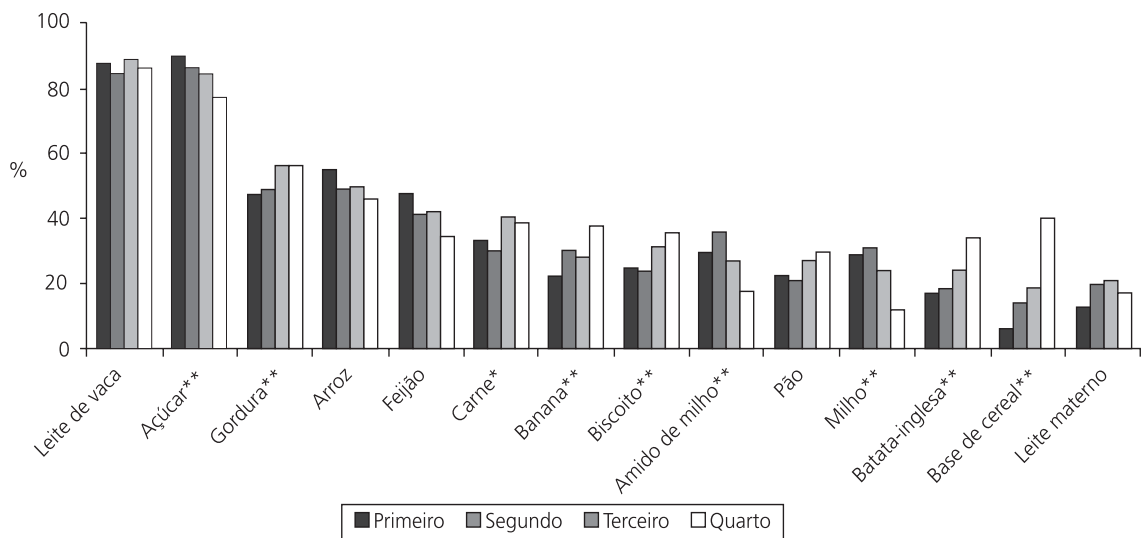


Figura 4. Alimentos mais consumidos pelas crianças menores de 5 anos por renda familiar per capita (quartis). Pernambuco, 1997. Nota: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

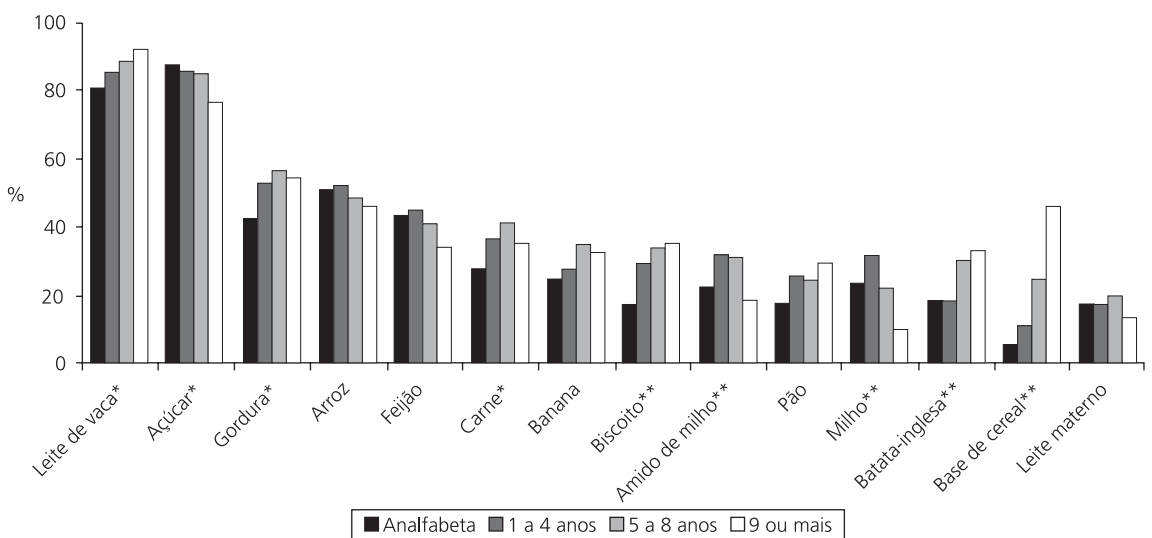


Figura 5. Alimentos mais consumidos pelas crianças menores de 5 anos por escolaridade materna (anos de estudo). Pernambuco, 1997.

Nota: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

alimentos entre as faixas etárias foram estatisticamente significativas.

O consumo dos referidos alimentos em relação ao sexo das crianças não apresentou diferenças significativas.

Em relação à renda familiar *per capita*, agrupada em quartis (Figura 4), o consumo de gordura, carne, banana, biscoito, batata-inglesa e de alimentos à base de cereal se mostrou

positivamente associado à renda, e as diferenças foram significativas. Os alimentos à base de cereal foram consumidos por 40,1% das crianças pertencentes ao quarto quartil de renda. O consumo de açúcar, amido de milho e milho mostrou-se inversamente associado à renda, também com diferenças estatisticamente significativas. Embora os percentuais referentes ao feijão e ao arroz também se apresentassem inversamente relacionados à renda, as diferenças

não foram significativas. O leite materno foi consumido por 12,5% das crianças do primeiro quartil, mantendo-se com percentuais entre 17,0% e 21,0% nos demais quartis, enquanto o leite de vaca apresentou elevado percentual (mais de 80,0%) na dieta das crianças nos diferentes quartis de renda.

A relação entre o consumo de alimentos e a escolaridade materna mostrou comportamento semelhante ao observado para a renda, com exceção do leite de vaca, que dessa vez apresentou diferença significativa, e da banana, que não apresentou diferença significativa entre as categorias estudadas (Figura 5). Também chama a atenção o elevado percentual de crianças filhas de mães com nove ou mais anos de estudo que consumiram alimentos à base de cereal (46,1%), enquanto que as que consumiram leite materno foram em menor percentual no mesmo nível de escolaridade (13,3%).

DISCUSSÃO

O padrão alimentar das crianças menores de cinco anos do Estado de Pernambuco foi estabelecido por um total de 24 alimentos, consumidos por mais de 10% delas. Apenas quatro alimentos foram consumidos por mais de 50% das crianças. Comparando-se esse último resultado - verificado também em dados da II Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição⁸ - ao consumo das famílias¹³, dez alimentos foram consumidos por mais de 50% delas. Esses resultados refletem a distribuição intrafamiliar dos alimentos. As crianças e os adultos têm posições diferentes na família, assim como distinta é a alimentação que se supõe ser mais apropriada para cada um deles. A maior disponibilidade de certos alimentos na família não implica necessariamente uma maior ingestão dos mesmos pelas crianças. O leite de vaca, por sua vez, constitui um alimento próprio da dieta habitual das crianças.

Os resultados deste estudo demonstram uma alimentação pouco diversificada para a

criança, baseada principalmente no consumo de leite de vaca. Embora o leite de vaca seja fonte de cálcio, nutriente fundamental para a formação dos ossos e dentes, é um alimento de custo elevado e sua inserção precoce na alimentação das crianças parece ser uma característica cultural. A população tem o hábito de oferecer o leite de vaca muito cedo e tê-lo como um dos alimentos mais importantes para a saúde da criança. Além disso, a própria diversificação de fórmulas lácteas da indústria alimentícia disponibiliza amplamente esses produtos no comércio, favorecendo a iniciativa da mãe, orientada por vizinha ou parente, ou pelo profissional de saúde^{14,15}.

