



ISSN 1415-5273

Volume 21 | Número 2

Março - Abril • 2008

Revista de Nutrição
Brazilian Journal of Nutrition

Editora Científica / Editor

Maria Angélica Tavares de Medeiros

Editora Adjunta / Assistant Editor

Semiramis Martins Álvares Domene

Editores Associados / Associate Editors

Alimentação e Ciências Sociais

Ligia Amparo da Silva Santos - Universidade Federal da Bahia
Rosa Wanda Diez Garcia - Universidade de São Paulo
Shirley Donizete Prado - Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Avaliação Nutricional

Pedro Israel Cabral de Lira - Universidade Federal de Pernambuco
Regina Mara Fisberg - Universidade de São Paulo
Rosângela Alves Pereira - Universidade Federal do Rio de Janeiro

Bioquímica Nutricional

Nadir do Nascimento Nogueira - Universidade Federal do Piauí
Teresa Helena Macedo da Costa - Universidade de Brasília

Dietética

Eliane Fialho de Oliveira - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Lília Zago Ferreira dos Santos - Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Kênia Mara Baiocchi de Carvalho - Universidade de Brasília

Educação Nutricional

Inês Rugani de Castro - Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Maria Cristina Faber Boog - Universidade Estadual de Campinas
Maria Lúcia Magalhães Bosi - Universidade Federal do Ceará

Epidemiologia e Estatística

Basílio de Bragança Pereira - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Denise Petrucci Gigante - Universidade Federal de Pelotas
Ricardo Carlos Cordeiro - Universidade Estadual de Campinas

Micronutrientes

Jaime Amaya Farfán - Universidade Estadual de Campinas
Lúcia de Fátima C. Pedrosa - Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Vera Lúcia Cardoso Garcia Tramonte - Universidade Federal de Santa Catarina

Nutrição Clínica

Josefina Bressan - Universidade Federal de Viçosa
Lilian Cuppari - Universidade Federal de São Paulo

Nutrição Experimental

Alceu Afonso Jordão - Universidade de São Paulo
Maria Margareth Veloso Neves - Universidade Federal de Goiás
Raul Manhães de Castro - Universidade Federal de Pernambuco

Nutrição Materno-Infantil

Joel da Silva A. Lamounier - Universidade Federal de Minas Gerais
Márcia R. Vitolo - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Nutrição em Produção de Refeições

Daisy Blumenberg Wolkoff - Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Helena Maria Pinheiro Sant'Ana - Universidade Federal de Viçosa
Rossana Pacheco da Costa Piroena - Universidade Federal de Santa Catarina

Políticas Públicas de Alimentação e Nutrição

Bethsáida de Abreu Soares Schmitz - Universidade de Brasília
Francisco de Assis G. de Vasconcelos - Universidade Federal de Santa Catarina
Patrícia Constante Jaime - Universidade de São Paulo

Saúde Coletiva

Ana Marlúcia Oliveira Assis - Universidade Federal da Bahia
Haroldo da Silva Ferreira - Universidade Federal de Alagoas
Maria Teresa Anselmo Olinto - Universidade do Vale do Rio dos Sinos

Editora Gerente / Manager Editor

Maria Cristina Matoso - Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Conselho Editorial / Editorial Board

Adriano Dias - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Alcides da Silva Diniz - Universidade Federal de Pernambuco
Alice Teles de Carvalho - Universidade Federal da Paraíba
Ana Lydia Sawaya - Universidade Federal de São Paulo
Ana Maria Segall Correa - Universidade Estadual de Campinas
Carlos A. Caramori - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Cephora Maria Sabarense - Universidade Federal de Viçosa
César Gomes Victora - Universidade Federal de Pelotas
Cláudia Maria da Penha Oller do Nascimento - Universidade Federal de São Paulo
Dilina do Nascimento Marreiro - Universidade Federal de Piauí
Dirce Maria Lobo Marchionni - Universidade de São Paulo
Eliane Beraldi Ribeiro - Universidade Federal de São Paulo
Emília Addison Machado Moreira - Universidade Federal de Santa Catarina
Fernando Colugnati - Instituto de Pesquisas em Tecnologia e Inovação
Gilberto Kac - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Iná da Silva dos Santos - Universidade Federal de Pelotas
Iracema Santos Veloso - Universidade Federal da Bahia
Jean-Pierre Poulain - Universidade de Toulouse-Le-Mirail - France
Julio Sérgio Marchini - Universidade de São Paulo
Leonor M. Pacheco dos Santos - Ministério do Desenv. Social e Combate à Fome
Lúcia Kiyoko Ozaki Yuyama - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Maria Alice Altenburg de Assis - Universidade Federal de Santa Catarina
Marina Kiyomi Ito - Universidade de Brasília
Paula Garcia Chiarello - Universidade de São Paulo
Roseli Sichiari - Universidade Estadual do Rio de Janeiro
Valdomiro Sgarbieri - Universidade Estadual de Campinas
Tânia Lúcia Montenegro Stamford - Universidade Federal de Pernambuco
Thomas Prates Ong - Universidade de São Paulo
Walter Belik - Universidade Estadual de Campinas

Revista de Nutrição é continuação do título Revista de Nutrição da Puccamp, fundada em 1988. É uma publicação bimestral, 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: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br

Annual: ● Pessoas físicas: R\$90,00

● Institucional: R\$140,00

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

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

Annual: ● Individual rate: R\$90,00

● Institutional rate: R\$140,00

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: +55-19-3343-6875

E-mail: ccv.revistas@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, Latindex, Scopus, Web of Science.

Qualis A-Nacional - Medicina II

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, Latindex, Scopus, Web of Science.

Qualis A-Nacional - Medicina II

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.



ISSN 1415-5273

Revista de Nutrição

Brazilian Journal of Nutrition

Revista de Nutrição é associada à
Associação Brasileira de Editores Científicos



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.21 n.2 mar./abr. 2008

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 0103-1627

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

- 129 Efeito da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*, L.) sobre o metabolismo glicídico e lipídico em ratos
The pumpkin (Cucurbita maxima, L.) seed flour effect on the rat glucose and lipid metabolism
• Priscila Machado de Cerqueira, Maria Cristina Jesus Freitas, Matilde Pumar, Sabrina Barreiros Santangelo
- 137 Influência de frações da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos em crescimento
Influence of yeast (Saccharomyces cerevisiae) cell wall fractions on some nutritional parameters of growing rats
• Saula Goulart Chaud, Valdemiro Carlos Sgarbieri, Eduardo Vicente
- 149 Alimentos sujeitos à fortificação compulsória com ferro: um estudo com gestantes
Foods subject to mandatory fortification with iron: a study with pregnant women
• Ivana Aragão Lira Vasconcelos, Mariana Helcias Côrtes, Denise Costa Coitinho
- 161 Estimativa da disponibilidade de zinco em refeições com preparações padronizadas da alimentação escolar do município de Campinas
Estimated zinc availability in school meals done with standard foods in the city of Campinas (SP), Brazil
• Semíramis Martins Álvares Domene, Thalita Cremonesi Pereira, Rye Katsurayama de Arrivillaga
- 169 Prevalência de sobrepeso e obesidade em nipo-brasileiros: comparação entre sexos e geração
Prevalence of overweight and obesity among Japanese-Brazilian: comparison across sex and generation
• Rosana Farah Simony, Suely Godoy Agostinho Gimeno, Sandra Roberta Gouvea Ferreira, Laércio Joel Franco, *Japanese-Brazilian Diabetes Study Group*
- 177 A qualidade das refeições de empresas cadastradas no Programa de Alimentação do Trabalhador na cidade de São Paulo
The quality of meals in companies participating in the worker's food program in the city of São Paulo, Brazil
• Daniel Henrique Bandoni, Patrícia Constante Jaime
- 185 Rotulagem de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância
Labeling food products for breastfeeding infants and toddlers
• Sheylle Almeida da Silva, Márcia Regina de Moura Dias, Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira

Revisão | Review

- 195 Os efeitos do ácido linoléico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro
Effects of conjugated linoleic acid on animal metabolism: advances in research and perspectives for the future
• Lilia Ferreira Santos-Zago, Adriana Prais Botelho, Admar Costa de Oliveira

- 223 A dinamometria manual e seu uso na avaliação nutricional
Hand grip strength test and its use in nutritional assessment
• Michael Maia Schlüssel, Luiz Antonio dos Anjos, Gilberto Kac

Comunicação | Communication

- 237 Experimentação animal: ética e legislação brasileira
Animal experimentation: ethics and the Brazilian legislation
• Angélica Heringer de Rezende, Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Céphora Maria Sabarense
- 243 Atualizações sobre β -hidroxi- β -metilbutirato: suplementação e efeitos sobre o catabolismo de proteínas
New findings on β -hydroxy- β -methylbutyrate: supplementation and effects on the protein catabolism
• Everson Araújo Nunes, Luiz Cláudio Fernandes
- 253 Instruções aos Autores
Instructions to the Authors

Efeito da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*, L.) sobre o metabolismo glicídico e lipídico em ratos¹

The pumpkin (Cucurbita maxima, L.) seed flour effect on the rat glucose and lipid metabolism

Priscila Machado de CERQUEIRA²

Maria Cristina Jesus FREITAS³

Matilde PUMAR⁴

Sabrina Barreiros SANTANGELO²

RESUMO

Objetivo

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*, L.) sobre o metabolismo glicídico e lipídico em ratos.

Métodos

Vinte ratos *Wistar* machos recém-desmamados, distribuídos em quatro grupos, receberam por 10 dias, rações controle e experimental com farinhas de semente de abóbora integral, peneirada ou residual substituindo 30% do valor total de amido e dextrina da dieta controle. As dietas foram isocalóricas. Foram determinados os macronutrientes e a fibra insolúvel nas farinhas. As dietas tiveram a composição química calculada a partir dos dados dos rótulos dos produtos, da tabela de composição de alimentos e da análise química das farinhas de semente de abóbora. O peso corporal e a ingestão dos animais foram tomados a cada 48 horas. O sangue, coletado por punção cardíaca, teve os níveis de triacilgliceróis, colesterol e glicose analisados por métodos enzimáticos.

Resultados

As farinhas de semente de abóbora foram boas fontes de proteínas, lipídeos e, especialmente, fibras alimentares. Os animais tiveram ganho ponderal e ingestão semelhante ($p>0,05$). Os níveis de glicose e triacilgliceróis foram reduzidos significativamente para os grupos que receberam dietas com farinhas de semente de abóbora integral e peneirada.

¹ Artigo elaborado a partir da dissertação de P.M. CERQUEIRA, intitulada: "Avaliação da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*, L.) no trato intestinal e no metabolismo glicídico e lipídico em ratos". Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2006.

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Seropédica, RJ, Brasil.

³ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro. Av. Brig. Trompowsky, s/n., Bloco J, Ilha do Fundão, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: M.C.J. FREITAS. E-mail: <crisrina@nutricao.ufrj.br>.

⁴ Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Conclusão

Frente às suas propriedades química e funcional, concluiu-se que a farinha de semente de abóbora interferiu no metabolismo do rato diminuindo significativamente os níveis de glicose e triacilgliceróis séricos.

Termos de indexação: Farinha. Fibra alimentar. Metabolismo dos lipídeos. Ratos. Sementes.

ABSTRACT

Objective

The aim of the present research was to evaluate the pumpkin (*Cucurbita maxima*, L.) seed flour effect on the rat glucose and lipid metabolism.

Methods

Twenty recent weaned male Wistar rats, divided in four groups, received for 10 days control and experimental diets containing whole, sifted and residual pumpkin seed flour on the rate of 30% of the total starch and dextrin in the control diet. All diets were isocaloric. Macronutrients and insoluble fiber were determined in the flours. All diets had their chemical composition calculated based on data from product labels, of food composition table and of the chemical analysis of the pumpkin seed flours. The animals' growth and ingestion had been evaluated in 48 hours intervals. Blood samples drawn by cardiac puncture had their triacilglycerides, cholesterol and glucose levels measured by enzymatic methods.

Results

The pumpkin seed flour are good protein, lipids and, specially, dietary fiber sources. The animals' growth and food ingestion were similar along all the experiment ($p > 0.05$). Glucose and triacilglycerides were significantly decreased in the groups taking diets with whole- and sifted-pumpkin seed flour respectively.

Conclusion

Taking into account their properties chemistry and functional, it can be concluded that the pumpkin seed flour interfered in the rat metabolism decreasing significantly the serum glucose and triacilglycerides levels.

Indexing terms: Flour. Dietary fiber. Lipid metabolism. Rats. Seeds.

INTRODUÇÃO

A fibra alimentar é descrita como uma classe de compostos de origem vegetal que, quando ingeridos, são resistentes à hidrólise enzimática, à digestão e à absorção no intestino delgado, apresentando fermentação parcial no intestino grosso^{1,2}. Estes compostos de origem vegetal incluem polissacarídeos, oligossacarídeos, lignina e substâncias associadas.

Os efeitos fisiológicos exercidos pela fibra alimentar são: laxação, aumento do bolo fecal, atenuação do colesterol e da glicemia sanguínea, entre outros³. Dentre outros fatores, isto se relaciona à sua solubilidade em água, podendo as fibras serem classificadas em solúveis (pectinas, gomas e mucilagens) e insolúveis (celulose, hemicelulose e lignina).

A reduzida ingestão de fibra alimentar pelo homem vem sendo associada ao aumento de inúmeras doenças crônicas não transmissíveis. Dessa forma, o consumo de alimentos ricos em fibra alimentar é essencial para manter a saúde e reduzir os riscos de determinadas doenças como *diabetes mellitus* e dislipidemias^{2,4}. Para suprir o déficit do consumo de fibra alimentar, a indústria alimentícia vem utilizando a fibra para produção ou enriquecimento de seus produtos e, desta forma, aumentar o teor de fibra alimentar e também nutricional. As fontes alternativas de fibra alimentar podem trazer grandes vantagens para as indústrias alimentícias, pois contribuem para o enriquecimento de produtos e previnem contra o desperdício, uma vez que o alimento é utilizado integralmente⁵.

Dentre diversas fontes alimentares alternativas ricas em fibra, pode-se citar um dos subprodutos da abóbora, a semente. A abóbora pertence à ordem *Cucurbitales*, família *Cucurbitaceae* e espécie *Cucurbita*, sendo utilizada, principalmente, em seu estado maduro para compor a dieta. A semente de abóbora também é utilizada pela medicina popular brasileira. Estudos em animais não demonstraram o efeito tóxico desse tipo de semente. Entretanto, seu consumo, *in natura*, sem sofrer tratamento térmico prévio, poderá diminuir a biodisponibilidade de determinados nutrientes³.

Estudos mostram^{1,2} o efeito benéfico da semente de abóbora sobre o metabolismo, a fisiologia e a nutrição humana. Entretanto os medicamentos hipotensivos, felodipina e captopril, tiveram seu efeito potencializado em associação com o óleo de semente de abóbora⁴.

A semente de abóbora está sendo aplicada de várias formas na alimentação humana como aperitivo, óleo ou em forma de farinha (FSA). A farinha possui elevado teor de fibra alimentar, efeito vermífugo e antioxidante, e representa, também, uma boa fonte protéica⁵.

Em razão da contribuição positiva da fibra alimentar à saúde, do alto teor de fibra da semente de abóbora e considerando a carência de dados sobre o estudo comparativo das aplicações nutricionais da fibra alimentar de semente de abóbora, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da FSA no metabolismo glicídico e lipídico de ratos.

MÉTODOS

Sementes obtidas de abóboras baianas (*Cucurbita maxima*, L.), provenientes da Central de Abastecimento do Rio de Janeiro (CEASA-RJ), foram higienizadas e sanitizadas, secas em estufa ventilada a 40°C por 18h, e armazenadas a -18°C para posterior utilização. Foram, então, torrefadas em fogo brando (150 a 180°C), por 10 a 15 minutos, e resfriadas em tabuleiros à temperatura ambiente. Uma parte das sementes torrefadas foi

triturada em liquidificador e passada em peneira doméstica, obtendo-se a FSA-Peneirada e a FSA-Residual. O restante dessas sementes foi triturado em liquidificador e, posteriormente, em moinho RETSCH malha 0,5mm, por 3 minutos, obtendo-se a FSA-Integral.

A fibra insolúvel foi determinada pelo método de Van Soest⁶, modificado por Mendez et al.⁷. Umidade, cinza, lipídeos e proteína bruta foram determinados de acordo com o Instituto Adolfo Lutz⁸. O fator de conversão de teor do nitrogênio dosado para proteína usado foi 5,7⁹ e os glicídios calculados por diferença das demais análises.

A dieta controle foi elaborada de acordo com Reeves et al.¹⁰. Para a dieta de manutenção e para as dietas experimentais substituiu-se 30% do teor total de carboidratos (amido e dextrina), da dieta controle, pelas FSA correspondentes, conforme Tabela 1.

A composição química das dietas foi calculada utilizando dados dos rótulos dos produtos, da tabela de composição de alimentos¹¹ e das análises químicas realizadas nas FSA.

Foram utilizados 20 ratos *Wistar* machos recém-desmamados do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal Fluminense (LABNE/UFF), que receberam ração comercial

Tabela 1. Formulação das dietas controle e de farinha de semente de abóbora. Rio de Janeiro (RJ), 2005.

Componentes	Dietas (g/kg) ¹			
	Controle	Farinha de semente de abóbora		
		Integral	Peneirada	Residual
Amido de milho ²	465,7	325,9	325,9	325,9
Dextrina ²	155,0	108,6	108,6	108,6
FSA	-	186,2	186,2	186,2
Caseína ²	140,0	140,0	140,0	140,0
Sacarose	100,0	100,0	100,0	100,0
Óleo de soja	40,0	40,0	40,0	40,0
Fibra-celulose ²	50,0	50,0	50,0	50,0
Mistura mineral ²	35,0	35,0	35,0	35,0
Mistura vitamínica ²	10,0	10,0	10,0	10,0
L-cistina ²	1,8	1,8	1,8	1,8
Colina (bitartrato) ²	2,5	2,5	2,5	2,5

¹ Reeves et al.¹⁰; ² Obtidas no Comércio e Indústria Farnos Ltda.

para ratos até atingirem peso de 110g a 125g, passando, então, a receber as dietas experimentais durante 10 dias.

Os animais foram distribuídos em 4 grupos com peso médio semelhante, com diferença máxima de 5%, cada grupo contendo 5 animais. Os ratos foram alocados em gaiolas de polipropileno individuais, e cobertas com maravalhas, e mantidos no biotério sob temperatura média de 21°C, com alternância de período de 12 horas de claro-escuro. Tiveram acesso livre a dieta e a água. O peso corporal e a quantidade de ingestão foram tomados a cada 48h correspondendo aos tempos T1, T2, T3, T4 e T5.

O presente experimento foi apreciado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio de Janeiro cumprindo as exigências e os procedimentos com animais contidos na Declaração de Helsinkí¹² e as condutas do COBEA por Goldenberg¹³, artigos I, IV, VIII e XI. Protocolo número INJC001.

Após o término do período de experimento, os animais foram colocados em jejum por 12 horas. Em seguida, e sob anestesia, foram coletadas amostras de sangue por punção cardíaca, nas quais foram analisados triacilgliceróis, colesterol e glicose séricos. Todas as amostras foram analisadas em duplicata considerando erro máximo de 5% entre os resultados. As determinações de triacilgliceróis (GPO-ANA) e colesterol (COD-ANA) foram feitas por métodos enzimáticos^{14,15} e a glicose sérica, pelo método enzimático da glicose-oxidase (GOD-PAD)¹⁶.

Todos os parâmetros quantificados no estudo foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de confiança de 95%, usando o *software Statistical* versão 6.0¹⁷.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme resultados obtidos (Tabela 2), verifica-se que os teores de umidade das farinhas estão de acordo com a legislação brasileira, que estipula até 15% para farinhas comerciais¹⁸. Os valores de cinzas das FSAs foram próximos aos

encontrados por Achu et al.¹⁹, que estudaram cinco espécies de sementes de *Cucurbitaceae* - entre 3,47 e 4,75g/100g. Os resultados também evidenciaram elevados teores de fibra alimentar, proteínas e lipídeos nas amostras de FSAs.

Dados na literatura, semelhantes aos obtidos, mostram significativos teores de fibras alimentares, proteínas e lipídeos em sementes vegetais. E que dentre as fibras alimentares totais, a fração insolúvel é predominante²⁰. Os diferentes valores absolutos dos macronutrientes (proteína e lipídeos) e de fibra alimentar (fibra detergente neutro) podem ser explicados pelas diferentes FSAs (Integral, Peneirada e Residual) obtidas ao final do processamento. Assim, maiores valores de fibra alimentar são esperados na FSA-Residual, composta, basicamente, pela parede celular vegetal-tegumento, ou seja, a casca da semente. A manutenção do endosperma das sementes para elaborar as FSAs Integral e Peneirada pode justificar o maior teor de lipídeos.

Embora trabalhando com metodologia diferente da apresentada, os autores: Esuoso et al.⁵ e Samant & Rege²¹ encontraram alto teor de fibra bruta nas espécies da família *Cucurbitáceas* além do alto teor de fibra bruta (9,3%) na semente de abóbora (*Telfairia occidentalis*); também constataram o mesmo para proteínas (16,0%) e lipídeos (48,6%).

Os valores de proteína e lipídeos das FSAs estudadas foram inferiores aos de Younis et al.²²,

Tabela 2. Composição química das farinhas de semente de abóbora. Rio de Janeiro (RJ), 2005.

Componentes	Farinha de semente de abóbora (g/100g) ¹		
	Integral	Peneirada	Residual
Umidade	8,41 ^a	7,80 ^b	8,36 ^a
Cinzas	4,32 ^a	4,27 ^a	3,19 ^b
Proteína	25,69 ^b	28,68 ^a	25,34 ^b
Lipídeos	31,76 ^a	32,96 ^a	19,28 ^b
Fibra alimentar (NDF)	29,49 ^b	24,88 ^b	43,51 ^a
Carboidratos totais ²	0,33 ^b	1,41 ^a	0,31 ^b
Kcal	389,92	417,00	276,12

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferenciam entre si com nível de significância de 5%; ² Calculado por diferença.

que encontraram, em sementes de *Cucurbita pepo* L., aproximadamente: 38,0% de proteína, 37,0% de carboidrato, e 35,0% de óleo, sendo este, composto de 78,0% de ácidos graxos insaturados.

Achu et al.¹⁹ avaliaram o valor nutritivo de 5 espécies de *Cucurbitaceae*. O valor médio protéico da *Cucurbita pepo* foi de 28,68% (Desvio-padrão - DP=2,38), próximo ao encontrado para as três FSAs; já o conteúdo de fibras alimentares foi inferior (3,44%) na semente da *Cucurbita maxima*. Também concluíram que as sementes de *Cucurbitaceae*, em geral, podem ser consideradas fontes de óleos e proteínas.

Na Tabela 3 apresenta-se a composição nutricional das 4 dietas utilizadas nos 10 dias de experimento. As dietas experimentais isocalóricas foram suficientes para desenvolvimento dos animais e se distinguiram, sobretudo, no teor de fibra alimentar contido nas sementes de abóbora.

Apesar de os animais submetidos às FSAs terem apresentado ligeira elevação no consumo (1% a 10%) em relação ao controle, no período avaliado, o consumo médio em todos os tempos do experimento não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) entre todos os grupos. A composição da semente de abóbora, por possuir maior teor de fibra insolúvel, pode ter causado este incremento na ingestão. Alguns autores também já haviam observado o aumento do consumo alimentar em função da presença de fibras insolúveis na dieta^{23,24}.

Tabela 3. Composição nutricional das dietas controle e experimental contendo FSAs. Rio de Janeiro (RJ), 2005.

Componentes	Dietas (g/100kg) ¹			
	Controle	Farinha de semente de abóbora		
		Integral	Peneirada	Residual
Proteína	12,0	12,3	17,6	16,8
Lipídeos	4,3	10,3	10,3	7,7
Carboidratos totais	65,2	48,7	47,9	47,7
Fibra alimentar	5,0	10,6	9,72	13,3
Mistura mineral	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica	1,0	1,0	1,0	1,0
Kcal	347,5	336,7	354,7	327,3

¹ Reeves et al.¹⁰.

Assim, as propriedades químico-físicas da fibra, sua fonte de origem e a forma como é aplicada, são alguns dos fatores que podem influenciar o consumo da dieta e o desenvolvimento ponderal, o que justifica os resultados encontrados.

Com relação ao peso corpóreo, os animais iniciaram o experimento com peso médio de 110g entre os grupos e o finalizaram com peso médio de 150g, sendo o crescimento ponderal semelhante ($p>0,05$) para todos os grupos em todos os tempos do experimento. De acordo com os resultados obtidos, a incorporação das FSAs como fonte de fibra alimentar não interferiu no ganho de peso corpóreo dos ratos estudados. Semelhante comportamento ponderal foi encontrado na literatura, em estudo que adicionou fibras alimentares à dieta de animais²³.

Ao realizar a coleta observou-se que o sangue dos ratos alimentados com as dietas experimentais (contendo FSAs) diferiu sob alguns aspectos. Assim, o sangue destes grupos era, aparentemente, mais viscoso, formava gel e coagulava rapidamente, dificultando a coleta. Krishnamoorthi et al.²⁵ relataram a presença do Fator Hageman ou Fator XII, responsável pelo processo de coagulação sangüínea na semente de abóbora. Esta proteína ativa outros fatores de coagulação, e o seu excesso pode reduzir o tempo de tromboplastina e acelerar a coagulação.

O impacto das dietas sobre os indicadores bioquímicos foi avaliado pelos valores séricos de glicose, de triacilglicerol e de colesterol, após 10 dias de experimento, e são apresentados na Tabela 4. Os animais que receberam dietas acrescidas das FSAs apresentaram, de modo geral, níveis séricos de glicose e triacilgliceróis reduzidos (em maior ou menor grau). Estudo *in vitro*, realizado por Chau & Huang²⁶, mostrou que a fração insolúvel da fibra, presente na semente do maracujá (*Passiflora edulis*), pode diminuir a glicose sérica e exercer efeito inibitório sobre a amilase. Da mesma forma, Chau et al.²⁷ constataram a ação hipoglicemiante da fração insolúvel da fibra alimentar proveniente da polpa de cenoura, sugerindo o controle da glicose pós-prandial.

Tabela 4. Níveis séricos de glicose, triacilgliceróis e colesterol total após 10 dias de experimento. Rio de Janeiro (RJ), 2005.

Indicadores bioquímicos	Grupos de animais (mg/dL) ¹			
	Controle	Farinha de semente de abóbora		
		Integral	Peneirada	Residual
Glicose	82,50 ^a	32,43 ^b	58,31 ^{ab}	52,43 ^{ab}
Triacilgliceróis	150,80 ^a	113,33 ^{ab}	82,13 ^b	89,33 ^{ab}
Colesterol total	105,55 ^a	95,30 ^a	78,25 ^a	67,45 ^a

¹ Letras iguais na mesma linha não diferem entre si ($p>0,05$).

Com relação ao grupo controle, os animais submetidos às FSAs, embora não tenham apresentado diferença ($p>0,05$) nos níveis de colesterol sérico total, pôde-se constatar valores inferiores em 10%, 26% e 36%, respectivamente. Tais resultados podem estar relacionados com o alto teor de fibras, em especial a fração insolúvel nas dietas experimentais, fato já constatado por Chau et al.²³. O resultado do presente trabalho, no que diz respeito à influência da ingestão de fibras insolúveis sobre níveis séricos de lipídeos, também já havia sido verificado por Chau et al.²⁸, que os relacionaram ao tipo de fibra estudada e às suas propriedades físico-químicas.

De acordo com Samant & Rege²¹, a celulose é o principal carboidrato da fração insolúvel presente na semente de abóbora. Ao estudarem o efeito de fibras alimentares, entre elas, a celulose sobre lipídeos séricos de ratos *Wistar* hiperlipidêmicos, Fietz & Salgado²⁸ observaram que, no 30º dia de experimento, dietas com 10% e 15% de celulose proporcionaram redução significativa do colesterol sérico em relação ao grupo controle. Piedade & Canniatti-Brazaca²⁴ compararam o efeito do resíduo do abacaxizeiro (caules e folhas) e da pectina cítrica de alta metoxilação, no nível de colesterol sanguíneo em ratos nos períodos de 15, 30 e 45 dias. No estudo verificaram que o resíduo do abacaxizeiro (cuja composição é predominante de fibra insolúvel) reduziu o nível de colesterol total e LDL-colesterol em todos os tempos avaliados e aumentou o HDL-colesterol para os tempos 15 e 30 dias.

Por outro lado, sabe-se que o efeito hipolipidêmico não está somente ligado à fibra alimentar. Os baixos níveis séricos de triacilgliceróis e colesterol encontrados nos ratos experimentais, também podem estar relacionados ao alto teor de ácidos graxos insaturados e de antioxidantes presente na semente abóbora^{19,22}. O óleo de semente de abóbora - por apresentar considerável teor de ácidos monoinsaturados e polinsaturados, principalmente - auxilia no tratamento de dislipidemias. Segundo Al-Zuhair et al.²⁹, o óleo de semente de abóbora foi capaz de potencializar o efeito medicamentoso da sinvastatina no tratamento de hipercolesterolemia. Isso sugere que a administração do óleo de semente de abóbora, em associação a doses reduzidas daquele medicamento, seria eficaz no tratamento de hipercolesterolemia.

Pelo que foi constatado na literatura e, segundo os resultados desta pesquisa com a semente de abóbora, é necessário ressaltar a importância de avanços tecnológico-científicos no estudo com vegetais, a fim de os incorporar com frequência na alimentação devido aos seus benefícios.

CONCLUSÃO

As FSAs (peneirada, residual e integral) apresentam alto teor de fibras alimentares, em especial a fibra insolúvel e também teores relevantes de proteína e de lipídeos. A adição de FSAs à dieta não alterou o consumo e o ganho de peso entre os animais experimentais. A FSA Integral foi mais eficiente na redução da glicemia, enquanto a FSA Peneirada exerceu maior efeito sobre o triacilglicerídeo sérico. Todas as FSAs tenderam a valores inferiores no colesterol sérico total. Os resultados obtidos na pesquisa reforçam o potencial da semente de abóbora como fonte de proteínas, lipídeos e fibras insolúveis, comuns ao consumo humano, ou como alternativa exercendo efeito benéfico sobre o metabolismo lipídico e glicídico.

AGRADECIMENTO

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de Mestrado.

COLABORADORES

P.M. CERQUEIRA executou o experimento biológico e elaborou o artigo. S.B. SANTANGELO contribuiu na execução do ensaio biológico e nas análises séricas dos animais, bem como nas análises química da farinha de semente de abóbora. M.C.J. FREITAS planejou e executou o delineamento do experimento biológico, supervisionou e coordenou todas as atividades e etapas do presente trabalho, analisou e interpretou os dados e a elaboração do artigo. M. PUMAR planejou e coordenou o experimento biológico, analisou e interpretou os dados e a elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

- Trowell H. Definition of dietary fiber and hypothesis that is a protective factor in certain diseases. *Am J Clin Nutr.* 1976; 29(4):417-27.
- Rodríguez R, Jiménez A, Fernández-Bolaños J, Guillén R, Heredia, A. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci Technol.* 2006; 17(1):3-15.
- Del-Vechio G, Corrêa AD, Abreu CMP, Santos CD. Efeito do tratamento térmico em sementes de abóboras (*Cucurbita* spp.) sobre os níveis de fatores antinutricionais e/ou tóxicos. *Ciênc Agrotecnol.* 2005; 29(2):369-76.
- Al-Zuhair H, Fattah AAA, Sayed MI. Pumpkin-seed oil modulates the effect of felodipine and captopril in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacol Res.* 2000; 41(5):555-63.
- Esuoso K, Lutz H, Kutubuddin M, Bayer E. Chemical composition and potential of some underutilized tropical biomass. I: fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis*). *Food Chem.* 1998; 61(4):487-92.
- Van Soest PJ. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds I: preparation of fiber residues of low nitrogen. *J Assoc Of Anal Chem.* 1963; 46:825-9.
- Mendez MHM, Derivi SCN, Rodriguez MCR, Fernandes ML, Machado RLD. Método da fibra detergente neutro modificado para amostras ricas em amido. *Ciênc Tecnol Aliment.* 1985; 5(2): 123-31.
- São Paulo. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos analíticos e físicos para análise de alimentos. 3a. ed. São Paulo: IAL; 1985. v.1.
- Jones DB. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentage of protein. 22th ed. Washington (DC): USDA; 1941.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GCJ. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and *ad hoc* Writing Committee on the reformulation of the AIN-76. A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123:1939-51.
- Philippi ST. Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional. 2a. ed. São Paulo: Atheneu; 2002.
- Declaração de Helsinki. Diretriz e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Resolução 196/96. [acesso 2005 out 11]. Disponível em: <<http://ufrgs.br/bioetica/helsin5.htm>>.
- Goldenberg S. Aspectos éticos da pesquisa com animais. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos (Resolução 196/96). *Acta Cir Bras* [periódico na internet] 2000 [acesso 2006 out 13]; 15(4):1-4. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/bioetica/helsin5.htm>>.
- Cooper C. Lipid and lipoprotein analysis. manual of laboratory operations lipid research clinics program. Washington (DC): NIH; 1974. v.1
- Lopes-Virella MF, Stone P, Ellis S, Colwell JA. Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. *Clin Chem.* 1977; 23(5):882-4.
- Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem.* 1969; 6(24):24-7.
- Pimentel-Gomes F. A estatística moderna na pesquisa agropecuária. Piracicaba: Kp Potafos; 1984.
- Brasil. Portaria n. 354, de 18 de julho de 1996. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de farinha de trigo, farinha integral de trigo. *Diário Oficial* (da República Federativa do Brasil). 1996. 22 jul; Parte 1, Seção 1.
- Achu MB, Fokou E, Tchiégang C, Fotso M, Tchouanguép FM. Nutritive value of some Cucurbitaceae oilseeds from different regions in Cameroon. *Afr J Biotechnol.* 2005; 4(11):1329-34.
- Takemoto E, Okada IA, Garbelotti ML, Tavares M, Aued-Pimentel S. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do

- Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. Rev Inst Adolfo Lutz. 2001; 60(2):113-7.
21. Samant SK, Rege DV. Carbohydrate composition of some cucurbit seeds. J Food Comp Anal. 1989; 2(2):149-56.
 22. Younis YM, Ghirmay S, Shihry S. African Cucurbita pepo L. Properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. Phytochemistry. 2000; 54(1):71-5.
 23. Chau CF, Chen CH, Wang YT. Effects of a novel pomace fiber on lipid and cholesterol metabolism in the hamster. Nutr Res. 2004; 24(5):337-45.
 24. Piedade J, Canniatti-Brazaca SG. Comparação entre o efeito do resíduo do abacaxizeiro (caules e folhas) e da pectina cítrica de alta metoxilação no nível de colesterol sanguíneo em ratos. Ciênc Tecnol Aliment. 2003; 23(2):149-56.
 25. Krishnamoorthi R, Gong Y, Richardson M. A new protein inhibitor of trypsin and activated Hageman factor from pumpkin (*Cucurbita maxima*) seeds. FEBS Lett. 1990; 273(1-2):163-7.
 26. Chau CF, Huang YL. Characterization of passion fruit seed fibers-a potential fibre source. Food Chem. 2004; 85(2):189-94.
 27. Chau CF, Chen CH, Lee M. Comparison of the characteristics, functional properties, and *in vitro* hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fractions. LWT. 2004; 37(2):155-160.
 28. Fietz VR, Salgado JM. Pectin and cellulose effects on cholesterol serum levels, and triglycerides in hiperlipidemic rats. Ciênc Tecnol Aliment. 1999; 9(3):318-21.
 29. Al-Zuhair H, Abd El-Fattah AA, Abd el Latif H A. Efficacy of simvastatin and pumpkin-seed oil in the management of dietary-induced hypercholesterolemia. Pharmacol Res. 1997; 35(5):403-8.

Recebido em: 14/9/2006
 Versão final reapresentada em: 20/7/2007
 Aprovado em: 29/2/2008

Influência de frações da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos em crescimento

*Influence of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell wall fractions on some nutritional parameters of growing rats*

Saula Goulart CHAUD¹
Valdemiro Carlos SGARBIERI¹
Eduardo VICENTE²

RESUMO

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das frações de parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos Wistar em crescimento.

Métodos

A biomassa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), coletada sem sofrer o processo de termólise, foi recebida da usina São José, Zillo Lorenzetti (Macatuba, SP), em suspensão de, aproximadamente, (20% p/v) de células. O fracionamento da parede celular da levedura foi realizado por extração diferencial, centrifugação e secagem em *spray dryer*. A importância como fibra da dieta foi determinada em ratos da linhagem Wistar, recém desmamados, por meio das seguintes avaliações: ganho de peso corporal, consumo de dieta (28 dias), quociente de eficiência da dieta, digestibilidade aparente da proteína, quantidade total de fezes, lipídeos e colesterol excretados nas fezes.

Resultados

Os animais que receberam a dieta contendo a fração glicana mais manana ganharam menos peso em relação aos demais tratamentos. A dieta com a fração manana foi a que proporcionou maior ganho de peso, seguida pela dieta padrão (AIN-P) e a dieta com 10% de glicana insolúvel. Quanto ao quociente de eficiência da dieta, observou-se, ao longo dos 28 dias, que a dieta com a fração glicana mais manana foi a que apresentou os menores valores. As maiores porcentagens de digestibilidade aparente da proteína foram observadas nas dietas: padrão modificada (AIN-M), padrão (AIN-P) e (M) com 10% da fração manana. As quantidades de lipídeos totais e colesterol excretados nas fezes variaram bastante entre as dietas, sendo que a dieta formulada com 10% de fração manana foi a que promoveu maior excreção do colesterol.

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição. R. Monteiro Lobato, 80, 13083-970, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: V.C. SGARBIERI. E-mail: <sgarb@fea.unicamp.br>

² Instituto de Tecnologia de Alimentos, Centro de Química de Alimentos. Campinas, SP, Brasil.

Conclusão

Ao final de 28 dias, os animais que receberam a dieta contendo 10,0% da fração glicana mais manana apresentaram o menor consumo de dieta e ganharam menos peso em relação às demais dietas. A digestibilidade aparente de todas as dietas foi elevada, em média 98,6%, contudo, as quantidades de lipídeos totais e colesterol excretados nas fezes variaram consideravelmente, sendo que a dieta contendo manana excretou, proporcionalmente, maior quantidade de colesterol.

Termos de indexação: Mananas. Parede celular. Polissacarídeos. *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Objective

The objective of the present work was to assess the nutritional impact of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall fractions on some nutritional parameters in growing Wistar rats.

Methods

Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass collected without undergoing thermolysis came from the mill São José, Zillo Lorenzetti (Macatuba, SP) in a suspension of approximately 20% p/v of cells. Fractionation of the cell wall material was done by differential extraction, centrifugation, and drying in "spray dryer". The importance of the yeast cell components as dietary fibers was assessed in recently weaned Wistar rats by measuring weight gain, diet consumption (28 days), diet efficiency ratio, apparent protein digestibility, total amount of feces and lipids and cholesterol excreted in feces.

Results

Rats which were submitted to diets containing glycan plus mannan gained less weight when compared with the other diets. The mannan-containing diet yielded the highest weight gain, followed by the standard AIN diet (S-AIN) and the insoluble glycan diet. Regarding diet efficiency ratio, the diet containing glycan plus mannan produced the lowest values throughout the 28 days. The highest apparent protein digestibility was obtained for the modified standard diet, for the standard AIN diet, as well as for the 10% mannan-containing diet (M). Total lipids and cholesterol excreted in the feces varied substantially among the diets. The diet containing 10% mannan was the one that promoted the greatest excretion of cholesterol.

Conclusion

At the end of 28 days, the rats submitted to the glycan plus mannan-containing diets consumed less food and gained less body weight than those submitted to the other diets. Apparent digestibility of all diets was high, 98.6% on average. The amounts of total lipids and cholesterol excreted in the feces varied considerably; however, the mannan-containing diet promoted proportionally more cholesterol excretion than the other diets.

Indexing terms: Mannans. Cell wall. Polysaccharides. *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de álcool de cana de açúcar, com uma produção de 300 milhões de toneladas de cana de açúcar, 381 milhões de sacos de 50kg de açúcar e mais de 12 milhões de metros cúbicos de álcool anidro e hidratado na safra de 1999/00¹, e utiliza levedura na transformação do açúcar em álcool. Porém, o excesso de levedura, subproduto da produção de álcool por via fermentativa, é normalmente descartado ou usado somente como ração animal. A

fim de fazer melhor uso destas leveduras e diminuir a poluição ambiental, têm sido conduzidos estudos para recuperação e agregação de valor a este subproduto da produção de álcool etílico^{2,3}.

O uso de levedura íntegra em processamento de alimentos é, geralmente, limitado devido ao odor e sabor indesejáveis da levedura seca⁴. No entanto, o fracionamento da levedura produz derivados que podem ser adicionados em alimentos. Alguns desses derivados seriam o autolizado, obtido pelo processo de autólise das células;

o extrato de levedura e parede celular, obtidos pelo fracionamento do autolisado em fração solúvel (extrato) e insolúvel (parede celular) e o concentrado protéico⁵.

A fração parede celular (PC) é composta por mananas, beta-glicanas e glico-proteínas com propriedades fisiológicas e funcionais bastante interessantes⁶. A parede celular integral de levedura, bem como suas frações polissacarídicas, podem servir como fontes de fibra da dieta a qual é considerada agente hipocolesterolêmico⁷.

Estudos experimentais e epidemiológicos mostraram que as fibras apresentam, entre outras propriedades, a de atuar como um regulador intestinal, com efeito laxativo. As fibras também apresentam propriedades que ajudam no tratamento de doenças como diabetes e hipercolesterolemia e, por estas características, atuam na prevenção de doenças coronárias e câncer de cólon⁸. Segundo Sgarbieri & Pacheco⁸, alguns autores procuram explicar a ação preventiva da fibra da dieta sobre a diminuição da incidência de câncer de cólon por um dos seguintes efeitos: a) redução da exposição a agentes carcinogênicos, pelo aumento do bolo fecal ou pela diminuição do tempo de trânsito do bolo intestinal; b) redução da produção de ácidos biliares secundários, pela diminuição de bactérias produtoras da enzima 7- α -desidroxilase responsável pela conversão dos ácidos biliares primários nos ácidos secundários, que são pró-carcinogênicos; c) efeito ligante da fibra a hormônios (estrógenos promotores de câncer de cólon e de mama); d) produção de ácidos graxos de cadeia curta que contribuem para o abaixamento do pH do meio intestinal e desempenham papel fisiológico importante, nos tecidos epitelial e hepático. Além disso, para o combate à hipercolesterolemia é importante não apenas o tipo de fibra, mas também os níveis de colesterol dos pacientes⁹.

A incorporação de 20% da fração glicana na dieta hipercolesterolêmica de ratos baixou rapidamente e, de forma significativa, os níveis de colesterol sérico; por esse motivo, ela pode ser considerada um agente hipocolesterolêmico¹⁰.

Segundo Williams et al.¹¹, a β -glicana isolada de *Saccharomyces cerevisiae* apresenta propriedade imunoestimulante. Essa glicana pertence à classe das drogas conhecidas como Modificadoras da Resposta Biológica (*Biological Response Modifiers* - BRMs), com efeito benéfico em uma variedade de doenças experimentais causadas por bactérias, vírus, fungos e parasitas. Além disso, atua como modificadora da supressão imunológica e também de doenças neoplásicas, no plano experimental.

Uma vez que a parede celular de levedura é composta por carboidratos que auxiliam na redução do colesterol, é de interesse o estudo da eficiência das frações dela obtidas, como fonte de fibra da dieta. O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar o impacto de frações extraídas da parede celular de levedura, como única fonte de fibra dietética, no crescimento e em outros parâmetros fisiológicos, de ratos recém-desmamados.