Quanto aos demais alimentos, o feijão e o arroz, básicos na alimentação brasileira, apresentaram baixos percentuais de consumo (41,6% e 50,1%, respectivamente). Entre as frutas e verduras, apenas a banana e a batata-inglesa foram consumidas por mais de 20,0% das crianças. Esses alimentos são de baixo custo e, portanto, mais acessíveis à população. Nas últimas décadas, ocorreu um declínio no consumo de frutas e um aumento da contribuição energética proveniente dos açúcares nas Regiões Norte e Nordeste¹⁶. Consumido largamente pela família¹³, o açúcar parece ter sido inserido habitualmente na alimentação da criança.

Independentemente da área geográfica, o leite, o açúcar, a gordura e o arroz foram os alimentos mais consumidos. Entretanto, verifica-se que nos espaços geográficos, outros fatores como a cultura, a renda, a disponibilidade e o acesso aos alimentos podem influenciar o consumo. Na região metropolitana do Recife, onze alimentos fazem parte da alimentação de mais de 30% das crianças, demonstrando uma maior diversidade de alimentos quando se compara essa região com o interior urbano e rural, com apenas sete e seis alimentos, respectivamente. Esses dados demonstram a monotonia do consumo alimentar em áreas rurais em contraponto a uma alimentação um pouco mais diversificada nas áreas urbanas.

Nas crianças menores de seis meses, foi observada uma alimentação de transição à base

de leite de vaca, açúcar e cereais, principalmente o amido de milho, utilizado para o preparo de mingaus e papas. O consumo de leite de vaca ultrapassou o consumo de leite materno. Além da prática do desmame precoce, que está em desacordo com a meta de aleitamento exclusivo até os seis meses de idade preconizada pela Organização Mundial de Saúde¹⁷, verifica-se uma alimentação à base de alimentos utilizados na preparação de mingaus, em detrimento de uma alimentação balanceada. Esses resultados condizem com outros estudos sobre o padrão alimentar de lactentes^{15,18}. Nas demais faixas etárias, gradativamente, esses alimentos se tornam menos freqüentes à medida que outros são incorporados à alimentação das crianças, observando-se um rearranjo em direção ao consumo alimentar da família.

O abandono do aleitamento materno e a prática de uma dieta de desmame inadequada têm mostrado um quadro de consumo qualitativamente inapropriado, com riscos de acarretar graves problemas nutricionais nas faixas etárias posteriores^{19,20}. Essa dieta pode melhorar o estado nutricional da criança em termos de indicadores antropométricos, uma vez que com uma dieta energética e protéica, a criança atinge índices de peso e altura satisfatórios para a idade. Por outro lado, pode levar ao comprometimento dos indicadores bioquímicos, principalmente pela predisposição às carências nutricionais, como, por exemplo, a anemia e a hipovitaminose A, ou aos excessos de nutrientes específicos, como a diabetes e as hiperlipidemias^{4,5,21}.

Geralmente condições de renda satisfatórias estão atreladas a maiores oportunidades de melhora no nível de instrução e de acesso às informações, favorecendo uma escolha adequada de alimentos e, conseqüentemente, o balanceamento da alimentação. Há uma associação direta e significativa entre o nível socioeconômico e o nível de conhecimento alimentar e nutricional das mães²². Alguns autores afirmam que a elevação da renda estimula a aquisição de frutas e de produtos industrializados^{23,24}. Neste estudo,

pode-se observar que, independentemente da faixa de renda, existem alimentos que são básicos. Alguns são mantidos no cardápio da criança, seja por hábito, facilidade ao seu acesso ou pelo baixo custo, como o açúcar, o amido de milho e milho, enquanto o leite e a carne, embora de custo mais elevado, são mantidos devido ao hábito cultural e também pela posição nobre que ocupam entre os outros alimentos, considerados como excelentes fontes protéicas²⁵.

Apesar dos conhecimentos adquiridos com o aumento da escolaridade materna, essa última não demonstrou influência direta nos percentuais dos alimentos mais consumidos no Estado, sugerindo, mais uma vez, que o hábito alimentar pode ter sido o fator predominante. Os hábitos alimentares, preferências e recusas por determinados alimentos estão fortemente condicionados ao aprendizado e às experiências vividas nos primeiros cinco anos de vida. Em geral, é nessa idade que a criança adquire a maioria dos hábitos e práticas alimentares de sua comunidade²⁶. Nesse sentido, as mães têm papel fundamental na educação alimentar de seus filhos. Além disso, é constatado que uma baixa escolaridade materna duplica o risco de desnutrição na criança^{27,28}.

No presente trabalho, era de se esperar que com a progressão da renda e da escolaridade materna, mais alimentos fossem incorporados na alimentação das crianças. Porém, não ocorreram diferenças na seleção e variedade dos alimentos, o que torna o consumo de alimentos praticamente semelhante em relação a essas variáveis. Provavelmente a melhoria da prática alimentar das crianças menores de cinco anos esteja mais atrelada à educação alimentar e a mudanças nos hábitos alimentares do que propriamente às condições financeiras da família ou à escolaridade materna²⁹. Nesse contexto, os profissionais de saúde têm papel relevante na orientação e apoio à prática do aleitamento materno, de uma alimentação de transição adequada aos menores de um ano de idade e, de maneira geral, de alimentação saudável para as crianças menores de cinco anos.

CONCLUSÃO

Em síntese, este estudo demonstrou que a alimentação das crianças menores de cinco anos no Estado de Pernambuco é monótona e pouco diversificada, tendo como base uma dieta láctea, com consumo elevado de açúcar e de gordura, e reduzido consumo de frutas e verduras. Há de se considerar que a melhoria nos indicadores de mortalidade e do estado nutricional significa, entre outras medidas, a prática de uma alimentação saudável. Daí a necessidade de se entender o caráter preventivo dos estudos de consumo alimentar uma vez que permite elaborar estratégias para provocar mudanças em hábitos alimentares errôneos. Portanto, as informações obtidas neste estudo possibilitam embasar políticas que visem atender aos propósitos explícitos da segurança alimentar em nível familiar, um dos itens prioritários das políticas e programas de saúde, nutrição e alimentação da década atual.

REFERÊNCIAS

1. Monteiro CA, Conde WL. Tendência secular da desnutrição e da obesidade na infância na cidade de São Paulo (1974-1996). *Rev Saúde Pública*. 2000; 34(6):52-61.
2. Oliveira SP, Thébaud-Mony A. Estudo do consumo alimentar: em busca de uma abordagem multidisciplinar. *Rev Saúde Pública*. 1997; 31(2):201-8.
3. Lacerda E, Cunha AJ. Anemia ferropriva e alimentação no segundo ano de vida no Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Panam Salud Publica*. 2001; 9(5):294-301.
4. Osório MM, Lira PIC, Batista-Filho M. Prevalence of anemia in children 6-59 months old in the state of Pernambuco. *Rev Panam Salud Publica*. 2001; 10(2):101-7.
5. Andrade SLLS. Prevalência de hipovitaminose A e potenciais fatores de risco em crianças menores de 5 anos no Estado de Pernambuco [tese]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2000.
6. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estudo nacional de despesa familiar - ENDEF: tabela de composição de alimentos. Rio de Janeiro: IBGE; 1977. Publicações Especiais, v.3.
7. Bazante MO. Consumo alimentar em crianças menores de seis anos de idade do município de Ferreiros - zona da mata seca de Pernambuco [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 1974.
8. Brasil. Ministério da Saúde. II Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição: saúde, nutrição, alimentação e condições socioeconômicas no Estado de Pernambuco. Recife: INAN; 1998.
9. Pernambuco. Governo do Estado. Crianças e adolescentes em Pernambuco: saúde, educação e trabalho. Recife: Unicef; 1992.
10. Cintra IP, Heyde MEDV, Schmitz BAS, Franceschini SCC, Taddei JAAC, Sigulem DM. Métodos de inquéritos dietéticos. *Cad Nutr SBAN*. 1997; 13:11-23.
11. Gibson RS. Food consumption of individuals. In: Principles of nutritional. Oxford: Oxford University Press; 1990.
12. Cavalcante AAM, Priore SE, Franceschini SCC. Estudos de consumo alimentar: aspectos metodológicos gerais e seu emprego na avaliação de crianças e adolescentes. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2004; 4(3):229-40.
13. Sequeira LAS. Perfil do consumo alimentar das famílias de crianças menores de cinco anos do Estado de Pernambuco [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2000.
14. Rea MF. Substituto do leite materno: passado e presente. *Rev Saúde Pública*. 1990; 24(3):241-9.
15. Assis AMO, Barreto ML. Condições de vida, saúde e nutrição na infância em Salvador. Brasília: INAN; 2000.
16. Monteiro CA, Mondini L, Costa RBL. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). *Rev Saúde Pública*. 2000; 34(3):251-8.
17. Organização Mundial de Saúde. Proteção, promoção e apoio ao aleitamento materno. Genebra: Unicef; 1989.
18. Soares NT, Guimarães ARP, Sampaio HAC, Almeida PC, Coelho RR. Padrão alimentar de lactentes residentes em áreas periféricas de Fortaleza. *Rev Nutr*. 2000; 13(3):167-76.
19. Santos LMP, Assis AMO, Baqueiro CM, Quaglia GMC, Morris SS, Barreto ML. Situação nutricional e alimentar de pré-escolares no semi-árido da Bahia (Brasil): I avaliação antropométrica. *Rev Saúde Pública*. 1995; 29(6):463-71.
20. Assis AMO, Gaudenzi EN, Gomes G, Ribeiro C, Szarfarc SC, Souza SB. Níveis de hemoglobina, aleitamento materno e regime alimentar no