MÉTODOS

Obtenção das frações

A biomassa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), coletada sem sofrer o processo de termólise, foi recebida da usina São José, Zillo Lorenzetti (Macatuba, SP), em suspensão de, aproximadamente, 20% p/v de células. A higienização e o posterior fracionamento das células em extrato de levedura (Ex) e parede celular bruta (PC), na forma desidratada, foram realizados como descrito por Sgarbieri et al.¹² No processo de fracionamento, a parede celular bruta apresentou um rendimento de 70%, a partir da biomassa de levedura.

O fracionamento da parede celular para obtenção das frações: manana (M), glicana mais manana (G+M), glicana insolúvel (GI) e glico-proteína foi realizado em laboratório, mas pode ser empregado também em escala piloto.

A fração lipídica foi isolada da PC desidratada com etanol 95% na proporção de 1:2

p/v (2 extrações), n-hexano na proporção de 1:2 p/v (4 extrações). A combinação dos extratos obtidos com o etanol e com n-hexano foi filtrada e concentrada em rotavapor, conforme metodologia descrita por Kollar et al.¹³. Foram feitas as seguintes modificações: extrações com etanol 95% (2 extrações), n-hexano (4 extrações) utilizando a rotação de 14.000g, durante 20min, a temperatura de 10°C.

As frações de PC utilizadas neste trabalho foram obtidas seguindo metodologia proposta por Otero et al.⁶, a partir da parede celular desengordurada.

A seqüência de operações seguida para o fracionamento da PC desengordurada (lotes de 100g) foi a seguinte: a) extração com solução de NaOH 1% (1:3 p/v) a 75° por 20 min, com agitação; b) centrifugação (10.000g, 15min) para obtenção de resíduo de 700g (70,0%), que representou a fração glicana mais manana (G+M) e um sobrenadante; c) o sobrenadante foi tratado com 3 vol de etanol 95% (12h a 4°C) seguido de centrifugação, sendo que o precipitado foi desidratado (liofilização) para obtenção da fração glicoproteína (GP), com um rendimento de 94,9g (9,5%); d) a fração G+M foi extraída com solução de KOH a 2% (3h, 93°C) seguida de neutralização e centrifugação; e) a fração insolúvel (GI) foi lavada com água em repetidas centrifugações e, após resuspensa em água, foi desidratada por liofilização, com um rendimento de 429,2g (42,9%); f) o sobrenadante da extração alcalina foi tratado com 3 vol de etanol 95% (12h, 4°C) e, em seguida, submetido à centrifugação. O precipitado, após lavagem com etanol 95%, foi liofilizado, obtendo-se a fração manana, 250g (25,1%).

As frações obtidas em todo o processo de fracionamento, três repetições, foram reunidas e dialisadas (membrana MWCO 6000 a 8000 daltons, 50 milímetros x 30 metros - Thomas, Swedes-boro, *New Jersey* - EUA) em água destilada a 4°C, com agitação e troca de 3 vezes ao dia (volume 10L) durante 3 dias. O objetivo da diálise foi eliminar o cloreto de sódio (NaCl) e os compostos de baixo peso molecular (PM<8000

Da). Em seguida, as amostras dialisadas foram liofilizadas ou desidratadas em *spray dryer*, pesadas para determinação do rendimento e armazenadas a -18°C para posterior realização dos estudos programados.

Composição centesimal

A composição centesimal foi realizada para os seguintes materiais: PC, G+M, M e GI. Os cálculos foram feitos a partir da média de três repetições analíticas com estimativas de desvio-padrão. Umidade e sólidos totais foram determinados segundo a *Association of Official Agricultural Chemists*¹⁴. Os sólidos totais foram obtidos pela diferença entre o peso total da amostra e o conteúdo em umidade, após secagem em estufa a 105°C até peso constante. O teor de cinza¹⁴ representa o resíduo que permanece após a incineração da amostra a 500 - 550°C, com destruição da matéria orgânica. O nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl semi-micro¹⁴, multiplicando-se o teor de N pelo fator 6,25 para obter o conteúdo de proteína bruta. Os teores de fibra solúvel e insolúvel foram obtidos por método enzimático e gravimétrico¹⁵. Neste método, a amostra finamente moída foi resuspensa e submetida primeiramente à ação de protease e amiloglicosidase (Sigma nº P-3930, St. Louis, Estados Unidos). A partir deste hidrolisado, foram determinados os teores de fibra insolúvel por lavagem em um filtro com água e acetona, e a fibra solúvel foi obtida do filtrado por precipitação com etanol a 95% e por filtração, seguida de lavagem no próprio filtro com etanol e acetona. A filtração foi realizada com auxílio de lã de vidro. Após secagem, o material retido no filtro foi pesado e corrigido para teores de proteína e cinza. A fibra total foi estimada pela soma dos teores de fibra insolúvel e solúvel. Os lipídeos polares e apolares (lipídeos totais) foram determinados gravimetricamente após extração com uma mistura dos solventes clorofórmio: metanol: água na proporção de 10:20:0,8 e evaporação do solvente¹⁶.

A determinação de lipídeos totais nas fezes foi realizada segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz¹⁷. Em síntese, o método consta da extração de quantidade conhecida da amostra (ex. 5g) em uma mistura de água: HCl (100+60mL), que é aquecida à ebulição por 30 minutos. Após esse tempo, é deixada à temperatura ambiente para esfriar e é filtrada, lavando-se o filtro com água até eliminação total do íon Cl⁻. O funil, juntamente com o papel de filtro, é secado em estufa (2h, 70°C) e, após secagem, o papel de filtro é dobrado em cartucho e colocado em extrator Soxhlet, conectado a um balão de fundo chato, tarado, contendo 80mL de éter de petróleo aquecido à ebulição (6-8h) para extração dos lipídeos. Após evaporação do solvente, a porcentagem de lipídeos no balão foi calculada: % lipídeos totais=(peso do balão + matéria graxa) - tara do balão/peso da amostra x 100.

A determinação de colesterol nas fezes foi realizada por cromatografia gasosa pelo método de Jiang et al.¹⁸, com algumas modificações. Pesou-se 0,25g (Desvio-padrão - DP 0,01) de amostra em um tubo de ensaio de 70mL com tampa rosqueável, adicionou-se 5mL de KOH 2% em etanol absoluto, deixou-se em banho maria a 50°C, durante 2 horas com agitação. Adicionou-se 5mL de H₂O destilada, deixando-se em repouso até resfriar. Adicionou-se 10mL de hexano e agitou-se por 1 minuto. Transferiu-se 5mL do hexano (fase superior) para um tubo de ensaio de 15mL com tampa rosqueável. Secou-se completamente em banho maria na presença de N₂ a 40°C. Armazenou-se em freezer até o momento de ser injetado no cromatógrafo. A amostra seca foi dissolvida em um volume adequado (3 a 30µL) de solução do padrão interno contendo 100mg/mL de 5- α -colestano em isopropanol, de modo que a concentração de colesterol ficasse dentro da curva de calibração, injetando-se no cromatógrafo (1µL). A quantificação foi feita utilizando-se uma curva de calibração com padronização interna. Concentração do colesterol na curva: 12 a 160µg/mL. Condições cromatográficas: a) coluna: DB5, 30m, 0,25mm d.i.;

0,25µm de filme; b) temperaturas: coluna - 160°C/2min - 160 a 300 (8°C/min) - 300°C/20 min, injetor - 270°C, detector - 300°C; c) pressão na coluna: 12 psi (300°C); d) *Make up* (N₂): 30mL/min; e) hidrogênio: 30mL/min; f) ar sintético: 300mL/min; g) *split*:1:50; h) volume injetado: 1µL.

Ensaio biológico

Foram utilizados ratos machos Wistar, adquiridos do Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB), com idade de 21 dias, os quais foram inicialmente pesados e separados em 5 grupos com 8 ratos cada, sendo que cada grupo, após a separação, foi tratado com a sua respectiva dieta sem período de adaptação. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, com livre acesso às dietas e à água. Durante o ensaio, a temperatura do laboratório foi mantida em 22°C (DP=2°C), sendo que a iluminação foi controlada, com períodos alternados de luz e escuro de 12 horas.

A fração glicoproteína não foi utilizada na elaboração das dietas e nem nas análises de composição centesimal, pois o intuito deste trabalho foi avaliar os efeitos das frações ricas em fibras, provenientes da parede celular (PC), e não da proteína.

As dietas foram elaboradas seguindo as recomendações da AIN-93G¹⁹, com algumas modificações, na dieta padrão (dieta AIN-P) que contém 17% de caseína e 5% de celulose: a) dieta padrão modificada (AIN-M) com 10% de celulose comercial, adicionada de 1% de colesterol e 10% de gordura de coco. A gordura de coco contém elevada porcentagem de ácidos graxos saturados e foi introduzida para promover hipercolesterolemia por facilitar a observação do efeito hipocolesterolêmico; b) as dietas experimentais foram preparadas contendo 10% de cada fração de PC mais 1% de colesterol e 10% de gordura de coco e foram denominadas dietas G+M, M ou GI, conforme a fração de PC incorporada. Os outros nutrientes foram ajustados de acordo com

a dieta padrão (AIN-93G)¹⁹. No cálculo da composição das dietas foram levados em consideração os nutrientes contidos nas frações de PC, conforme indicação que consta da Tabela 1.

Foram realizados 5 tratamentos com 8 ratos em cada tratamento (totalizando 40 ratos), que foram sacrificados nos tempos: T₀, 8 ratos, antes de receberem as dietas; T₁₄, 14 dias recebendo as dietas, (4 ratos) e T₂₈, 28 dias recebendo as dietas (4 ratos de cada tratamento). O consumo de dieta e, conseqüentemente, de proteína, foi avaliado duas vezes por semana e o somatório dessas avaliações foi utilizado para o cálculo do consumo total no final dos 28 dias.

As fezes foram cuidadosamente coletadas nos intervalos T₀-T₁₄, T₁₄-T₂₁ e T₂₁-T₂₈ e os pesos dos animais tomados no final de cada período. Depois de separados os contaminantes (partículas de alimentos, pelos etc.), as fezes foram secas em estufa à temperatura (105°) para moagem e posterior análise.

Com base na dieta e na proteína ingeridas, no nitrogênio absorvido e excretado nas fezes e no ganho de peso corporal, puderam ser calculados: o quociente de eficiência alimentar (CEA) pela relação ganho de peso (g)/consumo de dieta (g), o quociente de eficiência protéica (PER), pelo ganho de peso (g)/proteína ingerida (g) e a diges-

tibilidade aparente da proteína pela relação (nitrogênio ingerido - nitrogênio nas fezes/nitrogênio ingerido x 100).

Os resultados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e as diferenças significantes entre as médias ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa *Statistica: Basic Statistics and Tables*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da composição centesimal da PC semi-purificada e das frações dela extraídas é apresentada na Tabela 1.

Na parede celular semi-purificada (PC), o componente quantitativamente mais importante foi a fibra (77,8%), com uma predominância de fibra solúvel (74,0%). Na PC permaneceram, mesmo depois de lavada exaustivamente com água, de 18,0% a 20,0% de proteínas, que são glicoproteínas estruturais²⁰. Nas frações extraídas da PC semi-purificada, a fibra foi o componente quantitativamente mais importante, representando 70% na fração G+M e 84,0% nas frações M e GI. Nas frações G+M e M predominaram as fibras solúveis nas concentrações de 60,0% e 70,0%, respectivamente, enquanto na fração GI predo-

Tabela 1. Composição centesimal da parede celular (PC) semi-purificada de levedura da fermentação alcoólica obtida pelo processo de autólise industrial e de suas respectivas frações dialisadas.

Componente (% b.s.) ¹	PC		G+M		M		GI	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
Proteína (Nx6,25)	18,8	0,50 ^b	21,4	0,20 ^a	6,0	0,40 ^c	6,2	0,50 ^c
Fibra alimentar:								
Total	77,8	0,60 ^b	69,7	0,20 ^c	83,9	0,10 ^a	84,4	0,20 ^a
Insolúvel	3,8	0,10 ^d	9,5	0,50 ^c	13,5	0,50 ^b	75,2	0,20 ^a
Solúvel	74,0	0,60 ^a	60,2	0,40 ^c	70,3	0,60 ^b	9,2	0,50 ^d
Cinza	1,4	0,02 ^c	3,2	0,09 ^b	3,1	0,02 ^b	4,0	0,08 ^a
Lipídeos totais	2,0	0,05 ^c	3,8	0,03 ^b	0,6	0,06 ^d	4,0	0,05 ^a
Não determinados ² (diferença)	0		1,9		6,8		1,4	

b.s. - base seca; ¹ Média de três determinações (triplicata) DP: desvio-padrão. Os resultados seguidos de mesma letra minúscula (linhas) não diferem ao nível de 5% ($p > 0,05$); PC: parede celular; G+M: glicana+manana; M: Manana; GI: glicana insolúvel. ² Não determinados: 100 menos somatória dos demais componentes.

minaram as fibras insolúveis perfazendo 75,0% dessa fração.

Manana (M) e GI apresentaram, em cada uma das frações, cerca de 6,0% de proteína enquanto a fração G+M, por conter ainda as glicoproteínas, apresentou teor bem mais alto (21,4%) de proteína. Essas porcentagens de proteínas foram descontadas quando se estava preparando as dietas, sendo que todas as dietas foram preparadas com uma porcentagem de 17,0% de proteínas.

A literatura traz poucas referências à quantidade e à proporção de frações de polissacarídeos na parede celular de *S. cerevisiae*. Além disso, três aspectos se destacam: a) são referências das décadas de 1950 e 1960; b) são analisadas células cultivadas em meio sintético de laboratório, em condições de crescimento ideais; c) os dados referem-se, exclusivamente, a duas frações denominadas glicana e manana.

MacWilliam²¹ relata que glicanas representam 30% a 45% do peso seco da parede celular de levedura de cervejaria; e as mananas representam também 30% a 45%. Cita ainda que o valor médio para cada uma dessas frações é de 40%. A literatura aponta para a existência de glicanas e mananas em proporção praticamente igual na parede celular de *S. cerevisiae* e com teor total entre 60% a 90%. A composição centesimal da PC foi bastante semelhante à relatada

na literatura por vários pesquisadores, do Brasil e do exterior^{21,22,23}.

A Tabela 2 mostra o consumo médio comparativo de dieta pelos ratos nos grupos experimentais e padrão, nos vários períodos. Verificou-se que os animais alimentados com a dieta contendo 10% da fração glicana mais manana (G+M) apresentaram o menor consumo, somente não diferindo estatisticamente quando comparado à dieta contendo 10% da fração glicana insolúvel (GI). Conseqüentemente, o ganho de peso dos animais alimentados com a dieta G+M foi significativamente menor (Tabela 3), demonstrando, talvez, a propriedade da fração G+M de promover saciedade, resultando em perda de apetite, promovendo baixo consumo da dieta e de ganho do peso. Os animais em dietas padrão AIN-P, padrão modificado (AIN-M) ou contendo 10% da fração manana (M) foram os que consumiram maior quantidade de dieta em relação às demais durante todo o experimento.

Segundo Sgarbieri & Pacheco⁸, as fibras insolúveis, tais como celulose, algumas hemilceluloses e ligninas, exercem um efeito físico-mecânico, aumentando o volume do bolo alimentar e das fezes e diminuindo o tempo de trânsito intestinal e de esvaziamento gástrico. Assim sendo, as fibras insolúveis aumentam o volume do bolo fecal, proporcionando uma diminuição de consumo de dieta e, conseqüentemente, menor ganho de peso.

Tabela 2. Consumo de dieta (g) de ratos Wistar para os diferentes tratamentos dietéticos, com 17% de proteína, nos tempos 0-7, 7-14, 14-21, e 21-28 dias.

Tratamentos (fonte de fibras)	Consumo médio de dieta (g)/grupos									
	T0-T7		T7-T14		T14-T21		T21-T28		T0-T28	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
AIN-P	111,3	10,4 ^{cB}	156,3	11,6 ^{aA}	137,7	13,7 ^{bA}	131,5	16,6 ^{bA}	536,8	7,8 ^A
AIN-M	108,8	8,6 ^{cBC}	148,8	7,2 ^{aA}	126,9	14,7 ^{bA}	132,2	11,4 ^{bb}	516,7	8,8 ^B
G+M	91,1	7,3 ^{bD}	126,0	7,4 ^{aB}	93,7	6,5 ^{bb}	95,9	8,9 ^{bb}	406,7	10,9 ^F
GI	97,1	7,7 ^{bCD}	136,0	6,5 ^{aB}	102,9	8,2 ^{bb}	106,5	6,1 ^{aA}	442,5	9,1 ^D
M	126,9	7,9 ^{aA}	105,4	10,6 ^{bC}	124,8	7,8 ^{aA}	129,9	9,4 ^{aA}	487,0	10,5 ^C

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Resultados são médias e DP: desvios-padrão de oito ratos por tratamento; letra maiúscula (colunas) representa as comparações estatísticas entre tratamentos; letra minúscula (linhas), comparações entre períodos. Tempo inicial (T₀), 7 d (T₇), 14 d (T₁₄), 21 d (T₂₁), 28 d (T₂₈).

As pesquisas têm demonstrado que alguns oligossacarídeos não digeríveis estimulam, efetivamente, a absorção de alguns minerais, como cálcio, magnésio, ferro e zinco.²⁴

Na Tabela 3 é apresentado o ganho de peso corporal médio para os ratos nas diferentes dietas. Constatou-se que os animais submetidos aos vários tratamentos inicialmente ganharam peso no mesmo ritmo em todos os tratamentos. Entre 21 e 28 dias, observou-se que os ratos de todos os grupos apresentaram menor ganho de peso. A única hipótese plausível para esse fenômeno seria uma diminuição na intensidade e eficiência metabólica, uma vez que houve uma diminuição correspondente do quociente de eficiência alimentar (CEA). As dietas contendo 10% de glicana insolúvel (GI) e, por último, a dieta com 10% da fração glicana mais manana (G+M), promoveram crescimento inferior às demais dietas.

Face ao consumo médio total de dieta (Tabela 2) e ao ganho médio total de peso (Tabela 3) no intervalo T_0 - T_{28} , e considerando que as dietas continham 17% de proteína, pode-se calcular o PER_{op} (ganho de peso (g)/proteína ingerida (g)) para todos os tratamentos com 10% dos diversos tipos de fibra da dieta. Os valores de PER_{op} variaram de 1,6 para a dieta G+M, a 1,9 para a dieta M. Na dieta padrão (AIN-P), este índice foi de 1,7 e 1,8 para as dietas AIN-M e GI.

Esses valores de PER são considerados baixos para a caseína, usada como proteína padrão em todas as dietas. O valor padrão para a caseína é de 2,5, normalmente ultrapassando esse valor para caseína de boa qualidade. A explicação para os baixos valores de PER_{op} pode estar em dois fatores, a saber: a elevada concentração (17%) de proteína nas dietas, uma vez que a técnica para a determinação de PER ($PER_{padrão}$) recomenda usar 10%, no máximo 12% de proteína na dieta²⁵; outros fatores poderiam ter sido a diminuição da ingestão de dieta e o reduzido crescimento dos animais na última semana (T_{21} - T_{28}) do experimento.

Quanto ao quociente de eficiência alimentar (CEA), observou-se que, ao longo dos 28 dias, a dieta G+M foi a que apresentou os menores índices. A dieta M, apesar de apresentar o menor índice no período 0-7 dias, ao longo dos 28 dias apresentou um dos melhores índices. Observou-se uma diminuição sensível do CEA no período T_{21} - T_{28} para todos os tratamentos (Tabela 4).

Da mesma forma que para o PER_{op} os valores de CEA, para o período total do experimento (T_0 - T_{28}), foram inferiores aos valores calculados para as três primeiras semanas, mas superiores aos da última semana (T_{21} - T_{28}) que foram, em geral, bastante baixos. Considerando o período total (T_0 - T_{28}), a dieta G+M foi a que apresentou os menores valores, tanto para o PER_{op}

Tabela 3. Ganho de peso em gramas de ratos Wistar para os diferentes tratamentos dietéticos, com 17% de proteína em vários estádios de desenvolvimento.

Tratamentos (fonte de fibras)	Ganho médio de peso (g)/grupos									
	T0-T7		T7-T14		T14-T21		T21-T28		T0-T28	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
AIN-P	44,6	12,1 ^{aA}	49,6	10,6 ^{aA}	44,1	19,7 ^{aA}	15,2	17,6 ^{bA}	153,5	10,8 ^B
AIN-M	44,0	12,9 ^{aA}	48,2	15,6 ^{aA}	46,1	16,9 ^{aA}	22,8	11,6 ^{bB}	161,1	13,2 ^A
G+M	37,3	8,0 ^{aA}	39,1	8,2 ^{aA}	31,6	10,2 ^{aB}	4,4	12,2 ^{bB}	112,4	10,1 ^D
GI	43,2	8,3 ^{aA}	46,6	9,2 ^{aA}	41,7	12,0 ^{aAB}	7,6	16,3 ^{aA}	139,1	6,8 ^C
M	44,1	6,5 ^{aA}	47,7	8,8 ^{aA}	49,3	15,8 ^{aA}	16,2	13,4 ^{aA}	157,3	11,5 ^B

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Resultados são médias e DP: desvios-padrão de oito ratos por tratamento; letra maiúscula (colunas) representa as comparações estatísticas entre tratamentos; letra minúscula (linhas), comparações entre períodos. Tempo inicial (T_0), 7 d (T_7), 14 d (T_{14}), 21 d (T_{21}), 28 d (T_{28}).

(1,6), como para o CEA (0,28) e a dieta M os maiores valores PER_{op} (1,9) e CEA 0,34.

A quantidade de nitrogênio ingerido (NI) e de nitrogênio excretado nas fezes (NF) permitiram o cálculo da digestibilidade aparente (Da) para os vários tratamentos: $Da = NI - NF / NI \times 100$.

A digestibilidade aparente da proteína foi elevada para todos os tratamentos, nos vários períodos avaliados, apresentando pequenas variações na faixa de 97,5% a 99,9%, média geral de 98,6%. Esses valores sugerem que os diferentes tipos de fibra (frações), extraídas da parede celular (PC) de *Saccharomyces cerevisiae*, exerceram pequena influência na digestibilidade da proteína (caseína) das várias dietas experimentais.

As quantidades totais de fezes produzidas em todo o ensaio, bem como as quantidades

totais de lipídeos e colesterol excretados nas fezes, são apresentadas na Tabela 5.

Pode-se observar que a dieta que promoveu maior excreção de fezes, em todo o ensaio, foi a dieta padrão modificada (AIN-M), com 10% de celulose, seguida pelas dietas contendo 10% da fração glicana mais manana (G+M) e pela dieta padrão (AIN-P). As dietas com 10% glicana insolúvel (GI) ou 10% manana (M) foram as que produziram quantidades menores de fezes.

Ao final de 28 dias, os animais que receberam a dieta GI excretaram menos fezes em relação às outras dietas. Notou-se uma variação significativa em relação à quantidade de fezes excretadas nas dietas analisadas, com diferenças estatísticas entre todas elas.

Tabela 4. Quociente de eficiência alimentar (CEA) de ratos Wistar para os diferentes tratamentos dietéticos, com 17% de proteína, nos tempos 0-7, 7-14, 14-21 e 21-28 dias.

Tratamentos (fonte de fibras)	Quociente de eficiência alimentar (CEA)									
	T0-T7		T7-T14		T14-T21		T21-T28		T0-T28	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
AIN-P	0,40	0,05 ^{aA}	0,32	0,03 ^{bB}	0,32	0,03 ^{bB}	0,15	0,03 ^{cA}	0,30	0,07 ^{BB}
AIN-M	0,41	0,03 ^{aA}	0,33	0,04 ^{bB}	0,37	0,04 ^{bAB}	0,17	0,02 ^{cA}	0,32	0,04 ^{AB}
G+M	0,41	0,04 ^{aA}	0,31	0,03 ^{bB}	0,34	0,03 ^{bB}	0,07	0,03 ^{cB}	0,28	0,06 ^C
GI	0,44	0,04 ^{aA}	0,34	0,04 ^{bB}	0,41	0,04 ^{aA}	0,06	0,02 ^{bB}	0,31	0,04 ^{AB}
M	0,34	0,08 ^{aA}	0,50	0,07 ^{aA}	0,39	0,07 ^{bAB}	0,15	0,03 ^{cA}	0,34	0,03 ^A

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Resultados são médias (M) e DP: desvio-padrão (DP): desvios-padrão de oito ratos por tratamento; letra maiúscula (colunas) representa as comparações estatísticas entre tratamentos; letra minúscula (linhas), comparações entre períodos. Tempo inicial (T₀), 7 d (T₇), 14 d (T₁₄), 21 d (T₂₁), 28 d (T₂₈).

Tabela 5. Quantidade total de fezes produzidas, lipídeos totais e colesterol excretados nas fezes no decorrer do ensaio (28 dias). Local, ano.

Dietas	Total de fezes (g)		Lipídeos totais (g)		Colesterol (g)		Col/Lipx100* (%)
	M	DP	M	DP	M	DP	
AIN-P	42,1	0,2 ^C	0,91	0,1 ^D	0,04	1,3 ^D	4,39
AIN-M	63,4	0,3 ^A	5,06	0,1 ^A	2,96	1,0 ^A	58,50
G+M	43,8	0,3 ^B	3,93	0,1 ^B	1,83	1,2 ^C	46,56
GI	37,2	0,3 ^E	4,23	0,1 ^B	2,45	0,9 ^B	57,92
M	38,7	0,4 ^D	3,20	0,1 ^C	2,38	1,3 ^B	74,37

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Os resultados (M: médias, DP: desvio-padrão de 8 ratos por dieta) seguidos de mesma letra maiúscula (colunas) não diferem ao nível de 5% (p>0,05). *Col/Lipx100: relação percentual entre colesterol e lipídeos totais excretados nas fezes.

Alguns autores relataram que, em ratos, quanto maior a fermentação da fibra no cólon, menor será o volume fecal²⁶. As fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico e a velocidade do trânsito intestinal, enquanto as fibras insolúveis aceleraram a velocidade de trânsito intestinal. As fibras solúveis sofrem fermentação quase total no cólon²⁶ e as fibras insolúveis praticamente não sofrem ação das bactérias no intestino grosso, pois não sendo digeridas completamente, sofrem reduzida fermentação das bactérias colônicas.²⁷

Em todos os grupos foi observado que as quantidades de fezes excretadas não mantiveram relação com as quantidades de lipídeos e de colesterol excretados. A dieta padrão AIN-P resultou na eliminação de fezes com reduzidos teores de colesterol. A dieta que mais promoveu a excreção de lipídeos e colesterol foi a dieta padrão modificada (AIN-M), seguida da dieta contendo a fração glicana insolúvel (GI) e da dieta contendo a fração manana (M).

A relação colesterol/lipídeos totais variou na faixa de 4,4% para a dieta AIN-P até 74,4% para a dieta contendo 10% da fração manana (M). Isto sugere uma maior capacidade dos componentes da fração manana para a ligação e excreção do colesterol.

A inclusão de 5% de fibra (farelo de trigo, soja e milho) em dietas hipercolesterolêmicas contendo 1% de colesterol, reduziu os níveis de lipídeos totais no plasma e nos tecidos hepáticos e cardíacos de ratos Wistar durante um período de 4 semanas de alimentação. Além disso, o colesterol total também diminuiu²⁸.

CONCLUSÃO

As frações de parede celular de levedura de *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram elevados teores de fibra, predominando a fibra insolúvel na fração glicana insolúvel e fibras solúveis nas frações manana e glicana + manana. As dietas contendo glicana insolúvel e glicana + manana promoveram uma menor ingestão de dieta pelos ratos, que resultou no menor cres-

cimento no grupo glicana + manana. O quociente de eficiência alimentar diminuiu significativamente na última semana ($T_{21}-T_{28}$) para todas as dietas e especialmente para as dietas contendo glicana insolúvel ou glicana + manana. A digestibilidade aparente da proteína, embora com oscilações semanais estatisticamente significantes, manteve-se alta (média 98,6%) em todos os tratamentos, sem influência marcante do tipo de fibra. A maior quantidade de fezes, de lipídeos e de colesterol excretados foi determinada no grupo em dieta padrão modificada (AIN-M). A fração manana, embora produzindo uma das menores quantidades de fezes, promoveu, proporcionalmente, a maior excreção de colesterol, sugerindo uma maior capacidade desta fração para ligação e excreção do colesterol. Os resultados apontam para possíveis aplicações dos materiais estudados no desenvolvimento de produtos alimentícios, sugerindo a realização de estudos com este objetivo.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo suporte financeiro para esta pesquisa e pela bolsa de estudos concedida à Saula Goulart Chaud.

COLABORADORES

S.G. CHAUD participou da execução da pesquisa e dos resultados apresentados. V.C. SGARBIERI foi o idealizador e co-responsável pela análise da qualidade dos dados da pesquisa. E. VICENTE participou da obtenção e interpretação dos dados da análise do colesterol, por cromatografia gasosa.

REFERÊNCIAS

1. São Paulo. Instituto de Eletrotécnica e Energia da Universidade de São Paulo. Cana de açúcar no Brasil. São Paulo. [acesso 2007 maio 5]. Disponível em: <http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br_cana.asp>.
2. Salgado JM, Sarruge JR. Efeito da lavagem sobre a qualidade do concentrado protéico obtido em

- destilaria de álcool. Rev Bras Tecnol. 1976; 7:339-44.
3. Benassi VT, Camargo CRO, Ciacco CF. Caracterização química e redução do conteúdo de ácidos nucléicos das células de levedura (*Saccharomyces sp.*) provenientes da produção de álcool de cana. Ciênc e Tecnol Aliment. 1990; 10(2):249-60.
 4. Halász A, Lásztity R. Use of yeast biomass in food production. Boca Raton: CRC Press; 1991.
 5. Yamada EA, Sgarbieri VC. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition and nutritional functional properties. J Agric Food Chem. 2005; 53(10):3931-6.
 6. Otero MA, Vasallo MC, Verdieira O, Fernandez V, Betancourt D. A process for the complete fractionation of baker's yeast. J Chem Technol Biotechnol. 1996; 67(1):67-71.
 7. Abreu J, Millán N. Effect of addition of brewer's yeast to soy protein and casein on plasma cholesterol levels of rabbits. Arch Latinoam Nutr. 1994; 44(1):18-22.
 8. Sgarbieri VC, Pacheco MTB. Physiological functional foods. Braz J Food Tech. 1999; 2(1/2):7-19.
 9. Bell PL, Hectorne K, Reynolds H, Balm LT, Hunninghake BD. Cholesterol-lowering effects of psyllium hydrophilic mucilloid. Adjunct therapy to a prudent diet for patients with mild to moderate hypercholesterolemia. J Am Med Assoc. 1989; 261(23):3419-23.
 10. Robbins EA, Seeley RD. Cholesterol lowering effect of dietary yeast and yeast fractions. J Food Sci. 1977; 42(3):694-8.
 11. Williams DL, McNamee RB, Jones EL, Pretus HA, Ensley HE, Browder WI, et al. A method for the solubilization of $\alpha(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glucan}$ isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. Carbohydr Res. 1991; 219:203-13.
 12. Sgarbieri VC, Alvim ID, Vilela ESD, Baldini VLS, Bragagnolo N. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingredientes na formulação de alimentos. Braz J Food Technol. 1999; 2(1/2):119-25.
 13. Kollar R, Sturdik E, Sajbidor J. Complete fractionation of *Saccharomyces cerevisiae* biomass. Food Biotechnol. 1992; 6(3):225-37.
 14. Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis. 17th ed. Gaithersburg, Maryland; 2000.
 15. Prosky L, Asp N, Schweizer TF, Devries JW, Furda I. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. J Assoc Of Analyt Chem. 1988; 71(5):1017-23.
 16. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 1959; 37(8):911-7.
 17. São Paulo. Instituto Adolpho Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Vol. 1. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo; 1985. p.38-39.
 18. Jiang Z, Fenton M, Sim, JS. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. Poultry Sci. 1991; 70(4):1015-9.
 19. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey JGC. AIN-93G 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.
 20. Vukovic R, Hundina-Dom Lado Vec M, Mrsa V. Structure of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. Croat Chem Acta. 1995; 68(3):597-605.
 21. Dziezak JD, Editor. Yeasts and yeast derivatives: definitions, characteristics, and processing. Food Technol. 1987; 41(2):103-21, 122-5.
 22. Macwilliam IC. The structure, synthesis and functions of the yeast cell wall: A review. J Inst Brewing. 1970; 76(6):524-35.
 23. Pacheco MTB, Caballero-Córdoba GM, Sgarbieri, VC. Composition and nutritive value of yeast biomass and yeast protein concentrates. J Nutr Sci Vitaminol. 1997; 43(6):601-12.
 24. Scholz-Ahrens K, Schaafsma G, Van Der Heuvel E, Schrezenmeir J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. Am J Clin Nutr. 2001; 73:4595-645.
 25. Sgarbieri VC. Proteínas em alimentos protéicos. São Paulo: Varela; 1996. p.366-82.
 26. Mongeau R, Siddiqui IR, Emery J, Brassard R. Effect of dietary fiber concentrated from celery, parsnip, and rutabaga on intestinal function, serum cholesterol, and blood glucose response in rats. J Agric Food Chem. 1990; 38(1):195-200.
 27. Eastwood AM, Morris RE. Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract. Am Soc Clin Nutr. 1992; 55(7):436-42.
 28. Uberoi SK, Vadhera S, Soni GL. Role of dietary fibre from pulses and cereals as hypocholesterolemic and hypolipidic agent. J Food Sci Technol. 1992; 29(5):281-3.

Recebido em: 21/3/2006
 Versão final reapresentada em: 26/2/2008
 Aprovado em: 26/2/2008

Alimentos sujeitos à fortificação compulsória com ferro: um estudo com gestantes¹

Foods subject to mandatory fortification with iron: a study with pregnant women

Ivana Aragão Lira VASCONCELOS²
Mariana Helcias CÔRTEZ²
Denise Costa COITINHO^{2,3}

RESUMO

Objetivo

Avaliar o consumo de alimentos sujeitos à fortificação compulsória com ferro por gestantes atendidas em consultas de pré-natal do Hospital Universitário de Brasília.

Métodos

Trata-se de série temporal que comparou dados de 228 pares de gestantes a partir de duas avaliações transversais: em 2004, pré-fortificação e em 2005, um ano após intervenção. Dados gestacionais, socioeconômicos, demográficos, índice de massa corporal e consumo alimentar foram coletados. Este último foi aferido por Questionário Semiquantitativo de Frequência Alimentar incluindo alimentos à base de farinhas de trigo e de milho.

Resultados

O consumo *per capita* diário médio de farinhas foi estimado em 121,7g (98,7-115,8), no 1º momento, e 119,5g (93,6-109,5), no 2º momento ($p>0,05$), com maior contribuição da farinha de trigo. Os alimentos mais consumidos, em ambos os momentos, foram: pão francês, biscoitos, bolo, macarrão e cuscuz de milho. As gestantes do estudo receberiam uma média de 5,1mg de ferro adicional, se a fortificação estivesse ocorrendo como o preconizado pela legislação, que corresponde a 19% da Ingestão Dietética de Referência.

Conclusão

Os alimentos sujeitos à fortificação são veículos apropriados em relação ao largo consumo, porém são necessários estudos que avaliem a quantidade adicionada e a biodisponibilidade dos compostos de ferro.

Termos de indexação: Alimentos fortificados. Consumo alimentar. Ferro. Gestantes.

¹ Artigo elaborado a partir da dissertação de I.A.L. VASCONCELOS, intitulada "Avaliação do consumo de alimentos sujeitos à fortificação compulsória com ferro das gestantes atendidas no pré-natal do Hospital Universitário de Brasília, Distrito Federal". Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Universidade de Brasília; 2006

² Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana. Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, 70910-900, Brasília, DF, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: I.A.L. VASCONCELOS. E-mails: <ivanaunb@gmail.com>; <ivana@unb.br>.

³ World Health Organization, Department of Nutrition for Health and Development. Geneva, Switzerland.

ABSTRACT

Objective

The objective of this study was to assess the consumption of foods subject to mandatory fortification with iron by pregnant women visiting the Hospital Universitário de Brasília for prenatal care.

Methods

A time-series study that compared 228 paired pregnant women through two cross-sectional assessments: in 2004, before flour fortification, and a year later. Pregnancy, socioeconomic and demographic data, body mass index and food consumption patterns were collected. The latter was determined by applying the Semiquantitative Food Frequency Questionnaire and included foods containing wheat and corn flours.

Results

The daily per capita consumption of flours was estimated to be 121.7g (98.7-115.8) in the first interview before fortification and 119.5g (93.6-109.5) in the second interview after fortification ($p>0.05$), with a greater consumption of wheat flour. The most consumed foods before and after fortification were French bread, cookies, cakes, pasta and corn couscous. The studied pregnant women would have received an extra 5.1mg of iron if fortification had been done according to the legislation, which corresponds to 19% of the Dietary Reference Intake.

Conclusion

The foods subject to fortification are appropriate vehicles because of their high consumption yet studies that assess the amount of iron added and the bioavailability of the iron compounds used are needed.

Indexing terms: Food fortified. Food consumption. Iron. Pregnant women.

INTRODUÇÃO

A deficiência de ferro é o principal fator de risco para o desenvolvimento de anemias nutricionais^{1,2}. Um dos grupos populacionais mais vulneráveis às anemias nutricionais são as gestantes, em função da baixa ingestão de ferro relativa ao aumento do requerimento do nutriente nesse estado fisiológico, com prevalências estimadas em 52% em países não-industrializados e 23% em países industrializados².

No Brasil, os principais estudos de base populacional encontraram prevalências altas de anemia em gestantes: 35,1%³ no estado de São Paulo; 29,2%⁴ no município de São Paulo (São Paulo); 25,2%⁵ e 30,9%⁶, ambos realizados em Recife (Pernambuco). Essas prevalências indicam, em termos de magnitude na saúde pública, uma situação de anemia categorizada como de moderado nível (quando a prevalência é de 20,0 a 39,9%)².

Como estratégias para controlar essa carência, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda programas de educação nutricional,

para diversificar o consumo alimentar da população de risco, combinados com ações de suplementação e de fortificação de alimentos com ferro².

Um aspecto essencial da fortificação de alimentos é a eleição do veículo alimentar. Para que um alimento possa ser um veículo potencial de fortificação, deve ser de baixo custo⁷, de alto consumo pela população-alvo^{7,8} e ter um consumo padrão constante com baixo risco de excesso⁷.

A partir disso, em dezembro de 2002, em caráter urgente, a resolução da diretoria colegiada (RDC) nº 344, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), tornou obrigatória a fortificação das farinhas de trigo e de milho no País com um mínimo de 4,2mg de ferro e 150µg de ácido fólico, para cada 100g de farinha. Essa resolução estabeleceu o prazo de 18 meses para que as empresas se adequassem ao novo regulamento, ou seja, até junho de 2004⁹.

Então, é imprescindível a avaliação da implementação para aprimoramento dessa nova estratégia, já que a fortificação é indicada como a ação de melhor custo-benefício em longo prazo

na redução da prevalência de deficiência de ferro². Além disso, um dos pontos-chave para o sucesso dessa intervenção está associado à escolha dos veículos alimentares, cujo consumo ainda não foi avaliado em gestantes. O aprofundamento sobre padrões dietéticos desse grupo vulnerável, portanto, assume grande importância para a saúde pública, uma vez que contribui para o embasamento, o direcionamento, a avaliação e o monitoramento de políticas de alimentação e nutrição¹⁰.

A partir desses pressupostos, o objetivo deste artigo foi avaliar o consumo de alimentos sujeitos à fortificação compulsória com ferro por gestantes atendidas pelo serviço de atenção pré-natal do Hospital Universitário de Brasília (HUB), no Distrito Federal (DF).

MÉTODOS

Esta investigação faz parte de um estudo mais amplo que objetivou avaliar o impacto da fortificação das farinhas de trigo e de milho com ferro das gestantes atendidas pelo pré-natal do HUB. Trata-se de um estudo de cunho descritivo, que contemplou uma série temporal com duas avaliações, em intervalo de 12 meses. Portanto, foram realizados dois inquéritos transversais com gestantes atendidas no ambulatório de pré-natal do HUB. O primeiro momento, de maio a agosto de 2004, imediatamente anterior à entrada em vigor da nova medida regulatória, permitiu a construção de uma linha de base e o segundo momento, de maio a agosto de 2005, um ano após a implementação da RDC nº 344⁹, possibilitou a avaliação pós-intervenção.

Cada gestante entrevistada em 2004 foi pareada a uma gestante em 2005 segundo o trimestre gestacional, a idade materna (<20 anos; 20 a 35 anos; e >35 anos) e a condição de risco obstétrico (baixo ou alto)¹¹. Este procedimento foi utilizado para um melhor controle destas três variáveis relacionadas ao desfecho principal do estudo - presença de anemia¹². Um total de 228 pares de gestantes foi investigado. Esta amostra

é suficiente para estimar uma diferença de prevalências de anemia entre os dois momentos de, no mínimo, 12%, com intervalo de confiança de 95% e poder de 80%¹².

A coleta de dados foi feita nos dias de atendimento pré-natal. Esse levantamento incluiu todas as gestantes, presentes naqueles momentos, e que aceitaram participar do estudo, independentemente do número de consultas prévias. Foram excluídas, posteriormente, gestantes com diagnóstico médico comprovado de anemia de outra etiologia (Ex.: anemia falciforme); portadoras de doenças crônicas com interferências hematológicas (Ex.: insuficiência renal crônica, imunodeficiências, insuficiência cardíaca, miocardia chagásica, púrpura trombocitopênica idiopática, trombocitopenia, trombose) e gestantes com gravidez de gemelares¹².

Para a avaliação antropométrica (peso e altura) foram utilizados uma balança digital Marte®, com precisão de 100g e capacidade máxima de 150kg, e um estadiômetro de parede Secca®, com precisão de 1cm. As entrevistadas foram pesadas descalças, dispostas no centro da balança, com roupas leves e medidas descalças, em pé, com os braços estendidos dispostos ao lado e junto ao corpo, cabeça em direção ao horizonte, coluna reta e calcanhares juntos e encostados à parede, técnicas propostas por Vasconcelos¹³.

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado e o estado nutricional foi classificado conforme Atalah et al.¹⁴, a partir da idade gestacional. Foram considerados como 1º, 2º e 3º trimestres da gravidez os períodos até a 13ª semana de gestação, entre a 14ª e a 27ª semanas e acima da 28ª semana, respectivamente¹⁵.

Foi aplicado um questionário contendo perguntas relativas à gestação atual e anterior (idade gestacional, número de gestações, uso de suplemento de ferro), ao *status* socioeconômico (renda *per capita*, renda em salário mínimo, anos de estudos completos), aos dados demográfico (idade) e de consumo alimentar.

A renda e a escolaridade foram coletadas segundo instrumento utilizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no Censo Demográfico 2000¹⁶.

O consumo alimentar habitual progressivo, referente ao último ano, foi aferido por um questionário semiquantitativo de frequência alimentar (QFA)¹⁷, adaptado após pré-teste. Foi composto por sete diferentes intervalos de frequência de ingestão de cada alimento - uma vez por dia, duas ou mais vezes por dia, cinco a seis vezes por semana, duas a quatro vezes por semana, uma vez por semana, uma a três vezes por mês e raramente ou nunca - e 55 itens separados em grupos: leite e derivados, carnes e ovos, óleos e gorduras, petiscos e enlatados, cereais e leguminosas, vegetais e frutas, sobremesas e doces, bebidas¹⁷. Dentre esses itens, incluíram-se preparações que contivessem os veículos de fortificação: farinhas de trigo e de milho. Para aperfeiçoar a percepção das participantes quanto às medidas caseiras consumidas, utilizou-se um registro fotográfico¹⁸ durante a entrevista.