- primeiro ano de vida. *Rev Saúde Pública*. 2004; 38(4):543-51.
21. Nicklas T, Johnson R, American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: Dietary guidance for healthy children ages 2 to 11 years. *J Am Diet Assoc*. 2004; 104(4):660-77.
22. Ivanovic DM, Castro CGG, Ivanovic RM. Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de educación básica y média de diferentes niveles socioeconómicos. *Arch Latinoam Nutr*. 1997; 47(3):248-55.
23. Lima ES, Euclides MP, Cruz TA, Casali AD. Condições sócio-econômicas, alimentação e nutrição da população urbana de uma localidade do Estado de Minas Gerais (Brasil). *Rev Saúde Pública*. 1989; 23(5):410-21.
24. Oliveira SP, Thébaud-Mony A. Hábitos e práticas alimentares em três localidades da cidade de São Paulo (Brasil). *Rev Nutr*. 1998; 11(1):37-50.
25. Bleil SI. O padrão alimentar ocidental: considerações sobre a mudança de hábitos no Brasil. *Cad Debates*. 1998; 6:1-25.
26. Rotenberg S, De Vargas S. Práticas alimentares e o cuidado da saúde: da alimentação da criança à alimentação da família. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2004; 4(1):85-94.
27. Engstrom EM, Anjos LA. Déficit estatural nas crianças brasileiras. Relações com condições sócioeconômicas e estado nutricional materno. *Cad Saúde Pública*. 1999; 15(3):559-67.
28. Carvalhaes MABL, Benício MHD'A. Capacidade materna de cuidar e desnutrição infantil. *Rev Saúde Pública*. 2002; 36(2):188-97.
29. Osorio JE, Weisstaub G, Castillo CD. Desarrollo de la conducta alimentaria em la infancia y sus alteraciones. *Rev Chil Nutr*. 2002; 29(3):280-5.

Recebido para publicação em 27 de julho de 2004 e aceito em 12 de abril de 2005.

ÍNDICE DE AUTORES

A			
AFONSO, Fernanda da Motta	785	CARAN, Eliana Monteiro	193
AGUIAR, Jaime Paiva Lopes	291	CARDELLO, Leonardo	349
AKUTSU, Rita de Cássia	277, 419	CARDOSO, Eliana Paiva Cunha	63
ALVAREZ-SILVA, Márcio	727	CARDOSO, Ryzia de Cassia Vieira	669
AMORIM, Maria Marta Amancio	145	CARMO, Maria das Graças Tavares do	229
ANCONA-LOPEZ, Fábio	341	CARNEIRO, João José	261
ARAÚJO, Maria da Purificação Nazaré	105	CARVALHO, Carolina Guimarães do Nascimento	633
ARAÚJO, Wilma Coelho	277, 419	CARVALHO, Werther Brunow de	95, 777
ARRUDA, Ilma Kruze Grande de	29	CASTRO, Teresa Gontijo de	321
ARRUDA, Miguel de	709	CECCHETTI, Daniel Felipe Alves	201
ARRUDA, Sandra Fernandes	367	CERVATO, Ana Maria	41
ASSIS, Ana Marlúcia de Oliveira	459	CERVI, Adriane	765
ASSUNÇÃO, Marilena Pacheco	105	CESAR, Thais Borges	357
ASSUNÇÃO, Moñica Lopes de	63	CHUEIRE, Fernando Bahdur	261
		CICHELERO, Cristiane	85
B		COELHO, Ana Íris Mendes	401
BACK, Jacqueline Camilli de Vasconcellos	271	COELHO, Christianne de Faria	651
BALDISSERA, Vilmar	349	COELHO, Sandra Bragança	499, 529
BALUZ, Kátia	743	CONTI, Maria Aparecida	491
BARBOSA, Roseane Moreira Sampaio	633	COSTA, Dirceu	349
BARREIROS, Rodrigo Crespo	377	COSTA, Maria Conceição Oliveira	623
BARRETO, Maurício Lima	459	COSTA, Neuza Maria Brunoro	321, 391, 499
BATALHA, Mário Otávio	577	COUTO, Sílvia Regina Magalhães	785
BATISTA, Maria da Conceição Rosado	219	COZZOLINO, Sílvia Maria Franciscato	733
BERNARDI, Fabiana	85	CROCCIA, Carolina	633
BIZZO, Maria Letícia Galluzzi	661	CUNHA, Jane Soraia Tangerino da	693
BONOMO, Éldo	331	CUPPARI, Lilian	239
BOOG, Maria Cristina Faber	119	CYRINO, Edilson Serpeloni	709
BORELLI, Primavera	727		
BORGES, Renata Gracioso	357	D	
BORGHI e SILVA, Audrey	349	DEMONTE, Aureluce	349
BOSCHINI, Renata Polessi	753	DERNTL, Alice Moreira	41
BOSSOLAN, Grasiela	377	DIAS, Cristina Maria Ganns Chaves	391
BOTELHO, Adriana Praís	561	DINIZ, Alcides da Silva	29, 471
BOTELHO, Raquel Assunção	277, 419	DÓREA, Valfredo Ribeiro	709
BRAGANÇA, Euclésio	651	DRAIBE, Sérgio Antonio	239
BURINI, Roberto Carlos	651		
		F	
C		FARIAS JÚNIOR, Gilvo de	793
CABRAL, Poliana Coelho	29, 471	FELICIANO, Lílian Mara Feirra	693
CAMARGO, Erika Barbosa	7, 277, 419	FERNANDES, Taciana Fernanda dos Santos	471
CAMPOS, Dilza	229	FERREIRA, Haroldo da Silva	63, 209
CAMPOS, Maria Teresa Fialho de Sousa	401	FLORÊNCIO, Telma Maria Toledo de Menezes	209

FRAGOSO, Mariellena de Andrade Cardoso	209	LEITE, Romário Cerqueira	331
FERREIRA, Haroldo da Silva	63	LIMA, Nerilda Martins Miranda de	481
FIGUEIREDO, Vanessa de Carvalho	53	LISBOA, Adriana Queiroz	367
FRANÇA, Adjane Oliveira Santos de	63	LÓLA, Margarida Maria de Freitas	471
FRANCESCHINI, Sylvia do Carmo Castro	219, 321, 481, 765	LOPES, Maria Lúcia Mendes	401
FRANCO, Viviane Carvalho	633	LOPEZ, Fábio Ancona	193
FRUTUOSO, Maria Fernanda Petrolí	491	LUCCHESI, Thelma	577
FUCHS, Renata Hernandez Barros	613		
FURTUOSO, Maria Cristina Ortiz	167	M	
G		MARCHINI, Júlio Sérgio	261, 719
GALDI, Enori Helena Gemente	709	MARTINEZ, Ana Maria Blanco de	229
GALVÃO, Márcio Antônio Moreira	331	MARUCCI, Maria de Fátima Nunes	41
GALVÃO, Roberto	5	MATSUBARA, Luiz Shiguero	553
GAMBARDELLA, Ana Maria Dianezi	491	MATSUI, Mirna	553
GARCIA JÚNIOR, Jair Rodrigues	753	MATTES, Richard	499
GARÓFOLO, Adriana	193, 513	MELLO, Luiz Carlos de Paula (<i>in memoriam</i>)	593
GOMIDE, Liana Barbaresco	593	MELO, Adriana Lima	105
H		MELO, Bianca Oliveira	623
H Aidamus, Leandro Lopes	693	MELO, Fabiana Palmeira	209
HAULY, Maria Célia de Oliveira	613	MINICUCCI, Marcos Ferreira	553
HENRIQUES, Gilberto Simeone	733	MINIM, Valéria Paula Rodrigues	391
HERMSDORFF, Helen Hermana Miranda	19	MIZURINI, Daniella	229
HIRATA, Mario Hiroiuki	733	MONTEIRO, Josefina Bressan Resende	19, 391, 499
HIRATA, Rosário Dominguez Crespo	733	MORAES, Cristina Machado Bragança de	693
I		MOREIRA, Emília Addison Machado	271
INOUE, Roberto Minoru Tani	553	MOTA, João Felipe	651
ITO, Marina Kyomi	367	MOURA, Erly Catarina	201, 311
J		MOURA, Fabiana Andréa	63
JOKL, Lieselotte	145	MOURÃO, Denise Machado	19, 391, 529
JULIANO, Yara	341	N	
JUNIOR, Helio Serassuelo	709	NASCIMENTO SOBRINHO, Carlito Lopes	623
JUNQUEIRA, Roberto Gonçalves	145	NASCIMENTO, Leise Moreira	105
JUNQUEIRA-FRANCO, Marcia Morandi	719	NASCIMENTO, Letícia	229
K		NERBASS, Fabiana Baggio	239
KOLSTEREN, Patrick	471	NETTO, Michele Pereira	481
L		NOVAES, Juliana Farias de	321, 401
LAMBERT, Jean Louis	577	NOVAES, Maria Rita Carvalho Garbi	367
LAMOUNIER, Joel Alves	331	O	
LANCHA JÚNIOR, Antonio Herbert	541	OLIVEIRA, Admar Costa de	561, 693
LANZILLOTTI, Haydée Serrão	785	OLIVEIRA, Ana Flávia de	341
LATORRE, Maria do Rosário Dias de Oliveira	41	OLIVEIRA, Celina Szuchmacher	183
LEAL, Paulo Fernando da Glória	321	OLIVEIRA, Cristiane Gonçalves de	499
LEDER, Lúcia	661	OLIVEIRA, Fernanda Luísa Ceragioli	341
LEITE, Heitor Pons	95, 777	OLIVEIRA, Lucivalda Pereira Magalhães de	459
		OLIVEIRA, Rejane Santana	471
		OLIVEIRA, Tatiana Resende Prado Rangel de	601
		OMETTO, Ana Maria Holland	167
		OSÓRIO, Mônica Maria	793
		OSSO, Fernanda	229

P			
PACÍFICO, Stefânia Lucizani	95	SILVA, Andréa Lago da	577
PAIVA, Sergio Alberto Rupp de	553	SILVA, Giovanni Faria	553
PEDRAZA, Dixis Figueroa	129	SILVA, Márcia Regina	321
PEDROSA, Lucia de Fátima Campos	251	SILVA, Maria da Conceição Monteiro da	105, 623
PELUZIO, Maria do Carmo Gouveia	499	SILVA, Marina Vieira da	167
PEREIRA, Maria Alice de Gouveia	5	SILVA, Nasjla Saba	193
PINHEIRO, Sandra Maria Conceição	459	SILVA, Solange Maria Miranda	471
PINHEIRO-SANTANA, Helena Maria	529	SILVA, Taciana Gissely da	209
PIPITONE, Maria Angélica Penatti	167	SIMÕES, Marilda Garcia	693
PORTARI, Guilherme Vannucchi	719	SOARES, Eliane Abreu	633
PORTELA, Mônica Leila	105	SOARES, Fernanda Pardo de Toledo Piza	119
PRADO, Matildes da Silva	459	SOARES, Micheli Dantas	105
PRIORE, Sílvia Eloiza	219, 481, 765	SOUZA, Eva Vilma Araújo de	669
PRUDENCIO-FERREIRA, Sandra Helena	613	SOUZA, Karine Emanuelle Peixoto de	623
R		SOUZA, Nelson de	301
RADICCHI, Antônio Leite Alves	601	SOUZA, Risonilce Fernandes Silva	291
RAUEN, Michelle Soares	271	SOUZA, Rita Adriana Gomes de	643
REIS, Soely Maria Pissini Machado	561, 693	SPROESSER, Renato Luiz	577
REZENDE, Eliane Garcia	331	STRINGHETA, Paulo César	391
ROCHA, Daniela da Silva	481	STURION, Gilma Lucazechi	167
RODRIGUES, Erika Marafon	119	SUEN, Vivian Marques Miguel	261, 719
RODRIGUES, Polyana	367	T	
ROMAN, Janesca Alban	75	TANNUS, Andrea Ferreira Schuwartz	719
RONQUE, Enio Ricardovaz	709	TEIXEIRA, Marta Cristina Leite	19
ROSA, Glorimar	743	TINÔCO, Adelson Luiz Araújo	219, 321
ROSADO, Lina Enriqueta Frandsen Paez de Lima	219, 481	TOAIARI, Sirlene Duarte Alves	291
S		TRAMONTE, Vera Lúcia Cardoso Garcia	727
SALES, Nadja Santos de	529	TRENTIN, Andréa Gonçalves	727
SALES, Regiane Lopes	499	TRINDADE, Cleide Enoir Petean	377
SALLES-COSTA, Rosana	633	U	
SAMPAIO, Lilian Ramos	53	UEHARA, Sofia Kimi	743
SANTANA e MENESES, Juliana Fernandez	777	UNAMUNO, Maria do Rosário Del Lama de	261
SANTOS, Adenilda Queirós	105	V	
SANTOS, Jailda Silva	623	VASCONCELOS, Francisco de Assis Guedes de	439
SANTOS, Joselina Martins	105	VEIGA, Glória Valéria da	183
SANTOS, Ligia Amparo da Silva	105, 681	VITOLLO, Márcia Regina	85
SANTOS, Margarete Aparecida	331	VITURI, Cidônia de Lourdes	727
SANTOS, Patrícia Quadros dos	669	VOLPINI, Cíntia Cristina de Almeida	311
SANTOS-ZAGO, Lilia Ferreira	561	W	
SÁVIO, Karin Eleonora Oliveira	277, 419	WADA, Silvia Regina	357
SCAGLIUSI, Fernanda Baeza	541	Y	
SENA, Karine Cavalcanti Maurício de	251	YUYAMA, Lucia Kiyoko Ozaki	291
SGARBIERI, Valdemiro Carlos	75	Z	
SICHERI, Rosely	643	ZANELLA, Maria Teresa	5
SILVA, Adriana Gisele Hertzog da	733	ZORNOFF, Leonardo Antônio Mamede	553
SILVA, Amauri Pinto da	301		
SILVA, Ana Paula	229		