A informação obtida com o QFA foi convertida em gramas de alimentos consumidos por dia, por meio de tabelas de medidas caseiras^{19,20}. As medidas caseiras que não constavam nas tabelas utilizadas foram conseguidas nos rótulos de produtos industrializados e por medição direta, conforme o método sugerido por Moreira²⁰. Para obter a estimativa diária do consumo de nutrientes, foi utilizado o *software Nutri Survey*²¹. O *software* não é nacional, porém foram considerados os alimentos de tabelas de composição brasileiras para o cálculo^{22,23}.

Além de analisar a dieta de acordo com o consumo de energia e nutrientes, foi observada também a frequência de consumo dos alimentos. Outras variáveis, como o ferro adicionado aos alimentos sujeitos à fortificação e o ferro de alimentos naturalmente fontes do nutriente, foram também relacionadas para explicar o ferro total consumido.

Para energia, adotaram-se as recomendações do *National Research Council*²⁴; para pro-

teína e carboidratos, os parâmetros da Ingestão Dietética de Referência (IDR)²⁵ e, para micronutrientes, as referências adotadas pela ANVISA²⁶. A recomendação de ferro, nessa resolução, é a mesma da IDR, ou seja, 27mg/dia para gestantes.

As quantidades de farinha de trigo e de milho, presentes em cada tipo de preparação, foram obtidas a partir de fichas de preparação desenvolvidas no Laboratório de Técnica Dietética da Universidade de Brasília. Para isso, foram pesados todos os ingredientes crus, a receita total cozida e porções em diversos tamanhos. Foram considerados os fatores de cocção ou os índices de absorção e o tipo de cozimento, todos influentes na proporção de farinha de cada preparação.

Os dados foram codificados e digitados. Para a análise de dados utilizaram-se os *softwares* SPSS versão 13.0²⁷ e SAS versão 9.1²⁸.

Na análise geral, utilizou-se a estatística descritiva como medidas de frequência, média, desvio-padrão, mediana e intervalo de confiança de 95%. Apesar de as amostras terem sido pareadas, optou-se por análises destinadas a amostras independentes, uma vez que estas permitem obter resultados mais conservadores. No entanto, as análises para amostras pareadas foram feitas (resultados não disponíveis) e não apresentaram diferença em relação aos testes empregados. Estes consideraram nível de significância de 5%: "t" de Student para as variáveis contínuas; teste do qui-quadrado ou teste exato do qui-quadrado para variáveis categóricas.

Para relacionar as variáveis que explicaram o ferro total consumido em cada momento, aplicou-se o modelo de regressão linear múltipla com procedimento de seleção de variáveis por *stepwise*, sendo que a primeira variável a entrar no modelo foi aquela que teve a maior relação com o teor de ferro, e assim sucessivamente, até que nenhuma variável apresentasse nível de significância menor ou igual a 5%.

Os requisitos éticos exigidos pela resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde²⁹, foram seguidos e o estudo foi aprovado pelo Comitê de

Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, em 10 de fevereiro de 2004.

RESULTADOS

Os dados de trimestre gestacional (1º trimestre: 16,2%; 2º trimestre: 43,9%; 3º trimestre: 39,9%, em ambos os momentos), de risco obstétrico (Sim: 32,5%; Não: 67,5%, nos dois momentos) e de idade (Tabela 1) são semelhantes nos dois momentos, tendo em vista terem sido as variáveis utilizadas para o pareamento. Nenhuma das demais variáveis estudadas apresentou diferença entre os dois momentos.

Foram observadas porcentagens importantes de baixo peso (1º momento: 25,9%; 2º momento: 20,4%), de sobrepeso (1º momento: 16,7%; 2º momento: 23,4%) e de obesidade (1º momento: 8,3%; 2º momento: 11,5%). Apesar das diferenças entre as porcentagens, não houve diferença significativa do estado nutricional entre os dois momentos do estudo (teste exato do qui-quadrado, $p=0,089$). O ferro suplementar foi utilizado por 34,0% das gestantes, segundo o próprio relato, em ambos os momentos.

Estimou-se a quantidade de ferro adicional proveniente da fortificação, assumindo o valor

mínimo indicado pela legislação de 4,2mg por 100g de farinha (ferro teórico adicional).

Essas estimativas foram necessárias para o cálculo do consumo *per capita* total e das farinhas provenientes dos alimentos sujeitos à fortificação e para o cálculo do ferro total (ferro dietético + ferro teórico adicional) no 2º momento do estudo, quando a fortificação já era compulsória.

O consumo médio total e a contribuição estimada das farinhas são apresentados na Tabela 2. Para a apresentação desses dados, os alimentos que contivessem farinhas de trigo e de milho foram agrupados e classificados segundo o tipo. A categoria *pães de trigo* engloba as farinhas de trigo provenientes do pão integral, pão francês, pão de fôrma, pão do sanduíche e outros tipos; a categoria *biscoitos* abrange a farinha de trigo dos biscoitos salgado, doce e recheado; *macarrão* inclui as farinhas do macarrão propriamente dito, o macarrão instantâneo e o macarrão proveniente da sopa; a categoria *massas* inclui pizza, lasanha e massas de tortas; *bolo* inclui o bolo simples e a categoria *cuscuz* é constituída pelo cuscuz de milho seco e o cuscuz de milho com leite. Os outros alimentos, como pão de milho, broa de milho, mingau de fubá, farofa de milho e polenta (angu) não foram incluídos porque 90% ou mais das entrevistadas relataram o seu consumo como raro.

Tabela 1. Caracterização das gestantes atendidas em hospital universitário, em dois momentos. Brasília (DF), 2004, 2005.

Variáveis	Momento 1			Momento 2			Total			p-valor*
	M	DP	(IC95%)	M	DP	(IC95%)	M	DP	(IC95%)	
Idade (anos)	26,4	5,8	(25,6-27,1)	26,60	5,7	(25,8-27,3)	26,5	5,7	(25,9-27,0)	0,728
Idade gestacional (semanas)	24,4	9,7	(23,2-25,7)	24,20	9,4	(22,9-25,4)	24,3	9,5	(23,4-25,2)	0,766
Gestações (n)	2,3	1,5	(2,1-2,5)	2,20	1,4	(2,0-2,4)	2,3	1,4	(2,1-2,4)	0,323
Anos de estudo	10,3	2,5	(9,9-10,6)	10,70	2,6	(10,4-11,0)	10,5	2,6	(10,2-10,7)	0,072
Renda <i>per capita</i> (R\$)	408,1	378,3	(358,2-458,1)	468,12	350,1	(422,2-514,0)	438,2	365,2	(404,5-472,2)	0,082
Renda SM ¹	5,0	4,7	(4,4-5,6)	5,00	4,1	(4,5-5,6)	5,0	4,4	(4,6-5,4)	0,956
Peso (kg)	64,2	12,9	(62,5-65,9)	66,30	13,3	(64,6-68,1)	65,3	13,1	(64,1-66,5)	0,086
Altura (cm)	158,8	6,8	(157,9-159,7)	159,10	6,0	(158,3-159,9)	159,0	6,4	(158,4-159,5)	0,602
IMC (kg/m ²)	25,4	4,6	(24,8-26,0)	26,20	4,9	(25,6-26,8)	25,8	4,8	(25,4-26,3)	0,089

M: média; DP: desvio-padrão.

* p-valor resultante do teste "t" de Student; ¹. Salário mínimo de acordo com o valor referente aos anos 2004 e 2005, respectivamente; Hipótese Nula (H₀) → As médias das variáveis idade, idade gestacional, número de gestações, anos de estudo, renda *per capita*, renda em salários mínimos, peso, altura e índice de massa corporal (IMC) são iguais entre os dois momentos; Hipótese Alternativa (H₁) → As médias das variáveis idade, idade gestacional, número de gestações, anos de estudo, renda *per capita*, renda em salários mínimos, peso, altura e IMC não são iguais entre os dois momentos.

Tabela 2. Consumo *per capita* total das farinhas e consumo equivalente às farinhas dos principais subprodutos, por gestantes atendidas em hospital universitário em dois momentos. Brasília (DF), 2004, 2005.

Veículo/categoria	Momento 1			Momento 2			p-valor*
	M	DP	IC 95%	M	DP	IC 95%	
<i>Per capita</i> farinha de trigo	107,25	65,4	98,7-115,8	101,51	60,9	93,6-109,5	0,333
Pães de trigo	57,30	45,5	51,4-63,3	56,20	45,4	50,2-62,1	0,783
Biscoitos	15,95	23,8	12,85-19,1	15,70	20,4	13,1-18,4	0,909
Macarrão	20,20	20,0	17,6-22,8	18,20	18,3	15,8-20,6	0,269
Massas	6,30	13,4	4,6-8,1	5,50	6,8	4,6-6,4	0,405
Bolo	5,60	9,8	4,3-6,9	3,90	5,6	3,1-4,6	0,021
<i>Per capita</i> farinha de milho	14,50	23,9	11,3-17,6	17,98	35,2	13,4-22,6	0,212
Cuscuz	12,60	22,6	9,6-15,5	15,62	34,2	11,2-20,1	0,264
<i>Per capita</i> de farinha total	121,70	71,9	112,3-131,1	119,50	76,1	109,6-129,4	0,749

M: média; DP: desvio-padrão.

* p-valor resultante do teste "t" de Student; Hipótese Nula (H_0) → As médias das variáveis *per capita* farinha de trigo, pães de trigo, biscoitos, macarrão, massas, bolo, *per capita* farinha de milho, cuscuz e *per capita* de farinha total são iguais entre os dois momentos. Hipótese Alternativa (H_1) → As médias das variáveis *per capita* farinha de trigo, pães de trigo, biscoitos, macarrão, massas, bolo, *per capita* farinha de milho, cuscuz, *per capita* de farinha total não são iguais entre os dois momentos.

Os alimentos de cada categoria que mais contribuíram para o consumo de farinhas foram o pão francês (medianas → 1º momento: 30,0 e 2º momento: 35,0), o biscoito salgado (medianas → 1º momento: 6,99 e 2º momento: 6,18), o macarrão comum (medianas → 1º momento: 6,74 e 2º momento: 5,18) e a pizza (medianas → 1º momento: 2,12 e 2º momento: 2,36). O consumo *per capita* total médio diário de farinhas foi estimado em 121,7g no 1º momento e 119,5g no 2º momento, com maior contribuição das farinhas de trigo em comparação às farinhas de milho. Não houve diferença significativa em relação ao consumo de farinha de trigo, farinha de milho e o *per capita* total entre os dois momentos do estudo.

A média de porções diárias de cereais consumidas pelas gestantes foi estimada em 6,29 (Desvio-padrão - DP=3,04; IC 95%= 5,89-6,69), no 1º momento, e 6,13 (DP=3,27; IC 95%=5,71-6,56), no 2º momento. Desse total de porções, cerca de 65%, em ambos os momentos, corresponderam a alimentos com farinha de trigo ou de milho na sua composição. O arroz, alimento mais consumido do grupo de cereais, apresentou uma média de porções de 1,42 (DP=0,85; IC 95%=1,30 -1,53) e de 1,48 (DP=1,06; IC 95%=1,34 -1,61), similar às porções consumidas de pão francês 1,30 (DP=1,25; IC 95%=1,14 -1,46) e 1,32 (DP=1,28;

IC 95%=1,15 -1,48), nos 1º e 2º momentos, respectivamente.

A Tabela 3 apresenta a distribuição das gestantes em relação às freqüências de consumo dos principais alimentos à base de farinhas nos dois momentos. As freqüências foram agrupadas em: consumo de, pelo menos, cinco vezes por semana (que inclui também o consumo diário); consumo entre uma a quatro vezes por semana; consumo entre uma a três vezes por mês; e consumo menor que uma vez por mês, definido como raramente ou nunca.

O pão francês foi o mais freqüentemente consumido, com ingestão por, pelo menos, cinco vezes na semana para mais de 50,0% das gestantes. Biscoitos, macarrão, bolo e cuscuz de milho foram consumidos pela maior parte das gestantes acima de quatro vezes por semana e as freqüências de consumo do sanduíche e da sopa com macarrão ficaram mais divididas entre uma a quatro vezes por semana (Sanduíche: 22,4% e 24,6%, Sopa com macarrão: 31,6% e 33,3%, nos primeiro e segundo momentos, respectivamente) ou consumo mensal (Sanduíche: 30,3% e 26,8%, Sopa com macarrão: 28,9% e 30,7%, no primeiro e no segundo momentos, respectivamente). O consumo da pizza se mostrou importante na freqüência mensal em ambos os momentos.

Tabela 3. Distribuição de gestantes atendidas em hospital universitário quanto à frequência qualitativa de consumo dos principais alimentos que contêm veículos de fortificação, em dois momentos. Brasília, (DF), 2004, 2005.

Alimentos/Freqüência	Momento 1		Momento 2		p-valor	Momento 1		Momento 2		p-valor
	n	%	n	%		n	%	n	%	
	Pão Francês					Biscoito				
≥5 vezes/semana	127	55,7	125	54,8	0,292 ²	49	21,5	45	19,7	0,849 ²
1-4 vezes/semana	89	39,0	82	36,0		119	52,2	128	56,2	
1-3 vezes/mês	3	1,3	9	4,0		30	13,1	26	11,4	
<1 vez/ mês ¹	9	4,0	12	5,2		30	13,1	29	12,7	
Total	228	100,0	228	100,0		228	100,0	228	100,0	
	Macarrão					Bolo				
≥5 vezes/semana	11	4,8	14	6,1	0,346 ²	7	3,1	5	2,2	0,851 ²
1-4 vezes/semana	149	65,4	136	59,7		112	49,1	107	46,9	
1-3 vezes/mês	41	18,0	55	24,1		67	29,4	74	32,5	
<1 vez/ mês ¹	27	11,8	23	10,1		42	18,4	42	18,4	
Total	228	100,0	228	100,0		228	100,0	228	100,0	
	Cuscuz de milho					Sopa com macarrão				
≥5 vezes/semana	6	2,6	9	4,0	0,781 ²	4	1,8	2	0,9	0,834 ³
1-4 vezes/semana	102	44,8	94	41,2		76	33,3	72	31,6	
1-3 vezes/mês	52	22,8	56	24,5		66	28,9	70	30,7	
<1 vez/ mês ¹	68	29,8	69	30,3		82	36,0	84	36,8	
Total	228	100,0	228	100,0		228	100,0	228	100,0	
	Sanduíche					Pizza				
≥5 vezes/semana	3	1,3	2	0,9	0,794 ³	1	0,4	0	0,0	0,434 ³
1-4 vezes/semana	51	22,4	56	24,6		20	8,8	21	9,2	
1-3 vezes/mês	69	30,3	61	26,7		97	42,5	110	48,3	
<1 vez/ mês ¹	105	46,0	109	47,8		110	48,3	97	42,5	
Total	228	100,0	228	100,0		228	100,0	228	100,0	

¹ <1 vez/ mês é corresponde à frequência raramente ou nunca; ² p-valor resultante do teste qui-quadrado, Graus de Liberdade =3; ³ p-valor resultante do teste exato do qui-quadrado, Graus de Liberdade = 3.

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação à frequência de consumo desses alimentos entre os dois momentos do estudo, o que demonstra o padrão alimentar similar entre as gestantes pesquisadas. Os outros alimentos, como pão de milho, broa de milho, mingau de fubá, farofa de milho, polenta (angu), lasanha e tortas não foram incluídos na tabela, porque 70,0% ou mais das entrevistadas relataram o consumo raro ou nunca consumiram.

A ingestão média diária dos principais nutrientes foi estimada também para os dois momentos e apresentada na Tabela 4. Não houve diferença significativa entre os tipos de nutrientes e as quilocalorias consumidas entre os momentos, com exceção do consumo de ferro total ($p < 0,0001$) e do folato total ($p < 0,0001$). Para a obtenção de informações sobre esses dois nutrientes, além da comparação feita entre o

consumo de ferro dietético nos dois momentos, comparou-se também o consumo de ferro e o de ácido fólico dietético do 1º momento com o somatório do consumo dos nutrientes dietético e a quantidade proveniente da fortificação do 2º momento - ferro adicional e ácido fólico adicional teórico. Para o cálculo do ácido fólico, considerou-se o mínimo exigido pela legislação: 150µg por 100g de farinha.

Para o 1º momento, os alimentos hortaliças verde-escuras, biscoito, carne branca, carne vermelha, macarrão, feijão, pão e vísceras explicaram de forma significativa ($p < 0,0001$) o ferro total antes da fortificação ($R^2 = 0,7846$). Já no 2º momento, considerando o ferro adicional teórico proveniente da fortificação, os alimentos biscoito, bolo, carne vermelha, cuscuz de milho, macarrão, feijão, pão de trigo e vísceras explicaram o ferro total ($R^2 = 0,8376$) ($p < 0,0001$) (Tabela 5).

Tabela 4. Ingestão média diária de energia e nutrientes em gestantes atendidas em hospital universitário, em dois momentos. Brasília (DF), 2004, 2005.

Energia/Nutriente	Momento 1			Momento 2			p-Valor*	Recomendação ^{III}
	M	DP	IC 95%	M	DP	IC 95%		
Energia (Kcal)	2722,00	1167,0	2570-2874,00	2650,0	112,0	2504-2796	0,503	2500Kcal
Proteína (g)	102,60	43,5	96,9-108,20	103,6	44,5	97,8-109,4	0,804	71g
Gordura (g)	92,20	47,5	86,0-98,40	91,3	46,6	85,2-97,4	0,813	-
Carboidrato (g)	374,10	165,4	352,2-395,70	358,0	153,5	338,0-378,1	0,282	175g
Vitamina A (µg)	3185,00	4736,6	2566,9 - 3803,10	2919,5	2696,6	2567,6-3271,4	0,462	800µg
Vitamina B ₁ (mg)	2,30	1,4	2,1 - 2,50	2,3	1,0	2,1-2,4	0,918	1,4mg
Vitamina B ₂ (mg)	2,70	2,4	2,4 - 3,00	2,6	1,4	2,4-2,8	0,535	1,4mg
Niacina (mg)	26,50	13,1	24,8-28,20	27,0	13,2	25,3-28,7	0,673	18mg
Ácido Fólico dietético (µg)	301,98	194,6	276,6 - 327,40	295,2	162,2	274,1-316,4	0,688	355µg
Folato total ^I (µg)	301,98	194,6	276,6 -327,40	474,5	234,9	443,8-505,1	0,000	355µg
Vitamina C (mg)	299,90	309,5	259,4 - 340,30	294,6	305,1	254,8-334,4	0,854	55mg
Cálcio (mg)	991,99	476,1	929,9 - 1054,10	988,8	501,7	923,3-1054,3	0,944	1200mg
Ferro dietético (mg)	18,30	8,9	17,1 - 19,40	18,4	8,3	17,3-19,5	0,861	27mg
Ferro total ^{II} (mg)	18,30	8,9	17,1 - 19,40	23,4	10,3	22,1-24,8	0,000	27mg
Zinco (mg)	10,30	5,4	9,6 - 11,00	11,2	6,3	10,3-12,0	0,110	11mg

M: média; DP: desvio-padrão.

* valor-p resultante do teste "t" de Student; ^Iácido fólico dietético + ácido fólico teórico da fortificação; ^{II} ferro dietético + ferro teórico da fortificação; ^{III}Recomendação de energia de acordo com a RDA (1989)²⁴; proteína e carboidrato de acordo com a IDR²⁵ e micronutrientes segundo regulamentação da ANVISA²⁶; Hipótese Nula (H₀) → As médias das variáveis relacionadas aos nutrientes/energia são iguais entre os dois momentos; Hipótese Alternativa (H₁) → As médias das variáveis relacionadas aos nutrientes/ energia não são iguais entre os dois momentos.

Tabela 5. Contribuição quantitativa de ferro proveniente de alimentos fontes e de alimentos sujeitos à fortificação em gestantes em dois momentos. Brasília (DF), 2004, 2005.

	Momento 1 - Fe (mg)					Momento 2 - Fe (mg)							
	M	DP	IC 95%	Valor t	p	R ²	M	DP	IC 95%	Valor t	p	R ²	
Biscoito	0,66	1,02	0,53-0,80	4,10	<0,0001	0,7846	Biscoito	1,31	1,70	1,09-1,53	10,74	<0,0001	0,8376
Hortaliça verde-escura	0,20	0,31	0,16-0,24	5,48			Bolo	0,41	0,59	0,33-0,48	5,67		
Carne branca	0,78	0,71	0,68-0,87	6,26			Cuscuz de milho	0,74	1,62	0,53-0,95	12,01		
Carne vermelha	2,28	2,14	2,00-2,56	10,00			Carne vermelha	2,61	2,86	2,24-2,99	8,28		
Macarrão	0,37	0,39	0,32-0,42	6,68			Macarrão	0,92	1,00	0,78-1,05	5,10		
Feijão	1,59	1,49	1,40-1,79	9,63			Feijão	1,52	1,50	1,33-1,72	7,69		
Pão	1,07	0,90	0,95-1,19	4,71			Pão	3,44	2,83	3,07-3,81	13,56		
Visceras	1,16	2,81	0,79-1,53	11,44			Visceras	0,87	1,41	0,69-1,06	5,75		

M: média; DP: desvio-padrão.

DISCUSSÃO

A medida regulatória que estabelece a obrigatoriedade da fortificação das farinhas de trigo e de milho entrou em vigor em junho de 2004⁹. A partir de então, as farinhas passaram a ser obrigatoriamente fortificadas e a disponibilidade para o mercado consumidor se fez gradativamente, já que as farinhas previamente fabricadas ainda poderiam ser comercializadas até que acabasse o último lote. Por isso, não houve

controle sobre quando as gestantes começaram a consumir os alimentos que contivessem as farinhas já fortificadas, o que fez disso uma limitação do estudo.

Além disso, a quantidade de ferro e o tipo de composto de ferro, adicionados pelo fabricante no 2º momento da pesquisa, também não foram controlados. A legislação brasileira apenas determina a quantidade de ferro mínima a ser adicionada de 4,2mg de ferro por 100g de farinhas. Dessa forma, o fabricante poderia adicionar mais ferro,

e estar de acordo com a legislação, ou o teor de ferro poderia estar abaixo dos padrões estabelecidos pela resolução.

O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO)³⁰ fez uma pesquisa pontual de análise do teor de ferro em seis marcas de fubás em junho de 2005 adquiridas em supermercados de Minas Gerais, do Rio de Janeiro, do Paraná. Foi constatado que duas marcas não estavam conforme o estabelecido pela legislação - considerando uma tolerância de 20% para mais ou para menos -, três marcas apresentaram teores cerca de 15% menores e uma marca continha 4,71 mg/100g de farinha. Segundo o Instituto, somente a certificação e o acompanhamento regular assegurariam que o produto estivesse de acordo com os requisitos estabelecidos.

A legislação ainda permite a escolha do tipo de ferro pelo fabricante, o que também dificulta o controle da biodisponibilidade, já que não houve informação disponível sobre o tipo de composto utilizado pela indústria alimentícia.

Em uma dieta balanceada para as gestantes, recomenda-se de cinco a nove porções diárias de alimentos à base de cereais, segundo as recomendações do Guia Alimentar para a População Brasileira, do Ministério da Saúde³¹.

Estima-se que o peso da porção média de cereais seria de 64g, sendo que neste estudo cerca de 65% da quantidade de porções, em ambos os momentos, corresponderam a alimentos com farinha de trigo ou de milho na sua composição. Assim, seria recomendado o consumo por volta de 330g de alimentos à base de farinhas de trigo ou milho por dia. Considerando os alimentos mais frequentemente consumidos pelas entrevistadas, ou seja, pão de trigo, biscoito, bolo, macarrão e cuscuz, chegar-se-ia a uma média de 42% de teor de farinhas nesses alimentos.

Portanto, a recomendação de consumo *per capita* diário total de farinhas seria de, aproximadamente, 140g de farinhas, número ligeiramente superior à média de consumo estimada para as

gestantes do estudo. Se for considerado o valor mínimo de ferro proposto pela legislação brasileira, o aporte de ferro proveniente apenas da fortificação deve ser de, no mínimo, 5,9mg de ferro - aproximadamente 22% da Ingestão Dietética de Referência (IDR)²⁶ para o período gestacional. Considerando as mesmas condições, as gestantes do estudo atingiram uma média de 5,1mg de ferro adicional, o que corresponde a 19% da IDR²⁶.

A Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) de 2002-2003, apesar de não ser um estudo que afere diretamente o consumo alimentar, mostrou que o gasto com a compra de cereais, leguminosas e oleaginosas na região Centro-Oeste foi um dos maiores do Brasil (13,4%). Os gastos com farinhas, féculas e massas na mesma região foi de 4,2% e com panificados foi de 9,3%. O pão francês foi um alimento habitualmente presente, porém, nas famílias com rendimentos mais baixos, a quantidade adquirida foi quase a metade da média nacional (12kg/ano), enquanto que nas com rendimentos mais elevados a quantidade foi 50,00% superior à média. No Distrito Federal (DF), a média anual *per capita* esteve acima de 12kg³².

Além disso, segundo a POF 2002-2003, o macarrão não apresentou diferenças significantes de aquisição entre as regiões, sendo de 3,25kg/ano no DF. O fubá de milho e a farinha de trigo apresentaram 1,14kg e 1,35kg/ano, respectivamente, sendo que este último alimento apresentou grande variação entre as regiões do País. A região Sul apresentou a média de consumo maior que 18kg. Comparando-se essa pesquisa com o Estudo Nacional de Despesa Familiar (ENDEF, 1974-1975) e as Pesquisas de Orçamento Familiares anteriores (1987-1988 e 1995-1996), considerando as diferenças metodológicas, observou-se que o consumo nacional de macarrão se manteve constante e o de pão francês apresentou uma diminuição constante de 22,0% ao longo do tempo no País³².

Foi observado ainda que, considerando o ferro teórico adicional proveniente da fortificação, os alimentos à base de farinhas no 2º momento da investigação tiveram maior contribuição no

consumo de ferro total em relação aos alimentos que são fontes naturais de ferro. Alimentos como hortaliças verde-escuras e carne branca, presentes como variáveis que explicam o consumo de ferro no 1º momento, não apareceram no 2º momento, em que o bolo simples e o cuscuz de milho se evidenciaram. O biscoito, o macarrão e o pão de trigo já explicavam o consumo de ferro total no 1º momento, provavelmente em função da quantidade e da frequência consumida e, no caso do biscoito, também por alguns tipos já serem enriquecidos com ferro voluntariamente pelo fabricante.

Mesmo com a fortificação considerada no 2º momento do estudo, a média de ingestão de ferro não atingiu a recomendação para gestantes. Por isso, além da fortificação dos alimentos, outras práticas de prevenção e controle da anemia devem ser simultaneamente estimuladas. Isso inclui a educação nutricional, as orientações direcionadas ao consumo de alimentos com ferro mais biodisponível e o desestímulo ao consumo de inibidores da absorção do nutriente, além da suplementação, adotada como medida profilática na gestação. Foi constatado, nesta pesquisa, que apenas 34% das gestantes estavam fazendo uso do suplemento de ferro durante a gestação, segundo o relato das próprias gestantes.

O nível de ingestão máxima tolerável (*Tolerable Upper Intakes Levels*) de ferro para gestantes, segundo o *Institute of Medicine* dos Estados Unidos, é de 45mg/dia²⁵. A comparação da quantidade de gestantes do 1º e 2º momentos que ultrapassaram esse limite, a partir da estimativa do consumo de ferro, não apresentou diferença significativa (teste de Qui-quadrado, $p=0,431$). Assim, a adição de ferro teórico estimada no 2º momento não aumentaria significativamente a quantidade de gestantes que consumiram o nutriente acima do nível tolerável - 6 gestantes no 1º momento (51,1mg, DP=4,8; IC 95%: 46,0-56,1) e 9 gestantes no 2º momento (53,6mg, DP=7,5; IC 95%: 47,8-59,4). Porém, deve-se considerar que a mensuração do ferro total por meio da análise do inquérito alimentar apenas

proporciona a indicação de um risco. Na verdade, o risco do excesso de ferro pode ser mensurado com maior especificidade a partir da ferritina sérica².

Os resultados deste estudo mostram que os alimentos sujeitos à fortificação compulsória com ferro, mais especificamente aqueles que contêm como ingrediente a farinha de trigo, são veículos apropriados para a fortificação com ferro no que diz respeito ao largo consumo. Além disso, houve indicação de risco não significativa de excesso de ingestão do nutriente pelas gestantes entrevistadas.

Recomenda-se a realização de outros estudos de consumo que considerem o aporte real adicional de ferro, a partir da mensuração direta do teor de ferro nesses alimentos, e que avaliem a biodisponibilidade dos compostos utilizados.

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

Ao professor Eduardo Freitas da Silva, do Departamento de Estatística da Universidade de Brasília, pelo auxílio nos cálculos e pela interpretação de dados estatísticos; ao apoio financeiro do Ministério da Saúde (FUNSAÚDE nº 2885/03); ao Observatório de Políticas de Segurança Alimentar e Nutrição (OPSAN), pelos recursos materiais e à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de fomento durante o mestrado.

C O L A B O R A D O R E S

M.H. CÔRTEZ e I.A.L. VASCONCELOS foram responsáveis pela revisão bibliográfica, pela coleta, pela análise e pela interpretação dos dados. D.C. COITINHO foi responsável pela concepção e pela orientação do estudo.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization and Centers for Disease Control and Prevention. Assessing the iron status of populations: Report of a Joint World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention Technical Consultation on the Assessment of Iron Status at the Population Level. Geneva; 2004.

2. World Health Organization. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva; 2001. Document WHO/NHD/01.3.
3. Szarfarc SC. A anemia nutricional entre gestantes atendidas em centros de saúde do Estado de São Paulo (Brasil). Rev Saúde Pública. 1985; 19(5): 450-7.
4. Rodriguez OTS, Szarfarc SC, Benício MHA. Anemia e desnutrição maternas e sua relação com o peso ao nascer. Rev Saúde Pública. 1991; 25(3):193-7.
5. Nacul LC, Lira PI, Batista Filho M. Anemia em gestantes atendidas no pré-natal do IMIP. Rev Inst Materno Infantil de Pernambuco. 1991; 4(2):104-7.
6. Arruda IKG. Deficiência de ferro e folato e anemia em gestantes atendidas no IMIP: magnitude, alguns fatores de risco e repercussão nos seus conceitos [tese]. São Paulo: Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco; 1997.
7. Food and Agriculture Organization. Food fortification: technology and quality control. Report of an FAO Technical Meeting, Rome, 20-23; 1995. FAO Food and Nutrition Paper. Rome: FAO; 1996.
8. Nestel P, Nalubola R, Sivakaneshan R, Wickramasinghe AR, Atukorala S, Wickramanayake T. The use of iron-fortified wheat flour to reduce anemia among the estate population in Sri Lanka. Int J Vitam Nutr Res. 2004; 74(1):35-51.
9. Brasil. Resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Aprova o regulamento técnico para a fortificação das farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e ácido fólico. [acesso 2004 fev]. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=1679>>.
10. Cintra IP, Heyde MED, Schmitz BAS, Franceschini SCC, Taddei JAAC, Sigulem DM. Métodos de inquéritos dietéticos. Cad Nutr. 1997; 13(2):11-23.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Gestante de alto risco: sistema estaduais de referência hospitalar à gestante de alto risco. Brasília: Ministério da Saúde; 2001.
12. Côrtes MH. Impacto da fortificação das farinhas com ferro nos níveis de hemoglobina das gestantes atendidas pelo pré-natal do Hospital Universitário de Brasília [dissertação]. Brasília: Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Universidade de Brasília; 2006.
13. Vasconcelos FAG. Avaliação nutricional de coletividades. 3a. ed. Florianópolis: UFSC; 2000.
14. Atalah E, Castillo C, Castro R, Aldea A. Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas. Rev Méd Chile. 1997; 125(12): 1429-36.
15. Vítolo MR. Nutrição: da gestação à adolescência. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso Editores; 2003.
16. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2000. [acesso 2003 dez 10]. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/censo/questionarios.shtml>>.
17. Sávio KEO, Schmitz BAS. Perfil nutricional da clientela atendida em restaurantes vinculados ao Programa de Alimentação do Trabalhador do Distrito Federal: 2000-2001 [dissertação]. Brasília: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília; 2002.
18. Zabotto CB, Veanna RPT, Gil MF. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções. Goiânia: Unicamp; 1996.
19. Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 4a. ed. São Paulo: Atheneu; 2000.
20. Moreira MA. Medidas caseiras no preparo dos alimentos. 2a. ed. Goiânia: AB Editora; 2002.
21. Erhardt J. Nutri survey for windows (software) 2005. University of Indonesia: SEAMEO-TROPMED; 2005. [cited 2005 Oct]. Available from: <<http://www.nutrisurvey.de/index.html>>.
22. Philippi ST. Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional. Brasília: ANVISA; 2001.
23. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Tabelas de composição de alimentos. 5a. ed. Rio de Janeiro: IBGE; 1999.
24. National Research Council. Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington (DC): National Academy Press; 1989.
25. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. Washington (DC): National Academic Press; 1999-2001.
26. Brasil. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. O "Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais". [acesso 2006 jun]. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=18828>>.
27. Statistical Package for the Social Science. SPSS 13.0 for windows. SPSS Inc; 2004.
28. SAS. SAS 9.1 for windows. Cary (NC): SAS Inc; 2006.
29. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Diretrizes e Normas Regulamentadoras de

- Pesquisas em Seres Humanos. Resolução CNS Nº 196, de 10 de outubro de 1996. In: Normas para Pesquisa envolvendo seres humanos (Res. CNS nº 196/96 e outras). 2a. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2003. p.29-51.
30. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Relatório sobre análise em produtos de festa junina - amendoim, fubá de milho e leite de coco. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior; 2005 [acesso 2005 jun]. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/festaJunina.asp>>.
31. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.
32. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003: primeiros resultados: Brasil e Grandes Regiões/ IBGE, Coordenação de Índices de Preços. Rio de Janeiro: IBGE; 2004.

Recebido em: 29/9/2006
Versão final reapresentada em: 1/11/2007
Aprovado em: 29/12/2007

Estimativa da disponibilidade de zinco em refeições com preparações padronizadas da alimentação escolar do município de Campinas

Estimated zinc availability in school meals done with standard foods in the city of Campinas (SP), Brazil

Semíramis Martins Álvares DOMENE¹
Thalita Cremonesi PEREIRA²
Rye Katsurayama de ARRIVILLAGA¹

RESUMO

Objetivo

Este estudo se propôs a avaliar razões molares fitato:Zn e fitatoxCa:Zn/MJ de preparações para escolares entre 7 e 14 anos.

Métodos

A padronização das receitas foi realizada em uma escola e submetida a teste de aceitação, por meio da avaliação do rejeito. As refeições habitualmente usadas foram submetidas à estimativa de disponibilidade de zinco por meio do cálculo das razões molares fitato:Zn e fitatoxCa:Zn/MJ. Os cálculos dietéticos foram realizados pelo programa Nut Win (versão 1.5) e foram usados os valores de 15 e 22 para as razões molares fitato: zinco e fitatoxCa:Zn/MJ, respectivamente, como pontos de corte para o risco à absorção de zinco.

Resultados

Os resultados mostram que 50,0% das preparações apresentam risco à absorção de zinco segundo fitato: Zn, e 40,0% segundo fitatoxCa:Zn/MJ; 82,0% dos cardápios fornecem menos do que 15,0% das recomendações de cálcio e 63,6% apresentam grande probabilidade de inadequação de lipídeos.

Conclusão

A aplicação das razões molares para avaliação dos cardápios na alimentação escolar indica que a disponibilidade do zinco pode estar comprometida, o que pode ser revertido com o aumento da frequência de alimentos fonte, como as carnes.

Termos de indexação: Ácido fítico. Alimentação escolar. Criança. Zinco.

¹ Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Nutrição. Av. John Boyd Dunlop, s/n., Campus II, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: S.M.A. DOMENE.

² Universidade Estadual de Campinas, Programa de Saúde da Criança e do Adolescente. Campinas, SP, Brasil.

ABSTRACT

Objective

This study aimed to assess the molar ratios of phytate:Zn and phytate:Ca:Zn/MJ in meals for school children aging from 7 to 14 years.

Methods

Recipes were standardized in a school and submitted an acceptance test by assessing meal leftovers. The availability of zinc in the usual meals was determined by calculating the molar ratios of phytate:zinc and phytate:Ca:Zn/MJ. The dietary calculations were done with the program Nut Win (version 1.5) and 15 and 22 were used as cutoff values for the molar ratios of phytate:Zn and phytate:Ca:Zn/MJ respectively for proper Zn absorption.

Results

The results show that 50.0% of the preparations present risk to the absorption of zinc according to the phytate:Zn ratio and 40.0% according to phytate:Ca:Zn/MJ ratio; 82.0% of the diets offer less than 15.0% of the recommended calcium amounts and 63.6% are very likely to be inadequate regarding lipids.

Conclusion

The use of the molar ratios to assess the school menus indicates that zinc availability may be low. This could be reversed by serving good sources of zinc, such as meats, more often.

Indexing terms: Phytic acid. School feeding. Children. Zinc.

INTRODUÇÃO

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), que atendeu a 36 milhões de crianças no ano de 2002, completou 50 anos em 2005 e tem metas complementares à agenda nacional de políticas públicas na área de nutrição, que ganharam força com a proposta do Programa Fome Zero¹. Dada a cobertura nacional, o PNAE assume características próprias que divergem em cada região do Brasil, sendo que o município ajusta a gestão local de acordo com suas particularidades. Este Programa visa a atender escolas públicas, filantrópicas e indígenas e tem como objetivo suplementar o dia alimentar da criança fornecendo, no mínimo, 15% das necessidades nutricionais, contribuir para a redução da evasão escolar e favorecer a formação de bons hábitos alimentares em crianças e adolescentes do País².

De acordo com o sistema de gestão municipalizada, o financiamento proveniente do Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) é repassado diretamente à Prefeitura Municipal de Campinas (PMC), que, tradicionalmente, complementa este valor para melhor

atendimento às metas do Programa. A PMC tem a função de administrar o Programa de Alimentação Escolar na cidade, contando com a parceria da Central de Abastecimento de Campinas S.A. (CEASA), desde o ano de 2001, sendo esta a responsável pela elaboração de cardápios para a alimentação escolar e pré-escolar. Um dos projetos de melhoria da alimentação escolar na cidade de Campinas, que está em andamento, é a padronização de cardápios, que conta com a colaboração da Faculdade de Nutrição da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas). Este projeto visa a subsidiar ações que permitam a elaboração de preparações nutricionalmente equilibradas para escolares entre 7 e 14 anos, com prioridade de oferta de alimentos *in natura*, de forma que o custo seja compatível com o orçamento gerado pelo repasse do Fundo Nacional para o Desenvolvimento da Educação (FNDE), e pela complementação do poder público local. A gestão municipal do PNAE, que estabelece parcerias com este projeto e com outras iniciativas, como o treinamento de merendeiras, foi premiada pelo Prêmio Gestor Eficiente da Merenda Escolar no ano de 2004³.

Uma das formas de verificar a qualidade de cardápios é estimar a biodisponibilidade dos nutrientes presentes nas preparações, o que pode ser feito por meio do cálculo de razões molares fitato:zinco (fitato:Zn). O Zinco (Zn) é um mineral envolvido em passos metabólicos relevantes para o bom funcionamento do sistema imune e para o crescimento. Sua absorção intestinal pode ser prejudicada pela ação do fitato naturalmente presente nos alimentos, neste caso, desempenhando ação antinutricional, dada sua capacidade de ligação a cátions mono e divalentes, diminuindo sua solubilidade intra-luminal⁴. Este efeito inibitório é potencializado quando há cálcio (Ca) na refeição⁵. Está demonstrado que razões molares fitato:Zn e fitatoxCa:Zn/MJ superiores, respectivamente, aos valores de 15 e 22 nas preparações, são indicadores de menor absorção de zinco e, conseqüentemente, limitadoras de sua biodisponibilidade^{6,7}.

É evidente na literatura a relação entre dietas com razões molares fitato:Zn e fitatoxCa:Zn superiores aos valores de risco com efeitos sobre a saúde de crianças, como baixa concentração de Zn capilar, menor absorção de Zn e influência negativa no crescimento⁸⁻¹⁰. O fitato, especialmente em sua forma hexafosfórica, exerce importante efeito quelante sobre os cátions da dieta em condições de pH alcalino, como o observado no meio intraluminal. A estimativa da biodisponibilidade, portanto, depende da composição de todos os alimentos consumidos na mesma refeição¹¹.

Este estudo tem como objetivo avaliar o valor nutricional e estimar a biodisponibilidade de Zn de preparações que estão sendo padronizadas para a alimentação escolar da cidade de Campinas, considerando as refeições em que são servidas.

MÉTODOS

Realizou-se cálculo dietético por meio do Programa de Apoio à Nutrição Nut Win (versão 1.5) dos cardápios compostos por 11 preparações que estão sendo padronizadas para atender aos

escolares de 7 a 14 anos de idade. O fornecimento estimado de nutrientes foi comparado com as recomendações norte-americanas levando-se em consideração que a alimentação escolar deve prover 15% das necessidades de todos os nutrientes¹²⁻¹⁵. Para a energia empregou-se o valor médio de recomendação (*Estimated Energy Requirement* - EER) para o estágio de vida correspondente. Para lipídeos e carboidratos utilizou-se o intervalo estabelecido pelo *Acceptable Macronutrient Distribution Ranges* (AMDR).

Realizou-se o cálculo das razões molares fitato:Zn e fitatoxCa:Zn/MJ destas preparações para estimar a biodisponibilidade de Zn, tendo-se obtido os teores de fitato nos alimentos por meio de compilação da literatura¹⁶⁻¹⁹.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra os valores das razões molares de cada porção estudada, além da média (M) e do desvio-padrão (DP) entre as refeições. Consideraram-se, para o cálculo da média e do DP, apenas 10 preparações, excluindo-se aquelas cujos teores de fitato encontrados na literatura mostram ser este conteúdo inexpressivo nos ingredientes empregados em sua formulação, ou não foram encontrados. As médias de fitato:Zn

Tabela 1. Razões molares fitato:Zn e fitatoxCa:Zn/MJ das refeições empregadas no Programa Nacional de Alimentação Escolar em Campinas. Campinas (SP), 2005.

Preparação	Fitato:Zn		FitatoxCa:Zn/MJ	
	M	DP	M	DP
Sopa de legumes com macarrão ⁶	7,25		6,26	
Canja de frango ⁶	21		11,78	
Caldo enriquecido ⁶	7		5,5	
Carne com abóbora ⁴	nd*		nd*	
Bolo de banana ⁵	16		10,68	
Arroz à primavera	3		1,68	
Carne moída com legumes ¹	15		16	
Doce de abóbora ²	5		25,5	
Doce de banana ²	5		24,3	
Frango xadrez ¹	22,5		37,3	
Patê de berinjela ³	50		74,5	
	M	DP	M	DP
	15,18	14,1	21,35	21,6

* nd= valor não determinado; Acompanhamentos: ¹arroz e feijão; ²pão e leite com achocolatado; ³pão e suco; ⁴ arroz; ⁵ suco; ⁶maçã.

e fitatoxCa:Zn/MJ encontradas foram de 15 e 21, respectivamente. Cerca de 50% das preparações apresentaram valores de fitato:Zn de risco à absorção de Zn (>15), e a frequência de 40% foi encontrada para a razão fitatoxCa:Zn/MJ de risco (>22).

Na Tabela 2 estão os resultados do cálculo dietético das porções individuais das preparações quanto a energia, macronutrientes, Zn e Ca, acompanhados dos valores de Média e Desvios-padrão.

A ocorrência de elevados valores de desvios-padrão para o Ca ilustra a diversificação da frequência do uso de alimentos fontes deste nutriente em cada preparação.

As frequências de adequação do atendimento das recomendações nutricionais para energia e macronutrientes constam na Tabela 3, e para Zn e Ca na Tabela 4.

Todas as preparações apresentam grande probabilidade de adequação quanto a proteínas e carboidratos. Aproximadamente metade das preparações tem grande probabilidade de adequação de energia e zinco. Entretanto, há muitas preparações com alta probabilidade de inadequação de lipídeos e Ca, segundo os dados apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 2. Valor energético, de macronutrientes, Zn e Ca, de porções individuais das refeições empregadas no Programa Nacional de Alimentação Escolar em Campinas. Campinas (SP), 2005.

Preparação	Energia (Kcal)		P (g)		L (g)		CHO (g)		Zn (mg)		Ca (mg)	
Sopa de legumes com macarrão ⁶	231,1		10,0		3,9		41,3		1,12		32,8	
Canja de frango ⁶	265,5		9,8		2,7		51,9		0,77		27,9	
Caldo enriquecido ⁶	299,5		8,2		8,9		49,9		1,43		40,7	
Carne com abóbora ⁴	212,9		9,8		1,8		37,9		1,45		12,0	
Bolo de banana ⁵	267,3		6,4		2,9		54,7		0,34		7,7	
Arroz à primavera	308,8		10,3		13,0		36,9		1,70		25,0	
Carne moída com legumes ¹	339,0		13,3		6,8		55,9		1,94		57,5	
Doce de abóbora ²	371,9		13,4		10,5		56,9		0,87		318,6	
Doce de banana ²	384,1		13,4		10,7		60,0		0,82		313,8	
Frango xadrez ¹	323,1		16,4		3,6		56,0		1,57		61,4	
Patê de berinjela ³	252,0		5,3		5,7		45,3		0,05		63,3	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
	296	56	11	3,3	6,4	3,8	49,7	8,1	1,1	0,58	89	113,4

Acompanhamentos: ¹arroz e feijão; ²pão e leite com achocolatado; ³pão e suco; ⁴arroz; ⁵suco; ⁶maçã; M: média; DP: desvio-padrão.

Tabela 3. Frequência de adequação da energia e dos macronutrientes das porções individuais de cada preparação. Programa Nacional de Alimentação Escolar. Campinas (SP), 2005.

Energia ¹				Proteína ¹				Lipídeos ¹				Carboidratos ¹			
Valores <EER		Valores >EER		Valores <AI		Valores >AI		Valores <AMDR		Valores >AMDR		Valores <AMDR		Valores >AMDR	
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
5	45,5	6	54,5	0	0	11	100	7	63,6	4	36,4	0	0	11	100

¹ Considerando 15% das recomendações nutricionais, conforme legislação em vigor. EER: *estimated energy requirement*; AI: *adequate intakes*; AMDR: *acceptable micronutrient distribution ranges*.

Tabela 4. Frequência de adequação de Zinco e Cálcio das porções individuais de cada preparação. Programa Nacional de Alimentação Escolar. Campinas (SP), 2005.

Ca ¹				Zn ¹					
Valores <AI		Valores >AI		Valores <EAR		EAR <Valores < RDA		Valores >RDA	
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
9	81,8	2	18,2	5	45,5	1	9	5	45,5

¹ Considerando 15% das recomendações nutricionais, conforme legislação em vigor. AI: *adequate intakes*; EAR: *estimated average requirement*; RDA: *recommended dietary allowances*.

DISCUSSÃO

Com a análise dos resultados observa-se que as médias das razões molares fitato:Zn e fitatoxCa:Zn/MJ não ultrapassam os valores de risco de 15 e 22, respectivamente. Entretanto, as médias são muito próximas ao valor de risco, e 50% das 10 preparações estudadas estão acima de 15 para fitato:Zn, e 40% estão acima de 22 para fitatoxCa:Zn/MJ. Tais frequências de razões molares de risco apresentam-se superiores à frequência encontrada em refeições de jovens e adultos da Escócia²⁰.

Entre as causas da alta frequência de razões molares de risco entre as preparações está a utilização de ingredientes e alimentos com elevado conteúdo fitato para refeições pobres em alimentos de origem animal, como arroz branco, farinha de trigo refinada, feijão e pão branco. A existência de alimentos predominantemente vegetais determina baixo fornecimento de zinco em 6 das 11 preparações, prejudicando, assim, a sua biodisponibilidade. O aumento do consumo de alimentos de origem animal como estratégia para melhorar a biodisponibilidade de micronutrientes é um recurso empregado por outros autores. Em uma comunidade da Malásia, Gibson et al.²¹ observaram maior ingestão de micronutrientes em grupo de crianças que recebeu 8,9g de proteína de origem animal por dia, em relação ao grupo que recebeu 5,1g, com diminuição da prevalência de anemia e doenças infecciosas. Contudo, os autores alertam para o fato de que, sendo o peixe a fonte proteica empregada no estudo, o consumo de ferro não foi afetado. O baixo consumo de alimentos de origem animal foi apontado como uma das principais características da dieta de crianças quenianas de 8 a 9 anos, sendo que neste grupo a prevalência de anemia foi de 50%²².

Deve-se lembrar que em uma das preparações não foi possível estimar a biodisponibilidade de Zn, pela ausência de dados na literatura quanto ao valor de fitato. Esta preparação foi considerada para o cálculo das médias das razões

molares e da frequência de risco à absorção do Zn. Este exemplo ilustra a importância da elaboração de uma base de dados com o teor de ácido fítico nos alimentos, obtidos por meio de análises laboratoriais eficientes e confiáveis.

Parece que a quantidade de Ca nas refeições apresentadas não é fator preocupante quanto ao efeito sobre a biodisponibilidade de Zn, pois 81,8% dessas preparações não oferecem adequado aporte de Ca, diminuindo a chance de ligação ao fitato e assim, não aumentando a razão molar fitatoxCa:Zn/MJ. Contudo, esta situação de baixa ingestão de Ca é preocupante, pois a formação do material ósseo é predominante na infância e demanda uma adequada ingestão do mineral em questão²³. As únicas preparações que ofereceram quantidade adequada de Ca foram aquelas que possuíam como acompanhamento o leite achocolatado.

O fato de que a alimentação escolar em estudo não fornece 15% das necessidades nutricionais, na maioria dos dias da semana, já foi apontado anteriormente²⁴. Existem poucos trabalhos com dados de outros municípios que permitam estabelecer comparações. O baixo fornecimento de micronutrientes na alimentação escolar está confirmado no presente estudo, por meio das porcentagens com maior probabilidade de inadequação de Zn e Ca. Entretanto, quanto a energia e proteínas, diverge da pesquisa citada, uma vez que a maioria das preparações analisadas em neste estudo apresentou alta probabilidade de adequação; isto pode decorrer do ajuste recente dos valores de referência para recomendações energéticas¹⁴.

Todas as preparações se ajustaram às recomendações de proteína e carboidratos, oferecendo 15% ou mais das necessidades dos escolares. Já a energia teve valor menor que 15% das recomendações em 5 das preparações, provavelmente devido à inadequação de lipídeos, que teve grande probabilidade de inadequação em 7 preparações. É necessário que a alimentação escolar forneça a quantidade adequada de energia para que se minimize a possibilidade, demonstrada na pesqui-

sa de Mazzilli²⁵, de que as crianças apresentem deficiência de consumo energético no restante do seu dia alimentar. Entretanto, o padrão da refeição fornecida na época do estudo de Mazzilli²⁵ induzia a supressão da refeição subsequente, uma vez que era constituído, comumente, por preparações de elevada densidade energética, especialmente produtos formulados, felizmente em desuso pela atual proposta do PNAE.

CONCLUSÃO

Os dados deste estudo mostram que o consumo das preparações oferecidas pelo PNAE aos escolares de Campinas não atende rigorosamente à previsão quantitativa de nutrientes. Isto implica em aporte energético e nutricional insuficientes, devido ao viés da demanda espontânea de alimentos consumidos. Por isto é importante que, no momento da elaboração dos cardápios para a alimentação escolar, deva-se atentar para a adequada previsão de fornecimento de nutrientes, e com misturas alimentares que promovam a absorção de micronutrientes, especialmente de Zn, para que as razões molares fitato:Zn e fitato:Ca:Zn/MJ não ultrapassem o valor de risco para a absorção do mineral. Além disso, é necessário fornecer mais alimentos ricos em Ca em cada preparação, já que houve grande probabilidade de inadequação em muitas das preparações estudadas. Uma maior quantidade de Ca somente irá potencializar o efeito inibitório do fitato com o Zn, se este último mineral apresentar-se em quantidades inadequadas nas preparações ou, ainda, se forem fornecidos grãos integrais nos cardápios dos escolares, o que seria contra-indicado com os atuais níveis de fornecimento de alimentos de origem animal.

É necessário atentar para outros aspectos observados no presente trabalho, como a pequena quantidade de lipídeos, fontes de ácidos graxos insaturados indispensáveis, a fim de que estes sejam fornecidos em teores satisfatórios, considerando o dia alimentar da criança. Este fato é relevante em preparações de refeição em grande

escala, quando o rendimento do óleo é maior do que o observado em pequenas proporções, resultando em quantidades menores nos processos de padronização de receitas.

Sugere-se que as refeições a serem empregadas no Programa de Alimentação Escolar sejam anteriormente submetidas a comparações com as novas recomendações nutricionais, para que o objetivo do PNAE seja efetivado.

AGRADECIMENTOS

À Central de Abastecimento de Campinas S.A. (CEASA), por ter disponibilizado as receitas das preparações, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio ao projeto (Processo 98/14020,-1).

COLABORADORES

S.M.A. DOMENE participou da concepção, da coleta de dados, da análise e da redação do artigo. T.C. PEREIRA e R.K. ARRIVILLAGA participaram da coleta de dados, da análise e da redação do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Furtuoso MCO, Ometto AMH, Pipitone MAP, Silva MV, Sturion GL. Fatores condicionantes da adesão dos alunos ao Programa de Alimentação Escolar no Brasil. *Rev Nutr.* 2005; 18(2):167-81.
2. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Resolução nº 35, de 1 de outubro de 2003. Estende atendimento do PNAE a creches e estabelece valores *per capita*. [acesso 2005 ago 9]. Disponível em: <http://www.fnde.gov.br/home/legislacao_manuais/alimentacao_escolar/res035_01102003.pdf>.
3. Apoio Fome Zero. Prêmio Gestor Eficiente da Merenda Escolar. [acesso 2005 ago 19]. Disponível em: <<http://www.apoiofomezero.org.br/site/index.asp?Fuseaction=Conteudo&ParentID=45&Menu=45&Materia=212>>.
4. Mazariegos M, Hambidge KM, Krebs NF, Westcott JE, Lei S, Grunwald GK, et al. Zinc absorption in Guatemalan schoolchildren fed normal or

- low-phytate maize. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83(1): 59-64.
5. Hambidge KM, Krebs NF, Westcott JL, Sian L, Miller LV, Peterson KL, et al. Absorption of calcium from tortilla meals prepared from low-phytate maize. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82(1):84-7.
 6. Davies NT, Olpin SE. Studies on the phytate: zinc molar contents in diets as a determinant of Zn availability to young rats. *Br J Nutr.* 1979; 41: 591-603.
 7. Fordyce EJ, Forbes RM, Robbins KR, Erdman JW Jr. Phytate x calcium/zinc molar ratios: are they predictive of zinc bioavailability? *J Food Sci.* 1987; 52:440-4.
 8. Broadhead RL, Gibson RS, Hambidge KM, Hotz C, Krebs NF, Manary MJ, et al. Zinc homeostasis in Malawian children consuming a high-phytate, maize-based diet. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75(6): 1057-61.
 9. Ferguson EL, Gibson RS, Opare-Obisaw C, Ounpuu S, Thompson LU, Lehrfeld J. The zinc nutriture of preschool children living in two African countries. *J Nutr.* 1993; 123(9):1487-96.
 10. Gibson RS, Vanderkooy S, Thompson L. Dietary phytate x calcium/zinc millimolar ratios and zinc nutriture in some Ontario preschool children. *Biol Trace Elem Res.* 1991; 30(1):87-94.
 11. Haraldsson AK, Veide J, Andlid T, Alminger ML, Sandberg AS. Degradation of phytate by high-phytase *Saccharomyces cerevisiae* strains during simulated gastrointestinal digestion. *J Agric Food Chem.* 2005; 53(13):5438-44.
 12. Institute of Medicine. National Academy of Sciences on Dietary Reference Intakes (DRI). Dietary reference intakes: applications in dietary assessment. Washington (DC): National Academy Press; 2001.
 13. Institute of Medicine. National Academy of Sciences on Dietary Reference Intakes (DRI). Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington (DC): National Academy Press; 1999.
 14. Institute of Medicine. National Academy of Sciences on Dietary Reference Intakes (DRI). Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients) pre-publication. Washington (DC): National Academy Press; 2002.
 15. Institute of Medicine. National Academy of Sciences on Dietary Reference Intakes (DRI). Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington (DC): National Academy Press; 2002.
 16. Adams CL, Dorsch JA, Hambidge M, Krebs NF, Raboy V, Sian L, et al. Zinc absorption from a low-phytic acid maize. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76(3):556-9.
 17. Cardoso SP, Martins C. Interações droga-nutriente. Curitiba: NutroClínica; 1998.
 18. Hulthén LR, Larsson M, Sandberg AS, Sandstrom B. Improved zinc and iron absorption from breakfast meals containing malted oats with reduced phytate content. *Br J Nutr.* 1996; 76: 677-88.
 19. Oberleas D, Harland BE. Phytate content of foods: effect on dietary zinc bioavailability. *J Am Diet Assoc.* 1981; 79:433-6.
 20. Liddell J, Lockie GM, Wise A. Dietary intakes of phytate and its meal distribution pattern amongst staff and students in an institution of higher education. *Br J Nutr.* 1987; 58(3):337-46.
 21. Gibson RS, Yeudall F, Drost N, Mtitimuni BM, Cullinan TR. Experiences of a community-based dietary intervention to enhance micronutrient adequacy of diets low in animal source foods and high in phytate: a case study in rural Malawian children. *J Nutr.* 2003; 133(11 Suppl 2):3992S-9S.
 22. Bwibo NO, Neumann CG. The need for animal source foods by Kenyan children. *J Nutr.* 2003; 133(11 Suppl 2):3936S-40S.
 23. Krebs NF. Bioavailability of dietary supplements and impact of physiologic state: infants, children and adolescents. *J Nutr.* 2001; 131(suppl 4):1351-54.
 24. Tereso MJA, Vianna RPT. O Programa de Merenda Escolar de Campinas: análise do alcance e limitações do abastecimento regional. *Rev Nutr.* 2000; 13(1):41-9.
 25. Mazzilli RN. Merenda no dia alimentar de crianças matriculadas em centros de educação e alimentação do pré-escolar. *Rev Saúde Pública.* 1987; 21(4):317-25.

Recebido em: 8/3/2007
 Versão final reapresentada em: 8/3/2008
 Aprovado em: 21/2/2008

Prevalência de sobrepeso e obesidade em nipo-brasileiros: comparação entre sexos e geração¹

Prevalence of overweight and obesity among Japanese-Brazilian: comparison across sex and generation

Rosana Farah SIMONY^{2,3}

Suely Godoy Agostinho GIMENO⁴

Sandra Roberta Gouvea FERREIRA⁴

Laércio Joel FRANCO⁵

*Japanese-Brazilian Diabetes Study Group*⁶

RESUMO

Objetivo

Descrever a prevalência de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal em nipo-brasileiros residentes na cidade de Bauru (SP), Brasil.

Métodos

Os dados foram obtidos a partir de um estudo transversal com 1 330 nipo-brasileiros de 1ª e 2ª geração, de ambos os sexos, com idade ≥ 30 anos. Os critérios para sobrepeso e obesidade foram índice de massa corporal entre 25-29,9kg/m² e ≥ 30 kg/m², respectivamente. A obesidade abdominal foi classificada com valores de circunferência da cintura ≥ 90 cm, para homens, e ≥ 80 cm para mulheres. Foram calculadas as prevalências de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal por ponto e por intervalo, com 95% de confiança.

Resultados

Verificou-se que a prevalência de sobrepeso em nipo-brasileiros foi de 26,1% e 27,9% na primeira geração e de 44,8% e 32,5% na segunda geração, respectivamente, para homens e mulheres. Em relação à obesidade,

¹ Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo 00/01162-4).

² Centro Universitário São Camilo, Curso de Nutrição. Av. Nazaré, 1501, Ipiranga, 05025-110, São Paulo, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: R.F. SIMONY. E-mail: <rosanafarah@terra.com.br>.

³ Universidade Presbiteriana MacKenzie, Curso de Nutrição. São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. São Paulo, SP, Brasil.

⁵ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Medicina. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

⁶ *Japanese-Brazilian, Diabetes Study Group*. São Paulo, SP, Brasil.

a prevalência entre homens foi de 3,7% e 12%, e nas mulheres de 6,6% e 9,9% respectivamente na primeira e na segunda geração. Observou-se aumento na prevalência de sobrepeso e obesidade nos homens entre as gerações, apesar de as diferenças não serem estatisticamente significantes. A obesidade abdominal nos homens de primeira e segunda geração foi de 32,1% e 45,3%, e nas mulheres estes valores foram de 49,2% e 48,5%, respectivamente. No período de estudo não foram observados aumentos nas prevalências de sobrepeso e obesidade estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

Conclusão

O aumento percentual na prevalência de sobrepeso e obesidade abdominal em nipo-brasileiros pode ser, em parte, explicado pelo processo da ocidentalização, reforçando a necessidade de medidas preventivas, visando a minimizar as consequências metabólicas da obesidade nos nipo-brasileiros.

Termos de indexação: Circunferência abdominal. Índice de Massa Corporal. Migrantes. Obesidade. Sobrepeso.

ABSTRACT

Objective

To describe the prevalence of overweight, obesity and abdominal obesity in Japanese-Brazilians living in Bauru city, São Paulo State, Brazil.

Methods

Data were from a cross-sectional population-based study of 1.330 Japanese-Brazilians from the first and second generation of both genders and aged ≥ 30 years. Overweight and obesity criteria were body mass index of 25-29.9kg/m² and ≥ 30 kg/m², respectively. Abdominal obesity was classified by waist circumference ≥ 90 cm for men and ≥ 80 cm for women. Point and 95%-confidence-interval prevalences were calculated for overweight, obesity and abdominal obesity.

Results

In the first generation of Japanese-Brazilians, 26.1% of men and 27.9% of women were overweight in comparison with 44.8% e 32.5% in the second generation for males and females, respectively. The prevalence of obesity was 3.7% and 12.0% in males and 6.6% and 9.9% in females respectively for the first and second generation. Overweight and obesity rates for men increased between generations, even though the differences were not statistically significant. Abdominal obesity in first and second-generation men was 32.1% and 45.3% respectively and among women these rates were 49.2% and 48.5%, respectively. The increased prevalence of overweight and abdominal obesity in the study period was not statistically significant ($p < 0.05$).

Conclusion

The high rates of overweight and central obesity among the Japanese-Brazilians immigrants can be partly explained by the westernization process. There is a strong need for preventive measures that minimize the metabolic consequences of excess weight in Japanese-Brazilians.

Indexing terms: Abdominal circumference. Body mass index. Transients and migrants. Obesity. Overweight.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas foi observado um aumento significativo na prevalência da obesidade em todo o mundo¹⁻⁵, sendo a mesma atualmente considerada um importante problema de saúde pública em muitos países, por se encontrar associada a doenças crônicas como a síndrome metabólica, a hipertensão e o *diabetes mellitus* (DM2)⁶. Segundo Popkin⁷, a obesidade tornou-se um problema de saúde mundial e por isso é

considerada uma epidemia global, sendo a principal causa de muitas doenças tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento.

Segundo dados da Pesquisa Nacional de Nutrição do Japão, as prevalências de sobrepeso e obesidade, no sexo masculino, foram de 24,5% e 2,3% e 17,8% e 3,4% entre mulheres acima dos 20 anos de idade⁸. Apesar de a população de adultos obesos ser menor do que aquela observada

em sociedades ocidentais e em outros países asiáticos, a prevalência de excesso de peso (sobrepeso e obesidade) atinge atualmente quase um quarto da população adulta japonesa⁹.

A observação de que populações migrantes apresentam padrões distintos de morbimortalidade, quando comparadas ao perfil dos residentes do seu local de origem, desperta grande interesse científico, pois permite avaliar o efeito do meio ambiente no aparecimento de doenças (mudanças no seu estilo de vida devido ao processo de adaptação ao novo ambiente)¹⁰.

Um estudo recente conduzido por Yoshiike et al.¹¹, mostrou um aumento na prevalência de sobrepeso em homens residentes em áreas rurais do Japão, sugerindo que mudanças no grau de atividade física, assim como na automatização da agricultura, poderiam ser as responsáveis pela mudança neste perfil nutricional. Os autores sugerem, ainda, que essas diferenças entre as áreas rurais e urbanas podem ser, em parte, explicadas por fatores sociais e de estilo de vida que podem influenciar o aumento das prevalências do excesso de peso. Essa hipótese é reforçada por resultados de estudos conduzidos em populações de migrantes de áreas rurais e urbanas, que sugerem que a diminuição na atividade física, associada a mudanças na dieta usual, é responsável pelo aumento na prevalência da obesidade reforçando a hipótese da importância da aculturação sobre a etiologia do sobrepeso¹¹.

A população migrante japonesa é um dos exemplos das conseqüências do processo de aculturação. Isso porque, atualmente, apresenta elevada prevalência de DM2 e de dislipidemia, provavelmente, como uma das conseqüências das mudanças da dieta e da atividade física nas últimas décadas¹².

Primeiramente, os japoneses apresentavam baixas prevalências de DM2, hipertensão e dislipidemia, porém estudos realizados em japoneses imigrantes vivendo nos Estados Unidos mostraram que esse quadro havia sido modificado¹²⁻¹⁴. No Brasil, Souza & Gotlieb¹⁰, em um estudo conduzido com nipo-brasileiros no Estado

do Paraná, verificaram que houve modificação do padrão de mortalidade de indivíduos de primeira geração, quando comparados aos que permaneceram no seu país de origem (Japão), sendo este semelhante ao perfil do local de destino, sugerindo a influência de fatores socioculturais sob essas diferenças. Ferreira et al.¹⁵ verificaram que os nipo-brasileiros entre 40 e 79 anos apresentaram elevada prevalência de hipertensão sendo, talvez, resultado da influência desfavorável da ocidentalização no desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. Gimeno et al.¹⁶ verificaram, no período de 1993 a 2000, uma piora no perfil glicêmico dos nipo-brasileiros e elevadas prevalências de intolerância à glicose (DM2, glicemia de jejum alterada e tolerância diminuída à glicose), sendo, atualmente, considerada uma das maiores do mundo.

As evidências apontadas sobre a elevada prevalência de doenças crônicas em japoneses que, em alguns momentos de suas vidas, migraram para ambientes culturalmente distintos, reforça o papel da obesidade neste grupo populacional. Não somente a obesidade geral, mas especialmente a obesidade abdominal (OA) a qual faz parte da história natural da intolerância à glicose e de diversas outras doenças crônicas. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi descrever as prevalências de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal na população de nipo-brasileiros residentes na cidade de Bauru, em 2000.

MÉTODOS

O Brasil tem uma das maiores populações de migrantes do Japão, representando, em 1987, 1 288 000 indivíduos (0,9% da população brasileira). Destes, 828 mil indivíduos (64,3%) moram no Estado de São Paulo (2,9% da população do estado). Em Bauru, a colonização japonesa teve início em 1914, principalmente na área rural. Os japoneses, a princípio, vieram para trabalhar nas plantações de café, sendo que atualmente somente 11,0% destes imigrantes ainda trabalham na área rural.

Teve início em 1993 a primeira fase do estudo com 647 nipo-brasileiros residentes na cidade de Bauru, Estado de São Paulo, com o objetivo principal de conhecer a prevalência de DM2 e outras doenças associadas neste grupo de migrantes japoneses de primeira (Issei) e segunda geração (Nissei). Definiram-se como Issei todos os indivíduos nascidos no Japão e Nisseis os filhos de Isseis. Todos foram examinados e submetidos ao teste de tolerância oral à glicose.

Em 1999, teve início a segunda fase do estudo na qual, além dos participantes da primeira fase, foram convidados a participar todos os nipo-brasileiros de primeira e segunda geração com idade ≥ 30 anos ($n=1\ 751$ indivíduos). Detalhes sobre as características, a seleção e o recrutamento desta população já foram descritos¹⁷. Todos os indivíduos identificados foram convidados a participar do estudo, sendo que 1 330 (76,0%) responderam positivamente ao convite. Entre aqueles que não participaram do estudo, observou-se maior proporção de indivíduos do sexo masculino e com idade ≤ 60 anos, quando comparados aos participantes ($p < 0,05$). Das 421 (24,0%) desistências, 92 (5,3%) foram por óbitos, 272 (16,0%) por recusa e 57 (3,3%) por mudança de cidade ou país.

Após concordarem em participar da pesquisa (protocolo aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UNIFESP, número 082/98) e terem assinado o termo de consentimento, foram agendados local e data onde os indivíduos deveriam comparecer para a realização do exame físico. Durante o exame físico foram tomadas as medidas antropométricas por profissionais treinados, que pesaram e mediram os participantes com roupas leves e sem sapatos. Uma balança digital calibrada, da marca Filizola®, e um estadiômetro acoplado à parede foram os instrumentos utilizados para a tomada do peso e da altura, respectivamente. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso (kg) pelo quadrado da altura (m^2). Para a medição da circunferência da cintura (CC) utilizou-se fita métrica, medida em torno da cicatriz umbilical (indivíduos em pé).

O sobrepeso e a obesidade foram definidos de acordo com os pontos de corte recomendados pela Organização Mundial da Saúde¹⁸, ou seja, IMC 25-29,9kg/m² e IMC $\geq 30,0$ kg/m², respectivamente, para os sexos. A obesidade abdominal (OA) foi definida como a CC ≥ 80 cm para mulheres e ≥ 90 cm para homens, valores recomendados para a população asiática¹⁹.

As prevalências de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal foram estimadas por ponto e por intervalo com intervalo de confiança (IC) de 95% para ambas as gerações.

O *software* utilizado para análise estatística foi o STATA 7.0²⁰.

RESULTADOS

Dos 1 330 participantes, 717 (53,9%) eram do sexo feminino e 613 (46,1%) do sexo masculino. A maior parte dos indivíduos pertencia à segunda geração de migrantes japoneses (80,7%) e tinha menos que 60 anos de idade (57,3%).

A Tabela 1 mostra a porcentagem de nipo-brasileiros com sobrepeso (IMC entre 25 e 29,9kg/m²) e obesidade (IMC $\geq 30,0$ kg/m²) e a Tabela 2 mostra a prevalência de OA, ambas, segundo idade e geração. Observa-se que houve um aumento nas razões de prevalência de sobre-

Tabela 1. Nipo-brasileiros com sobrepeso (IMC ≥ 25 kg/m²), segundo idade e geração. Bauru (SP), 2000.

Faixa etária (anos)	IMC ≥ 25 kg/m ²				Total	
	Primeira geração		Segunda geração		n	%
	n	%	n	%		
<45	1	1,22	91	17,3	92	15,2
45-49	5	6,10	73	13,9	78	12,9
50-54	8	9,80	95	18,1	103	16,0
55-59	7	8,50	93	17,7	100	16,5
60-64	6	7,30	77	14,7	83	13,7
65-69	14	17,10	62	11,8	76	12,5
70-74	22	26,80	26	4,9	48	7,9
75-79	14	17,10	7	1,3	21	3,5
≥ 80	5	6,10	1	0,2	6	0,9
Total	82	100,00	525	100,0	607	100,0

IMC: índice de massa corporal.

peso e OA em quase todos os grupos etários, porém este aumento não foi estatisticamente significativo ($p>0,05$).

A Tabela 3 mostra as razões de prevalência de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal segundo sexo e geração. Houve uma pequena porcentagem de indivíduos com peso normal com OA (9,6% na primeira geração e 7,7% na segunda geração), o mesmo ocorrendo no caso de indivíduos com sobrepeso sem OA (17,1%) entre os homens. Para o sexo feminino, observou-se que somente 26,3% na primeira geração e 19,7% na segunda geração tinham peso normal sem OA. Para aquelas com sobrepeso apenas 8,8% e

16,1%, respectivamente, da primeira e da segunda geração não tinham OA. Todos os indivíduos com $IMC \geq 30,0 \text{ kg/m}^2$ apresentavam obesidade abdominal, para ambos os sexos e gerações.

DISCUSSÃO

A proposta deste estudo foi descrever a prevalência de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal em nipo-brasileiros. Os resultados mostraram, elevada porcentagem de indivíduos com sobrepeso nesta população em ambos os sexos, sendo 26,1% e 44,8% entre os homens de primeira e segunda geração, e 27,9% e 32,4% entre as mulheres de primeira e segunda geração, respectivamente. Verificou-se que a segunda geração apresentou prevalências elevadas de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal, quando comparada com a primeira geração, para ambos os sexos.

Entre os indivíduos de ambos os sexos da primeira geração, as maiores prevalências de sobrepeso e obesidade foram a partir dos 65 anos de idade. Na segunda geração, estas prevalências foram maiores entre os indivíduos abaixo de 45 anos até 69 anos.

Estudos apontam que as prevalências de sobrepeso e de obesidade, relativamente maiores em populações migrantes, podem ser reflexas do

Tabela 2. Nipo-brasileiros com obesidade abdominal segundo idade e geração. Bauru (SP), 2000.

Faixa etária (anos)	Circunferência da cintura $\geq 90/\geq 80 \text{ cm}$				Total	
	Primeira geração		Segunda geração			
	n	%	n	%	n	%
< 45	1	0,9	70	13,8	71	11,7
45-49	7	6,8	65	12,9	72	11,8
50-54	6	5,8	89	17,6	95	15,6
55-59	6	5,8	94	18,6	100	16,5
60-64	8	7,8	78	15,5	86	14,1
65-69	18	17,5	64	12,7	82	13,5
70-74	23	22,3	33	6,5	56	9,2
75-79	21	20,4	8	1,6	29	4,8
≥ 80	13	12,6	4	0,8	17	2,8
Total	103	100,0	505	100,0	608	100,0

Tabela 3. Prevalência de sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal (OA) em nipo-brasileiros, segundo sexo e geração. Bauru (SP), 2000.

	IMC < 25,0 kg/m ² (n=301)				IMC < 25-29,9 kg/m ² (n=250)				IMC $\geq 30,0 \text{ kg/m}^2$ (n=63)			
	Sem OA		Com OA		Sem OA		Com OA		Sem OA		Com OA	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Homens												
Primeira geração	85	90,4	9	9,6	6	7,1	29	82,9	-	-	5	100,0
Segunda geração	191	92,3	16	7,7	72	33,0	143	66,5	-	-	58	100,0
	$\chi^2=0,29$ $p=0,59$				$\chi^2=3,75$ $p=0,06$							
Mulheres												
Primeira geração	59	73,8	21	26,3	3	8,8	31	91,2	-	-	8	100,0
Segunda geração	275	80,4	67	19,7	31	16,3	162	83,9	-	-	59	100,0
	$\chi^2=1,74$ $p=0,18$				$\chi^2=1,19$ $p=0,27$							

Valores: χ^2 : qui-quadrado e p : valor de p .

impacto da ocidentalização no estilo de vida e na dieta desses grupos étnicos ao se fixarem em outros países^{21,22}.

Franco²¹, a fim de confirmar essa hipótese em um estudo sobre o papel da aculturação em nipo-brasileiros, encontrou maior prevalência de sobrepeso e obesidade nos indivíduos da segunda geração, quando comparados aos de primeira, sendo esses resultados semelhantes aos deste estudo. Uma das possíveis explicações do autor é a influência da aculturação na segunda geração, a qual parece apresentar uma menor resistência à adoção de um novo estilo de vida, em relação à primeira, ser naturalmente mais jovem e não apresentar um comportamento tão conservador em relação aos hábitos alimentares. Além disso, deve-se também destacar que a maior parte desses nipo-brasileiros vive em área urbana (90% em 1988 vs 45% em 1958), o que pode diminuir o gasto energético na atividades cotidianas.

Lerário et al.²², em um estudo realizado com este mesmo grupo populacional, também encontraram elevada prevalência de sobrepeso nos indivíduos de segunda geração, quando comparadas com a primeira (29,0% vs 17,0%; $p < 0,05$), apesar de o critério adotado para os sobrepeso ter sido diferente ($IMC \geq 26,4 \text{ kg/m}^2$), reforçando, mais uma vez, a hipótese de que o hábito alimentar, associado à pouca atividade física, são fatores responsáveis pela elevada prevalência da sobrepeso nesta população adulta.

Trabalho semelhante foi realizado por Yano et al.²³, no qual foram estudados os fatores de risco para o DM2 e doenças cardiovasculares em japoneses residentes no Hawaii. Verificou-se que, após a incorporação do estilo de vida ocidentalizado, rapidamente adotado pela comunidade nipo-americana, houve um aumento nos fatores de risco para aterosclerose, como dislipidemia, obesidade e DM2, confirmando a influência dos fatores ambientais na etiologia dessas doenças.

Resultados de outro estudo²⁴ sobre a influência da ocidentalização no estilo de vida e o aparecimento de doenças da carótida interna, mostram que a taxa de mortalidade por doença

cardiovascular em nipo-americanos foi, aproximadamente, 50% menor, quando comparada aos caucasianos durante a década de 50. Porém, na década de 70, após um aumento gradual, atingiu, registrou-se valores muito similares aos encontrados entre a população caucasiana. Assim sendo, os autores concluíram que os nipo-americanos quando expostos a fatores de risco, apresentam doenças na carótida interna e, conseqüentemente, um desenvolvimento maior de doenças ateroscleróticas ao redor dos 20 anos de idade, ou seja, muito mais jovens quando comparados aos japoneses residentes no Japão.

Watanabe et al.²⁴ citam a que as diferenças nos hábitos alimentares existentes entre os nipo-americanos e os japoneses nativos, não são em relação à quantidade de energia consumida, mas sim devido à maior contribuição das gorduras no valor energético total ingerido.

Esses dados podem ser confirmados por outros estudos com nipo-brasileiros que revelaram um elevado consumo de óleos e gorduras pelos indivíduos da primeira geração, quando comparados aos de segunda geração²⁵. Quando este fato encontra-se associado a uma diminuição no grau de atividade física, ambos podem ser os principais responsáveis pelos altos valores de IMC e CC na segunda geração.

Por fim, apesar da impossibilidade de comparação direta com os resultados de trabalhos realizados com nipo-americanos^{12,23,24}, e com residentes no Japão^{9,11,24}, devido às diferenças de estrutura etária, as taxas de obesidade observadas neste grupo populacional (3,7% e 12,0% nos homens, e 6,6% e 9,9% nas mulheres, respectivamente na primeira e segunda geração), são diferentes das taxas observadas na população residente no Japão (2,0%-3,0%)^{8,11}, porém não se sabe ao certo o motivo destas diferenças. Contudo, cabe ressaltar que o Brasil vem apresentando um aumento nas taxas de sobrepeso e obesidade, especialmente nos homens. As últimas pesquisas de orçamento familiar, realizadas nas 3 últimas décadas, mostram uma projeção claramente epidêmica da obesidade, especialmente no sexo

masculino e na população de menor renda familiar²⁶. O desenho transversal do presente estudo não permite estabelecer relações de causa e efeito. Deve-se considerar a possibilidade da presença de viés nos resultados encontrados, devido à não participação de alguns indivíduos. Entretanto acredita-se que, caso os mesmos fossem incluídos, estes resultados não sofreriam grandes mudanças.

Os resultados deste estudo mostraram que os nipo-brasileiros apresentam elevadas prevalências de sobrepeso e obesidade abdominal, sendo necessárias estratégias efetivas que devem ser desenvolvidas e aplicadas para reverter este quadro, a fim de prevenir doenças crônicas futuras e impedir o agravamento das condições de saúde desta população.

REFERÊNCIAS

1. National Center for Health Statistics. Plan and operation of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Vital Statistics*. 1994; 32(1):1-105.
2. Flegal KM, Carroll RJ, Kuczmarski RJ, Johnson CL. Overweight and obesity in the United States: prevalence and trends, 1960-1994. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998; 22(1):39-47.
3. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva; 1997. WHO -Technical Report Series, 894.
4. Must A, Spadano J, Caokley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA*. 1999; 282(16):1523-9.
5. Shiwaku K, Annurad E, Enkhmaa B, Nogi A, Shimono K, Yamane Y, et al. Overweight Japanese with body mass indexes of 23.0-24.9 have higher risks for obesity-associated disorders: a comparison of Japanese and Mongolians. *Int J Obes*. 2004; 28(1):152-8.
6. Annurad, E, Shiwaku K, Nogi A, Kitajima K, Enkhmaa B, Shimono K, et al. The new BMI criteria for Asians by the Regional Office for the Western Pacific Region of WHO are suitable for screening fo overweight to prevent metabolic syndrome in elder japanese workers. *J Occup Health*. 2003; 45(6):335-43.
7. Popkin BM, Daok CM. The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. *Nutr Rev*. 1998; 56(6):106-14.
8. Health Promotion and Nutrition Research Association: The National Nutrition Survey in Japan, 2000. Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan. Tokyo: Daiichi Publishing Co; 2002 (in Japanese).
9. Yoskiike N, Kaneda F, Takimoto H. Epidemiology and obesity and public health strategies for its control in Japan. *Asia Pacific J Clin Nutr*. 2002; 11(Suppl):S727-31.
10. Souza RKT, Gotlieb SLD. Mortality among Japanese migrants living in state of Paraná, Brasil. *Rev Saúde Pública*. 1999; 33(3):262-72.
11. Yoshiike N, Seino F, Tajima S, Arai Y, Kawano M, Furuhashi T, et al. Twenty-year changes in the prevalence of overweight in Japanese adults: the National Nutrition Survey 1976-1995. *Obes Rev*. 2002; 3(3):183-90.
12. Fujimoto WY, Bergstrom RW, Boyko EJ, Kinyon JL, Leonetti DL, Newell-Morris LL, et al. Diabetes and diabetes risk factors in second and third generation Japanese-Americans in Seattle, Washington. *Diab Res Clin Pract*. 1994; 24(1):S43-52.
13. Hara H, Egusa G, Yamakido M, Kawate R. The high prevalence of diabetes mellitus and hyperinsulinemia among the Japanese-Americans living in Hawaii and Los Angeles. *Diab Res Clin Pract*. 1994; 24(1):S37-42.
14. Egusa G, Yamane K. Lifestyle, serum lipids and coronary artery disease: comparison of Japan with the United States 2004; 11(6):334-12.
15. Ferreira SRG, Franco LJ, Gimeno SGA, Iochida LC, lunes M. Is insulin or its precursor independently associated with hypertension? An Epidemiological Study Japanese-Brazilians. *Hypertension*. 1997; 30(3 Pt 2):641-5.
16. Gimeno SG, Ferreira SR, Franco LJ, Hirai AT, Matsumura L, Moises RS. Prevalence and 7-year incidence of type 2 diabetes mellitus in a Japanese-Brazilian population: an alarming public health problem. *Diabetologia*. 2002; 45(2):1635-8.
17. Ferreira SRG, lunes M, Franco LJ, Iochida LC, Hirai A, Vivolo MA, et al. Disturbances of glucose and lipid metabolism in first and second generation Japanese-Brazilians. *Diab Res Clin Pract*. 1996; 34(Suppl):S59-S63.
18. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva; 1995. WHO -Technical Report Series, 854.
19. Inoue S, Zimmet P, Caterson I, Chunming C, Ikeda Y, Khalid AK. WHO Western Pacific Region - The Asia - Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment. Melbourne: Health Communication Australia; 2000.

20. Stata statistical software: release 7.0. Lakeway Drive, (TX): College Station.
21. Franco LJ. Diabetes in Japanese-Brazilians: influence of the acculturation process. *Diab Res Clin Pract.* 1996; 34(Suppl):S51-7.
22. Lerario DDG, Gimeno SGA, Franco LJ, Iunes M, Ferreira SRG. Diabetes na comunidade nipo-brasileira. *Rev Saúde Pública.* 2002; 36(1): 4-11.
23. Yano K, MacLean CJ, Reed DM, Shimizu Y, Sasaki H, Kodama K, et al. A comparison of the 12-year mortality and predictive factors of coronary heart disease among Japanese men in Japan and Hawaii. *Am J Epidemiol.* 1988; 127(3):476-87.
24. Watanabe H, Yamane K, Egusa G, Kohno N. Influence of westernization of lifestyle on the progression of IMT in Japanese. *J Atheroscler Throm.* 2004; 11(6):330-4.
25. Freire RD, Cardoso MA, Shinzato AR, Ferreira SRG, Japanese Brazilian Diabetes Study Group. Nutritional status of Japanese-Brazilians subjects: comparison across gender and generation. *Br J Nutr.* 2003; 89(5):705-12.
26. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiar (POF) 2002/2003. Rio de Janeiro; 2004.

Recebido em: 5/12/2005
Versão final reapresentada em: 16/1/2008
Aprovado em: 18/3/2008

A qualidade das refeições de empresas cadastradas no Programa de Alimentação do Trabalhador na cidade de São Paulo¹

The quality of meals in companies participating in the worker's food program in the city of São Paulo, Brazil

Daniel Henrique BANDONI²
Patrícia Constante JAIME²

RESUMO

Objetivo

Avaliar a qualidade global das refeições oferecidas por Unidades de Alimentação e Nutrição de empresas beneficiárias do Programa de Alimentação do Trabalhador, na cidade de São Paulo.

Métodos

Estudo transversal realizado com 72 empresas cadastradas no programa. Foram coletadas informações de três dias consecutivos das refeições oferecidas no almoço, no jantar e na ceia. A qualidade das refeições oferecidas foi avaliada pelo Índice de Qualidade da Refeição, e sua análise foi feita de forma estratificada segundo o perfil da empresa obtido pela análise de cluster.

Resultados

A média do Índice de Qualidade da Refeição para as grandes refeições foi de 66,25. Foram obtidos dois grupos de empresas na análise de *cluster*. As empresas do primeiro, composto em sua maioria por empresas do setor de comércio de micro e pequeno porte, cadastradas na modalidade de autogestão e sem supervisão de nutricionista, obtiveram pior qualidade da refeição (Índice=56,23). As empresas do segundo *cluster*, constituído principalmente por empresas de médio e grande porte do setor industrial, com gestão terceirizada e supervisão de nutricionista, obtiveram pontuação média do Índice de 82,95.

Conclusão

As refeições oferecidas pelas empresas participantes do Programa de Alimentação do Trabalhador não estavam adequadas, segundo o Índice de Qualidade da Refeição. As empresas de menor porte e estrutura tiveram

¹ Artigo elaborado a partir da dissertação de D.H. BANDONI, intitulada "Índice de qualidade da refeição de empresas cadastradas no Programa de Alimentação do Trabalhador da cidade de São Paulo". Universidade de São Paulo; 2006; Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, processo nº 471136/03-4.

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. Av. Dr Arnaldo, 715, 01246-904, São Paulo, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: D.H. BANDONI. E-mail: <dbandoni@usp.br>.

refeições de pior qualidade quando comparadas com as demais, demonstrando que empresas deste perfil são prioritárias para intervenções dentro do Programa de Alimentação do Trabalhador.