ÍNDICE DE ASSUNTOS

A

Absorção	529
Açaí	291
Acesso gastrointestinal	553
Ácido linoléico	391, 561
Ácidos graxos trans	229
Aconselhamento dietético	119
Adolescente	183, 491, 623
Adulto	53
Água duplamente marcada	541
Aleitamento materno exclusivo	301
Aleitamento materno	301, 311
Alimentação complementar	459
Alimentação escolar	167
Alimentação	681
Alimentos	401, 793
Alimentos modificados	19
Almoço <i>self-service</i>	145
Amamentação	201
Aminoácidos	719
Anemia	291
Anemia ferropriva	321, 481
Antropometria	29, 53, 623, 765
Apetite	499
Atividade física	541
Avaliação nutricional	183
Azeite de oliva	499

B

Baixa estatura	209
Bem-estar da criança	201, 311
Biodisponibilidade	357, 529
Biomecânica	593
Boas práticas de fabricação	419

C

Carboidratos complexos	19
Carnitina	651
Casca de ovo	63
Caseína	693

Cateter	261
Causalidade	331
Centros de reabilitação	601
Cloreto de potássio	5
Coágulo de caseína	75
Colesterol	229
Complicações	553
Composição corporal	349, 391, 499
Condições sociais Brasil	129
Conduta alimentar	85
Conduta na alimentação	577, 681
Consumo de alimentos	29, 321, 459, 577, 623, 633, 793
Consumo de cafeína	643
Crescimento	251
Criança	95, 341, 513, 633, 710
Crianças	193
Currículo	105

D

Deficiência de vitamina A	471
Desmame	459, 793
Desmame precoce	311
Desnutrição	349, 401, 719, 777
Desnutrição infantil	321
Desnutrição protéica	63, 727
Dia mundial da alimentação	401
Diabetes	251
<i>Diabetes mellitus</i>	219, 651
Diálise renal	29
Dieta	733
Dieta com restrição de proteínas	753
Dietas	41
Dietética	29
Dietoterapia	341
Disfusão de inovações	577
Disponibilidade de alimentos	129
Disponibilidade biológica	291
Diuréticos	5
Doença celíaca	271
Doença pulmonar obstrutiva crônica	349
Doença renal crônica	29
Doenças cardiovasculares	651, 743

Doenças metabólicas	377	Hipovitaminose A	331
Doenças músculo-esqueléticas	601	Homocisteína	239, 743
Doenças renais	651	Hospitalização	341
Doenças vasculares	743		
E		I	
Educação em saúde	119, 661	Idoso	41, 53, 765
Educação nutricional	41, 119, 481, 661	Idosos	357
Educação	105	Imagem corporal	491
Ensino de nutrição	105	Impedância elétrica	349
Envelhecimento	367	Indicações e nutrição enteral	553
Enzima conversora de angiotensina	733	Índice de massa corporal	53, 765
Epidemiologia	201	Ingestão de nutrientes	471
Equipe de assistência ao paciente	601	Insuficiência renal crônica	239
Escolares	331, 661	Insulina	377
Estado nutricional	193, 219, 321, 341, 367, 357, 491, 765	Intervenção nutricional	219
Estudantes	167	Inulina	613
Exercício	753	logurte	613
Expressão gênica	733, 753		
F		J	
Farinha	291	Jejum	753
Ferro	291		
Ficha técnica de preparação	277	L	
Fisiopatologia	377	L-carnitina	349
Flúor	593	Leite	75
Folha de mandioca	63	Leite humano	311
Fome	401, 439	Leite materno	793
França	577		
Frutose	377	M	
G		Mandioca	291
Ganho de peso	561	Manifestações bucais	271
Gasto energético	541	Manipulação de alimentos	669
Gestante	481	Matriz extracelular	727
Gestão do tempo	577	Maturação sexual	183
Glicemia	219	Medula óssea	727
Glutamina	95, 719	Menopausa	593
Gordura marrom	753	Metabolismo	377
Gravidez	643	Metabolismo energético	19, 499
H		Micelas de caseína	75
Hábitos alimentares	710, 785	Micronutrientes	367
Hemoglobina	291	Misturas vegetais	63
Higiene de alimentos	419, 669	Mortalidade	765
Hiperhomocisteinemia	239	Mulheres	209
Hipertensão	209		
Hipoplasia	727	N	
Hipoplasia do esmalte dentário	271	Nefroblastoma	193
		Neoplasias	193, 513
		Nitrogênio	719
		Nutrição	401, 419, 661, 681, 785
		Nutrição da criança	459, 633

Nutrição enteral	95, 513, 777		
Nutrição parenteral	95, 261, 513, 777		
Nutricionista	119, 105, 145, 601, 681, 743		
O			
Obesidade	5, 19, 85, 391, 491, 541, 710		
Óleo de açafrão	499		
Óleo de amendoim	499		
Óleo de palma	229		
Óleo de soja	693		
Oligossacarídeos	613		
Osteoporose	593		
Ovariectomia	593		
P			
Padronização	277		
Perda de peso	391		
Perfil lipídico	499		
Peso ao nascer	481		
Peso corporal	85		
Pirâmide alimentar	633, 785		
Política pública	167, 439		
Política social	439		
Pré-escolar	321, 471, 793		
Preferências alimentares	577		
Prematuridade	643		
Pressão arterial	5		
Prevalência	710		
Probióticos	613		
Programa de alimentação e nutrição	167		
Programas e políticas de alimentação e nutrição	439		
Projeto pedagógico	105		
Promoção da saúde	301, 661, 681		
Q			
Qualidade	277		
R			
Ratos	63, 229, 291, 561, 693, 719		
Reabilitação	601		
Reação em cadeia de polimerase via transcriptase reversa	733		
Resistência à insulina	5		
Restaurantes	419		
Restrição alimentar	85		
S			
Saúde bucal		271	
Saúde do adulto		41	
Saúde pública		41, 201	
Segurança alimentar		669	
<i>Seguridad alimentaria</i>		129	
Sepse		261	
Serviços de alimentação		145, 277	
Serviços de saúde		201	
Serviços de saúde para idosos		41	
Síndrome de Imunodeficiência Adquirida		651	
Sistema imune		367	
Sistema imunológico		251	
Sobrepeso		209	
Socioeconômico		321	
Soja		613	
Sub-relato		541	
Suplementação		95, 251, 561	
Suplementos dietéticos		63, 719	
Suporte nutricional		553	
T			
Taxa de lipogênese		229	
Terapêutica		651	
Terapia intensiva		95	
Terapia nutricional		513	
Transição nutricional		209	
Transtornos da desnutrição infantil		193	
Trombospondina		727	
U			
UCP2		753	
UCP3		753	
Unidade de alimentação e nutrição		145, 419, 669	
Unidade de cuidados intensivos		777	
V			
Valor nutritivo		75, 693	
Vitamina E		693	
Vitaminas lipossolúveis		529	
Z			
Zinco		251, 733	
Zinco alimentar		357	
Zinco plasmático		357	

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A Revista de Nutrição/*Brazilian Journal of Nutrition* é um periódico especializado, publicado bimestralmente, aberto a contribuições da comunidade científica nacional e internacional e distribuído a leitores do Brasil e de vários outros países. Os trabalhos submetidos são arbitrados por, pelo menos, três revisores pertencentes ao quadro de colaboradores da Revista, em procedimento sigiloso quanto à identidade tanto do(s) autor(es) quanto dos revisores. Os autores são responsáveis pelas informações contidas nos trabalhos, bem como pela devida permissão ao uso de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes.

A Revista de Nutrição/*Brazilian Journal of Nutrition* publica trabalhos inéditos que contribuam para o estudo e o desenvolvimento da ciência da nutrição, nas seguintes categorias:

Original: contribuições destinadas à divulgação de resultados de pesquisas inéditas tendo em vista a relevância do tema, o alcance e o conhecimento gerado para a área da pesquisa.

Especial: artigos a convite sobre temas atuais.

Revisão: síntese crítica de conhecimentos disponíveis sobre determinado tema, mediante análise e interpretação de bibliografia pertinente, de modo a conter uma análise crítica e comparativa dos trabalhos na área, discutindo os limites e alcances metodológicos, permitindo indicar perspectivas de continuidade de estudos naquela linha de pesquisa. Serão publicados dois trabalhos/fascículo.

Comunicação: relato de informações sobre temas relevantes, apoiado em pesquisas recentes, cujo mote seja subsidiar o trabalho de profissionais que atuam na área, servindo de apresentação ou atualização sobre o tema.

Nota Científica: dados inéditos parciais de uma pesquisa em andamento.

Ensaio: trabalhos que possam trazer uma reflexão e discutir determinado assunto, que gere questionamentos e hipóteses para futuras pesquisas.

Submissão de trabalhos. São aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho, declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas à Revista de Nutrição e de concordância com a cessão de direitos autorais. Caso haja utilização de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes, deve-se anexar documento que ateste a permissão para seu uso. A carta deve indicar o nome, endereço, números de telefone e fax do autor para o qual a correspondência deve ser enviada. Resultados de pesquisas relacionados a seres humanos devem ser acompanhados de cópia do parecer do Comitê de Ética da Instituição de origem, ou outro credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde.

Apresentação do manuscrito. Enviar os manuscritos para o Núcleo de Editoração da revista em quatro cópias, preparados em espaço duplo, com fonte Times New Roman tamanho 12 e limite máximo de 25 páginas para **Artigo Original** ou de **Revisão**, 10-15 páginas para **Comunicação e Ensaio** e 5 páginas para **Nota Científica**. Todas as páginas devem ser numeradas a partir da página de identificação. Para esclarecimentos de eventuais dúvidas quanto a forma, sugere-se consulta a este fascículo. Aceitam-se trabalhos escritos em português, espanhol ou inglês, com título, resumo e termos de indexação no idioma original e em inglês. Os artigos devem ter em torno de 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de 50. O número de autores deve ser coerente com as dimensões do projeto. O crédito de autoria deverá ser baseado em contribuições substanciais, tais como a concepção e desenho, ou análise e interpretação dos dados. Após aprovação final, encaminhar em disquete 3,5', empregando editor de texto MS Word versão 6.0 ou superior.

Página de título. Deve conter o título, nome de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um, e o autor para o qual a correspondência deve ser enviada, com endereço completo. Destacar no mínimo três e no máximo seis termos de indexação, utilizando os descritores em Ciência da Saúde - DeCS - do Bireme. Preparar um *short title* com até 40 toques (incluindo espaços), em português (ou espanhol) e inglês.

Resumo. Todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo no idioma original e em inglês, com um mínimo de 150 palavras e no máximo 250 palavras. Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português, além do *abstract* em inglês. Para os artigos originais, os resumos devem ser estruturados destacando objetivos, métodos básicos adotados, informando local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. Para as demais categorias, o formato dos resumos deve ser o narrativo, mas com as mesmas informações. Não deve conter citações e abreviaturas.

Texto. Com exceção dos manuscritos apresentados como Revisão, Nota Científica e Ensaio, os trabalhos deverão seguir a estrutura formal para trabalhos científicos:

Introdução: deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema, e que destaque sua relevância, não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como Artigo de Revisão.

Metodologia: deve conter descrição clara e sucinta, acompanhada da correspondente citação bibliográfica, incluindo: procedimentos adotados; universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Resultados: sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas ou figuras, elaboradas de forma a serem auto-explicativas e com análise estatística. Evitar repetir dados no texto. Tabelas, quadros e figuras devem ser limitadas a cinco no conjunto e numerados consecutiva e independentemente, com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados, e devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto (NBR 12256/1992). A cada um deve-se atribuir um título breve. Os Quadros terão as bordas laterais abertas. O autor responsabiliza-se pela qualidade das Figuras (desenhos, ilustrações e gráficos), que devem permitir redução sem perda de definição, para os tamanhos de uma ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente). Sugere-se nanquim ou impressão de alta qualidade. **Discussão:** Deve explorar, adequada e objetivamente, os resultados, discutidos à luz de outras observações já registradas na literatura. **Conclusão:** apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. Se incluídas na seção *Discussão*, não devem ser repetidas.

Agradecimentos: podem ser registrados agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que prestaram efetiva colaboração para o trabalho.

Referências de acordo com o estilo Vancouver

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, seguindo a ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto, baseadas no estilo *Vancouver*. Os artigos devem ter em torno de 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de 50. A ordem de citação no texto obedecerá esta numeração. Nas referências com dois até o limite de seis autores, citam-se todos os autores; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros autores, seguido de *et al.* As abreviaturas dos títulos dos periódicos citados deverão estar de acordo com o *Index Medicus*.

Citações bibliográficas no texto: Deverão ser colocadas em ordem numérica, em algarismos arábicos, meia linha acima e após a citação, e devem constar da lista de referências. Se forem dois autores, citam-se ambos ligados pelo "&"; se forem mais de dois, cita-se o primeiro autor seguido da expressão *et al.*

A exatidão e a adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são de responsabilidade do autor.

Exemplos

Livros

Peña M, Bacallao J, editores. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para salud pública. Washington (DC): Organización Mundial de la Salud; 2000.

Capítulos de livros

Monteiro CA. La transición epidemiológica en el Brasil. In: Peña M, Bacallao J, editores. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para salud pública. Washington (DC): Organización Mundial de la Salud; 2000.

Artigos de periódicos

Dutra de Oliveira JE, Marchini JS. Nutritional sciences in Brazil: the pioneer work of institutions and scientists. *Nutrition*. 2004; 20(2):174-6.

Dissertação e teses

Moutinho AE. Representações sociais na manutenção do peso corporal. O que e quem o discurso revela [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.

Trabalhos apresentados em congressos, simpósios, encontros, seminários e outros

Moreira EAM, Fagundes RLM, Faccin GL, Couço MM, Torres MA, Wilhelm Filho D. The effect of alcohol ingestion during lactation on oxidative stress. In: Annals of the 17th International Congress of Nutrition & Metabolism; 2001 Aug; Austria, Vienna; 2001. Abstract 6.06.135.

Material Eletrônico

Periódicos eletrônicos, artigos

Boog MCF. Construção de uma proposta de ensino de nutrição para curso de enfermagem. *Rev Nutr [periódico eletrônico]* 2002 [citado em 2002 Jun 10];15(1). Disponível em: <http://www.scielo.br/rn>

Texto em formato eletrônico

World Health Organization. Micronutrient deficiencies: battling iron deficiency anaemia [cited 2002 Nov 11]. Available from: <http://www.who.int/nut/ida.htm>

Programa de computador

Dean AG, et al. *Epi Info* [computer program]. Version 6: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on micro-computers. Atlanta, Georgia: Centers of Disease Control and Prevention; 1994.

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas do *Committee of Medical Journals Editors* (Grupo Vancouver) (<http://www.icmje.org>).

Anexos: Incluir apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Caberá à Comissão Editorial julgar a necessidade de sua publicação.

Abreviaturas e Siglas: Deverão ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado por extenso quando da primeira citação no texto. Não devem ser usadas no título e no resumo.

LISTA DE CHECAGEM

- Declaração de responsabilidade e transferência de Direitos Autorais assinada por cada autor
- Enviar ao editor quatro vias do manuscrito
- Incluir título do manuscrito, em português e inglês
- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências está reproduzido com letras *Times New Roman*, corpo 12 e espaço duplo, e margens de 3 cm
- Incluir título abreviado (*short title*), com 40 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas impressas
- Incluir resumos estruturados para trabalhos e narrativos, para manuscritos que não são de pesquisa, com até 150 palavras nos dois idiomas português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com termos de indexação
- Legenda das figuras e tabelas
- Página de rosto com as informações solicitadas
- Incluir nome de agências financiadoras e o número do processo
- Indicar se o artigo é baseado em tese/dissertação, colocando o título, o nome da instituição, ano de defesa e número de páginas
- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo *Vancouver*, ordenadas na ordem em que foram mencionadas a primeira vez no texto e se todas estão citadas no texto
- Incluir permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas
- Parecer do Comitê de Ética da Instituição, para pesquisa com seres humanos

DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS

Cada autor deve ler e assinar os documentos (1) Declaração de Responsabilidade e (2) Transferência de Direitos Autorais.