Termos de indexação: Alimentação Coletiva. Local de trabalho. Programas e Políticas de Nutrição e Alimentação. Serviços de Alimentação.

ABSTRACT

Objective

The aim of this study was to assess the global quality of the meals offered in the Food and Nutrition Units of companies participating in the Worker's Food Program, in the city of São Paulo.

Methods

This was a cross-sectional study of 72 companies participating in the program. Information regarding three consecutive days of meals served during lunch, supper and late supper were collected. The quality of the meals was assessed by the Meals Quality Index and its analysis was done in a stratified manner according to the company profile obtained through cluster analysis.

Results

The Meals Quality Index mean for the meals was 66.25%. Two groups of companies were obtained through cluster analysis. The companies in the first group consisted mostly of stores and micro- and small-sized companies, registered in the category of self-management and without the supervision of a dietician. They presented the worst meal quality (Index = 56.23). The companies in the second cluster consisted mostly of medium- and big-sized companies that outsourced meal production and counted with the supervision of a dietician. Their mean score on the Index was 82.95.

Conclusion

The meals offered by the companies participating in the Worker's Food Program were not adequate according to the Meals Quality Index. The smaller companies in size and structure had worse meals when compared with the other companies, showing that companies with this profile should be the priority of interventions within the Worker's Food Program.

Indexing terms: *Collective feeding. Workplace. Nutrition programmes and policies. Food services.*

INTRODUÇÃO

O Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT) é uma das mais antigas e importantes políticas de alimentação e nutrição do Brasil. Com inquestionável relevância social, é considerado um herdeiro de políticas públicas nacionais anteriores voltadas à alimentação do trabalhador¹.

O PAT vem atraindo cada vez mais interesse para a promoção de estilos de vida saudáveis, pois, com o atual quadro epidemiológico, de avanço das doenças crônicas e da obesidade, o ambiente de trabalho vem sendo reconhecido como um local propício às modificações de comportamento precursor de doenças, não apenas associados à função ocupacional mas também à dieta, à atividade física e ao tabagismo².

A "Estratégia Global sobre Alimentação, Atividade Física e Saúde", da Organização Mundial da Saúde, considera as empresas que fornecem alimentação coletiva como protagonistas importantes na promoção de uma alimentação saudável. As iniciativas devem voltar-se à redução da quantidade de gorduras, açúcar e sal dos alimentos, elaborando opções inovadoras e saudáveis nos cardápios, além de promover o consumo de frutas, legumes e verduras³.

Contudo, estudos prévios vêm demonstrando inadequação das refeições oferecidas pelo programa, com excesso de proteínas e gorduras e baixas quantidades de fibras, frutas e hortaliças⁴⁻⁶. Estudos também têm encontrado uma alta prevalência de excesso de peso entre os traba-

lhadores beneficiados, demonstrando que o PAT pode ter um efeito negativo sobre o estado nutricional dos trabalhadores^{5,7}.

Entretanto, são poucos os estudos que avaliam a qualidade das refeições oferecidas nas empresas beneficiárias pelo PAT. Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade global das refeições oferecidas por Unidades de Alimentação e Nutrição de empresas beneficiárias do Programa de Alimentação do Trabalhador na cidade de São Paulo.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional transversal, com amostra aleatória de 93 empresas inscritas no PAT, localizadas na cidade de São Paulo. O tamanho da amostra corresponde a 12,9% das empresas cadastradas no ano de 2003, inscritas nas modalidades autogestão e gestão terceirizada (preparo e distribuição de refeição e refeição transportada).

O banco de dados das empresas inscritas no PAT na cidade de São Paulo, utilizado no sorteio da amostra, foi fornecido pela Coordenação Geral do programa do Ministério do Trabalho e Emprego. A coleta de dados foi realizada por entrevistadores devidamente treinados, utilizando questionários padronizados, e ocorreu entre outubro de 2003 e março de 2004. Ao final desta etapa houve um total de 21 perdas (22,0%), sendo 11 recusas e 10 empresas que não foram encontradas, sendo investigadas 72 empresas.

Avaliaram-se as grandes refeições (almoço, jantar e ceia) oferecidas aos trabalhadores durante três dias, utilizando-se os *per capita*s dos alimentos e preparações fornecidas pelas empresas aos trabalhadores.

As quantidades *per capita* foram estabelecidas por meio de consulta ao receituário padrão das Unidades de Alimentação e Nutrição, considerando todos os alimentos oferecidos, independentemente do tipo de serviço adotado pelas empresas. Apenas para as unidades que não

possuíam o receituário, calculou-se o *per capita* dividindo-se a quantidade de alimento utilizada, obtida a partir do registro da saída de estoque, pelo número total de refeições servidas no dia. As quantidades *per capita* também foram corrigidas com o indicador de partes não comestíveis determinadas no Estudo Nacional de Despesa Familiar (ENDEF), 1974-1975⁸.

Para o cálculo do valor nutricional das refeições foi utilizada, inicialmente, a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)⁹, e adicionalmente dados da tabela de composição do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), versões 16 e 17¹⁰.

Para avaliar a qualidade global das refeições oferecidas pelo PAT, utilizou-se o Índice de Qualidade da Refeição (IQR), que propõe a utilização de 5 variáveis, as quais recebem pontuação de 0 a 20, considerando simultaneamente a oferta de alimentos e nutrientes, permitindo uma avaliação indireta de componentes da refeição sem reduzir a avaliação a um único item. A distribuição entre os valores 0 e 20 é feita de forma proporcional, assim, conforme o componente está mais próximo do adequado, maior será a sua pontuação. Os componentes do índice são os seguintes:

1. Adequação na oferta de verduras, legumes e frutas: foram verificadas a adequação das quantidades em gramas por refeição, sendo que uma oferta de 160g ou mais recebeu pontuação 20 e a oferta igual ou inferior a 80g recebeu pontuação igual a 0;

2. Oferta de carboidratos: oferta percentual em relação à energia, considerando uma oferta ideal entre 55% e 75% do total de calorias; que equivalia à pontuação 20. A oferta inferior a 40% recebeu pontuação igual a 0. Não houve nenhuma refeição com oferta de carboidratos acima de 75%;

3. Oferta de gordura total: oferta percentual em relação à energia considerando uma oferta ideal entre 15% e 30% do total de calorias, que recebeu pontuação 20 e a oferta superior a

40%, que recebeu pontuação igual a 0, nenhuma empresa ofereceu menos que 15% de gorduras;

4. Oferta de gordura saturada: oferta percentual em relação à energia considerando o total de energia proveniente dos ácidos graxos saturados menor que 10%, que recebeu pontuação 20 e a oferta superior a 13%, que recebeu pontuação igual a 0;

5. Variabilidade da refeição: indicador considerou o número de alimentos (pontuação de 0 a 7) e o número de grupos de alimentos (pontuação de 0 a 3), somando os pontos obtidos nestes dois indicadores. Assim, a refeição que oferecia no mínimo 11 diferentes alimentos e 5 diferentes grupos de alimentos recebia 20, enquanto que a refeição que oferecesse menos de dois grupos e 4 alimentos recebia 0.

O IQR foi previamente desenvolvido a partir de uma análise de 10 indicadores, para obter a melhor composição do índice que avaliasse de forma global as refeições. Utilizou-se o teste do Alfa de Cronbach, teste utilizado para avaliar a consistência interna do indicador¹¹.

Calculou-se a média do IQR do almoço, do jantar e da ceia, para a definição do IQR das grandes refeições oferecidas no PAT, que constituem as principais refeições oferecidas pelas empresas beneficiárias do programa. Classificou-se o IQR de acordo com a proposta de Bowman et al.¹², que considera como adequada aquela refeição que obtiver pontuação maior que 80; refeição que precisa de melhoras com a pontuação entre 51 e 80 e refeição inadequada com pontuação menor ou igual a 50.

As empresas foram caracterizadas de acordo com o setor de atividade econômica, porte da empresa, modalidade de adesão ao PAT e supervisão de nutricionista. Para o setor de atividade econômica as empresas foram classificadas em industrial, serviços ou comércio, segundo seu registro no cadastro do PAT no Ministério do Trabalho e Emprego. Para o porte da empresa, essas foram classificadas em micro, pequeno, médio e grande porte, de acordo com o número

de funcionários adotando a classificação utilizada por Moura¹³, e a proposta do Serviço brasileiro de apoio às micro e pequenas empresas¹⁴ para micro e pequenas empresas.

Na modalidade de adesão ao PAT considerou-se: autogestão quando a empresa beneficiária assume toda a responsabilidade pela elaboração das refeições; gestão terceirizada do tipo refeição transportada, quando a refeição foi preparada em cozinha industrial e transportada até o local de trabalho; e a gestão terceirizada do tipo preparo e distribuição de refeição na empresa, quando a empresa contrata os serviços de uma terceira, que utiliza as suas instalações para o preparo e a distribuição das refeições. Para supervisão de nutricionista, classificou-se como sim ou não, de acordo com a atuação de um responsável técnico no local.

Foi realizada uma análise descritiva dos dados por meio de frequências e medidas de tendência central (médias, desvios-padrão (DP) e valores mínimos e máximos), para caracterização das refeições e das empresas.

Comparou-se a média do IQR entre o grupo das empresas utilizando-se o teste "t"-Student para amostras independentes. Realizou-se análise de *cluster* (agrupamento) hierárquico com as variáveis: setor de atividade econômica, porte da empresa, modalidade de adesão ao programa e supervisão de nutricionista. Optou-se pela análise de *cluster*, pois estas variáveis apresentaram elevada associação, possuindo características semelhantes, que comprometem a análise isolada de cada uma delas. A formação do *cluster* foi realizada a partir da análise do dendograma, que representa o agrupamento das empresas pelas características selecionadas, identificando dois diferentes grupos (*cluster* 1 e 2).

Foi utilizado o programa estatístico SPSS (versão 11.0; SPSS Inc, Chicago) para elaboração do banco de dados e sua análise, considerando um nível de significância de 5%.

Este estudo foi feito de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e

aprovado pelo comitê de ética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (Protocolo n.1145).

RESULTADOS

Foram avaliadas 72 empresas inscritas no PAT na cidade de São Paulo, que beneficiam mais de 20 mil trabalhadores com refeição. Na descrição das características das empresas (Tabela 1), observou-se que maioria pertence ao setor de comércio (41,7%), com serviço de alimentação de autogestão (61,1%). Na análise dos dois grupos, observa-se que o *cluster* 1 tem, na sua maioria, empresas de menor porte do setor de comércio, com autogestão e sem supervisão de nutricionista, o oposto do que ocorre no *cluster* 2.

A média do Índice para as grandes refeições foi de 66,25 pontos. Na análise dos componentes e do índice médio das grandes refeições (Tabela 2), segundo os *clusters*, observou-se que a pontuação média do *cluster* 2 foi 26,72 pontos maior que o *cluster* 1, diferença estatisticamente significativa. As principais diferenças entre os dois grupos foram nos componentes de frutas e hortaliças, gorduras saturadas e variedade da refeição.

Quando é realizada a classificação do IQR, observa-se que no *cluster* 1 a maioria das empresas teve a refeição classificada com precisa de melhoras, enquanto que no *cluster* 2 a maioria das empresas fornece refeições adequadas (Tabela 3), ressaltando, assim, a diferença na qualidade das refeições oferecidas entre os dois grupos.

Tabela 1. Características das empresas inscritas no Programa de Alimentação do Trabalhador e composição dos *clusters*. São Paulo (SP), 2004.

Características das empresas	Cluster 1		Cluster 2		Total	
	n	%	n	%	n	%
<i>Setor de Atividade</i>						
Industrial	2	9,5	19	90,5	21	29,2
Serviços	13	61,9	8	38,1	21	29,2
Comércio	30	100,0	0	0	30	41,7
<i>Porte da Empresa</i>						
Micro e pequena	33	94,3	2	5,7	35	48,6
Média e grande	12	32,4	25	67,6	37	51,4
<i>Modalidade de adesão</i>						
Autogestão	40	90,9	4	9,1	44	61,1
Gestão terceirizada	5	17,9	23	82,1	28	38,9
<i>Supervisão do nutricionista</i>						
Sim	18	40,9	26	59,1	44	61,1
Não	27	96,4	1	3,6	28	61,1
Total	45	62,5	27	37,5	72	100,0

Tabela 3. Classificação do Índice de Qualidade da Refeição (IQR) das empresas inscritas no Programa de Alimentação do Trabalhador, de acordo com os *clusters*. São Paulo (SP), 2004.

Classificação do IQR	Cluster 1		Cluster 2		Total	
	n	%	n	%	n	%
Refeição inadequada	12	26,7	3	11,1	15	20,8
Refeição que precisa de melhoras	30	66,7	8	29,6	38	52,7
Refeição adequada	3	6,7	16	59,6	19	26,5

Tabela 2. Pontuação média do índice de qualidade (IQR) da Refeição e dos seus componentes, das refeições oferecidas pelo Programa de Alimentação do Trabalhador, segundo *cluster*. São Paulo (SP), 2004.

Classificação do IQR	Cluster 1		Cluster 2		Total	
	M	DP	M	DP	M	DP
Indicador de frutas e hortaliças ¹	5,77	7,59	17,42	4,82	10,14	8,74
Indicador de carboidratos	12,69	7,17	14,75	6,76	13,46	7,04
Indicador de gorduras	13,58	7,71	15,71	6,63	14,26	7,33
Indicador de gorduras saturadas ¹	14,70	7,58	19,19	2,58	16,38	6,54
Indicador de variedade ¹	9,50	6,64	18,02	3,37	12,69	6,99
Índice de Qualidade da Refeição ¹	56,23	21,35	82,95	17,78	66,25	23,83

¹ Diferença significativa no teste "t" ($p < 0,001$); M: média; DP: desvio-padrão.

DISCUSSÃO

Este trabalho possibilitou avaliar a qualidade global das refeições oferecidas em empresas participantes do Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT), segundo suas principais características. Na análise de *cluster* obteve-se dois diferentes grupos, o primeiro caracterizado por empresas de menor porte do setor de serviços e comércio e com modalidade de autogestão. Já o segundo tem, em sua maioria, empresas de maior porte, do setor industrial, e com gestão terceirizada. Observou-se que, no primeiro *cluster*, a maioria das empresas não tem supervisão do nutricionista, demonstrando que empresas de menor porte têm dificuldade em contratar e manter um responsável técnico, que é exigência da legislação vigente do programa.

A média do índice para as grandes refeições foi classificada como refeição que precisa de melhoras, demonstrando que as refeições servidas no PAT não estão totalmente adequadas às recomendações mais recentes para alimentação saudável.

É interessante observar que a média do IQR ficou próxima ao achado de Fisberg¹⁵, que encontrou média de 60, 42 pontos no Índice de Qualidade da Dieta de indivíduos adultos residentes na região metropolitana de São Paulo. Demonstra-se, assim, que a qualidade das refeições do programa não difere muito da alimentação consumida na região da cidade de São Paulo, apesar de as comparações serem limitadas pelas diferenças nos instrumentos.

Estudos recentes demonstraram a inadequação das refeições oferecidas no programa. Entre os principais pontos se destacavam os excessos de gorduras totais e a baixa quantidade de fibras e carboidratos^{6,13,14,16}. Esses resultados reforçam a importância de aumentar a oferta de frutas e hortaliças em refeições oferecidas por empresas pertencentes ao programa, que levaria a um aumento na variedade do cardápio e nas fibras, podendo ajudar a reduzir a densidade energética das refeições.

Diferentemente desses estudos, no presente trabalho os indicadores de gorduras e gorduras saturadas obtiveram um bom desempenho. Assim, observa-se que nesta amostra as quantidades de gorduras, principalmente as saturadas, estavam mais próximas do recomendado. Este resultado pode ser explicado pela diferença metodológica na forma de coletar as quantidades oferecidas pelas refeições, que procurou determinar as quantidades de alimentos utilizadas para o preparo. Apesar de terem sido consideradas as quantidades que retornavam ao estoque ou que não eram utilizadas durante a elaboração das refeições, não se avaliou o que foi consumido exatamente pelo trabalhador, isso poderia levar à diminuição na ingestão de alguns alimentos e aumentar a participação das gorduras no total energético. Além disso, alguns estudos definiram como percentual máximo de gordura 25% da participação energética total, diferente do presente estudo que considerou 30%.

Com os resultados obtidos, fica reforçada a ideia de que o programa pode estar colaborando para o desequilíbrio nutricional da população beneficiada. Trabalho de Veloso & Santana⁷ encontrou associação entre o PAT na Bahia e o aumento de peso dos trabalhadores. Savio et al.⁵ encontraram alta prevalência de excesso de peso em trabalhadores beneficiados pelo programa, principalmente entre os homens.

Ao analisar a média do Índice para as grandes refeições, segundo as características das empresas, observa-se que o *cluster* 2 tem uma melhor qualidade da refeição. A diferença de pontuação entre as empresas predominantemente de menor porte, do setor de comércio e serviços, inscritas na modalidade de autogestão e sem supervisão de nutricionista, é de 26,72 pontos. As principais diferenças estão nos indicadores de frutas e hortaliças, gorduras saturadas e variedade, demonstrando que estas empresas oferecem cardápios com menor variedade, mais restritos e com maiores quantidades de gordura animal.

Alguns fatores podem contribuir para que as empresas de menor estrutura tenham uma

qualidade inferior da refeição, tais como: o menor número de funcionários beneficiados que leva à preparação de refeições mais simples, diminuindo a oferta de frutas e hortaliças; e a ausência de um nutricionista, responsável técnico, que possa elaborar cardápios adequados aos trabalhadores.

Este resultado demonstra que o perfil da empresa é um determinante da qualidade da refeição que será oferecida aos trabalhadores. Assim, quanto menor for a estrutura para fornecer alimentação, pior será a qualidade da refeição oferecida. Esta informação é importante para o aperfeiçoamento do programa, já que um dos pontos mais debatidos é o aumento da participação de micro e pequenas empresas no PAT¹⁷.

Uma das limitações do presente trabalho, foi ter avaliado apenas as empresas que ofereciam refeição no local de trabalho, o que excluiu modalidades representativas, como a refeição convênio.

Contudo, se a expansão do programa para estas empresas for feita sem a conscientização e orientação destas e de seus gestores, aparentemente, pode levar a uma oferta de refeições desequilibradas para os trabalhadores. Estudo realizado com os gestores do PAT, nesta mesma amostra, demonstrou que a maioria desconhecia os objetivos do programa de promoção de saúde por meio da alimentação¹⁸.

Certamente, o PAT tem grande importância nas políticas de alimentação e nutrição do Brasil, sendo o único voltado para a população trabalhadora. Em agosto de 2006, após 30 anos de criação do programa, foi publicada portaria que altera as exigências nutricionais do PAT, modificando as recomendações de energia e adicionando recomendações para macronutrientes, gorduras saturadas, fibras e sódio, que não eram contempladas anteriormente. Além disso, a portaria também acrescenta a obrigatoriedade da oferta de frutas, verduras e legumes nas refeições oferecidas pelas empresas e se ajusta às recomendações do guia alimentar para a população brasileira.

Os achados deste estudo apontam para a necessidade de orientar, prioritariamente, as empresas menores para que elas ajustem seus cardápios aos novos parâmetros nutricionais do programa, conheçam os objetivos do PAT e saibam como os alcançar, já que sua participação no programa é fundamental para sua ampliação e aumento da cobertura de trabalhadores, principalmente de baixa renda.

De tal modo, é fundamental a utilização de instrumentos adequados de avaliação das refeições oferecidas, para que o PAT se consolide como uma política de promoção de alimentação saudável e saúde, indispensável no Brasil.

COLABORADORES

D.H. BANDONI e P.C. JAIME participaram da coleta de dados, da tabulação, da discussão dos resultados e da elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Schmitz BAS, Heyde MEDVD, Cintra IP, Franceschini SCC, Taddei JAAC, Sigulem DM. Políticas e programas governamentais de alimentação e nutrição no Brasil e sua involução. *Cad Nutr.* 1997; 13(1):39-54.
2. Chu C, Breucker G, Harris N, Stitzel A, Xinga G, Gu X, et al. Health promoting workplaces - interational settings development. *Health Promot Int.* 2000; 15(2):155-67.
3. World Health Organization. Global Strategy on diet, physical activity and health. *Food Nutr Bull.* 2004; 25(3):292-302.
4. Jaime PC, Bandoni DH, Geraldo APG, Rocha RV. Adequação das refeições oferecidas por empresas cadastradas no programa de alimentação do trabalhador na cidade de São Paulo. *Mundo da Saúde.* 2005; 29(2):186-91.
5. Savio KEO, Costa THM, Miazaki E, Schmitz BAS. Avaliação do almoço servido a participantes do programa de alimentação do trabalhador. *Rev Saúde Pública.* 2005; 39(2):145-55.
6. Freire RBM, Salgado RS. Avaliação de cardápios oferecidos a trabalhadores horistas. *Mundo Saúde.* 1995; 22(5):298-301.
7. Veloso IS, Santana VS. Impacto nutricional do programa de alimentação do trabalhador no Brasil. *Rev Panam Salud Publica.* 2002; 11(1):24-31.

8. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estudo Nacional de Despesas Familiares - ENDEF, 1974-1975. Rio de Janeiro; 1978.
9. Universidade de Campinas. Tabela de composição de alimentos. [acesso 2005 jul 10]. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>.
10. United States Department of Agriculture. Nutrient Data Laboratory. [cited 2005 Jul 25]. Available from: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/>>.
11. Bandoni, DH. Índice de qualidade da refeição de empresas cadastradas no programa de alimentação do trabalhador da cidade de São Paulo [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.
12. Bowman AS, Lino M, Gerrior AS, Basiotis PP. The healthy eating index: 1994-1996. Washington (DC): Department of Agriculture, Center for Nutrition Policy and Promotion; 1998.
13. Moura JB. Avaliação do programa de alimentação do trabalhador no estado de Pernambuco, Brasil. Rev Saúde Pública. 1986; 20(2):115-28.
14. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Legislação Básica da micro e pequena empresa. [acesso 2004 jul 10]. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/br/aprendasebrae/estudosepesquisas.asp>>.
15. Fisberg RM, Slater B, Barros RR, Lima FD, César CLG, Carandina L, et al. Índice de qualidade da dieta: avaliação da adaptação e aplicabilidade. Rev Nutr. 2004; 17(3):301-8.
16. Gambardella AMD. O programa de alimentação do trabalhador frente às recomendações nutricionais para esse segmento específico da população: área metropolitana de São Paulo [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1990.
17. Colares LGT. Evolução e perspectivas do programa de alimentação do trabalhador no contexto político brasileiro. Nutrire. 2005; 29(1):141-58.
18. Bandoni DH, Brasil BG, JAIME PC. Programa de alimentação do trabalhador: representações sociais de gestores locais. Rev Saúde Pública. 2006; 40(5): 837-42.

Recebido em: 11/5/2007

Versão final reapresentada em: 27/2/2008

Aprovado em: 27/2/2008

Rotulagem de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância

Labeling food products for breastfeeding infants and toddlers

Sheylle Almeida da SILVA¹

Márcia Regina de Moura DIAS²

Tânia Aparecida Pinto de Castro FERREIRA¹

RESUMO

Objetivo

Analisar a conformidade de rótulos de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância, segundo os preceitos da ética e das legislações vigentes.

Métodos

Foram analisados 86 rótulos captados por livre acesso, amostragem intencional, distribuídos em: fórmulas infantis para lactentes (n=11), fórmulas de seguimento para lactentes (n=5); alimentos de transição (n=7); alimentos à base de cereais (n=11), leites e alimentos à base de vegetais (n=52) e alimentos comuns usualmente empregados na alimentação desse público (n=13). Foram preenchidos formulários estruturados com itens das Resoluções da Diretoria Colegiada 222/02, 977/98, 40/01, 40/02, 259/02, 23/00 e das Portarias 34/98 e 36/98 para cada alimento. Aplicaram-se os Testes Qui-Quadrado, Exato de Fisher e de Correlação.

Resultados

A freqüência de não conformidades na rotulagem específica foi muito maior que na rotulagem geral. A maior freqüência de não conformidades observada foi a apresentação de ilustrações inadequadas nos alimentos (imagens de lactentes ou crianças com figuras humanizadas). Outras inconformidades foram: a presença de expressões como leite humanizado, *baby* ou frases que dão falsa idéia de vantagem ou segurança; e a ausência de frases obrigatórias e não conformidade quanto à composição do produto. Alimentos que não tinham como designação de venda nenhuma das características de uso comum nesta faixa etária, ou seja, não eram comercializados como tal, como farinha láctea, flocos de cereais e mingaus, apresentavam frases de advertência não necessárias para aquele tipo de produto.

Conclusão

A rotulagem de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância apresenta muitas irregularidades, principalmente no que se refere à rotulagem específica do produto. Essa prática pode repercutir sobre a

¹ Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Nutrição. R. 227, Qd. 68, s/n., Prédio FANUT/FEN, Setor Leste Universitário, 74605-080, Goiânia, GO, Brazil. Correspondencia para/Correspondence to: T.A.P.C. FERREIRA. E-mail: <tania@fanut.ufg.br>.

² Secretaria de Vigilância Sanitária e Ambiental do Estado de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

amamentação. A fiscalização deve ser intensificada, conjuntamente com maiores esclarecimentos às indústrias de alimentos e aos consumidores em geral.

Termos de indexação: Aleitamento materno. Fórmulas infantis. Promoção de alimentos. Rotulagem de alimentos. Substitutos do leite humano.

ABSTRACT

Objective

The objective of the study was to analyze label conformity of foods for infants and lactating women according to ethical principles and current regulations.

Methods

A total of 86 labels acquired by free access and intentional sampling were analyzed, distributed as follows: infant formulas (n=11), follow-on formulas (n=5), complementary foods (n=07), cereal products (n=11), milk and foods containing vegetables (n=52), and food commonly used to feed this population (n=13). Structured forms were filled out with items from the Resoluções da Diretoria Colegiada (Graduated Board Resolutions) 222/02, 977/98, 40/01, 40/02, 259/02, 23/00 and of the Portarias (rules) 34/98 and 36/98 for each food. The chi-square test, Fisher's exact test and correlation test were used for data analysis.

Results

The rate of specific label non-conformity was much greater than that of general labeling. The highest rate of non-conformity was observed in the presentation of illustrations of the foods (images of breastfeeding infants or children with humanized images). Other non-conformities were: the presence of words such as humanized milk, baby or phrases that give a false idea of advantage or safety; the absence of mandatory phrases and non-conformity regarding the composition of the food. Foods that did not have as sales designation any of the characteristics of common use in this age group, that is, that were not marketed as such, such as lacteal flour, cereal flakes and paps presented warning phrases that were not necessarily for that kind of product.

Conclusion

Labels of foods for breastfeeding infants and toddlers are irregular in many ways, especially regarding the specific labeling of the product. This practice may influence breastfeeding. More inspection is needed as well as more explanations to the food industries and to the consumers in general.

Indexing terms: Breast feeding. Infant formula. Food promotion. Food labeling. Breast-milk substitutes.

INTRODUÇÃO

Até o final da era pré-industrial, a alimentação do lactente era realizada exclusivamente com leite materno e, na impossibilidade de a criança ser amamentada pela própria mãe, isso, geralmente, era feito pela ama ou avó¹.

O primeiro registro encontrado da substituição do leite humano na alimentação infantil é de 1784, quando um médico inglês indicou como alternativa alimentar o leite de vaca².

Com a industrialização e com a incorporação da mão-de-obra feminina no mercado de trabalho, a indústria de alimentos desenvolveu vários produtos para lactentes e crianças de

primeira infância^{1,2}. Estes foram, até então, vendidos pela estratégia da imagem construída de um produto perfeito, conveniente e permissivo da participação do pai na alimentação da criança³. Alegações como: o leite materno é fraco ou não fornece todos os nutrientes necessários ao ótimo crescimento e desenvolvimento do bebê; ou que o substituto do leite materno ofereceria maior praticidade à mãe, foram utilizadas².

Essa situação contribuiu para diminuir as taxas de aleitamento materno exclusivo em todo o mundo¹ e para o aumento dos índices de morbimortalidade infantil nos países pobres e de morbidade nos países ricos¹. Estudo mostra aumento progressivo da prevalência de doenças digestivas,

respiratórias e de alergias, entre outras, nas crianças que se alimentaram exclusivamente com fórmulas industrializadas¹.

Nas décadas de 70 e 80 iniciou-se um processo de conscientização a respeito do uso de Sucedâneos do Leite Materno (SLM) sobre o desmame precoce, e particularmente, sobre sua promoção comercial de maneira não ética. A partir de 1981, a Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a recomendar, junto com o *United Nations Children's Fund* (UNICEF), o Código Internacional de Comercialização de Substitutos do Leite Materno⁴. Em maio de 2001, foi aprovada a Estratégia Global para a Alimentação Infantil⁵, que recomenda a promoção do aleitamento materno exclusivo para, praticamente, todos os lactentes até seis meses de vida e a introdução, a partir dessa idade, de alimentos complementares nutricionalmente adequados, inócuos e culturalmente apropriados, acompanhada de amamentação continuada por, pelo menos, dois anos.

No Brasil foram aprovadas regulamentações com os objetivos de promover a adequada nutrição dos lactentes e evitar os riscos associados à não amamentação, muitas vezes fomentada pela promoção comercial de SLM. Em 1992, foi aprovada a Norma Brasileira para Comercialização de Alimentos para Lactentes (NBCAL)⁶, que regulamenta a comercialização desses alimentos. Em 2002, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou a resolução da diretoria colegiada (RDC) nº 222⁷, que normatiza a promoção, comercialização e rotulagem dos alimentos para lactentes e crianças de primeira infância.

Legislações que visam à proteção e ao incentivo à amamentação representam avanço significativo para a saúde deste público. Contudo, sabe-se que o contingente de fiscais da Vigilância Sanitária é pequeno⁸ para a realização da fiscalização de todos esses produtos.

Este trabalho tem como objetivo analisar a rotulagem de produtos alimentícios comercializados para lactentes e crianças de primeira infância, com vistas a contribuir para a promoção de práticas saudáveis relacionadas à alimentação de lactentes e crianças de primeira infância.

MÉTODOS

Foram analisados 86 rótulos de alimentos designados como "alimento para lactentes e crianças de primeira infância", classificados nas seguintes categorias: (I) Fórmulas infantis para lactentes (item 1.2.1 da Resolução a Diretoria Colegiada (RDC) nº 222/02⁷; Portaria nº 977/98⁹); (II) Fórmulas infantis de seguimento para lactentes (item 1.2.1 da Resolução RDC nº 222/02⁷; Portaria nº 977/98⁹); (III) Leites de vaca (fluido, em pó ou em pó modificado), leites de cabra (em pó ou fluido) e alimentos à base de soja (em pó ou fluido) (item 1.2.4 da Resolução RDC nº 222/02⁷); (IV) Alimentos de transição indicados para lactentes e/ou crianças de primeira infância (sopinhas e papinhas) (item 1.2.4 da Resolução RDC nº 222/02⁷; Portaria nº 34/98¹⁰); (V) Alimentos à base de cereais indicados para lactentes e/ou crianças de primeira infância (item 1.2.4 da Resolução nº 222/02⁷; Portaria nº 36/98¹¹); (VI) Alimentos comuns, sem, inclusive, necessidade de registro, mas freqüentemente utilizados na alimentação de lactentes ou crianças de primeira infância.

A análise da rotulagem geral de todas as categorias acima contemplou os itens: presença da designação do produto no painel principal (itens 9.1 da Portaria nº 977/98⁹); identificação das fontes protéicas no rótulo (item 9.1.3 da Port. nº 977/98⁹); presença de rotulagem nutricional de acordo com a Resolução RDC nº 40/01¹²; apresentação das informações em português (Resolução RDC nº 259/02¹³); presença de lista de ingredientes, apresentação de conteúdo líquido, identificação da origem, identificação do lote e do prazo de validade (item 5 da Resolução RDC nº 259/02¹³); presença do registro no Ministério da Saúde (Resolução RDC nº 23/00¹⁴); apresentação da expressão "Contém Glúten", se houver na composição cevada, centeio, aveia, trigo e/ou malte (Resolução RDC nº 40/02¹⁵)

Quanto à rotulagem específica, exceto para a categoria VI, foram contemplados os seguintes aspectos:

- Presença de ilustrações não conformes (itens 4.3.1, 4.10.1 e 4.12.1 da Res. RDC nº 222/02⁶);

- Frases que sugerissem forte semelhança do produto com o leite humano (apenas para as categorias I, II e III dos itens 4.3.2, 4.10.2 da Res. RDC nº 222/02⁶);

- Frases que colocassem em dúvida a capacidade das mães amamentarem (itens 4.3.3, 4.10.3 e 4.12.2 da Resolução RDC nº 222/02⁶);

- Denominações que identificassem o produto como apropriado para lactente menor de seis meses de idade (itens 4.3.4, 4.10.4 e 4.12.3 da Resolução RDC nº 222/02⁶);

- Informações caracterizadas como falso conceito de vantagem ou segurança (itens 4.3.5, 4.10.5 e 4.12.4 da Resolução RDC nº 222/02⁶);

- Presença de promoção de outros produtos no rótulo (itens 4.3.7, 4.10.6 e 4.12.5 da Resolução RDC nº 222/02⁶);

- Expressões que indicassem condições de saúde para as quais o produto pudesse ser usado (item 4.3.6 da Resolução RDC nº 222/02⁶);

- Presença das frases de advertência obrigatórias (itens 4.4, 4.11.1, 4.11.2 e 4.14 da Resolução RDC nº 222/02⁶);

- Apresentação visual correta das frases de advertência obrigatórias (itens 4.11 da Resolução e 4.14 da Resolução RDC nº 222/02⁶);

- Frases de advertência obrigatórias relativas à composição dos produtos abaixo (itens 9.2, 4.1.1 e 4.12. da Portaria 34/98¹⁰, itens 4.1.7 e 9.6 da Portaria 36/98¹¹, Res. RDC nº 40/02¹⁵):

- Produtos elaborados com cevada, centeio, aveia, trigo e/ou malte devem apresentar a expressão "Contém Glúten".

- Fórmulas infantis para lactentes e fórmulas infantis de seguimento para lactentes em produto sem leite ou derivado lácteo, devem identificar fontes proteicas e apresentar a frase "Não contém leite e/ou produtos lácteos" ou frase equivalente.

- Alimentos de transição, elaborados com espinafre ou beterraba devem exibir a expressão "Contém espinafre e/ou beterraba. Não pode ser consumido por menores de 3 meses de idade".

- Alimentos de transição, elaborados à base de frutas, não podem ter adição de sal.

- Alimentos de transição e alimentos à base de cereais, elaborados com gema de ovo devem apresentar indicação para crianças acima de 10 meses de idade;

- Alimentos de transição e alimentos à base de cereais, elaborados com cacau, devem apresentar indicação de que o consumo só é apropriado para crianças acima de 9 meses de idade;

- Presença de advertências quanto ao preparo inadequado e instruções para o preparo adequado (item 4.5 da Resolução RDC nº 222/02⁶ e item 9.3 da Portaria nº 36/98¹¹).

Para a análise da categoria VI, adaptou-se o formulário para alimentos à base de cereais. Foram analisadas a presença de ilustrações e fotos proibidas; frases ou expressões que colocassem em dúvida a capacidade das mães amamentarem seus filhos; denominações que identificassem o produto como apropriado para lactente menor de 6 meses de idade, tais como *baby* ou similares; informações que induzissem o uso do produto, baseadas em falso conceito de vantagem ou segurança e promoção de produtos da mesma empresa ou de outras empresas, correspondendo, respectivamente, aos itens 4.12.1, 4.12.2, 4.12.3, 4.12.4 e 4.12.5 da Resolução RDC nº 222/02⁶.

O critério adotado para a amostragem foi o livre acesso, com amostragem intencional, ou seja, foram coletados todos os produtos que tinham a designação de venda ou registro direcionados ao público alvo comercializados em Goiânia (GO), aos quais os pesquisadores tiveram acesso. Os rótulos analisados foram coletados a partir de trabalhos acadêmicos ou em parceria com a Superintendência de Vigilância Sanitária e Ambiental do Estado de Goiás/Brasil.

Foram utilizados formulários estruturados pelo Ministério da Saúde em 2002, e apresentados no Manual do Curso da Norma Brasileira de Comercialização de Alimentos para Lactentes e Crianças de Primeira Infância, Bicos Chupetas e Mameiras¹⁶.

Para comparar a frequência esperada de rótulos conformes e não conformes na rotulagem específica com os da rotulagem geral, foram aplicados os testes estatísticos Exato de Fisher, Qui-Quadrado e de Correlação. Os rótulos classificados como não conformes foram aqueles que estavam em desacordo com, no mínimo, um item analisado.

Aplicou-se o Teste Exato de Fisher para as categorias que atendiam às condições de teste ($20 < n < 40$ e frequência esperada menor que 5): fórmulas infantis para lactentes, leites e alimentos à base de cereais. Para as outras categorias, quando a frequência esperada foi maior que 5, aplicou-se o Teste Qui-Quadrado. Ambos os testes consideraram significativo valor de p menor ou igual a 0,05.

O Teste de Correlação foi aplicado para analisar o grau de associação entre o número de produtos comercializados por três empresas que mais comercializam esses tipos de produto, e portanto, tiveram mais rótulos analisados, e o número de não conformidades observadas. Excluíram-se os alimentos de transição, por serem

estes alimentos comercializados apenas por uma empresa.

RESULTADOS

Quanto às exigências da rotulagem geral, observaram-se apenas dois produtos não conformes: um produto à base de cereais não apresentou o registro do Ministério da Saúde e um leite não exibiu o número do lote.

Em relação à legislação específica para rotulagem de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância, observaram-se diversas não conformidades. A Figura 1 apresenta o número de rótulos não conformes nos diferentes itens analisados para as diversas categorias.

Os itens 4.3.1, 4.10.1 e 4.12.1 da Resolução RDC nº 222/02⁶ proíbem o uso de ilustrações, fotos ou outras representações gráficas de lactentes, crianças pequenas ou figuras humanizadas. As ilustrações não conformes observadas nos rótulos analisados foram: ninho de pássaros com filhotes nas fórmulas infantis para lactentes

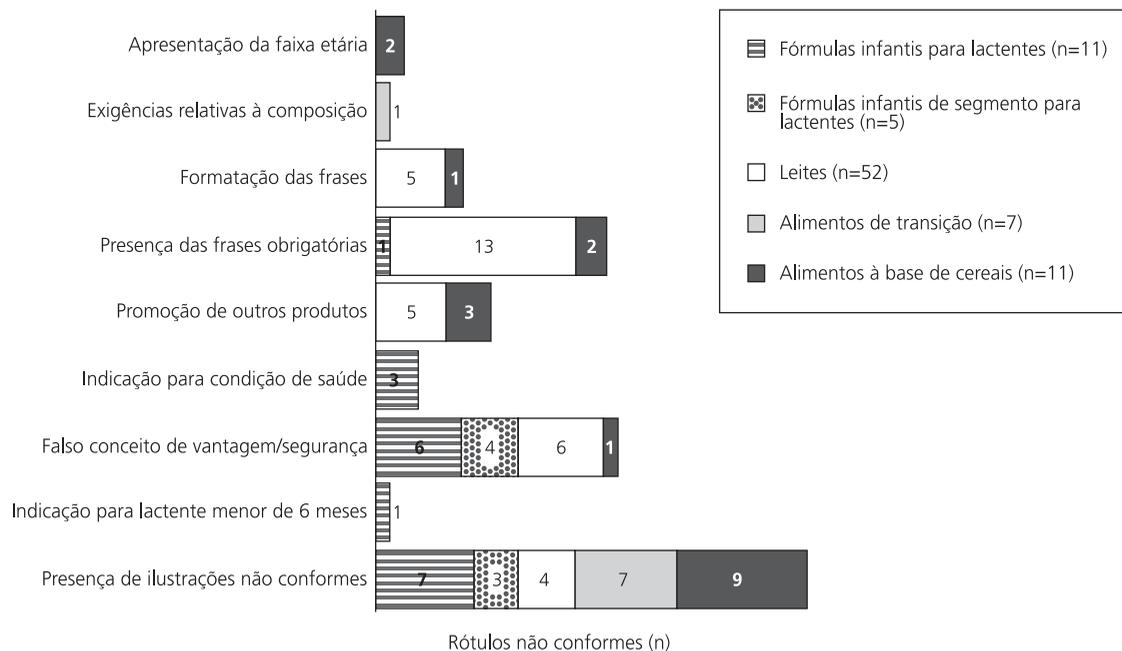


Figura 1. Número de rótulos não conformes em diferentes itens analisados da rotulagem específica de alimentos infantis, por categoria. Goiás, 2004 a 2005.

e nas fórmulas infantis de seguimento para lactentes (figura independente da marca); ilustrações de crianças de primeira infância, foto de criança aparentando, aproximadamente, 3 anos e personagem infantil nos leites; figura humanizada de ursinho engatinhando ou andando nos rótulos dos alimentos de transição; ilustrações de ursinhos e girafinhas humanizadas nos rótulos de alimentos à base de cereais. As figuras encontradas não podem ser apresentadas por conduzirem à identificação de marcas e empresas, segundo capítulo XII, artigo 22, inciso II, do Código de Ética dos Nutricionistas¹⁷.

Uma fórmula infantil apresentou a expressão "... é uma fórmula de início para lactentes".

Em relação à exibição de expressões que podem induzir ao uso do produto baseado em falso conceito de vantagem ou segurança, observaram-se as seguintes expressões não conformes:

- Fórmulas infantis para lactentes (item 4.3.1 da Resolução RDC nº 222/02): "Contém nutrientes em quantidades adequadas para o crescimento e desenvolvimento do bebê"; "Contém todas vitaminas e minerais para o desenvolvimento normal do bebê". Outro produto apresentava a expressão "anti-regurgitação".

- Fórmulas infantis de seguimento para lactentes (item 4.3.1 da Resolução RDC nº 222/02): "Contém todos os ácidos graxos essenciais para o desenvolvimento normal do lactente"; "Contém nutrientes em quantidades adequadas para o crescimento e desenvolvimento do bebê". Dois produtos apresentaram a expressão "Representa a parte líquida da dieta durante a alimentação de transição".

- Leites (item 4.10.5 da Resolução RDC nº 222/02): nesta categoria, observaram-se conceitos de vantagem ou segurança dos tipos falso ou sem comprovação científica. No primeiro caso, com as expressões: "Assegura o crescimento e desenvolvimento saudáveis"; "Crescimento" e "Contém fibras. Melhora a absorção de cálcio, reduzindo

riscos de osteoporose". No segundo caso, com as seguintes expressões: "A proteína de soja associada às isoflavonas atua como antioxidante do LDL", "Isoflavonas atuam como antioxidantes" e "Vitamina C aumenta a resistência do corpo às infecções".

- Alimentos à base de cereais (item 4.12.4 da Resolução RDC nº 222/02): "Sua fórmula exclusiva possui os ingredientes ideais para o seu filho crescer forte e saudável". "O mingau que ajuda seu filho a crescer".

Quanto à exibição das frases obrigatórias (itens 4.4, 4.11.1, 4.11.2 e 4.14 da Resolução RDC nº 222/02⁶), observou-se maior número de não conformidades na categoria leites.

Em relação à forma de exibição das frases (itens 4.14 e 4.11 da Resolução RDC nº 222/02), foram apresentações não conformes: sem moldura e tamanho diferente da designação de venda; tamanho diferente da designação de venda e sem moldura.

Notou-se que, no caso específico dos leites, muitos apresentavam designação de venda no painel principal, local exigido pela legislação, com letras grandes e a repetiam fora do painel principal com letra pequena do mesmo tamanho das advertências.