Primeiro autor:

Autor responsável pelas negociações: _____ Título do manuscrito: _____

1. Declaração de responsabilidade: todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar declarações de responsabilidade nos termos abaixo:

- certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade pelo seu conteúdo, que não omiti quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo;
- certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, não foi enviado a outra Revista e não o será, enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Revista de Nutrição, quer seja no formato impresso ou no eletrônico, exceto o descrito em anexo.

Assinatura do(s) autores(s) _____ Data ____ / ____ / ____

2. Transferência de Direitos Autorais: "Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Revista de Nutrição passa a ter os direitos autorais a ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da Revista, vedado a qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente agradecimento à Revista".

Assinatura do(s) autores(s) _____ Data ____ / ____ / ____

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The *Revista de Nutrição/Brazilian Journal of Nutrition* is a specialized periodical, bimonthly publication open to national and international scientific community contributions and distributed to readers from Brazil and from many other countries. The papers submitted to the *Revista* are arbitrated by at least three referees who belong to the staff of contributors, and the identity of both the author(s) and the referees is kept in secret. The authors are responsible for the information presented in the articles, as well as for the permission to use published figures or tables.

The *Revista de Nutrição/Brazilian Journal of Nutrition* publishes inedited works that contribute to the study and development of the science of nutrition, in the following categories:

Article: contributions destined for divulging unpublished research results, given the relevance of the theme, the scope and knowledge generated by the research area.

Special: current themes papers will be submitted by invited.

Review: critical synthesis of available knowledge on a given theme, through the analysis and interpretation of pertinent literature, in order to present a critical and comparative analysis of the studies in the area, discussing methodological limits and scope and permitting the recommendation of investigational continuity perspectives in the respective research line. Two papers / issues will be published.

Communication: report on information regarding relevant themes supported by recent research with the purpose of subsidizing the work of professionals operating in the field and functioning as a presentation or updating of the theme.

Research Note: partial inedited data of a research in progress.

Essay: papers which may bring a reflection and a discussion on a particular subject that generates questionings and hypotheses for future researches.

Submission of manuscripts. Manuscripts are accepted if accompanied by a letter signed by each of the authors, describing the work. Enclosed should be a statement that the manuscript is being submitted only to *Revista de Nutrição* and a document of copyright transfer. If applicable, it is necessary a document of permission to reproduce published figures or tables. The letter must include the following information: name, address, phone and fax number of the author to whom correspondence should be sent. Results of researches related to human beings will be a priority for publication when accompanied by judgement of the Committee of Ethics from the Institution of origin.

Manuscript presentation. Manuscript should be sent to *Revista de Nutrição - Núcleo de Editoração*, in four copies typed in double space, font Times New Roman size 12, and a maximum of 25 pages for **Original** or **Review Articles**, 10-15 pages for **Communication** and **Essays**, and 5 pages for **Research Notes**. All pages must be numbered starting from page of identification. Consultation of this issue is suggested for further information about presentation. Manuscripts in Portuguese, Spanish or English are accepted, with title, abstract and index terms in both the original language and in English. The articles must have about 30 references, except for review articles, a case in which 50 references are allowed. The number of authors should be coherent with project dimensions. The authorship credit should be based on substantial contributions, such as conception and design, or analysis and interpretation of data. After final approval a 3.5' diskette in MS Word 6.0 version or higher should be sent.

Title page. The title page should contain: the title, the complete name of each author and the respective institutional affiliation, and the author to whom correspondence should be sent, with complete address. A minimum of three and a maximum of six index terms should be presented, using the Bireme descriptors in Science of Health - DeCS. A short title with up to 40 characters (including spaces) should be provided. It should be in Portuguese (or Spanish) and English.

Abstract. All papers submitted in Portuguese or Spanish must be accompanied by an abstract with a minimum of 150 words and a maximum of 250 words in both the original language and in English. Articles submitted in English must be accompanied by an abstract in Portuguese besides the abstract in English. For the original articles the abstracts should be structured with emphasis on objectives, basic methods applied giving information about place, population and sampling of the research, results and more relevant conclusions, considering the objectives of the work, and follow-up studies should be indicated. For the other categories of articles, the format of the abstracts should be narrative, but they should contain the same information. It should not present quotations and abbreviations.

Text. With the exception of manuscripts presented as Reviews, Research Notes, Essay, all papers must follow the formal structure for scientific research texts:

Introduction: this should contain a review of up-to-date literature related to the theme and relevant to the presentation of the problem investigated. It should not be extensive, unless it is a manuscript submitted as a Review Article.

Methodology: this should contain clear and concise description of the following items accompanied by the respective bibliographic reference, including: procedures adopted; universe and sample; instruments of measurement and validation tests, if applicable; statistical analysis.

Results: these should be presented, when possible, in self-explanatory tables or figures, accompanied by statistical analysis. Repetition of data should be avoided. Tables, plates and figures must be numbered consecutively and independently in Arabic numerals, in the same order in which they are cited in the text, and on individual and separated sheets of paper, with indication of the localization in the text (NBR 12256/1992). A short title must be attributed to each one. The plates will have the lateral borders open. The author is responsible for the quality of the Figures (drawings, illustrations and graphs), which should be sufficiently clear to permit reduction to the size of one or two columns (7 and 15cm, respectively). China ink or high quality printing are suggested. **Discussion:** results should be explored properly and objectively, and should be discussed with the observation of previously published literature. **Conclusion:** the relevant conclusions should be presented, in accordance with the objectives of the article, and follow-up studies should be indicated. Information included in "Discussion" should not be repeated here.

Acknowledgements: acknowledgements can be presented, in a paragraph not superior to three lines and addressed to institutions or persons that made a significant contribution to the production of the article.

References in accordance with Vancouver style

References: these must be consecutively numbered in the order in which they were cited for the first time in the text, based on Vancouver style. The articles must have about 30 references, except for review articles, a case in which 50 references are allowed. The order of citation in the text must follow these numbers. In the references with two up to the limit of six authors, all the authors are cited; above six authors, list the first six authors followed by *et al.* Abbreviations of the titles of the periodicals cited must be in accordance with the Index Medicus.

Bibliographic citations in the text: These must be presented in numerical order, in Arabic numerals, half line above and after the citation, and they must be in the list of references. If there are two authors, both are cited connected by "&"; if there are more than two, the first author is cited, followed by the expression *et al.*

The exactitude and the adequacy of the references to works consulted and mentioned in the text of the article are of the responsibility of the author.

Examples

Books

Peña M, Bacallao J, editores. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para salud pública. Washington (DC): Organización Mundial de la Salud; 2000.

Chapters in a book

Monteiro CA. La transición epidemiológica en el Brasil. In: Peña M, Bacallao J, editores. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para salud pública. Washington (DC): Organización Mundial de la Salud; 2000.

Articles of periodicals

Dutra de Oliveira JE, Marchini JS. Nutritional sciences in Brazil: the pioneer work of institutions and scientists. *Nutrition*. 2004; 20(2):174-6.

Dissertations and theses

Moutinho AE. Representações sociais na manutenção do peso corporal. O que e quem o discurso revela [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.

Papers presented in congress, symposiums, meetings, seminars and others

Moreira EAM, Fagundes RLM, Faccin GL, Couto MM, Torres MA, Wilhelm Filho D. The effect of alcohol ingestion during lactation on oxidative stress. In: Annals of the 17th International Congress of Nutrition & Metabolism; 2001 Aug; Austria, Vienna; 2001. Abstract 6.06.135.