Quanto às exigências relativas à composição do produto, um alimento de transição que continha gema de ovo, deveria apresentar a indicação de uso para crianças acima de 10 meses (item 4.1.1 da Portaria nº 34/98). No entanto, a indicação apresentada no rótulo era para lactentes acima do sexto mês.

O Teste Qui-Quadrado mostrou que a frequência de não conformidades/conformidades, na rotulagem específica, se distribui igualmente em relação à rotulagem geral, sem significância estatística. Portanto, aceita-se a hipótese de distribuição homogênea de não conformidades/conformidades entre os dois tipos de rotulagem analisados (Tabela 1). Pelo Teste Exato de Fisher, observou-se que a probabilidade de o número de não conformidades se distribuir igualmente em relação

à rotulagem geral e à específica, em cada categoria, é significativa em quase todas as categorias estudadas, com exceção da subcategoria leites em pó e leites em pó modificados. Esta subcategoria é a única que apresenta freqüências de conformidade iguais em relação à rotulagem específica e à rotulagem geral (Tabela 1).

Observou-se ainda que existe uma correlação significativa ($r=0,99$), ou seja, um alto grau de associação entre o número de produtos comercializados pelas três empresas com maior número de rótulos analisados de todas as categorias, e o número de não conformidades.

Alimentos registrados na categoria Alimentos comuns, mas freqüentemente utilizados na alimentação de lactentes ou crianças de primeira infância

Foram analisados seis mingaus, seis farinhas lácteas e um produto de flocos de cereais. Dos produtos estudados, seis apresentavam figuras e ilustrações de ursinhos, bichinhos e de criança aparentando ter entre 3 a 4 anos. Foram obser-

vadas frases que demonstram falso conceito de vantagem ou segurança em quatro produtos: "Vitamina C aumenta a resistência do corpo" e "O mingau para que seu filho cresça e se desenvolva com saúde". Além disso, três produtos traziam no rótulo a promoção de outros alimentos da mesma marca e empresa, o que constitui não conformidade em relação à legislação.

DISCUSSÃO

A segunda metade dos anos 90 marcou o processo da conscientização da comunidade científica sobre o seu papel na sociedade fomentando o entendimento e a fiscalização da rotulagem de alimentos adequada, tendo como reflexo a publicação de vários artigos¹⁸⁻²².

Esse movimento pode ter influenciado a existência de poucas irregularidades na rotulagem geral dos produtos estudados. Essa freqüência já foi maior na designação de venda de cereais infantis¹⁸, nos enganos na apresentação das informações nutricionais em queijo *petit suisse*¹⁹, em alimentos para dietas com restrição de carboidratos e para dietas de ingestão controlada de açúcares²¹ e em alimentos para praticantes de atividade física²².

Yoshizawa et al.¹⁸ observaram, em 57% dos alimentos infantis à base de cereais, a ausência da designação de venda. Contudo, no presente trabalho, observou-se que todos os alimentos (100%), registrados para lactentes e/ou crianças de primeira infância, apresentaram a designação de venda correta. Estes resultados indicam mudanças positivas, por parte das indústrias, na rotulagem geral desses produtos, provavelmente devido à maior conscientização das mesmas, e pela fiscalização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e das secretarias estaduais e municipais.

Neste mesmo estudo¹⁸, 28,57% dos alimentos à base de cereais que continham cacau não apresentavam a advertência de que não devem ser utilizados na alimentação de lactentes

Tabela 1. Comparação de freqüência de distribuição de não conformidades dos rótulos de alimentação infantil entre rotulagem específica e rotulagem geral, segundo teste aplicado por cada categoria de produtos. Goiás, 2004 a 2005.

Categoria de alimentos	Teste exato de Fisher Valores de p
Fórmulas infantis de seguimento para lactentes	0,00400*
Alimentos de transição	0,00029*
Leites de diversas espécies animais	0,03030*
Produtos de origem vegetal com finalidade de leite	0,00233*
Leites em pó e leites em pó modificados	0,27972
Leites de vaca fluidos	0,00635*
Categoria de alimentos	Teste Qui-Quadrado Valores de χ^2
Fórmulas infantis para lactentes	18,33
Leites	21,67
Alimentos à base de cereais	121,00

* Valor significante a 5% de probabilidade.

nos primeiros nove meses de vida. No presente estudo, este item apresentou-se conforme.

O uso de linguagem inadequada em declarações de rotulagem já foi observado pela Comissão Técnica de Avaliação de Alimentos Funcionais do Ministério da Saúde, na avaliação de alegação de propriedade funcional para prebióticos, não aprovando a alegação declarada pela linguagem utilizada²². Posteriormente, o *International Baby Food Action Network* (IBFAN) identificou esse problema de linguagem como sendo “falso conceito de vantagem e segurança”²³, expressão utilizada no presente trabalho.

As expressões desse tipo observadas em fórmulas infantis para lactentes, fórmulas infantis de seguimento para lactentes e alimentos à base de cereais, deixam implícito que os referidos produtos são totalmente adequados, completos e que o seu consumo auxilia no crescimento e no desenvolvimento da criança. Deve-se considerar que crescimento e desenvolvimento dependem de muitos outros fatores e não só do consumo de determinado produto.

A expressão “anti-regurgitação”, utilizada em outro produto não é correta, pois o leite, sozinho, não resolve o problema de refluxo gástrico. Esta expressão também indica uma condição de saúde, considerada outra não conformidade.

A expressão “Representa a parte líquida da dieta durante a alimentação de transição”, apresentada por dois produtos, é inadequada, já que, quando são introduzidos alimentos complementares, a parte líquida é representada não só por leites e produtos lácteos, mas também por sucos e água.

A expressão encontrada em uma fórmula infantil “... é uma fórmula de início para lactentes”, pode indicar o produto como apropriado para lactente menor de seis meses, estando em desacordo com o item 4.3.5 da Resolução RDC nº 222/02⁶, pois se utiliza de informações que possam induzir o uso dos produtos, baseadas em falso conceito de vantagem ou segurança;

As advertências exigidas na rotulagem dos produtos analisados, necessárias e importantes para a promoção do aleitamento materno, acabam perdendo o destaque nos rótulos dos leites pela disposição e tamanho das letras das frases contidas nesses produtos. Isso porque, segundo o item 4.11 da Resolução RDC nº 222/02⁶, as frases de advertências devem vir nos rótulos, no painel principal ou nos demais painéis, em moldura, de forma legível, de fácil visualização, em cores contrastantes, em caracteres idênticos e em mesmo tamanho de letra da designação de venda do produto.

A exigência legal da indicação de uso para crianças acima de 9 meses, em alimentos de transição que contêm ovo, é relevante pela presença, na gema, da proteína fosfitina, que tem a capacidade de se unir ao ferro, diminuindo a sua absorção²⁴ e pela probabilidade de, em caso de mal cozimento, favorecer o crescimento da bactéria *Salmonella*²⁵.

O teste de correlação sugere que o número de não conformidades está associado ao número de produtos comercializados pelas grandes marcas deste segmento, ou seja, nas indústrias analisadas, os erros de rotulagem acontecem em todos os produtos da mesma linha.

Apesar de os alimentos comuns analisados serem registrados como tal, percebeu-se que esses produtos direcionam sua rotulagem a lactentes e crianças de primeira infância. No entanto, não se pode afirmar se isso decorre de confusão da própria indústria, não os registrando para o referido público, mas imprimindo, em sua rotulagem, frases de advertência obrigatórias para os produtos registrados; ou se esta é uma prática para escapar das restrições da legislação relacionadas a este seguimento. O risco para a população está na oferta desses produtos para crianças e lactentes de primeira infância, pois possuem as mesmas frases de advertência de outros produtos mais apropriados a este público.

Neste trabalho, no que tange às informações gerais obrigatórias nos rótulos, o direito à informação correta pela população se encontra

salvaguardado. Entretanto, questões de rotulagem específica ainda se encontram inadequadas, principalmente pelo grande número de produtos que exibem nos seus rótulos ilustrações proibidas e alegações sem embasamento científico e com falso conceito de vantagem ou segurança.

Isso mostra que, embora as regulamentações sobre rotulagem específica para alimentos para lactentes e crianças de primeira infância já existam há alguns anos, a indústria ainda não consegue se comunicar com o consumidor sem ruídos, dificultando, dessa forma, a promoção e a manutenção do aleitamento materno.

Mais estudos são necessários para avaliar o impacto efetivo no consumidor das estratégias de rotulagem de produtos com ou sem designação de venda direcionada a esse público e o impacto na recomendação desses alimentos pelos profissionais de saúde. É preciso também que se conheça a frequência de consumo pelos lactentes e crianças de primeira infância de mingaus, farinhas lácteas e flocos de cereais registrados como alimentos comuns, mas cuja rotulagem é direcionada a esse público. Além disso, verificar se os cuidadores reconhecem tais alimentos como indicados/adequados à alimentação de lactentes ou crianças de primeira infância.

Com este trabalho, observou-se que as não conformidades na rotulagem específica não ocorrem de forma explícita, como antes. Hoje, estas se dão principalmente pelas ilustrações e linguagens utilizadas que trazem nas entrelinhas a idéia de que o produto é “ideal”, “totalmente adequado”, “leva ao ótimo crescimento”; ou que é indicado para lactentes e crianças de primeira infância.

CONCLUSÃO

Observou-se que, apesar de a regulamentação da rotulagem específica para lactentes e crianças de primeira infância estar cada vez mais rigorosa, as indústrias ainda não se adaptaram a ela, embora o tenham feito em relação à rotula-

gem geral. Mesmo as exigências mais importantes, como a obrigatoriedade de exibição das frases de advertência e a proibição de apresentar ilustrações humanizadas de lactentes, são desrespeitadas.

Faz-se importante que os órgãos públicos competentes fiscalizem a rotulagem dos alimentos para lactentes e crianças de primeira infância, tanto no momento do registro quanto no momento da análise de controle. Profissionais de saúde e da área de alimentos, comunidade científica, políticas públicas e, finalmente, os próprios consumidores, devem monitorar as práticas de rotulagem e a promoção comercial desses produtos e, com isto, garantir a amamentação por tempo adequado. A criança amamentada, conforme determinam as normas brasileiras, utilizará menos os serviços públicos de saúde, gerando economia substancial de recursos materiais e humanos.

AGRADECIMENTOS

A colaboração da Superintendência de Vigilância Sanitária e Ambiental do estado de Goiás, pela aquisição de produtos, e a Juliana Brandstetter Vilar, Professora do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, pelo auxílio estatístico.

COLABORADORES

S.A. SILVA e T.A.P.C. FERREIRA participaram da elaboração de estratégia experimental, da coleta de dados, da tabulação e da discussão dos resultados e da elaboração do artigo. M.R.M. DIAS participou da coleta de dados, da discussão dos resultados e da elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Wehba J. Nutrição da criança. São Paulo: Fundo Editorial Byk; 1991.
2. Rea MF. Substitutos do leite materno: passado e presente. Rev Saúde Pública. 1990; 24(3):241-9.
3. Rea MF, Toma TS. Proteção do leite materno e ética. Rev Saúde Pública. 2000; 34(4):388-95.
4. United Nations Children's Fund. International code of marketing of breast milk substitutes. Geneva: World Health Organization; 1981.

5. World Health Organization. The optimal duration of exclusive breastfeeding. Geneva: World Health Organization; 2001. [cited 2005 Oct 4]. Available from <<http://www.who.int/inf-pr-2001/en/note2001-07.html>>.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução RDC nº 31 de 12 de outubro de 1992. Norma brasileira para a comercialização de alimentos para lactentes. [acesso 2004 mar 12]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>
7. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 222, de 5 de agosto de 2002. Regulamento técnico para promoção comercial dos alimentos para lactentes e crianças de primeira infância. [acesso 2004 mar 20]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 710, de 11 de junho de 1999. Programa Nacional de Alimentação e Nutrição. [acesso 2005 dez 6]. Disponível em: <<http://ttr2001.saude.gov.br/portarias/1999.htm>>.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 977, de 5 de dezembro de 1998. Regulamento técnico para fórmulas infantis para Lactentes e fórmulas infantis de seguimento. [acesso 2004 mar 14]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 34, de 14 de janeiro de 1998. Regulamento técnico de identidade e qualidade de alimentos de transição para lactentes e crianças de primeira infância. [acesso 2004 mar 16]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 36, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico de identidade e qualidade de alimentos a base de cereais para alimentação infantil. [acesso 2004 mar 28]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 40, de 21 de março de 2001. Regulamento técnico para rotulagem nutricional obrigatória de alimentos e bebidas embalados. [acesso 2004 mar 12]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002. Regulamento técnico para rotulagem de alimentos embalados. [acesso 2004 mar 12]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 23, de 15 de março de 2000. Manual de procedimentos básicos para registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos pertinentes à área de alimentos. [acesso 2004 abr 15]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 40, de 8 de fevereiro de 2002. Regulamento técnico para rotulagem de alimentos e bebidas embalados que contenham glúten. [acesso 2004 abr 18]. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Manual do curso da norma brasileira de comercialização de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância, bicos chupetas e mamadeiras. Brasília; 2002.
17. Conselho Federal de Nutricionistas. Resolução n.334 de 10 de maio de 2004. Dispõe sobre o Código de Ética do nutricionista, e dá outras providências. [acesso 2005 fev 25]. Disponível em: <<http://www.cfn.org.br/legislacao/resolucao/res334.htm>>.
18. Yoshizawa N, Pospissil RT, Valentim AG, Seixas D, Alves FS, Cassou F, et al. Rotulagem de alimentos como veículo de informação ao consumidor: adequações e irregularidades. Bol Cent Pesqui Process Aliment. 2003; 21(1):169-80.
19. Nunes MCD, Murata LTF, Alcântara MRS, Germano MIS, Germano PML. Avaliação das sobremesas lácteas: características que podem comprometer a garantia de qualidade. Hig Alimentos. 1998; 12(58):41-8.
20. Araújo ACMF, Araújo WMC. Adequação à legislação vigente da rotulagem de alimentos para fins especiais dos grupos de alimentos para dietas com restrição de carboidratos e alimentos para dieta de ingestão controlada de açúcares. Hig Alimentos. 2001; 15(32):52-70.
21. Borges RF, Sarmiento RM, Ferreira TAPC. Conformidade da rotulagem de alimentos para praticantes de atividade física segundo a legislação brasileira. Hig Alimentos. 2005; 19(137):127-35.
22. Lajolo, F.M. Avaliação crítica da legislação e metas alcançadas pela comissão. In: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e de saúde. Brasília: ANVISA, 2001. p.21-44.
23. International Baby Food Action Network. Monitoramento IBFAN Brasil 2004: promoção comercial e rotulagem. [acesso 2005 fev 2]. Disponível em: <www.ibfan.org.br>.
24. Euclides MP. Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação adequada. 2a. ed. Viçosa: Suprema; 2000.
25. Sílvia Júnior, EA. Agentes de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). In: Sílvia Júnior, EA. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. 5a.ed. São Paulo: Varela; 1995. p.306-13.

Recebido em: 7/11/2006
 Versão final reapresentada em: 30/10/2007
 Aprovado em: 29/2/2008

Os efeitos do ácido linoléico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro¹

Effects of conjugated linoleic acid on animal metabolism: advances in research and perspectives for the future

Lilia Ferreira SANTOS-ZAGO^{2,3}

Adriana Prais BOTELHO²

Admar Costa de OLIVEIRA⁴

RESUMO

Realizou-se uma revisão sistemática, sem restrição de data, sobre os efeitos fisiológicos do ácido linoléico conjugado sobre a regressão da carcinogênese, o estresse oxidativo, o metabolismo de lípidos e glicose e a alteração da composição corporal. Objetivando estabelecer o aspecto histórico do avanço da pesquisa em ácido linoléico conjugado, consideraram-se artigos originais resultantes de trabalhos realizados com animais, com cultura de células e com humanos. Quanto às pesquisas sobre o efeito anticarcinogênico do ácido linoléico conjugado foram encontradas inúmeras evidências a esse respeito, especialmente na regressão dos tumores mamários e de cólon, induzida por ambos os isômeros os quais agem de maneiras distintas. Os pesquisadores se empenham em reinvestigar as propriedades antioxidantes do ácido linoléico conjugado. Embora tenham sido investigadas as propriedades antioxidantes, tem-se identificado efeito pró-oxidante, levando ao estresse oxidativo em humanos. Foram poucos os estudos que demonstraram efeito positivo significativo do ácido linoléico conjugado sobre o metabolismo dos lípidos e da glicose e sobre a redução da gordura corporal, especialmente em humanos. Estudos sobre efeitos adversos foram também identificados. Há fortes indícios de que a ação deste ácido graxo conjugado sobre uma classe de fatores de transcrição - os receptores ativados por proliferadores de peroxissomo - e sobre a conseqüente modulação da expressão gênica, possa ser a explicação fundamental dos efeitos fisiológicos. Embora incipientes, os mais recentes estudos reforçam o conceito da nutrigenômica, ou seja, a modulação da expressão gênica induzida por

¹ Artigo elaborado a partir do Projeto de Pesquisa intitulado "A suplementação com ácido linoléico conjugado e o perfil lipídico, composição corporal e peroxidação lipídica em ratos"; financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Fapesp (Processo 2003/07648-4) e desenvolvido no Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

² Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição, Programa de Doutorado em Alimentos e Nutrição. R. Monteiro Lobato, 80, Cidade Universitária, 13083-862, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: L.F. SANTOS-ZAGO. E-mail: <lzago@fea.unicamp.br>.

³ Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Faculdade de Nutrição. Campinas, SP, Brasil.

⁴ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição. Campinas, SP, Brasil.

compostos presentes na alimentação humana. O cenário atual estimula a comunidade científica a buscar um consenso sobre os efeitos do ácido linoléico conjugado em humanos, já que este está presente naturalmente em alguns alimentos, que, quando consumidos em quantidades adequadas e de forma freqüente, poderiam atuar como coadjuvantes na prevenção e no controle de inúmeras doenças crônicas.

Termos de indexação: Ácido linoléico. Composição corporal. Estresse oxidativo. Neoplasias. Receptores ativados por proliferadores de peroxissomo.

ABSTRACT

This systematic review without date restrictions is about the physiological effects of conjugated linoleic acid on regression of carcinogenesis, oxidative stress, glucose and lipid metabolism and change in body composition. The objective was to establish the historical aspect of research advances regarding conjugated linoleic acid, considering original articles reporting work on animals, cell cultures and humans. Regarding the researches on the anticarcinogenic effect of conjugated linoleic acid, innumerous evidences were found in this respect, especially in the regression of mammary and colon tumors induced by both isomers which act distinctively. The researchers devoted considerable effort to reinvestigate the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. Although the antioxidant properties have been investigated, pro-oxidant effect has been identified leading to oxidative stress in humans. Few studies demonstrated significant beneficial effects of conjugated linoleic acid on the metabolism of lipids and glucose and on the reduction of body fat, especially in humans. Studies with adverse effects were also identified. There is strong indication that the action of this conjugated fatty acid on a class of transition factors - the peroxisome proliferator-activated receptor - and on the consequent modulation of gene expression can be the fundamental explanation of its physiological effects. The most recent studies reinforce the nutrigenomic concept, that is, the modulation of gene expression induced by compounds present in the foods consumed by humans. This current scenario stimulates the scientific community to seek a consensus on the effects of conjugated linoleic acid in humans, since it is naturally found in some foods; when these foods are consumed regularly and in appropriate amounts, they could help prevent and control innumerous chronic diseases.

Indexing terms: Linoleic acid. Body composition. Oxidative stress. Neoplasms. Peroxisome proliferators activated receptors.

INTRODUÇÃO

Desde o seu descobrimento, no final da década de 70, o ácido linoléico conjugado (CLA) vem sendo estudado de forma constante e exaustiva quanto às suas propriedades benéficas à saúde, em especial a redução da gordura corporal, o que o torna um forte coadjuvante no controle das doenças crônicas não transmissíveis. O CLA corresponde a uma mistura de isômeros de posição e geométricos do ácido linoléico com duplas ligações conjugadas¹.

As pesquisas com CLA têm afirmado sua ação como um agente redutor de gordura corporal²⁻⁴. Resultados anteriores obtidos por este grupo de pesquisa confirmam estas evidências. Quando ratos Wistar foram suplementados com

2% de CLA sobre o consumo diário de dieta, estes apresentaram 18% de redução da massa gorda, tanto aos 21 quanto aos 42 dias de tratamento⁵.

Os possíveis mecanismos de ação pelos quais o CLA é capaz de alterar a composição corporal envolvem mudanças metabólicas que propiciam, concomitantemente, a diminuição da lipogênese e a potencialização da lipólise⁴. Dessa maneira, alguns pesquisadores têm avaliado a ação da suplementação com CLA sobre o perfil hormonal e a atividade das enzimas envolvidas no processo de oxidação e síntese de triacilgliceróis, de forma a fornecer mais subsídios para o completo esclarecimento dessas propriedades biológicas.

Ao final da década de 80 e início da década de 90, Ha et al.¹ e Ha et al.⁶ relataram e discu-

tiram a propriedade antioxidante do CLA. Nos últimos anos essa propriedade tem sido reinvestigada para melhor entender o fato de que um ácido graxo com duplas ligações conjugadas exerce efeito antioxidante. O CLA é um dieno conjugado, ou seja, um dos primeiros produtos da oxidação lipídica, bastante susceptível as reações de autooxidação, o que o torna um potencial agente pró-oxidante em sistemas biológicos. No entanto, por mecanismos ainda obscuros, parece que o CLA apresenta certa estabilidade à autooxidação, mesmo sem proteção antioxidante. Ao considerar esta hipótese são muitos os estudos que visam a identificar e, sobretudo, compreender a influência do CLA sobre o processo de oxidação dos lípides biológicos, por meio da quantificação dos mais diversos indicadores⁷⁻¹⁴. Nos últimos três anos de pesquisa com CLA, este grupo chegou à conclusão de que a suplementação com este composto influencia o processo de oxidação dos lípides biológicos de ratos. Contudo, ainda faltam subsídios para o completo entendimento sobre a atuação do CLA como antioxidante e/ou pró-oxidante, visto que os resultados permitiram analisar apenas estas duas possibilidades. Frente a esse paradoxo, até agora, os resultados indicam que a atividade antioxidante ou pró-oxidante do CLA é dependente do tipo e da dose do suplemento, assim como do indicador utilizado, incluindo o local (tecido ou fluído corporal) e a metodologia de determinação do mesmo. Tal situação deixa perspectivas de continuidade das investigações para preencher essas lacunas e elucidar a influência do CLA sobre o processo de autooxidação lipídica.

Um efeito do consumo de CLA que tem merecido atenção é o de influenciar a sensibilidade à insulina, como decorrência de sua ação sobre o metabolismo de glicose e lipídios. Isso tem sido relatado por diversos pesquisadores não somente em modelos experimentais, como ratos, camundongos e hamsters, mas também em humanos^{15,16}. O fato é que os resultados são controversos e ainda não há um consenso sobre a real atuação do CLA sobre esse processo, bem como sobre os mecanismos de ação pelos quais ele atua. Existem

evidências de que a suplementação com CLA atue no aumento da sensibilidade à insulina¹⁷⁻¹⁹. No entanto, alguns autores relatam que ele não altera o perfil de insulinemia ou que promove, até mesmo, ação hiperinsulinêmica²⁰⁻²³. É importante destacar que os efeitos relacionados ao perfil insulínico são isômero dependentes. Os resultados obtidos pelos autores citados anteriormente mostram que o isômero *cis*-9 *trans*-11 promove aumento da sensibilidade à insulina, já o isômero *trans*-10 *cis*-12 é o responsável pelos possíveis efeitos hiperinsulinêmicos.

O objetivo deste trabalho foi revisar a literatura, de forma exaustiva e sistemática, sobre a origem e as propriedades fisiológicas do CLA que estão relacionadas com a alteração da composição corporal, com o metabolismo de glicose e lipídios, com a susceptibilidade ao estresse oxidativo e com o desenvolvimento do câncer.

MÉTODOS

Foi realizada uma revisão da literatura de forma exaustiva e sistemática, sem restrição de data e somente com fontes primárias indexadas nas bases de dados SciELO, PubMed, Medline e ISI Web of Knowledge. As palavras-chave utilizadas foram "CLA and body fat", "CLA and lipid profile", "CLA and lipid peroxidation", "glucose metabolism and CLA", "lipid metabolism and CLA", "CLA and oxidative stress", "CLA and câncer" e "CLA and peroxisome proliferator activated receptors". Para estabelecer os aspectos históricos do tema em questão, foram incluídos ensaios *in vivo*, realizados com animais e humanos, e ensaios *in vitro*, realizados com cultura de células de animais e de humanos, independentemente dos resultados terem sido positivos ou negativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incluídos 140 artigos originais, os quais tiveram como objetivo estudar a origem e

consumo de CLA e seus respectivos efeitos sobre a carcinogênese, a oxidação dos lípidos biológicos, o metabolismo dos lípidos e glicose e a composição corporal. Foram incluídos também estudos que, indiretamente, estavam relacionados com a identificação e a explicação dos efeitos em questão. Além dos artigos originais foram incluídas 4 comunicações em Eventos Científicos específicos da área e 1 referência da *National Academy of Sciences* a respeito das necessidades e recomendações para ácidos graxos. Os trabalhos selecionados serão discutidos a seguir, considerando a ordem cronológica dos mesmos e divididos em cinco seções: “origem e consumo de CLA”, “CLA e câncer”, “CLA e estresse oxidativo”, “CLA, Metabolismo de Glicose e Lipídios e Composição Corporal” e “CLA e receptores ativados por proliferadores de peroxissomo”.

ORIGEM E CONSUMO DO CLA

O CLA pode ser originado no rúmen, por meio da biohidrogenação incompleta de ácidos graxos poliinsaturados provenientes da dieta, e também pela dessaturação do ácido graxo C18:1 *trans*-11, por ação da estearoil - CoA dessaturase (SCD)²⁴. Em ruminantes, durante o processo de biohidrogenação do ácido linoléico, o isômero *cis*-9, *trans*-11 é o primeiro intermediário formado pelas bactérias ruminais. Dentre as bactérias existentes a *Butyrivibrio fibrosolvens* é a mais conhecida²⁵. Porém, várias outras espécies possuem lípases capazes de hidrolisar as ligações éster dos ácidos graxos e, portanto, produzir CLA, entre elas a *Lactobacillus casei* e a *Lactobacillus acidophilus*²⁶. A isomerização inicial é catalisada pela Δ^{12} *cis*, Δ^{11} *trans*-isomerase que, com maior frequência, é proveniente da bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrosolvens*. Daí se origina o *cis*-9, *trans*-11 que, após a saturação da dupla ligação *cis*-9 pela ação de uma redutase, forma o ácido vacênico (C18:1 *trans*-11)²⁵. Normalmente a biohidrogenação acontece de forma completa, porém alguns produtos intermediários, como o *cis*-9, *trans*-11 C18:2, podem atravessar o rúmen, se

mover pela corrente sanguínea, ser absorvidos pela glândula mamária e incorporados à gordura do leite. Existem diversos fatores que podem influenciar a biohidrogenação no rúmen e, dessa maneira, alterar a quantidade e a composição dos ácidos graxos insaturados disponíveis para a deposição no tecido adiposo ou para secreção na gordura do leite. As condições de alimentação, assim como, o tipo e a concentração dos ácidos graxos presentes, determinam quais bactérias ruminais serão predominantes no rúmen e, conseqüentemente, o pH que, para favorecer a produção de CLA, deve ser superior a 6,025,26. A síntese nos tecidos tem início quando o ácido graxo C18:1 sofre dessaturação pela enzima Δ^9 dessaturase, presente na glândula mamária e no tecido adiposo²⁷.

Embora pequenas concentrações de CLA possam ser encontradas nos tecidos humanos, a origem deste composto ainda não está elucidada. Acredita-se que a formação de CLA nos humanos seja decorrente da autooxidação de ácidos graxos insaturados provenientes da dieta¹⁴.

O CLA também pode ser sintetizado quimicamente, a partir do ácido linoléico, originando produtos com diferentes composições dos seus isômeros. Esse processo pode variar em decorrência da fonte de ácido linoléico utilizada, assim como das condições de isomerização²⁸.

Pelo fato de o CLA ser originado por meio da biohidrogenação incompleta de ácidos graxos insaturados pelas bactérias ruminais, e também via Δ^9 dessaturase na glândula mamária e no tecido adiposo, os alimentos derivados de ruminantes, particularmente os produtos lácteos, são as maiores fontes de CLA²⁶. Dentre os isômeros de CLA, o *cis*-9, *trans*-11 ocorre em maiores concentrações nos alimentos. Isso pode ser explicado pelo fato de que, nos ruminantes, as dessaturações somente podem ocorrer até o carbono 9, devido à ausência das dessaturases Δ^{12} e Δ^{15} , encontradas somente nos vegetais. Isso se torna ainda mais importante, ao lembrar que a síntese endógena, dependente da ação da Δ^9 dessaturase, é a principal via de formação do CLA²⁹. Também vale

ressaltar que, assim como todos os ácidos graxos poliinsaturados, o CLA tende a ser menos direcionado para tecidos de depósito e mais para fosfolípidos de membranas³⁰. No caso dos isômeros de CLA, o *cis-9, trans-11* é menos metabolizado e, conseqüentemente, mais presente nos alimentos. O conteúdo de CLA em leite e derivados e na carne bovina é cerca de 5 e 4mg/g de gordura, respectivamente, sendo o isômero *cis-9, trans-11* o responsável por mais de 80% desse conteúdo³¹.

Quanto ao consumo de CLA pela população, este é um tanto quanto difícil de estimar, mas pesquisas têm sido realizadas com esse intuito³²⁻³⁴. Em estudo realizado por Ritzenthaler et al.³², 51 homens e 51 mulheres foram acompanhados durante um ano, e suas ingestões alimentares medidas por meio de pesagem direta dos alimentos. O consumo de CLA total foi de 212 e 151mg/dia, e do isômero *cis-9, trans-11* foi de 193 e 140mg/dia para homens e mulheres, respectivamente. Fritsche & Steinhart³⁴, na Alemanha, utilizando-se de uma pesquisa de consumo nacional, estimaram um consumo de 430 e 350mg de *cis-9, trans-11*/dia para homens e mulheres, respectivamente. Em pesquisa realizada com idosos suecos Jiang et al.³³ encontraram consumo de CLA de 160mg/dia. Segundo a *United States National Academy of Science*, baseado na atitude de compra de consumidores canadenses, o consumo de CLA foi de 332 e 295mg/dia para homens e mulheres, respectivamente³⁵.

CLA e câncer

A mais antiga das propriedades fisiológicas do CLA é a que está relacionada com a proteção contra a carcinogênese. Na verdade, foi em experimentos de identificação de substâncias anticarcinogênicas em carnes grelhadas que o CLA foi descoberto. Levando em consideração a relação entre os ácidos graxos provenientes da dieta e a carcinogênese. Ha et al.^{1,36} isolaram substâncias anticarcinogênicas de extrato de carnes grelhadas, identificadas como CLA. A partir de então surgiram estudos objetivando identificar como o CLA atua

na carcinogênese. Os primeiros estudos de investigação das propriedades anticarcinogênicas do CLA datam do início da década de 90. Ha et al.⁶ estudaram a ação anticarcinogênica deste composto em camundongos submetidos à indução de câncer de estômago por benzopireno, e encontraram que os animais tratados com CLA apresentaram metade da quantidade de neoplasmas, quando comparados com os controles. É importante ressaltar que apenas o isômero *cis-9, trans-11* foi encontrado nos fosfolípidos do estômago dos camundongos, demonstrando que este seria o isômero responsável pela ação anticarcinogênica. O mecanismo de ação estaria relacionado com a propriedade antioxidante do composto, em especial do isômero *cis-9, trans-11*. Tal isômero inibiria reações do tipo Fenton e, conseqüentemente, os danos causados pelos radicais hidroxila nas membranas celulares, diretamente relacionados com o desenvolvimento de diversos processos patológicos, inclusive aqueles de iniciação e promoção de alguns tipos de câncer.

Foram os estudos sobre os efeitos do CLA nos tumores mamários que abriram as portas para a busca do entendimento dos mecanismos de ação, das concentrações ótimas e do tempo de exposição para que o efeito benéfico fosse atingido. Em 1991, Ip et al.³⁷ estudaram a relação entre o consumo de CLA e o desenvolvimento de tumores mamários induzidos por dimetilbenzo-antraceno em fêmeas de ratos. Os autores demonstraram que houve efeito protetor, atribuído ao isômero *cis-9, trans-11*, e dose dependente. A princípio, a propriedade antioxidante do CLA seria a responsável pela ação anticarcinogênica. Entretanto, a ação antioxidante máxima aconteceu quando o CLA foi administrado na concentração de 0,25 % (em relação ao peso da dieta), enquanto que a máxima inibição do tumor se deu quando foi administrado na concentração de 1% (em relação ao peso da dieta), demonstrando que outros mecanismos estariam envolvidos na ação anticarcinogênica do CLA.

Até então, as pesquisas mostravam que o CLA reduzia o câncer mamário, no entanto, os

mecanismos de ação pelos quais os diferentes isômeros de CLA levavam a essa redução ainda estavam obscuros. Os trabalhos apontavam que o isômero *cis*-9, *trans*-11 parecia ser o grande responsável pela ação. Com o avanço dos estudos foi possível entender que ambos os isômeros, *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12, exercem efeito protetor contra o tumor mamário por diferentes mecanismos, os quais estão relacionados com promotores do crescimento celular e angiogênese^{38,39}.

Além da inibição de fatores de crescimento e da angiogênese, o CLA também promove a redução do tumor mamário, devido à sua ação anti-estrogênica e, neste caso, o isômero responsável é o *cis*-9, *trans*-11. Tanmahasamut et al.⁴⁰ apontaram uma das primeiras evidências dos mecanismos moleculares de ação do CLA. Os autores demonstraram que o CLA reduz tanto mRNA, quanto a concentração do receptor de estrógeno, reduzindo a atividade de ligação do mesmo ao seu respectivo elemento responsivo no DNA. Posteriormente, foi demonstrado que o CLA promove a redução da ligação do receptor de estrógeno ao seu elemento responsivo no DNA, por meio da fosforilação do receptor, mediada pela estimulação da fosfatase 2A (PP2A)⁴¹. Os estudos da biologia molecular contribuíram bastante para a identificação de inúmeros mecanismos que explicam as propriedades anticarcinogênicas dos isômeros de CLA. São muitos os mecanismos já identificados, relacionados com a redução da proliferação celular, por meio da interrupção de fases do ciclo celular, além de inibição e ativação da transcrição de genes que codificam proteínas anti-apoptóticas (Bcl-X_L) e pró-apoptóticas (caspases iniciadoras e executoras, p.53 e Bak)^{42,43}.

Frente à importância de produtos da oxidação dos lípidos pela via enzimática na progressão da tumorigênese mamária, estudos objetivando avaliar a influência do CLA sobre esta via de oxidação lipídica, demonstram que, tanto o isômero *trans*-10, *cis*-12, quanto o *cis*-9, *trans*-11 reduzem a produção de 5-hidroxiicosa-tetraenóico. Provavelmente isso se dá por competição com o ácido araquidônico e inibição da

proteína ativadora de 5-lipoxigenase⁴⁴, além de redução da transcrição de ciclooxigenase-2⁴⁵.

O ato de grelhar carnes resulta na produção de uma gama de aminas heterocíclicas com propriedades carcinogênicas, como, por exemplo, a 2-amino 3-metilimidazol 4,5-*f*-quinolina (IQ), a qual está relacionada com o desenvolvimento de tumores no fígado, na pele, no intestino delgado e no cólon, em várias espécies⁴⁶. Tanto IQ quanto CLA estão presentes nas carnes grelhadas e, por isso, o câncer de cólon também é grande alvo de pesquisas no que diz respeito aos efeitos anticarcinogênicos do CLA. Em 1995, Liew et al.⁴⁶ demonstraram efeito protetor do CLA contra a formação de adutos de DNA induzidos por IQ, e também de criptas aberrantes no cólon de ratos F344, na fase inicial da carcinogênese. Os autores discutem sobre o mecanismo que explica o efeito protetor, e concluem que este tem relação com a inibição pelo CLA de enzimas que ativam o IQ, como a citocromo P450 e a prostaglandina H sintase. A partir de então, vários foram os estudos para verificar a relação entre consumo de CLA e regressão de câncer de cólon. Considerando a influência da peroxidação lipídica sobre o câncer, associada ao possível efeito antioxidante do CLA, O'Shea et al.⁴⁷ estudaram a relação entre enzimas antioxidantes e supressão do crescimento de células de câncer de cólon que foram expostas ao CLA. Segundo os resultados, a exposição das células ao CLA durante 12 dias aumentou a peroxidação lipídica e não protegeu as células dos efeitos tóxicos dos produtos resultantes. Vale chamar atenção para a discrepância dos achados no que diz respeito ao efeito anticarcinogênico do CLA, explicado por sua propriedade antioxidante. É claro que é imprescindível considerar a concentração de CLA administrada, visto que este pode apresentar mudanças em seus efeitos segundo a dose, como foi recentemente observado por Flintoff-Dye & Omaye⁷. O trabalho de O'Shea et al.⁴⁷ permite a discussão a respeito de outros mecanismos de ação, que não seu efeito antioxidante, como responsáveis pelas propriedades anticarcinogênicas do CLA. Os autores observaram

que, embora a peroxidação lipídica tivesse aumentado, houve redução do número de células cancerosas.

As pesquisas sobre o efeito protetor do CLA contra o câncer de cólon foram acontecendo de forma constante, e mecanismos moleculares de ação foram identificados. Em 2001, Park et al.⁴⁸, estudando câncer de cólon induzido por dimetilhidrazina em ratos, demonstraram que a redução da incidência do câncer está relacionada com o aumento do índice apoptótico. Posteriormente, o mesmo grupo demonstrou que o aumento do índice apoptótico estaria relacionado, em parte, com a redução de prostaglandinas E2, acompanhada do aumento da razão das proteínas pró-apoptóticas Bax/Bcl-2, como foi observado pelos autores⁴⁹. Lim et al.⁵⁰ complementam os achados supracitados, demonstrando que a administração de concentrações fisiológicas de CLA interrompeu o crescimento das células de câncer de cólon, já que houve um aumento significativo de células na fase G1 do ciclo celular. Esse aumento foi acompanhado da indução de p21, proteína que regula negativamente promotores de crescimento celular como antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), e das ciclinas A, D1 e E, os quais estavam reduzidos após tratamento com CLA.

No início dos estudos sobre as propriedades anticarcinogênicas do CLA discutiu-se a hipótese de que o isômero *cis*-9, *trans*-11 e, não o *trans*-10, *cis*-12, seria o responsável pelas mesmas, possivelmente, por sua ação antioxidante^{6,37}. Os resultados referentes ao efeito protetor de CLA contra o câncer de cólon, discutido acima, são decorrentes da administração do conjunto de isômeros de CLA, e não de um isômero em especial. Portanto, não há como saber se a ação protetora é isômero dependente. Cho et al.⁵¹, que já tinham detectado, em experimentos *in vitro*, que o isômero *trans*-10, *cis*-12 era o responsável pela inibição do crescimento de células de câncer de cólon, trataram células de câncer de cólon com diferentes concentrações de isômeros independentes de CLA, com o objetivo de identificar o

efeito de cada isômero sobre o ciclo celular e as proteínas regulatórias do mesmo. Os autores demonstraram que apenas o isômero *trans*-10, *cis*-12 teve efeito inibitório sobre o crescimento celular, e que esse efeito é decorrente da indução de p21. Corroborando esses resultados, Lee et al.⁵² também comprovaram que o isômero *trans*-10, *cis*-12 reprime a proliferação celular no câncer colorretal, devido à ativação do fator de transcrição 3 (ATF-3) e ao aumento da expressão do gene pró-apoptótico NAG-1. Ao considerar o exposto anteriormente, é possível especular que os efeitos protetores do CLA contra o câncer de cólon são atribuídos ao isômero *trans*-10, *cis*-12. Não estão, desse modo, relacionados com propriedades antioxidantes do mesmo e, sim, com a indução de proteínas apoptóticas, bem como com a inibição de promotores do crescimento celular.

Os alimentos com maiores quantidades de CLA possuem também grandes quantidades de gordura, cujo perfil quantitativo e qualitativo de ácidos graxos pode interferir na atividade anticarcinogênica do mesmo. Visando a investigar a influência da quantidade e da composição dos lipídeos dietéticos sobre o efeito protetor do CLA contra tumor mamário induzido por dimetilbenzo-antraceno, Ip et al.⁵³ suplementaram ratos fêmeos com misturas de óleos vegetais, em diferentes concentrações, que variaram de 10% a 20%, acrescidas ou não de 1% de CLA. Segundo os autores, a ação anticarcinogênica do CLA é independente tanto da quantidade quanto da qualidade dos lipídeos dietéticos. Mas, não foi a esta conclusão a que Hubbard et al.⁵⁴ chegaram, em trabalho realizado também com o objetivo de avaliar a influência da gordura dietética sobre os efeitos anticarcinogênicos do CLA. A substituição de metade da quantidade da mistura de óleos vegetais por banha regrediu significativamente a metástase do tumor mamário em camundongos, além de reduzir a concentração de CLA necessária para atingir o efeito anticarcinogênico em 50%. Foi observado ainda que a eficácia do CLA reduz à medida que aumenta o consumo de ácido linoléico. Ao considerar tal fato é importante chamar

a atenção para o consumo excessivo de óleos vegetais ricos em ácido linoléico, como o óleo de milho, por exemplo, o qual, muitas vezes, recebe a preferência dos consumidores devido ao apelo nutricional decorrente do seu alto teor de ácidos graxos poliinsaturados.

A maioria dos estudos sobre as propriedades anticarcinogênicas do CLA diz respeito ao câncer mamário e de cólon. No entanto, este composto também possui efeito inibitório sobre o crescimento de outros tipos de células cancerígenas, como as leucêmicas, as de câncer de próstata e gástrico. Tanto o isômero *trans*-10, *cis*-12 quanto o *cis*-9, *trans*-11, por mecanismos distintos, possuem efeito antiproliferativo sobre estes tipos de cânceres, mecanismos estes que envolvem controle do ciclo celular, indução da apoptose e controle do metabolismo do ácido araquidônico⁵⁵⁻⁵⁹.

CLA e estresse oxidativo

O efeito do CLA sobre o processo de autooxidação lipídica tem sido bastante estudado nos últimos anos, com resultados um tanto quanto ambíguos, os quais não permitem ainda conclusões claras a respeito de sua ação antioxidante. A presença de duplas ligações na configuração *trans* em isômeros do CLA contribui para a estabilidade do mesmo à oxidação. Porém, ao levar em consideração o fato de que a conjugação das duplas ligações é um dos primeiros passos da autooxidação lipídica, e que a partir daí se iniciam as irrefreáveis reações em cadeia do processo oxidativo, o CLA poderia atuar como pró-oxidante. O início das pesquisas com CLA foi marcado pela identificação de sua propriedade anticarcinogênica, explicada pela atividade antioxidante, particularmente, do isômero *cis*-9, *trans*-11. A hipótese que explica a ação antioxidante do CLA é baseada na formação de β -hidroxiacroleína, a partir da reação dos radicais hidroxila e peroxila de CLA com o oxigênio. Essa estrutura aldeídica seria a responsável pela ação antioxidante do CLA por meio da formação de quelato com o ferro, inibindo

assim as reações de Fenton e, conseqüentemente, o início da cadeia de reações da autooxidação lipídica. Deve-se ressaltar que a preocupação com a relação entre concentração de CLA e seu respectivo efeito antioxidante já existia, e foi relatada pelos pesquisadores que hipotetizaram o mecanismo de ação antioxidante, que já alertavam que o CLA não apresentava efeito antioxidante em altas concentrações⁶. Um dos primeiros estudos de avaliação das propriedades antioxidantes do CLA foi o de Ip et al.³⁷ que suplementaram ratos fêmeas Sprague-Dawley com diferentes concentrações de CLA (0,25 a 1,5 %) durante 1 mês. A avaliação da ação antioxidante foi feita por meio da determinação da quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no fígado e na glândula mamária dos animais. Os autores confirmaram a ação antioxidante do CLA, que não foi diferente em decorrência da concentração. Um fato interessante e, ao mesmo tempo, indagador foi que o CLA atuou como agente antioxidante, sem hipóteses plausíveis para explicar, somente na glândula mamária.