Electronic material

Electronic periodicals, articles

Boog MCF. Construção de uma proposta de ensino de nutrição para curso de enfermagem. *Rev Nutr [periódico eletrônico]* 2002 [citado em 2002 Jun 10]; 15(1). Disponível em: <http://www.scielo.br/rn>

Text in electronic format

World Health Organization. Micronutrient deficiencies: battling iron deficiency anaemia [cited 2002 Nov 11]. Available from: <http://www.who.int/nut/ida.htm>

Computer program

Dean AG, et al. *Epi Info* [computer program]. Version 6: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on micro-computers. Atlanta, Georgia: Centers of Disease Control and Prevention; 1994.

Consultation of the rules of the *Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver Group) is recommended for other examples (<http://www.icmje.org>).

Enclosures: They should be included only when indispensable to the comprehension of the text. The Editorial Committee will judge the necessity of their publication.

Abbreviations and Symbols: They should follow a standard, being restricted to those conventionally used or sanctioned by use, accompanied by the meaning in full when they are cited for the first time in the text. They should not be used in the title or in the abstract.

MANUSCRIPT CHECKLIST

- Declaration of responsibility and copyright transfer signed by each author
- Send four copies the manuscript and the editor
- Include the title of the manuscript in Portuguese and English
- Check that the text, including, abstract, tables and references is presented in Times New Roman type, font size 12, and is double-spaced with margins of 3 cm
- Include the short title with 40 characters, as the running title
- Include structured abstracts for papers and narrative for manuscripts other than research papers, with a maximum of 150 words in both Portuguese and English, or in Spanish when applicable, with index terms
- Legend of figures and tables
- Title page with the information requested
- Include the name of the financing agencies and the number of the process
- Acknowledge, when appropriate, that the article is based on a thesis/dissertation, giving the title, name of the institution, pages and the year of the defense
- Check that the references are standardized according with Vancouver style, in the order in which they were cited for the first time in the text and that all are mentioned in the text
- Include permission from the editors for the reproduction of published figure or tables
- Judgment of the Committee of Ethics from Institution for Researchs with human beings.

DECLARATION OF RESPONSIBILITY AND COPYRIGHT TRANSFER

Each author should read and sign documents (1) Declaration of responsibility and (2) Copyright Transfer.

First author: _____ **Title of manuscript:** _____

1. Declaration of responsibility: All these listed as authors should sign a Declaration of Responsibility as set out below:

- "I certify that I have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content.
- I certify that the manuscript represents original work and that neither this manuscript nor one with substantially similar content under my authorship has been published or is being considered for publication elsewhere, except as described in na attachmente.
- I certify that (1) I have contributed substantially to the conception and planning or analysis and interpretation of the data; (2) I have contributed significantly to the preparation of the draft or to the critical revision of the content; and (3) I participated in the approval of the final version of the manuscript.

Signature of the author(s) _____ Date ____/____/____

2. Copyright Transfer: "I declare that should the article be accepted by the Revista de Nutrição, I agree that the copyright relating to it shall become the exclusive property of the "Centro de Ciências da Vida, PUC-Campinas", that any and all reproduction is prohibited whether total or partial, anywhere else or by any other means whether printed or electronic, without the prior and necessary authorization being requested and that if obtained, I shall take due acknowledgement of this authorization on the part of the "Centro de Ciências da Vida".

Signature of the author(s) _____ Date ____/____/____

Pontifícia Universidade Católica de Campinas

(Sociedade Campineira de Educação e Instrução)

Grão-Chanceler: Dom Bruno Gamberini

Reitor: Pe. José Benedito de Almeida David

Vice-Reitor: Pe. Wilson Denadai

Pró-Reitoria de Graduação: Prof. Marco Antonio Carnio

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação: Profa. Dra. Vera Sílvia Marão Beraquet

Pró-Reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários: Profa. Dra. Carmen Cecília de Campos Lavras

Pró-Reitoria de Administração: Prof. Antonio Sergio Cella

Diretor do Centro de Ciências da Vida: Prof. Luiz Maria Pinto

Diretora da Faculdade de Nutrição: Profa. Kátia Regina L.S.L.Q. Guimarães

Revista de Nutrição

Com capa impressa no papel supremo 250g/m²
e miolo no papel couchê fosco 90g/m²

Capa / Cover

Katia Harumi Terasaka

Editoração eletrônica / DTP

Beccari Propaganda e Marketing

E-mail: editora@beccari.com.br

Impressão / Printing

Gráfica Editora Modelo Ltda

Tiragem / Edition

1200

Distribuição / Distribution

Sistema de Bibliotecas e Informação da PUC-Campinas.

Serviço de Publicação, Divulgação e Intercâmbio

Artigos Originais | Original Articles

- 709 Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares de alto nível socioeconômico em Londrina, Paraná, Brasil**
Prevalence of overweight and obesity in schoolchildren of high socioeconomic level in Londrina, Paraná, Brazil
• Enio Ricardo Vaz Ronque, Edilson Serpeloni Cyrino, Valfredo Ribeiro Dórea, Helio Serassuelo Júnior, Enori Helena Gemente Galdi, Miguel de Arruda
- 719 Short time L-glutamine supplementation of malnourished rats**
Suplementação de ratos desnutridos com L-glutamina por tempo curto
• Andréa Ferreira Schuwartz Tannus, Márcia Morandi Junqueira-Franco, Vivian Marques Miguel Suen, Guilherme Vannucchi Portari, Júlio Sérgio Marchini
- 727 Thrombospondin in protein malnutrition induced hypoplasia**
Trombospondina na hipoplasia induzida por desnutrição protéica
• Cidônia de Lourdes Vituri, Márcio Alvarez-Silva, Andréa Gonçalves Trentin, Vera Lúcia Cardoso Garcia Tramonte, Primavera Borelli
- 733 Transcrição reversa na determinação da expressão do mRNA para a enzima conversora de angiotensina testicular em animais tratados com zinco**
Assessment of the reverse transcriptase polymerase chain reaction technique in the determination of the mRNA expression for the testicular angiotensin-converting enzyme in zinc treated rats
• Gilberto Simeone Henriques, Adriana Gisele Hertzog da Silva, Rosário Dominguez Crespo Hirata, Sílvia Maria Franciscato Cozzolino

Artigos de Revisão | Review Articles

- 743 Possíveis mecanismos trombogênicos da hiper-homocisteinemia e o seu tratamento nutricional**
Possible thrombogenic mechanisms of hyperhomocysteinemia and its nutritional treatment
• Sofia Kimi Uehara, Kátia Baluz, Glorimar Rosa
- 753 Regulação da expressão gênica das UCP2 e UCP3 pela restrição energética, jejum e exercício físico**
UCP2 and UCP3 genic expression: regulation by food restriction, fasting and physical exercise
• Renata Polessi Boschini, Jair Rodrigues Garcia Júnior

Comunicações | Communications

- 765 Análise crítica do uso do índice de massa corporal para idosos**
Critical analysis of the use of the body mass index for the elderly
• Adriane Cervi, Sílvia do Carmo Castro Franceschini, Sílvia Eloiza Priore
- 777 Atuação da equipe multidisciplinar na terapia nutricional de pacientes sob cuidados intensivos**
The action of a multidisciplinary team in the nutritional care of critically ill patients
• Heitor Pons Leite, Werther Brunow de Carvalho, Juliana Fernandez Santana e Meneses
- 785 Pirâmides alimentares: uma leitura semiótica**
Food guide pyramids: a semiotic way of reading
• Haydée Serrão Lanzillotti, Sílvia Regina Magalhães Couto, Fernanda da Motta Afonso

Nota Científica | Research Note

- 793 Padrão alimentar de crianças menores de cinco anos**
Alimentary profile of under-five year old children
• Gilvo de Farias Júnior, Mônica Maria Osório