A estabilidade à oxidação do CLA *in vitro* é alvo de pesquisas com conclusões divergentes. Mas, é comum a todos esses estudos o fato de que o CLA é mais estável que outros ácidos graxos poliinsaturados que não tenham ligações do tipo *trans*. Até mesmo dentre os isômeros de CLA, aqueles que são *cis* possuem menor estabilidade em relação aos *trans*. Além disso, esses estudos também mostram que a estabilidade oxidativa do CLA é dependente da esterificação com acilgliceróis, em especial os triacilgliceróis, de forma que a estabilidade é menor quando o CLA está em sua forma livre⁶⁰⁻⁶². Sendo assim, é de extrema importância que se leve em consideração a forma como o CLA é administrado nos modelos experimentais. A administração de CLA na forma de ácidos graxos livres ou na forma de triacilgliceróis, certamente, irá desencadear efeitos biológicos diferentes no que diz respeito à oxidação lipídica, embora não seja comum esse tipo de informação na maioria dos trabalhos. No laboratório deste grupo de pesquisa, tem-se demonstrado, em

estudos *in vitro*, que o CLA possui certa estabilidade à autooxidação. Os resultados demonstram que as produções de peróxido e malondialdeído, a partir de CLA, são menores em comparação com ácido linoléico⁶³.

Outro aspecto fundamental para avaliar a propriedade antioxidante do CLA é a sua concentração. Nesse sentido, em trabalho recentemente realizado por Flintoff-Dye & Omaye⁷ foram avaliadas as propriedades antioxidante e pró-oxidante dos isômeros de CLA *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12, por meio da determinação da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) de amostras de sangue humano. Os resultados obtidos indicaram que ambos os isômeros influenciaram o processo de oxidação lipídica de maneira semelhante. Os autores apontam que o CLA age de forma paradoxal, ou seja, inicialmente como pró-oxidante (em concentrações baixas), depois como antioxidante (em concentrações intermediárias) e, posteriormente pró-oxidante (em concentrações elevadas). Concluem que, de maneira geral, o CLA é um agente pró-oxidante devido à observação do aumento do estresse oxidativo em concentrações baixas, quando se esperaria um efeito antioxidante.

Embora existisse uma hipótese para explicar a ação antioxidante do CLA (ação esta que, *in vitro*, é mais potente que a do α -tocoferol e similar à do butil hidroxi tolueno - BHT)⁶, o ato de consumir um ácido graxo em seu estágio inicial de autooxidação, como um agente antioxidante, intrigava a comunidade científica. De fato não demorou até surgirem os estudos de reinvestigação das propriedades antioxidantes do CLA. Ainda na década de 90, grupos de pesquisadores apontavam indícios de efeito pró-oxidante do CLA. Isso se daria por meio da quantificação de produtos primários e secundários da autooxidação lipídica, como peróxidos e malondialdeído, respectivamente; de eicosanóides resultantes da oxidação pela via enzimática e não enzimática, como 15-ceto-dihidroPGF_{2 α} 8-iso-PGF_{2 α} isoprostana, respectivamente; pela avaliação da atividade

biológica dos sistemas enzimáticos de proteção à oxidação, assim como de reparo aos danos causados por tal processo como, a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GPx) e a superóxido dismutase (SOD)¹²⁻¹⁴.

Alguns anos após a identificação do efeito antioxidante do CLA estudos com o objetivo de reinvestigar esse efeito começaram a surgir de forma constante. O estudo de van Den Berg et al.¹⁴ foi marcante nesse sentido. Avaliando a ação antioxidante do CLA em comparação com vitamina E e BHT em membranas compostas por 1-palmitoil-2-linoleoil fosfatidilcolina (PLPC), expostas ao estresse oxidativo mediado ou não por íons metálicos, os autores concluíram que o CLA não atuou como antioxidante, mesmo quando as membranas foram expostas ao estresse oxidativo mediado por íons metálicos. Esses achados contradizem a hipótese inicialmente levantada, já descrita anteriormente, sobre a possível formação de quelato entre o isômero *cis*-9, *trans*-11 de CLA e íons metálicos, de forma a inibir reações do tipo Fenton e, conseqüentemente, o estresse oxidativo. Mas, ao final da década de 90, estudos buscando verificar a influência do CLA sobre o sistema enzimático de proteção à oxidação (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) demonstraram que o CLA, em concentrações fisiológicas (5 a 20 ppm), não propicia a oxidação lipídica em hepatócitos normais de ratos e, portanto, não poderia ser considerado como um agente pró-oxidante. Na tentativa de fundamentar tais resultados os autores chegam a discutir que a resistência dos hepatócitos à ação do CLA poderia ser resultante do amplo estado antioxidante dessas células¹³. A partir de então, torna-se cada vez mais difícil o entendimento da influência do CLA sobre a oxidação dos lípidos biológicos, frente aos resultados contraditórios encontrados pelos diversos grupos de pesquisa da área.

A partir do ano 2000 o número de estudos que afirmam que o CLA induz o estresse oxidativo, tanto em roedores quanto em humanos, é bastante significativo. Tais estudos utilizaram diversos

métodos, dos mais tradicionais aos mais modernos, na direção de encontrar um consenso sobre a ação antioxidante ou pró-oxidante do CLA. Já no início desta década, Yamasaki et al.¹², em estudo realizado com ratos *Sprague Dawley* suplementados com 1% e 2% de CLA, observaram um aumento significativo na concentração hepática de produtos primários e secundários da oxidação lipídica, como os hidroperóxidos de fosfatidilcolina e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), respectivamente, o que levou os autores a afirmar que o CLA é um pró-oxidante. Marcadores biológicos do estresse oxidativos mais sensíveis passaram a ser utilizados nos estudos, os quais se tornaram mais freqüentes em humanos. Exemplo disso são os estudos de Risérus et al.⁸, Smedmam et al.⁹, Basu et al.¹¹, Basu et al.⁶⁴, e de Risérus et al.⁶⁵, que encontraram altas concentrações de eicosanóides resultantes da oxidação lipídica pelas vias enzimática (15-ceto-dihidroPGF₂·) e não enzimática (8-iso-PGF_{2α} isoprostana). Tais são os indicadores considerados, atualmente, mais sensíveis para esse fim, tanto no soro quanto na urina dos sujeitos. A indução do estresse oxidativo por ambos os isômeros de CLA, *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 foi uma conclusão unânime dessas pesquisas.

Para intrigar mais ainda a comunidade científica, trabalhos comprovando a atividade antioxidante do CLA ainda são publicados. Recentemente Kim et al.⁴⁴ demonstraram que a suplementação com 1,5% de mistura de CLA em ratos *Sprague-Dawley* reduz significativamente a concentração hepática de TBARS, e também a atividade das enzimas antioxidantes glutatona peroxidase e superóxido dismutase, permitindo concluir que o CLA é um antioxidante. Outro recente achado relevante nesse contexto é o de Arab et al.⁶⁶, que demonstraram, em fibroblastos humanos, que o contato durante 7 dias com o isômero *cis*-9, *trans*-11 de CLA foi o único, em comparação com outros 7 ácidos graxos poliinsaturados, que aumentou de forma significativa a síntese de glutatona sem nenhuma alteração no balanço oxidativo celular. Ao considerar que o

aumento, no sangue ou no tecido, de indicadores de oxidação lipídica leva à conclusão de que o sistema biológico em questão estaria sob estresse oxidativo, o fato de que o CLA induz a síntese de glutatona sem levar à oxidação lipídica é, além de incomum, fundamental para a elucidação da influência do CLA sobre o processo de oxidação dos lípidos biológicos.

Os autores desta revisão têm demonstrado, em estudos realizados com ratos, correlações negativas significantes entre consumo de 2% de misturas comerciais de CLA (contendo 75% dos isômeros *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12, em iguais proporções entre eles), e catalase e malondialdeído séricos, o que permite concluir que o CLA atua como um antioxidante. No entanto, as correlações encontradas entre o consumo de CLA e aumento dos peróxidos hepáticos e 8-iso-PGF_{2α} isoprostana plasmática são, ainda que não significantes, positivas, o que leva a aprofundar a investigação sobre o possível efeito pró-oxidante do CLA⁶⁷.

Há que fazer uma ressalva para o fato de que a indução do estresse oxidativo pelo CLA em muitos estudos, especialmente aqueles relacionados com a carcinogênese, é discutida como um dos mecanismos responsáveis pelo efeito antiproliferativo de alguns tipos de cânceres^{42,47}. Ao mesmo tempo, é importante lembrar que os efeitos benéficos do CLA, como o aumento da oxidação dos ácidos graxos, também provocam efeitos deletérios. Um desses efeitos é o estresse oxidativo, particularmente em situações em que o organismo está deficiente de agentes que o protegem contra a oxidação, levando ao desequilíbrio entre os agentes oxidantes e antioxidantes, de forma a favorecer os oxidantes, caracterizando, dessa forma, o estresse oxidativo.

CLA, metabolismo de glicose e lipídeos e composição corporal

Muitos estudos, a serem discutidos adiante, têm demonstrado, em animais e em humanos,

que o CLA influencia o metabolismo energético promovendo alterações significativas no metabolismo dos lipídeos e da glicose, e também na composição corporal. A administração de CLA, sob as mais diversas maneiras e concentrações, parece ser responsável pela melhora do perfil lipídico sanguíneo, pela redução da aterosclerose, pela melhora da resistência à insulina e pela redução da gordura corporal, por mecanismos distintos e de forma diferente em animais e em humanos.

Após a descoberta da atividade antioxidante do CLA, estudos buscando demonstrar os efeitos benéficos deste composto, em situações patológicas relacionadas com o estresse oxidativo, começaram a surgir. Nesse sentido, a relação entre CLA e aterosclerose foi uma das primeiras a ser investigada, visto que, já era conhecido o fato de que a aterosclerose é caracterizada por um processo inflamatório iniciado pela oxidação da lipoproteína de baixa densidade. Lee et al.⁶⁸ demonstraram que a administração de 0,5g de CLA por dia, associada a uma dieta hipercolesterolêmica, durante 22 semanas reduziu significativamente a concentração de LDL e colesterol total e a aterosclerose em coelhos. Posteriormente, ainda na década de 90, Deckere et al.⁶⁹, utilizando hamster como modelo experimental, apresentaram resultados que, ao mesmo tempo, complementam e contradizem os anteriores. Os autores encontraram redução não somente de LDL-colesterol, mas também de lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), além de um aumento de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-triacilglicerol), quando 1,5% do isômero *trans*-10, *cis*-12 foi administrado durante 8 semanas, associado a uma dieta hipercolesterolêmica. Também contraditoriamente, Munday et al.⁷⁰ não observaram redução de aterosclerose em camundongos. Aparentemente os motivos pelos quais os resultados são diferentes é desconhecido. Apesar disso, é importante ressaltar que os modelos experimentais utilizados nos trabalhos supracitados, provavelmente, responderiam de maneira distinta ao CLA, por apresentarem diferentes graus de sensibilidade a modifica-

ções no perfil lipídico da dieta, já que os coelhos são bem mais sensíveis a essas modificações, quando comparados com os hamsters. O panorama atual a respeito dos efeitos benéficos do CLA na redução dos lipídeos sanguíneos e na redução da aterosclerose apresenta resultados positivos em coelhos⁷¹ e alguns em hamsters^{72,73}. Em humanos os resultados não são satisfatórios, visto que a maioria dos estudos não demonstra alteração do perfil lipídico⁷⁴⁻⁷⁶ e, quando isto acontece, essas alterações não são benéficas como, por exemplo, aumento na concentração de lipoproteína⁷⁷, redução de HDL colesterol (principalmente pelo isômero *trans*-10, *cis*-12) e aumento de triacilglicerol^{65,78}, além do aumento de LDL colesterol⁷⁹. Destaca-se que os estudos realizados com humanos apresentam as mais diversas populações e amostragens relativamente pequenas contendo a menor 17 indivíduos^{74,76} e a maior 180 indivíduos⁷⁷. Os estudos foram constituídos de indivíduos de ambos os sexos, com peso normal, sobrepeso ou obesidade, o que contribui para a diversidade dos resultados.

A resposta aos distintos isômeros de CLA parece não ter sido diferente, embora Tricon et al.⁸⁰ tenham encontrado que o isômero *trans*-10, *cis*-12 aumentou em maior proporção a concentração de triacilglicerol e LDL colesterol em homens saudáveis, quando comparado com o isômero *cis*-9, *trans*-11. Nesse contexto é importante citar também o recente trabalho de Bissonauth et al.⁸¹, que observaram aumento de LDL-colesterol, apenas em hamsters alimentados com dieta acrescida de 2% do isômero *trans*-10, *cis*-12, em comparação com o *cis*-9, *trans*-11, durante 28 dias, embora os conteúdos de colesterol e triacilglicerol hepáticos tivessem diminuídos.

Sabe-se que o CLA exerce importante papel no metabolismo lipídico, especialmente no que diz respeito aos sistemas celulares de oxidação que, aliás, é o que explica muitas das propriedades fisiológicas desse ácido graxo. Foi o trabalho de Belury et al.⁸² um dos primeiros a demonstrar de forma mais clara o papel do CLA no metabolismo lipídico. Ainda era obscuro o entendimento das

rotas metabólicas do CLA no organismo e como este influenciaria o metabolismo dos lipídeos dos vários tecidos, de forma a melhorar o perfil lipídico. Mas, esses autores demonstraram, em camundongos, que o CLA afeta a interconversão metabólica dos ácidos graxos no fígado, resultando na modulação do perfil de ácidos graxos e na produção de eicosanóides araquidônicos nos tecidos extrahepáticos. As evidências, em roedores, de que o CLA apresentava ação hipolipidemiante, por meio da indução da β -oxidação em diversos tecidos, mas especialmente no tecido adiposo, foram surgindo de forma mais constante. Aumento da produção de corpos cetônicos, da razão β -hidroxibutirato/acetoacetato, da atividade de enzimas envolvidas na β -oxidação de ácidos graxos, como a acil CoA oxidase e a carnitina-palmitoiltransferase-1, assim como o aumento de glutatona-S-transferase, enzima afetada por proliferador de peroxissoma, contribuíram para a conclusão de que o CLA aumenta a oxidação de ácidos graxos^{83,84}. O trabalho de Sergiel et al.⁸⁵ foi fundamental para comprovar essa hipótese. Os autores demonstraram, em ratos, por meio da administração dos isômeros *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 de CLA marcados com ¹⁴C, que estes são muito mais utilizados nos sistemas oxidativos celulares que o ácido linoléico (usado como controle). E ainda que o CLA é convertido por dessaturases e elongases a outros ácidos graxos poliinsaturados conjugados, como 18:3, 20:3 e 20:4. Para dar mais subsídios à hipótese acima, recentemente Macarulla et al.⁸⁶ e Zabala et al.⁸⁷ demonstraram, em hamsters, que o isômero *trans*-10, *cis*-12 de CLA (0,5% a 1% em relação a uma dieta aterogênica durante 6 semanas) aumenta a atividade da carnitina-palmitoiltransferase-1 e acil-CoA oxidase, permitindo a conclusão de que a β -oxidação dos ácidos graxos musculares foi induzida pelo CLA, embora os autores tenham observado efeitos tóxicos no fígado desses animais por meio de análise histológica.

A ação do CLA sobre o metabolismo lipídico, caracterizada pela inibição do armazenamento de ácidos graxos, os quais serão oxidados para fornecer energia, associada à inibição

também da entrada de glicose nos adipócitos pode levar à alteração no metabolismo da insulina e causar situações de hiperinsulinemia. A inibição do armazenamento de ácidos graxos e glicose, especialmente pelo isômero *trans*-10, *cis*-12, leva ao acúmulo desses substratos na corrente sanguínea, caracterizando um estado de lipodistrofia (particularmente pelo acúmulo de ácidos graxos não esterificados), que, por sua vez, está relacionado com a resistência à insulina local e geral, propiciando o desenvolvimento de diabetes lipotrófica. Tal situação já foi observada em camundongos^{88,89} e em humanos^{8,79,90}. Na verdade, o início das pesquisas da influência do CLA sobre o metabolismo da glicose e da insulina foi caracterizado pela busca da melhora da resistência à insulina, como demonstraram Houseknecht et al.⁹¹ em ratos Zucker suplementadas com 2% de mistura de isômeros de CLA por 2 semanas. Mas, esses resultados não foram consensuais nos estudos subsequentes, que buscaram identificar o efeito do CLA sobre a resistência à insulina. Alguns pesquisadores encontraram resultados positivos, ou seja, a diminuição da tolerância à glicose em ratos da linhagem Zucker^{18,19}, outros, na direção oposta, não demonstraram nenhuma influência, como os de Hargrave et al.²² e Simón et al.⁹² com camundongos e hamsters, respectivamente. Os estudos de Choi et al.¹⁷ e Ross et al.²¹ deram contribuições importantes para o entendimento desses resultados dúbios. Os autores demonstraram, em ratos Sprague-Dawley e em camundongos *knockout* para Apo E, respectivamente, que o efeito do CLA sobre a resistência à insulina é isômero dependente, sendo o *trans*-10, *cis*-12 CLA responsável pelo aumento da resistência à insulina e o *cis*-9, *trans*-11 CLA responsável pela redução da resistência à insulina.

Os indicadores utilizados nos trabalhos citados acima incluem glicose plasmática, teste de tolerância à glicose, proteínas desacopladoras (UCP) e determinação da atividade de enzimas chave no metabolismo de lipídios e glicose como a fosfoenolpiruvatocarboxilase, a glicose-6-fosfatase, a glucoquinase, a acil-CoA oxidase e o ácido graxo sintase. Dentre os mecanismos que explicam

a melhora da resistência à insulina, particularmente pelo isômero *cis*-9, *trans*, 11, o aumento da oxidação de ácidos graxos no músculo e no fígado e o aumento do gasto energético estão entre os mais discutidos pelos autores.

Quanto aos mecanismos envolvidos na ação deletéria do CLA sobre a sensibilidade à insulina, estudos com culturas de adipócitos primários indicam que a ativação do fator de transcrição NFκB - o qual regula a expressão de genes que codificam citocinas pró-inflamatórias como TNF, IL-6 e IL-8 -, explicaria o aumento da sensibilidade à insulina. Essas citocinas pró-inflamatórias seriam as responsáveis pela redução da expressão do transportador de glicose insulino-dependente (GLUT4) e pela inibição da atividade do receptor de insulina, caracterizando o quadro de sensibilidade à insulina^{20,21,93}.

Mas o fato é que, em humanos, é quase que unânime entre os pesquisadores o efeito negativo do consumo de CLA sobre o metabolismo de glicose e insulina. Com exceção do trabalho de Belury et al.⁹⁴, que observaram redução da glicose plasmática em indivíduos portadores de diabetes tipo 2, a maioria dos estudos revisados demonstrou aumento de glicose plasmática, tendência para aumento da insulina plasmática e redução da sensibilidade à insulina^{8,65,79,90,95}. Apenas os trabalhos recentes de Tricón et al.⁸⁰ e de Taylor et al.⁹⁶ reúnem dados que os permitem concluir que ambos os isômeros de CLA não apresentaram efeitos adversos sobre as concentrações plasmáticas de glicose e insulina e sobre a sensibilidade à ação da insulina.

Todos os efeitos do CLA sobre o metabolismo de lipídeos e glicose, discutidos até agora, são responsáveis pelo efeito redutor de gordura corporal, atribuído particularmente ao isômero *trans*-10, *cis*-12 do CLA. A capacidade do CLA de alterar de forma positiva a composição corporal, por meio da redução da massa gorda e do aumento de massa magra, já foi comprovada em muitos modelos experimentais, inclusive em humanos, desde o final da década de 90. O primeiro trabalho a demonstrar tal propriedade do CLA foi o de Park

et al.⁴, que demonstraram, em camundongos suplementados com 0,5% de CLA durante 28 e 32 dias, redução de cerca de 60% da gordura corporal, resultante da redução da deposição de gordura, do aumento da lipólise nos adipócitos e do aumento da oxidação de ácidos graxos, tanto no músculo quanto no tecido adiposo. Pouco tempo depois o mesmo grupo demonstrou que o isômero de CLA responsável pela redução da gordura corporal é o *trans*-10, *cis*-12⁹⁷. Na mesma época Deckere et al.⁶⁹ e Ostrowska et al.⁹⁸ também demonstraram, em hamsters e porcos, respectivamente, a redução de peso e de gordura corporal após suplementação com CLA. Quanto aos estudos com humanos, Zambell et al.⁹⁹ tentaram demonstrar o efeito de redução da gordura corporal em mulheres saudáveis com índice de massa corporal normal, mas, seus resultados não foram significativos, ou seja, o consumo de 3g/dia de CLA durante 64 dias não alterou a composição corporal dos indivíduos. No mesmo ano Blankson et al.¹⁰⁰ e Berven et al.¹⁰¹ também demonstraram os efeitos do CLA sobre a composição corporal em indivíduos com sobrepeso ou obesidade sendo que, somente no estudo de Blankson et al.¹⁰⁰ houve redução da gordura corporal após 12 semanas de suplementação com quantidades acima de 3,4g de CLA/dia; no entanto, nenhum mecanismo que explicasse o efeito redutor da gordura corporal foi discutido pelos autores.

A partir de então muitos foram os estudos com diversos animais¹⁰²⁻¹⁰⁴, com culturas de adipócito de roedores e humanos¹⁰⁵⁻¹⁰⁹ e com humanos^{8,65,74-80,90,95,96,110-116}, que surgiram com o objetivo de avaliar a propriedade de redução da gordura corporal, bem como elucidar os mecanismos de ação pelos quais o CLA desempenha esse papel.

As hipóteses metabólicas para explicar a ação redutora de gordura corporal do CLA são muitas, mas as investigações tiveram seu início baseado no controle pelo CLA da expressão de genes envolvidos na diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos maduros. Em outras

palavras, a inibição da expressão desses genes resultaria na redução da lipogênese. Tal hipótese foi reforçada por Brodie et al.¹¹⁷, Choi et al.¹¹⁸, Takahashi et al.¹⁰⁴ e Kang et al.¹⁰⁹, cujos trabalhos com culturas de pré-adipócitos 3T3-L1 e adipócitos humanos demonstram que o CLA inibe a ativação de fatores de transcrição que controlam a expressão de genes codificantes das proteínas C/EBP α , SCD e GLUT4, todas envolvidas no processo de diferenciação de células adiposas. Na verdade, os estudos apontam que a redução da gordura corporal induzida pelo CLA ocorre não somente pela diminuição do número de adipócitos, mas também, ou até mesmo somente, pela redução do seu tamanho. Considerando que o tamanho da célula adiposa está diretamente relacionado com o conteúdo de triacilgliceróis em seu interior, a redução desse lípide induzida pelo CLA resultaria, conseqüentemente, na diminuição do tamanho da célula^{3,102,108}. É importante discutir que o mecanismo de ação responsável pela redução de triacilgliceróis induzida pelo CLA ainda necessita de maiores esclarecimentos. A diminuição, particularmente pelo isômero *trans*-12, *cis*-12 CLA, da síntese de enzimas envolvidas na lipogênese (como a lipase lipoprotéica, acetil CoA carboxilase e ácido graxo sintase), responsáveis pela clivagem dos ácidos graxos das lipoproteínas circulantes para ressíntese de triacilglicerol (LPL) e pela síntese de novo dos lípidos biológicos (ACC e FAS), tem sido reportada por muitos pesquisadores^{88,97}. Por outro lado, como já discutido, o aumento da β -oxidação de ácidos graxos mitocondrial e peroxissomal induzido pelo CLA, também poderia ser responsável pela redução da síntese de triacilgliceróis e, dessa forma, contribuir para a não deposição dos mesmos no adipócito, reduzindo, assim, o seu tamanho^{84,119,120}.

O aumento da termogênese induzida pelo CLA tem sido discutido também como responsável pela redução da gordura corporal, já demonstrada em camundongos AKR/J, Std ddY e C57BL/6J e ratos ZDF^{88,121-123}. Segundo Tsuboyama-Kasaoka et al.⁸⁸ e Ryder et al.¹²², o aumento do gasto energético observado nesses animais é resultante do

aumento da expressão de genes que codificam as proteínas desacopladoras (UCP), especialmente a UCP-2, visto que os autores encontraram aumento dos níveis tanto do mRNA quanto da proteína no tecido adiposo branco, músculo esquelético e fígado dos animais.

A descoberta do gene *ob*, que codifica uma proteína denominada leptina, trouxe contribuições ímpares para o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos no controle hipotalâmico da ingestão alimentar. A leptina é sintetizada no tecido adiposo e secretada no plasma em proporção direta ao tamanho do adipócito, ou seja, quanto maior é o adipócito maior também é a concentração de leptina plasmática. Nesse sentido, é esperado que o efeito redutor de gordura corporal do CLA tenha relação com os níveis de leptina¹²⁴. De fato, pesquisadores objetivando estudar essa relação demonstram que o consumo de CLA reduz os níveis sanguíneos de leptina em ratos OLETF¹¹⁹ e ratos Sprague-Dawley¹²⁵. Esses efeitos, contudo, não foram observados por Corino et al.⁷¹ e Medina et al.¹²⁶, cujos trabalhos foram realizados com humanos e coelhos, respectivamente. Mesmo que controversos, os estudos supracitados fornecem subsídios para especular sobre a ação do CLA no controle da sinalização celular e, conseqüentemente, na produção dessa adipocitocina tão importante para o controle da ingestão alimentar.

Este grupo de pesquisa tem demonstrado que ratos Wistar saudáveis, suplementados durante 3 ou 6 semanas com 2% de misturas comerciais de CLA, contendo os isômeros *trans*-10, *cis*-12 e *cis*-9, *trans*-11 em iguais proporções, apresentam redução da gordura corporal total de cerca de 20% em relação ao grupo controle. A concentração sérica de leptina dos ratos suplementados com CLA é menor, quando comparada com o controle e está correlacionada positivamente com a gordura corporal desses animais¹²⁷. Tem-se demonstrado, também, que misturas comerciais de CLA reduzem a atividade da lipase lipoprotéica ligada à heparina em cultura de adipócitos 3T3-L1¹²⁸.

Enquanto estudos com animais e cultura de células adiposas de roedores e humanos reúnem dados comprovando o efeito redutor da gordura corporal exercido pelo CLA, os ensaios clínicos não são tão promissores assim. Isso porque, na grande maioria deles, os indivíduos não apresentaram redução da gordura corporal. De todos os trabalhos revisados, cuja síntese pode ser observada no Quadro 1, poucos relataram redução significativa da gordura corporal. Todos esses estudos, cujos resultados são positivos, incluíram homens e mulheres com sobrepeso ou obesidade e foram placebo controlados. O CLA administrado constituiu mistura dos dois isômeros predominantes, *trans*-10, *cis*-12 e *cis*-9, *trans*-11, em iguais proporções entre eles. As doses diárias e o tempo de suplementação variaram entre 1,8 e 4,2g/dia e 4 semanas e 12 meses, respectivamente. Com exceção do trabalho de Thom et al.¹¹⁰, que usaram hidrogel como placebo, os demais estudos tiveram como placebo óleo de oliva. Quanto à amostragem, participaram dos 5 estudos 329 indivíduos, tendo o de Thom et al.¹¹⁰ a menor amostragem (n=20) e o de Gaullier et al.¹¹⁵ a maior (n=180). É importante ressaltar que a avaliação da composição corporal dos sujeitos das pesquisas foi feita por diferentes metodologias, as quais incluíram antropometria⁷⁹, radioabsorciometria de feixes duplos (DEXA)^{100,115} e espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)¹¹⁰. Embora os autores não tenham comprovado os mecanismos que explicam o efeito redutor da gordura corporal exercido pelo CLA, os resultados são discutidos com base naqueles que já foram identificados em animais e em cultura de adipócitos. O aumento da lipólise, a redução da atividade da lipase lipoprotéica e o aumento da atividade da carnitina-palmitoiltransferase-1, levando à redução do acúmulo de ácidos graxos no adipócito e ao aumento da oxidação de ácidos graxos nos tecidos adiposo e muscular, estão entre os mecanismos mais discutidos. Zambell et al.⁹⁹ tentaram avaliar a redução da gordura corporal em resposta ao aumento do gasto energético decorrente do consumo de CLA. O mesmo mecanismo foi proposto para explicar a redução da gordura corporal pelo

CLA, mas nenhuma alteração do gasto energético foi observada por esses pesquisadores.

Até o presente momento, observa-se certa dificuldade por parte da comunidade científica em comprovar o efeito redutor da gordura corporal exercido pelo CLA em humanos, haja vista a grande divergência dos resultados obtidos nos ensaios clínicos. Tais divergências, provavelmente, se devem às diferenças entre os indivíduos incluídos nas pesquisas que, possivelmente, respondem de forma diferente à suplementação com CLA. A população dos estudos é muito heterogênea e inclui indivíduos de ambos os sexos, normais ou não quanto ao seu índice de massa corporal, e saudáveis ou portadores de alterações do metabolismo de lipídeos e/ou de glicose. Além disso, há que considerar também, mesmo em uma população homogênea, a individualidade bioquímica resultante das diferenças genéticas entre os indivíduos. É imprescindível que se chegue a um consenso a respeito da suplementação com CLA objetivando a redução da gordura corporal, visto que essa é a propriedade fisiológica do CLA mais desejada pela população que busca o consumo desse composto como um coadjuvante na melhora na qualidade de vida.

CLA e receptores ativados por proliferadores de peroxissomo

Pouco tempo depois da descoberta do CLA, Issemann & Green¹²⁹ identificaram um membro de uma classe de receptores nucleares pertencentes à superfamília do receptor nuclear dos hormônios esteróide, retinóide e tireóide, todos dependentes de ligantes, denominado receptor ativado por proliferador de peroxissomo - PPAR. Já foram identificadas 3 isoformas desse receptor nuclear, PPAR α , PPAR β e PPAR γ_1 e γ_2 , as quais são codificadas por genes diferentes e expressas de forma distinta em diversos tecidos, mas todas envolvidas na regulação do metabolismo de lipídeos e glicose, na diferenciação celular, bem como no desenvolvimento do câncer e no controle da resposta inflamatória. Basicamente, os PPARs α e β

Quadro 1. Síntese dos ensaios clínicos incluídos nesta revisão que demonstraram algum efeito do ácido linoléico conjugado sobre a composição corporal, o metabolismo de lipídes e glicose e a peroxidação lipídica.

Sujeitos (n) (F/M)	Estado nutricional dos sujeitos segundo IMC	Tipo do suplemento CLA	Suplemento (dose-g/dia)	Tempo de suplementação	Controle	Efeito sobre a gordura corporal	Efeito sobre metabolismo		Efeito sobre a peroxidação lipídica	Referência
							lipídes	glicose		
52 (35/17)	Sobrepeso e obesidade	Mistura com 50% de c9, t11 e 50% de t10, c12	1,7	12 semanas	Óleo de oliva	Redução	Efeito não significativo	-	-	Blankson et al. ¹⁰⁰
53 (26/27)	Sobrepeso	Mistura com 50% de c9, t11 e 50% de t10, c12	4,2	12 semanas	Óleo de oliva	-	-	-	Aumento de 8-iso-prostaglandina F ₂ α e de 15-ceto-diidro-prostaglandina F ₂ α	Basu et al. ¹¹
53 (27/26)	Sobrepeso	Mistura com 50% de c9, t11 e 50% de t10, c12	4,2	12 semanas	Óleo de oliva	Redução	Efeito não significativo	Sem efeito	-	Smedman & Vessby ⁷⁹
20 (10/10)	Eutrófico	Mistura com 50% de c9, t11 e 50% de t10, c12	1,8	12 semanas	Hidrogel	Redução	-	-	-	Thom et al. ¹¹⁰
60 (0/60)	Sobrepeso e obesidade	Mistura com 35,4% de c9, t11 e 35% de t10, c12	3,4	12 semanas	-	Efeito não significativo	Redução de HDL	Efeito não significativo	Aumento de 8-iso-prostaglandina F ₂ α	Risérus et al. ⁶⁵
60 (0/60)	Sobrepeso e obesidade	Mistura com 2,9% de c9, t11 e 76,5% de t10, c12	3,4	12 semanas	-	Efeito não significativo	Redução de HDL	Aumento da glicemia e redução da sensibilidade à insulina	-	Risérus et al. ⁹⁰
25 (0/25)	Obesidade	Mistura com 83% de c9, t11 e 7,3% de t10, c12	3,0	12 semanas	Óleo de oliva	Efeito não significativo	Efeito não significativo	Redução da sensibilidade à insulina	Aumento de 8-iso-prostaglandina F ₂ α e de 15-ceto-diidro-prostaglandina F ₂ α	Risérus et al. ⁸
52 (35/17)	Sobrepeso e obesidade	Mistura com 37% de c9, t11 e 37% de t10, c12	6,0	52 semanas	Óleo rico em ácido oléico	Efeito não significativo	Redução de HDL e aumento de TAG	Sem efeito	-	Whigham et al. ⁷⁸
180 (149/31)	Sobrepeso	Mistura com 39% de c9, t11 e 41% de t10, c12 na forma de AGL e mistura com 38% de t10, c12 e 38% de c9, t11 na forma de TAG	3,4	12 meses	Óleo de oliva	Redução quando CLA foi administrado como AGL e efeito não significativo quando administrado como TAG	Aumento de Lpa	Sem efeito	-	Gaullier et al. ⁷⁷
60 (0/60)	Sobrepeso e obesidade	Mistura com 50% de c9, t11 e 50% de t10, c12 e Mistura contendo predominantemente t10, c12	3,5 e 4,0	4 semanas	Óleo de oliva	-	-	-	Aumento de 8-iso-prostaglandina F ₂ α e de 15-ceto-diidro-prostaglandina F ₂ α	Smedman et al. ⁹
134 (110/24)	Sobrepeso	Mistura com 50% de c9, t11 e 50% de t10, c12	3,4	24 meses	Óleo de oliva	Redução	Aumento de Lpa	Sem efeito	-	Gaullier et al. ¹¹⁵
16 (0/16)	Sobrepeso e obesidade	Manteiga enriquecida com CLA (80% de c9, t11)	2,39	2 períodos consecutivos de 8 semanas	Manteiga com baixo teor de CLA	Efeito não significativo	Pequena redução de CT e aumento da razão cHDL/CT	-	-	Desroches et al. ¹¹⁶

F: feminino; M: masculino; (-) Sem dados; IMC: índice de massa corporal. CLA: ácido linoléico conjugado.

estão envolvidos no metabolismo de lípidos e glicose e o PPAR γ está envolvido na diferenciação de adipócitos¹³⁰. Em 1992 Gottlicher et al.¹³¹ demonstraram que os ácidos graxos provenientes da dieta também poderiam atuar como ligantes de PPARs e, dessa forma, modular a expressão dos genes que estão sob seu controle transcricional. Enquanto as drogas hipolipemiantes, como os fibratos e as antidiabetogênicas, como as tiazolidionas (TZDs), têm afinidade por isômeros específicos, PPAR α e PPAR γ , respectivamente, os ácidos graxos são conhecidos como ligantes promíscuos por se ligarem em todas as isoformas de PPAR.

A identificação desses receptores nucleares foi determinante para o entendimento dos mecanismos moleculares responsáveis pelos efeitos do CLA, os quais parecem estar todos relacionados com a ativação ou a inibição, direta ou indiretamente, das diferentes isoformas de PPAR e, conseqüentemente, com a modulação da expressão dos genes controlados pelas mesmas. Os primeiros trabalhos a respeito da ativação de PPAR mediada por CLA foram realizados com o objetivo de buscar os mecanismos moleculares da ação anticancerígena desse composto. Moya-Camarena et al.¹³² demonstraram, em células de câncer hepático de ratos, que a redução da proliferação celular poderia ser decorrente da ativação de PPAR α , em especial pelo isômero *cis-9, trans-11*. Os autores encontraram quantidades elevadas de mRNA para as proteínas sob o controle transcricional desse PPAR, como a Acil CoA oxidase, proteína ligadora de ácido graxo e citocromo P450AIVA1. Entretanto, esse mesmo grupo de pesquisadores demonstrou que, em ratos Sprague-Dawley, a ativação de PPAR α não aconteceu de forma significativa. Embora houvesse aumento de mRNA para acil CoA oxidase (ACO) e proteína ligadora de ácido graxo (FABP), esse aumento foi muito pequeno (cerca de 10x menor), quando comparado ao modulado pelo Wy-14,643, um potente fibrato agonista de PPAR α ¹³³. Recentemente, Lampen et al.¹³⁴ demonstraram que a inibição da proliferação de células de câncer de cólon (HT-29) poderia

estar relacionada com a inibição de PPAR β pelo isômero *cis-9, trans-11*. No entanto, esses autores demonstraram, por meio de ensaios de transativação utilizando genes reporters, que o *cis-9, trans-11* CLA ativa o PPAR β , ou seja, mesmo que os resultados comprovem que o CLA age sobre o PPAR β , não há conclusões claras que possam explicar a ação anti-proliferativa das células de câncer de cólon. A ativação pelo CLA do PPAR γ também foi reportada como responsável pela inibição da proliferação celular e pela indução de apoptose em glioblastomas¹³⁵.

Os efeitos do CLA sobre o metabolismo de lípidos e glicose e sobre a composição corporal têm sido explicados pela modulação da expressão gênica exercida por esse ácido graxo conjugado, mediada pela ativação ou inibição de PPARs, em especial o PPAR γ . A ativação de PPAR γ_2 pelo CLA, particularmente pelo isômero *trans-10, cis-12*, tem sido demonstrada em cultura de adipócitos 3T3-L1 de roedores, como mecanismo responsável pela redução da composição corporal^{118,136}. É importante ressaltar que, segundo Evans et al.¹³⁷, a ativação de PPAR γ_2 pelo *trans-10, cis-12* CLA modularia o efeito redutor da gordura corporal em curto prazo (48h), visto que os autores observaram inibição de PPAR γ_2 quando o tempo de contato com o CLA aumentou (6 dias). A maioria dos estudos objetivando buscar os alvos moleculares da ação redutora da gordura corporal pelo CLA em adipócitos, reúne dados que permitem concluir que a inibição de PPAR γ , particularmente pelo *trans-10, cis-12* CLA, levaria à redução da gordura corporal pela modulação da expressão gênica no sentido de inibir a diferenciação celular e alterar a atividade de proteínas envolvidas na lipogênese e na lipólise^{109,136}. É importante a ressalva de que, nos estudos citados anteriormente, o tempo de exposição dos adipócitos aos isômeros de CLA até os efeitos serem observados foi superior a 5 dias, confirmando que, em longo prazo, segundo Evans et al.¹³⁶, o efeito do *trans-10, cis-12* CLA é de fato inibir PPAR γ . Um dado interessante é o do trabalho de Brown et al.¹³⁸, segundo o qual quando as células foram

expostas ao isômero *cis*-9, *trans*-11, houve aumento de PPAR γ e, conseqüentemente, das proteínas codificadas pelos genes que estão sob seu controle transcricional, promovendo a adipogênese. Tal achado traz contribuições ímpares a respeito da suplementação com misturas de isômeros de CLA. Ao considerar que o isômero *cis*-9, *trans*-11 aumenta PPAR γ , esse pode atuar como antagonista da ação do isômero *trans*-10, *cis*-12. Frente aos diferentes resultados encontrados na literatura, sobre a ativação e/ou inibição dos PPARs pelo CLA, pode-se especular que as ações antagonistas que os dois isômeros predominantes de CLA exercem um sobre o outro, podem explicar os resultados da não redução da gordura corporal.

O aumento de PPAR γ e também do PPAR β induzido pelo CLA, observado em alguns estudos, está relacionado com a ação antiinflamatória, também atribuída a esse composto. Tal ação já foi estudada em animais, como camundongos e porcos, e também em cultura de células da musculatura lisa da artéria coronária humana, para avaliar a regressão de doença inflamatória intestinal e da aterosclerose, respectivamente. Quanto ao efeito antiinflamatório do CLA na doença inflamatória intestinal pode-se dizer que a influência desse composto sobre a atividade dos PPAR γ e PPAR β está relacionada com a repressão da expressão de fator de necrose tumoral α (TNF- α) e da ativação do NF- κ B, e também com a indução de citocinas imunoregulatórias, como o fator de crescimento TGF- β_1 . A inibição da ativação de NF- κ B também foi observada em células da musculatura lisa da artéria coronária de humanos. A associação com a inibição da produção de prostaglandina resultante do metabolismo do ácido araquidônico via cicloxigenases, também observada nessas células, pode explicar o efeito anti-aterogênico do CLA observado *in vivo*¹³⁹⁻¹⁴¹.

Já é conhecido pela comunidade científica que ácidos graxos poliinsaturados da família omega-3 (PUFA n-3), como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o docosahexaenóico (DHA), apresentam atividade imunomodulatória e antiin-

flamatória^{142,143}. Entretanto, chama atenção o fato de que a presença desses ácidos graxos pode interferir na ação do CLA sobre o PPAR γ , como foi observado no recente trabalho de Bassaganya-Riera et al.¹⁴¹, estudando porcos com doença inflamatória intestinal. Apesar disso, os autores concluíram que o CLA e os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) n-3 agem sinergicamente na regressão da doença, pois os PUFA n-3 ativam PPAR β , o que resultou na aceleração da regeneração colônica e da remissão clínica da doença.

Quando se discute a influência do CLA sobre as distintas isoformas de PPAR é importante entender se efeitos induzidos pelo CLA sobre a expressão dos genes, que estão sob o controle transcricional de qualquer PPAR, são decorrentes do aumento ou da redução da expressão de um determinado PPAR ou da ação agonista ou antagonista que o CLA exerce sobre a atividade de ligação do PPAR ao DNA. De acordo com os resultados dos trabalhos incluídos nesta revisão, pode-se chegar à conclusão de que o CLA modula a expressão gênica, tanto pelo controle da expressão do PPAR^{109,118,136,139,141} quanto pela ação sobre a atividade de ligação do PPAR ao DNA^{132,135,137,138,140}.

Os trabalhos citados acima reúnem resultados sobre indução e inibição da expressão das isoformas de PPAR, assim como aumento ou redução da atividade de ligação do PPAR ao DNA. Esses resultados explicam os mecanismos moleculares da ação do CLA sobre o metabolismo de lípidos e glicose, a alteração da composição corporal e a regressão de doenças inflamatórias e câncer. Entretanto, o que se observa é que os trabalhos, ora *in vitro* ora *in vivo*, trazem protocolos experimentais diferentes uns dos outros, os quais resultam em respostas diversas, dificultando o entendimento do processo. Nesse contexto, vale comentar o trabalho recente de Benjamin et al.¹⁴⁴, que avaliaram *ex vivo* a capacidade de ligação do *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 CLA às diferentes isoformas de PPAR e, posteriormente, desenvolveram um sistema para avaliar o potencial de ativação, pelos isômeros de CLA, de genes

controlados por PPAR em roedores e em humanos. Os resultados de Benjamin et al.¹⁴⁵ contribuíram bastante para a compreensão da capacidade que o CLA tem em se ligar aos diferentes tipos de PPAR. Porém, contradizem resultados de muitos estudos *in vivo*, além de trazer novas informações para incrementar o quadro sobre o potencial de ativação, pelo CLA, dos PPARs em humanos. Em primeiro lugar, ficou claro que os dois isômeros de CLA atuam como ligantes desses fatores de transcrição, mas com afinidades diferentes. Segundo os resultados dos autores, o isômero *trans*-10, *cis*-12 tem mais afinidade com o PPAR α , já o *cis*-9, *trans*-11 se liga mais com o PPAR β . Quanto à capacidade de ligação ao PPAR γ , esta foi igual para os dois isômeros de CLA. Os ensaios de transativação mediado por PPAR nas células de roedores, demonstraram que a afinidade pelas isoformas de PPAR seguiu a seguinte ordem: PPAR α > PPAR β > PPAR γ_1 > PPAR γ_2 . Além disso, o isômero *trans*-10, *cis*-12 se ligou a todas as isoformas de PPAR em menor proporção, quando comparado ao isômero *cis*-9, *trans*-11. No que diz respeito aos ensaios de transativação no sistema humano, os resultados foram inesperados até para os próprios autores. Para estudar o potencial de ativação dos isômeros de CLA em humanos, os autores desenvolveram o sistema de ativação completo, ou seja, consideraram a heterodimerização do PPAR com o receptor do ácido retinóico (RXR) e seu respectivo ligante, o ácido retinóico, visto que a heterodimerização é requisito básico para a ligação com o DNA. Surpreendente e diferentemente do esperado, que seria o aumento do potencial de ativação, o que aconteceu foi uma redução desse, particularmente do *cis*-9, *trans*-11 CLA, quando as células foram transfectadas com o elemento responsivo (PPER), β -galactosidase e os receptores PPAR e RXR, em comparação com aquelas que foram transfectadas com o elemento responsivo (PPER), β -galactosidase PPAR sozinho. Aparentemente não há hipóteses para explicar essa redução do potencial de ativação, mas um achado importante foi que a redução da ativação aumentou quando a concentração de ácido retinóico foi maior. Levando em consideração que

homodímeros de RXR, induzidos pelo ácido retinóico, podem ativar genes que estão sob o controle transcricional de PPAR pela ligação com seu respectivo PPRE no DNA, os autores especulam que pode ter havido homodimerização de RXR, em decorrência da presença de grandes concentrações de ácido retinóico e, conseqüentemente, a redução do potencial de ativação do CLA.

A descoberta do PPAR é muito recente e, desde então, sua atividade biológica vem sendo estudada de forma constante e exaustiva. Ainda é preciso, no entanto, aprofundar o conhecimento sobre a atuação desses receptores nucleares como fatores de transcrição. Se a própria descoberta do PPAR é recente e muito ainda é necessário aprender sobre eles, a ativação dos mesmos pelo CLA é ainda mais imatura. Até o momento, as pesquisas acumulam elementos que apontam que o CLA pode modular a expressão gênica via PPAR, desencadeando distintas atividades biológicas que auxiliam o controle de uma série de situações patológicas. Entretanto, ainda há muito o que avançar até estabelecer um consenso sobre essa modulação da expressão gênica induzida pelo CLA nos humanos, o que pode ser um poderoso recurso na prevenção e no controle de muitas doenças metabólicas.

PERSPECTIVAS FUTURAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho reúne informações científicas que catalogam as propriedades fisiológicas do CLA, as quais servem como subsídios para alegar seu potencial como ingrediente funcional a ser utilizado na prevenção e no controle de inúmeras desordens metabólicas crônicas. Os resultados reportados, em todos os trabalhos aqui discutidos, são decorrentes da administração do CLA na forma de suplementação, já que as concentrações desse composto nas carnes, nos leites e em seus respectivos derivados não são suficientes para que os efeitos fisiológicos sejam atingidos.

Nesse contexto, pergunta-se: um alimento de consumo básico do público alvo enriquecido

com CLA, desde que tenha viabilidade tecnológica para tanto, apresentaria efeitos fisiológicos benéficos similares aos do CLA administrado na forma de suplementos? Essa resposta poderá delinear novas perspectivas para as pesquisas com CLA, ao considerar os efeitos adversos que a suplementação, por ser caracterizada pela utilização de altas doses, pode trazer. Até que ponto a suplementação com CLA pode ser utilizada sem riscos à saúde? Essa é uma pergunta difícil de responder devido à escassez de estudos sobre o consumo de suplemento de CLA durante longos períodos de tempo. A maioria dos estudos apresenta tempos de suplementação relativamente curtos, com média de 4 a 6 semanas, de forma que são raros os estudos com meses de duração. Existem evidências em animais e, mesmo que controversas e um tanto quanto escassas, em humanos de que o CLA promove efeitos benéficos em curto prazo, mas a grande questão é a seguinte: esses efeitos se prolongam por quanto tempo? E os efeitos adversos do consumo de CLA em longo prazo?

Alguns pesquisadores tentaram responder essas perguntas planejando ensaios cujo tempo de suplementação com CLA foram considerados longos. Gaullier et al.⁷⁷, Whigham et al.⁷⁸ e Larsen et al.¹⁴⁵ suplementaram indivíduos de ambos os sexos, com sobrepeso e/ou obesidade, com concentrações que variaram entre 3,4g/dia^{77,145} e 6g/dia⁷⁸ durante 1 ano. De acordo com o protocolo experimental desses estudos, nenhum efeito adverso sobre o metabolismo de lípidos e glicose foi observado nos indivíduos. No entanto, no estudo de Gaullier et al.⁷⁷ 68% dos participantes relataram 264 eventos adversos, entre os quais 30 foram considerados pelos pesquisadores relacionados com o CLA. Desconforto, dores abdominais e dispepsia foram o efeitos mais relatados. Whigham et al.⁷⁸, embora não tenham observado nenhum efeito adverso, não recomendam o consumo de suplemento de CLA por mulheres grávidas ou em período de lactação, para evitar alterações quantitativas e qualitativas no leite. Diferentemente de Gaullier et al.⁷⁷ e Whigham et al.⁷⁸, Larsen et al.¹⁴⁵ avaliaram também o efeito

da suplementação em longo prazo com CLA na recuperação do peso e da gordura corporal perdidos, e chegaram à conclusão de que o CLA não previne essa recuperação, pois os indivíduos apresentaram recuperação de 4,0kg (Desvio-padrão - DP= 5,6) e 2,1kg (DP=5,0) de peso e gordura corporal, respectivamente, a qual não foi diferente do grupo placebo. Recentemente, Gaullier et al.¹¹⁵ publicaram os resultados da continuidade de seu trabalho anterior⁷⁷. O estudo mais recente foi conduzido por mais 12 meses (com cerca de 70% dos indivíduos do estudo inicial) completando um período total de 24 meses de suplementação com CLA, caracterizando o período mais longo de suplementação da história das pesquisas com CLA. Os autores, além de concluir que a suplementação com misturas de isômeros de CLA reduziu significativamente a gordura e o peso corporal e que esta redução não teve relação com a dieta ou exercício, também concluem que a suplementação foi segura, visto que as alterações observadas estão dentro do normal.

A despeito do que os autores acima citados demonstraram sobre a segurança do CLA, ainda existem declarações de efeitos adversos com sérias conseqüências, as quais devem ser consideradas. Entende-se que a melhor solução para reduzir a incidência de obesidade e doenças associadas é a prevenção e, neste sentido, o consumo de alimentos enriquecidos com CLA ao longo da vida, com quantidades necessárias para que haja a modulação dos efeitos benéficos e a inexistência dos efeitos adversos, parece ser uma alternativa viável.

Este grupo de pesquisa nos últimos três anos, tem demonstrado que este composto é capaz de reduzir significativamente a gordura corporal, além de promover aumento do conteúdo de minerais em ratos, o que pode indicar aumento da mineralização óssea. A influência do CLA sobre o processo de autoxidação dos lípidos biológicos também tem sido identificada nestas pesquisas. A depender do indicador biológico utilizado para

avaliar este processo, os resultados têm demonstrado que o CLA pode funcionar como um antioxidante e, conseqüentemente, atuar como coadjuvante na prevenção e no controle de inúmeras doenças relacionadas com estresse oxidativo. Por outro lado, sendo o CLA um dieno conjugado, o aumento da suscetibilidade ao estresse oxidativo não está descartado, como observado em alguns indicadores determinados nos experimentos dos autores deste trabalho, que tiveram seus valores aumentados após suplementação com CLA. As perspectivas daqui em diante são de aprofundamento das investigações sobre a ação do CLA em humanos, no sentido de reforçar as pesquisas brasileiras sobre o tema em questão e tornar disponível para a população, com o respaldo da legislação vigente, um produto seguro que possa ser utilizado como coadjuvante na prevenção e no controle da obesidade e de doenças associadas.

Por fim, as mais recentes investigações sobre os mecanismos moleculares de ação do CLA reforçam cada vez mais o conceito da nutrigenômica. A biologia molecular moderna tem contribuído com fortes avanços no que diz respeito à modulação da expressão gênica induzida por compostos presentes na alimentação humana, sejam eles convencionalmente considerados nutrientes ou não. Os resultados têm sido surpreendentes e, ao mesmo tempo, promissores buscando preencher lacunas da medicina e da nutrição clínica.

COLABORADORES

L.F. SANTOS-ZAGO, A.P. BOTELHO e A.C. OLIVEIRA participaram da elaboração do projeto de pesquisa, da tabulação e da discussão dos resultados e da elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*. 1987; 8(12): 1881-7.
2. Wang YM, Jones PJH. Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int J Obes*. 2004; 28(8):941-55.
3. Sisk MB, Hausman DB, Martin RJ, Azain MJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. *J Nutr*. 2001; 131(6): 1668-74.
4. Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*. 1997; 32(8):853-8.
5. Botelho AP, Santos-Zago LF, Reis SMPM, Oliveira AC. A suplementação com ácido linoléico conjugado reduziu a gordura corporal em ratos Wistar. *Rev Nutr*. 2005; 18(4):561-5.
6. Ha YL, Storkson J, Pariza MW. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res*. 1990; 50:1097-101.
7. Flintoff-Dye NL, Omaye ST. Antioxidant effects of conjugated linoleic acid isomers in isolated human low-density lipoproteins. *Nutr Res*. 2005; 25(1):1-12.
8. Risérus U, Vessby B, Årnlöv J, Basu S. Effects of *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80(2):279-83.
9. Smedman A, Vessby B, Basu S. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid on lipid peroxidation in humans: regulation by α -tocopherol and cyclo-oxygenase-2 inhibitor. *Clin Sci*. 2004; 106(1):67-73.
10. Pratico D, Lawson JA, Rokach J, FitzGerald GA. The isoprostanes in biology and medicine. *Trends Endocrinol Metab*. 2001; 12(6):243-7.
11. Basu S, Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans. *FEBS Lett*. 2000; 468(1):33-6.
12. Yamasaki M, Mansho K, Mishima H, Kimura G, Sasaki M, Kasai M, et al. Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid peroxidation and histological change in rat liver tissues. *J Agric Food Chem*. 2000; 48(12):6367-71.
13. Cantwell H, Devery R, O'shea M, Stanton C. The effect of conjugated linoleic acid on the antioxidant enzyme defense system in rat hepatocytes. *Lipids*. 1999; 34(8):833-9.
14. Van Den Berg JJ, Cook NE, Tribble DL. Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. *Lipids*. 1995; 30(7):599-605.
15. Choi JS, Song J. Conjugated linoleic acid, obesity, and insulin resistance: waiting for the day of liberation from chronic disease. *Nutrition*. 2005; 21(11-12):1170-2.

16. Brown JM, McIntosh MK. Conjugated linoleic acid in humans: Regulation of adiposity and insulin sensitivity. *J Nutr.* 2003; 133(10):3041-6.
17. Choi JS, Jung MH, Park HS, Song J. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. *Nutrition.* 2004; 20(11-12):1008-17.
18. Nagao K, Inoue N, Wang YM, Yanagita T. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 310(2): 562-6.
19. Teachey MK, Taylor ZC, Maier T, Saengsirisuwan V, Sloniger JA, Jacob S, et al. Interactions of conjugated linoleic acid and lipoic acid on insulin action in the obese Zucker rat. *Metabolism.* 2003; 52(9):1167-74.
20. Chung S, Brown JM, Provo JN, Hopkins R, McIntosh MK. Conjugated linoleic acid promotes human adipocyte resistance through NF κ B-dependent cytokine production. *J Biol Chem.* 2005; 280(46):38445-56.
21. Roos B, Rucklidge G, Reid M, Ross K, Duncan G, Navarro MA, et al. Divergent mechanisms of *cis*9, *trans*11-and *trans*10, *cis*12-conjugated linoleic acid affecting insulin resistance and inflammation in apolipoprotein E knockout mice: a proteomics approach. *Faseb J.* 2005; 29(29):1746-8.
22. Hargrave KM, Azain MJ, Kachman SD, Miner JL. Conjugated linoleic acid does not improve insulin tolerance in mice. *Obes Res.* 2003; 11(9):1104-15.
23. Clément L, Poirier H, Niot I, Bocher V, Guerre-Millo M, Krief S, et al. Dietary *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *J Lipid Res.* 2002; 43(9):1400-9.
24. Corl BA, Baumgard LH, Dwyer DA. The role of delta-9-desaturase in the production of *cis*-9, *trans*-11. *J Nutr Biochem.* 2001; 12(11):622-30.
25. Martin SA, Jenkins TC. Factors affecting conjugated linoleic acid *trans*-C_{18:1} fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *J Anim Sci.* 2002; 80(12): 3347-52.
26. Alonso L, Cuesta EP, Gilliland SE. Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. *J Dairy Sci.* 2003; 86(6):1941-6.
27. Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KV, Bauman DE. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 desaturase. *J Nutr.* 2000; 130(9):2285-91.
28. Park Y, Storkson JM, Ntambi JM, Cook ME, Sih CJ, Pariza MW. Inhibition of hepatic stearyl-CoA desaturase activity by *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid and its derivatives. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1486(2-3):285-92.
29. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res.* 2001; 40(4):283-98.
30. Christie WW. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *J Lipid Res.* 1982; 23(7):1072-5.
31. Chin SF, Liu W, Storkson JM, Ha YL, Pariza MW. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J Food Compos Anal.* 1992; 5:185-97.
32. Ritzenthaler KL, McGuire MK, Falen R, Shultz TD, Dasgupta N, McGuire MA. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J Nutr.* 2001; 131(5):1548-54.
33. Jiang J, Wolk A, Vessby B. Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70(1):21-7.
34. Fritsche J, Steinhart H. Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Eur Food Res Technol.* 1998; 206: 77-82.
35. National Academy of Sciences (USA). Dietary reference intakes for energy, carbohydrates, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. Washington (DC): National Academy Press; 2002.
36. Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Newly recognized anticarcinogenic fatty acid: identification and quantification in natural and processed cheeses. *J Agric Food Chem.* 1989; 37:75-81.
37. Ip C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza MW. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.* 1991; 51(22):6118-24.
38. Chujo H, Yamasaki M, Nou S, Koyanagi N, Tachibana H, Yamada K. Effect of conjugated linoleic acid isomers on growth factor-induced proliferation of human breast cancer cells. *Cancer Lett.* 2003; 202(1):81-7.
39. Masso-Welch PA, Zangani D, Ip C, Vaughan MM, Shoemaker SF, McGee SO, et al. Isomers of conjugated linoleic acid differ in their effects on angiogenesis and survival of mouse mammary adipose vasculature. *J Nutr.* 2004; 134(2):299-307.
40. Tanmahasamut P, Liu J, Hendry LB, Sidell N. Conjugated linoleic acid blocks estrogen signaling in human breast cancer cells. *J Nutr.* 2004; 134(3): 674-80.

41. Liu J, Sidell N. Anti-estrogenic effect of conjugated linoleic acid through modulation of estrogen receptor phosphorylation. *Breast Cancer Res Tr*. 2005; 94:161-9.
42. Albright CD, Klem E, Shah AA, Gallagher P. Breast cancer cell-targeted oxidative stress: enhancement of cancer cell uptake of conjugated linoleic acid, activation of p53, and inhibition of proliferation. *Exp Mol Pathol*. 2005; 79(2):118-25.
43. Miglietta A, Bozzo F, Bocca C, Gabriel L, Trombetta A, Belotti S, Canuto RA. Conjugated linoleic acid induces apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells through ERK/MAPK signaling and mitochondrial pathway. *Cancer Lett*. 2006; 234(2): 149-57.
44. Kim JH, Hubbard NE, Ziboh V, Erickson KL. Attenuation of breast tumor cell growth by conjugated linoleic acid via inhibition of 5-lipoxygenase activating protein. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1736(3):244-50.
45. Degner SC, Kemp MK, Bowden GT, Romagnolo DF. Conjugated linoleic acid attenuates cyclooxygenase-2 transcriptional activity via an anti-AP-1 mechanism in MCF-7 breast cancer cells. *J Nutr*. 2006; 136(2):421-7.
46. Liew C, Shut HAJ, Chin SF, Pariza MW, Dashwood RH. Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinolin-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms. *Carcinogenesis*. 1995; 16: 3037-43.
47. O'Shea M, Stanton C, Devery R. Antioxidant enzyme defence responses of human MCF-7 and SW480 cancer cells to conjugated linoleic acid. *Anticancer Res*. 1999; 19(3A):1953-60.
48. Park HS, Ryu JH, Ha YL, Park Y. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) induces apoptosis of colonic mucosa in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect by CLA. *Brit J Nutr*. 2001; 86:549-55.
49. Park HS, Cho HY, Ha YL, Park JHY. Dietary conjugated linoleic acid increases the mRNA ratio of Bax/Bcl-2 in the colonic mucosa of rats. *J Nutr Biochem*. 2004; 15(4):229-35.
50. Lim DY, Tyner AL, Park JB, Lee JY, Choi YH, Park JHY. Inhibition of colon cancer cell proliferation by the dietary compound conjugated linoleic acid is mediated by the CDK inhibitor p21^{CIP1/WAF1}. *J Cell Physiol*. 2005; 205(1):107-13.
51. Cho HJ, Kim EJ, Lim SS, Kim MK, Sung MK, Kim JS, et al. *Trans*-10, *cis*-12, not *cis*-9, *trans*-11, conjugated linoleic acid inhibits G1-S progression in HT-29 human colon cancer cells. *J Nutr*. 2006; 136:893-8.
52. Lee SH, Yamaguchi K, Kim JS, Eling TE, Safe S, Park Y, et al. Conjugated linoleic acid stimulates an anti-tumorigenic protein NAG-1 in an isomer specific manner. *Carcinogenesis*. 2006; 27(5):972-81.
53. Ip C, Briggs SP, Haeghele AD, Thompson HJ, Storkson J, Scimeca JA. The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis*. 1996; 17(5):1045-50.
54. Hubbard NE, Lim D, Erickson KL. Beef Tallow increases the potency of conjugated linoleic acid in the reduction of mouse mammary tumor metastasis. *J Nutr*. 2006; 136(1):88-93.
55. Agatha G, Voigt A, Kauf E, Zintl F. Conjugated linoleic acid modulation of cell membrane in leukemia cells. *Cancer Lett*. 2004; 209(1):87-103.
56. Ochoa J, Farquharson AJ, Grant I, Moffat LE, Heys SD, Wahle WJ. Conjugated linoleic acids (CLAs) decrease prostate cancer cell proliferation: different molecular mechanisms for *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 isomers. *Carcinogenesis*. 2004; 25(7):1185-91.
57. Lui OA, Mak NK, Leung KN. Conjugated linoleic acid induces monocytic differentiation of murine myeloid leukemia cells. *Int J Oncol*. 2005; 27(6): 1737-43.
58. Song HJ, Sneddon AA, Heys SD, Wahle KWJ. Induction of apoptosis and inhibition of NF- κ B activation in human prostate cancer cells by the *cis*-9, *trans*-11 but not the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid. *Prostate*. 2006; 66: 839-46.
59. Kuniyasu HK, Yoshida K, Sasaki T, Sasahira T, Fujii K, Ohmori H. Conjugated linoleic acid inhibits peritoneal metastasis in human gastrointestinal cancer cells. *Int J Cancer*. 2006; 118(3):571-6.
60. Yang L, Leung LK, Huang Y, Chen ZY. Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. *J Agric Food Chem*. 2000; 48(8):3072-6.
61. Tsuzuki T, Igarashi M, Iwata T, Ymauchi-Sato Y, Yamamoto T, Ogita K, et al. Oxidation rate of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid is slowed by triacylglycerol esterification and α -tocopherol. *Lipids*. 2004; 39(5):475-80.
62. Miyazawa T, Tsuzuki T, Nakagawa K, Igarashi M. Fatty acids with conjugated unsaturation: relationship between oxidative stability and physiological activities. *Lipid Technol*. 2005; 17:221-5.
63. Santos-Zago LF, Botelho AP, Reis SMPM, Oliveira AC. Isomers characterization and autoxidation stability of two conjugated linoleic acid (CLA) supplements. *Annals of the 4th Euro Fed Lipid Congress*; 2006 Oct; Madrid, Spain; 2006. Abstract LAMI-001.a

64. Basu S, Risérus U, Turpein A, Vessby B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in men with abdominal obesity. *Clin Sci*. 2000; 99(6):511-6.
65. Risérus U, Basu S, Jovinge S, Fredrikson GN, Årnlöv J, Vessby B. Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated C-reactive protein. *Circulation*. 2002; 106(15):1925-9a.
66. Arab K, Rossary A, Soulère L, Steghens JP. Conjugated linoleic acid, unlike other unsaturated fatty acids, strongly induces glutathione synthesis without any lipoperoxidation. *Brit J Nutr*. 2006; 96(5):811-9.
67. Santos-Zago LF, Botelho AP, Reis SMPM, Oliveira AC. Consumo de CLA tem correlação negativa com indicadores da oxidação lipídica. Anais do 14º Congresso Latinoamericano de Nutrição; 2006 nov; Florianópolis, Brasil; 2006. Abstract NE 0020.b.
68. Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*. 1994; 108(1):19-25.
69. Deckere EAM, Amelvoort JMMV, Mcneill GP, Jones P. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. *Br J Nutr*. 1999; 82(4):309-17.
70. Munday JS, Thompson KG, James KA. Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model. *Br J Nutr*. 1999; 81(3):251-5.
71. Corino C, Mourot J, Magni S, Pastorelli G, Rosi F. Influence of dietary linoleic acid in growth, meat quality, lipogenesis, plasma leptin and physiological variables of lipid metabolism in rabbits. *J Anim Sci*. 2002; 80(4):102-8.
72. Mitchell PL, Langille MA, Currie DL, McLeod RS. Effect of conjugated linoleic acid isomers on lipoproteins and atherosclerosis in the Syrian Golden hamster. *Biochim Biophys*. 2005; 1734(3): 269-76.
73. Valeille K, Ferezou J, Amsler G, Quignard-Boulangé A, Parquet M, Gripois D, et al. A *cis*-9, *trans*-11-conjugated linoleic acid-rich oil reduces the outcome of atherogenic process in hyperlipidemic hamster. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 289:652-9.
74. Benito P, Nelson GJ, Kelly DS, Bartolini G, Schimidt PC, Simon V. The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. *Lipids*. 2001; 36(3): 229-36.
75. Mougious V, Matsakas A, Petridou A, Ring S, Sagredos A, Melissopoulou A, et al. Effect of supplementation with conjugated linoleic acid in human serum lipids and body fat. *J Nutr Biochem*. 2001; 12(10):585-94.
76. Petridou A, Mougious V, Sagredos A. Supplementation with CLA: isomer incorporation into serum and effect on body fat of women. *Lipids*. 2003; 38(8):805-11.
77. Gaullier JM, Halse J, Hoye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, et al. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79(6):1118-25.
78. Whigham LD, O'Shea M, Mohede ICM, Walaski HP, Atkinson RL. Safety profile of conjugated linoleic acid in a 12-month trial in obese humans. *Food Chem Toxicol*. 2004; 42(10):1701-9.
79. Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans-metabolic effects. *Lipids*. 2001; 36(8):773-81.
80. Tricon S, Burdge GC, Kew S, Banerjee T, Russel JJ, Jones EL, et al. Opposing effects of *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80(3):614-20.
81. Bissonauth V, Chouinard Y, Marin J, Leblanc N, Richard D, Jacques H. The effects of t10, c12 CLA isomer compared with c9, t11 CLA isomer on lipid metabolism and body composition in hamsters. *J Nutr Biochem*. 2006; 17(9):597-603.
82. Belury M, Moya-Camarena SY, Liu KL, Vanden Heuvel JP. Dietary conjugated linoleic acid induces peroxisome-specific enzyme accumulation and ornithine decarboxylase activity in mouse liver. *J Nutr Biochem*. 1997; 8:579-84.
83. Sakono M, Miyanaga F, Kawahara S, Yamauchi K, Fukuda N, Watanabe K, et al. Dietary conjugated linoleic acid reciprocally modifies ketogenesis and lipid secretion by the rat liver. *Lipids*. 1999; 34(9): 997-1000.
84. Martin JC, Grégoire S, Siess MH, Genty M, Chardigny JM, Berdeaux O, et al. Effects of conjugated linoleic acid isomers on lipid-metabolizing enzymes in male rats. *Lipids*. 2000; 35(1):91-8.
85. Sergiel JP, Chardigny JM, Sébédio JL, Berdeaux O, Juanéda P, Loreau O, et al. β -oxidation of conjugated linoleic acid isomers and linoleic acid in rats. *Lipids*. 2001; 36(12):1327-9.
86. Macarulla MT, Fernandez-Quintela A, Zabala A, Navarro V, Echevarria E, Churruga I, et al. Effects of conjugated linoleic acid on liver composition and fatty acid oxidation are isomer-dependent in hamster. *Nutrition*. 2005; 21(4):521-19.
87. Zabala A, Fernández-Quintela A, Macarulla T, Simón E, Rodríguez VM, Navarro V, et al. Effects of conjugated linoleic acid on skeletal muscle triacylglycerol metabolism in hamsters. *Nutrition*. 2006; 22(5):528-33.

88. Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Tanemura K, Kim H, Tange T, Okuyama H, et al. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes*. 2000; 49(9):1534-42.
89. Clément L, Poirier H, Niot I, Bocher V, Guermillo M, Krief S, et al. Dietary *trans-10*, *cis-12* conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *J Lipid Res*. 2002; 43(9):1400-9.
90. Risérus UM, Arner P, Brismar K, Vessby B. Treatment with dietary *trans10*, *cis12* conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2002; 25(9):1516-21b.
91. Houseknecht KL, Vanden Heuvel JP, Moya-Camarena SY, Portocarrero CP, Peck LW, Nickel KP, et al. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 244(3):911-7.
92. Simon E, Macarulla MT, Churrua I, Fernandez-Quintela A, Portillo MP. *Trans-10*, *cis-12* conjugated linoleic acid prevents adiposity but not insulin resistance induced by a atherogenic diet in hamsters. *J Nutr Biochem*. 2006; 17(2): 126-31.
93. Poirier H, Rouault C, Clément L, Niot I, Monnot MC, Guerre-Millo M, et al. Hyperinsulinaemia triggered by dietary conjugated linoleic acid is associated with a decrease in leptin and adiponectin plasma levels and pancreatic beta cell hyperplasia in the mouse. *Diabetologia*. 2005; 48:1059-65.
94. Belury M, Mahon A, Banni S. The conjugated linoleic acid (CLA) isomer, t10c12-CLA, is inversely associated with changes in body weight and serum leptin in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Nutr*. 2003; 133(1):257-60.
95. Moloney F, Yeow TP, Mullen A, Nolan JJ, Roche HM. Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80(4):887-95.
96. Taylor JSW, Williams RR, James P, Frenneaux MP. Conjugated linoleic acid impairs endothelial function. *Arterioscl Throm Vas*. 2006; 26(2): 307-12.
97. Park Y, Storkson JM, Ntambi JM, Cook ME, Sih CJ, Pariza MW. Evidence that the *trans-10*, *cis-12* isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*. 1999; 34(3): 235-41.
98. Ostrowska E, Muralitharan M, Cross RF, Bauman DE, Dunshea FR. Dietary conjugated acid increases lean tissue and decreases fat deposition in growing pigs. *J Nutr*. 1999; 129:2037-42.
99. Zambell KL, Keim NL, Van Loan MD, Gale B, Benito P, Kelley DS, et al. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on body composition and energy expenditure. *Lipids*. 2000; 35(7):777-82.
100. Blankson H, Stakkestad JÁ, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr*. 2000; 130(12):2943-48.
101. Berven G, Bye A, Hals O, Blankson H, Fagertun H, Thom E, et al. Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2000; 102:455-62.
102. Azain MJ, Hausman DB, Sisk MB, Flatt WP, Jewell DE. Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. *J Nutr*. 2000; 130(6):15-48, 54.
103. Poulos SP, Sisk M, Hausman DB, Azain MJ, Hausman GJ. Pre and postnatal dietary conjugated linoleic acid alters adipose development, body weight gain and body composition in Sprague-Dawley rats. *J Nutr*. 2001; 131(10):2722-31.
104. Takahashi Y, Kushiro M, Shinohara K, Ide T. Dietary conjugated linoleic acid reduces body fat mass and affects gene expression of proteins regulating energy metabolism in mice. *Comp Biochem Phys*. 2002; 133(3):395-404.
105. Pariza MW, Park Y, Cook ME. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000; 223(1): 8-13.
106. Evans M, Geigerman C, Cook J, Curtis L, Kuebler B, McIntosh M. Conjugated linoleic acid suppresses triglyceride accumulation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. *Lipids*. 2000; 35(8):899-910.
107. McNeel RL, Mersmann HJ. Conjugated linoleic acid isomers influence porcine adipocyte differentiation in vitro. *Faseb J*. 2001; 15:996.
108. Brown M, Evans M, McIntosh M. Linoleic acid partially restores the triglyceride content of conjugated linoleic acid-treated cultures of 3T3-L1 preadipocytes. *J Nutr Biochem*. 2001; 12(7):381-7.
109. Kang K, Liu W, Albright KJ, Park Y, Pariza MW. *Trans-10*, *cis-12* inhibits differentiation of 3T3-L1 adipocytes and decreases PPAR gamma expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 303(3): 795-9.
110. Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *Med Res*. 2001; 29(5):392-6.

111. Kreider RB, Ferreira MP, Greenwood M, Wilson M, Almada AL. Effects of conjugated linoleic acid supplementation during resistance training on body composition, bone density, strength, and selected hematological markers. *J Strength Cond Res.* 2002; 16(3):325-34.
112. Noone E, Roche H, Nugent A, Gibney M. The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. *Br J Nutr.* 2002; 88(3):243-51.
113. Kamphuis M, Lejeune M, Saris M, Westertep-Plantega W. The effect of conjugated linoleic acid supplementation after weight loss on body weight regain, body composition, and resting metabolic rate in overweight subject. *Int J Obes Relat Metabol Disord.* 2003; 25:1516-21.
114. Malpuech-Brugère C, Wilhelmine PHG, Verboeket-van V, Mensink RP, Arnal MA, Morio B, et al. Effects of two conjugated linoleic acid isomers on body fat mass in overweight humans. *Obes Res.* 2004; 12(4):591-8.
115. Gaullier JM, Halse J, Høye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, et al. Supplementation with conjugated linoleic acid for 24 months is well tolerated by and reduces body fat mass in healthy, overweight humans. *J Nutr.* 2005; 135(4):778-84.
116. Desroches S, Chouinard PY, Galibois I, Corneau L, Delisle J, Lamarche B, et al. Lack of effect of dietary conjugated linoleic acids naturally incorporated into butter on the lipid profile and body composition of overweight and obese men. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82(2):309-19.
117. Brodie AE, Manning VA, Ferguson KR, Jewell DE, Hu CY. Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post-confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in pre-confluent cells. *J Nutr.* 1999; 129(3):602-6.
118. Choi YJ, Kim YC, Han YB, Park Y, Pariza MW, Ntambi JM. The *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulated stearoyl-CoA desaturase gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutrition.* 2000; 130:1920-4.
119. Rahman SM, Wang YM, Yotsumoto H, Cha JY, Han SY, Inoue S, et al. Effects of conjugated linoleic acid on serum leptin concentration, body-fat accumulation, and β -oxidation of fatty acid in OLETF rats. *Nutrition.* 2001; 17(5):385-90.
120. Evans ME, Brown JM, McIntosh MK. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem.* 2002; 13(9):508-16.
121. West DB, Delany JP, Camet PM, Blohm F, Truett AA, Scimeca J. Effects of conjugated linoleic acid on body composition fat and energy metabolism in the mouse. *Am J Physiol.* 1998; 275(3PT2):667-72.
122. Ryder JW, Portocarrero CP, Song XM, Cui L, Yu M, Combatsiaris Y, et al. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes.* 2001; 50:1149-57.
123. Terpstra AHM, Beynen AC, Everts H, Kocsis S, Katan MB, Zock PL. The decrease in body fat in mice fed conjugated linoleic acid is due to increases in energy expenditure and energy loss in the excreta. *J Nutr.* 2002; 132(5):940-5.
124. Zhang B, Graziano MP, Doebber TW, Leibowitz MD, White-Carrington S, Szalkowski DM, et al. Down-regulation of the expression of the obese gene by an antidiabetic thiazolidinedione in Zucker diabetic fatty rats and *db/db* mice. *J Biol Chem.* 1996; 271(16):9455-9.
125. Yamasaki M, Ikeda A, Oji M, Tanaka O, Hirao A, Kasai M, et al. Modulation of body fat and serum leptin levels by dietary linoleic acid in Sprague-Dawley rats fed various fat-level diets. *Nutrition.* 2003; 19(1):30-5.
126. Medina EA, Horn WF, Keim NL, Havel PJ, Benito P, Kelly DS, et al. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids.* 2000; 35(7):783-8.
127. Botelho AP, Santos-Zago LF, Reis SMPM, Oliveira AC. Correlação entre a gordura corporal e os teores séricos de leptina de ratos wistar suplementados com ácido linoléico conjugado. Anais do 8º Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição; 2005; São Paulo, Brasil; 2005. Abstract PO-16-172.
128. Botelho AP, Santos-Zago LF, Reis SMPM, Oliveira AC. Ácido linoléico conjugado reduz a atividade da lipase lipoprotéica. Anais do 14º Congresso Latinoamericano de Nutrição; 2006 nov; Florianópolis, Brasil; 2006. Abstract NE 0099.
129. Issemann I, Green S. Activation of a member of steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature.* 1990; 347(6294):645-50.
130. Atarod EB, Kehrer JP. Dissociation of oxidant production by peroxisome proliferator-activated receptor ligands from cell death in human cell lines. *Free Radical Bio Med.* 2004; 37:36-47.
131. Gottlicher M, Widmark E, Li Q, Gustafsson JA. Fatty acid activate a chimeric of the clofibrate acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. *P Natl Acad Sci USA.* 1992; 89(10):4653-7.

132. Moya-Camarena SY, Vanden Heuvel JP, Blanchard SG, Leesnitzer LA, Belury MA. Conjugated linoleic acid is a potent naturally occurring ligand and activator of PPAR α . *J Lipid Res.* 1999; 40(8): 1426-33.
133. Moya-Camarena S, Vanden Heuvel JP. Conjugated linoleic acid activates peroxisome proliferator-activated receptor α and β subtypes but does not induce hepatic peroxisome proliferation in Sprague-Dawley rats. *Biochim Biophys Acta.* 1999; 1436(3):331-42.
134. Lampen A, Leifheit M, Voss J, Nau H. Molecular and cellular effects of *cis*-9, *trans*-11-conjugated linoleic acid in enterocytes: effects on proliferation, differentiation, and gene expression. *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1735(1):30-40.
135. Cimini AM, Cristiano L, Colafarina S, Benedetti E, Di Loreto S, Festuccia C, et al. PPAR γ -dependent effects of conjugated linoleic acid in the human glioblastoma cell line (ADF). *Int J Cancer.* 2005; 117:923-33.
136. Evans M, Park Y, Pariza M, Curtis L, Kuebler B, McIntosh M. *Trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid reduces triglyceride content while differentially affecting peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 and α 2 expression in 3T3-L1 preadipocytes. *Lipids.* 2001; 36(11):1223-32.
137. Granlund L, Juvet LK, Pedersen JI. *Trans*10, *cis*12-conjugated linoleic acid prevents triacylglycerol accumulation in adipocytes by acting as a PPAR γ modulator. *J Lipid Res.* 2003; 44:1441-52.
138. Brown JM, Boysen MS, Jensen SS, Morrison RF, Storkson J, Lea-Currie R, et al. Isomer-specific regulation of metabolism and PPAR γ signaling by CLA in human preadipocytes. *J Lipid Res.* 2003; 44:1287-1300.
139. Bassaganya-Riera J, Reynolds K, Martino-Catt S, Cui Y, Hennighausen L, Gonzalez F, et al. Acylation of PPAR γ and δ by conjugated linoleic acid mediates protection from experimental inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2004; 127(3):777-91.
140. Ringseis R, Müller A, Herter C, Gahler S, Steinhart H, Eder K. CLA isomers inhibit TNF α -induced eicosanoid release from human vascular smooth muscle cells via a PPAR γ ligand-like action. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1760:290-300.
141. Bassaganya-Riera J, Hontecillas R. CLA and n-3 PUFA differentially modulate clinical activity and colonic PPAR-responsive gene expression in a pig model of experimental IBD. *Clin Nutr.* 2006; 25(3): 454-65.
142. Kelley DS, Taylor PC, Nelson GJ, Schmidt PC, Ferretti A, Erickson KL, et al. Docosahexaenoic acid ingestion inhibits natural killer cell activity and production of inflammatory mediators in young healthy men. *Lipids.* 1999; 34(4):317-24.
143. Kew S, Gibbons ES, Thies F, McNeill GP, Quinlan PT, Calder PC. The effect of feeding structured triacylglycerols enriched in eicosapentaenoic or docosahexaenoic acids on murine splenocyte fatty acid composition and leucocyte phagocytosis. *Br J Nutr.* 2003; 90(6):1071-80.
144. Benjamin S, Hanhoff T, Borchers T, Spener F. An improved molecular test system for the screening of human PPAR transactivation by conjugated linoleic acid isomers and their precursor fatty acids. *Eur J Lipid Sci.* 2005; 107:706-15.
145. Larsen TM, Toubro S, Gudmundsen O, Astrup A. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y does not prevent weight or body fat regain. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83(3):606.

Recebido em: 11/5/2007

Aprovado em: 15/2/2008

A dinamometria manual e seu uso na avaliação nutricional

Hand grip strength test and its use in nutritional assessment

Michael Maia SCHLÜSSEL¹
Luiz Antonio dos ANJOS²
Gilberto KAC¹

RESUMO

Esta revisão de literatura aborda aspectos metodológicos e fisiológicos da dinamometria manual. A dinamometria manual é um teste funcional do músculo esquelético que vem recebendo uma crescente atenção de clínicos e pesquisadores da área de saúde nos últimos anos. Recentemente, tem merecido atenção como indicador do estado nutricional, particularmente para pacientes internados. Dentre os principais fatores que influenciam esta medida, destacam-se o sexo, a idade, a estatura, a massa corporal e a mão dominante dos indivíduos. Os resultados desta revisão demonstram ainda que diversos outros fatores, relacionados ao protocolo de aferição, como a posição do indivíduo, o tipo de instrumento utilizado, o número de aferições realizadas, o intervalo de descanso entre as aferições, a presença de estímulo verbal e de um pré-teste, também podem influenciar os valores alcançados por um indivíduo em uma avaliação da dinamometria manual. Dessa forma, é importante que um protocolo de aferição padronizado seja desenvolvido, para que se obtenham medidas válidas de dinamometria manual. Ainda são escassos os estudos que propõem valores de referência para a dinamometria manual e a literatura ainda se ressentir de valores de referência baseados em dados obtidos a partir de amostras de base populacional.

Palavras-chave: Dinamometria manual. Estado nutricional. Valores de referência.

ABSTRACT

This paper reviews the methodological and physiological aspects of hand grip strength measurement. Hand grip strength assesses skeletal muscle function and has received increasing attention from physicians and health-related researchers in the last years. Recently, it has deserved particular attention as an indicator of

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Departamento de Nutrição Social e Aplicada, Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Av. Brig. Trompowsky, s/n., Bloco J, 2º andar, Ilha do Fundão, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: G. KAC. E-mails: <kacetal@gmail.com>; <gkac@nutricao.ufrj.br>.

² Universidade Federal Fluminense, Departamento de Nutrição Social, Laboratório de Avaliação Nutricional e Funcional. Niterói, RJ, Brasil.

nutritional status, particularly in hospitalized patients. Sex, age, height, body mass and the dominant hand of the subjects are the main factors that influence the measure. The results of this review demonstrate that many other factors associated with the assessment protocol, such as the position of the individual, the type of instrument used, the number of measurements performed, the rest periods between measurements, the presence of verbal stimulation and a warm-up prior to the test can also influence the results. Therefore, it is important to develop a standardized protocol to improve the reliability of the measurements for this variable. Normative data for hand grip strength are still scarce and the literature still resents from the existence of reference values from population-based studies.

Indexing terms: Handgrip strength. Nutritional status. Reference values.

INTRODUÇÃO

A aferição da força máxima voluntária de preensão manual, ou simplesmente dinamometria manual (DM), consiste em um teste simples e objetivo que tem como princípio estimar a função do músculo esquelético¹. A consistência interna das medidas de força exercidas por diferentes grupamentos musculares sustenta a utilização da DM para caracterizar o status funcional muscular geral². Trata-se de um teste realizado geralmente com um aparelho portátil - dinamômetro - sendo um procedimento rápido, de baixo custo e pouco invasivo.

O termo força muscular é utilizado para designar a habilidade de um determinado músculo, ou grupamento muscular, em produzir ou resistir a uma força; podendo ser classificada como isométrica, isocinética ou isotônica. A DM é uma medida de força isométrica, que envolve o emprego de força sobre um objeto imóvel. O músculo se contrai, permanecendo sob tensão constante por um curto intervalo de tempo, porém, há pouca alteração em seu comprimento.

A aplicação clínica da DM tem merecido maior atenção nos últimos anos³ e é feita em diversos campos da área da saúde. Amplamente utilizada na área de reabilitação por terapeutas ocupacionais, fisioterapeutas e médicos; a DM vem sendo reconhecida como um instrumento útil de avaliação funcional, seja no acompanhamento do estado nutricional de pacientes cirúrgicos⁴ ou na avaliação funcional da população idosa^{2,5}.

Este trabalho apresenta e discute as informações metodológicas e fisiológicas a

respeito deste teste de avaliação funcional. Além disso, fez-se uma revisão sistemática sobre o uso da DM na avaliação nutricional. O artigo está organizado de forma a incluir informações a respeito dos diferentes instrumentos utilizados: protocolo de aferição (instruções, posição do indivíduo, posição de manuseio, número de aferições, duração da contração, períodos de descanso, pré-teste), valores de referência disponíveis e características individuais que influenciam os valores de DM (sexo, idade, estatura, massa corporal, mão dominante), parâmetros importantes a serem considerados caso a DM seja incorporada aos protocolos de rotina para avaliação do estado nutricional e funcional.

Tipos de dinamômetros

Inúmeros instrumentos estão disponíveis para aferir valores de DM. Os aparelhos utilizados para esta medida de força podem ser classificados em quatro categorias: hidráulicos, pneumáticos, mecânicos e *strain gauges* (ou células de carga).

Dinamômetros hidráulicos são sistemas selados, que medem a DM em quilogramas (ou libras) força. Instrumentos pneumáticos usam um mecanismo de compressão em uma bolsa de ar para determinar a DM; são normalmente utilizados em indivíduos que apresentam dor e favorecer a medida em milímetros de mercúrio ou libra/polegada². Dinamômetros mecânicos são instrumentos que medem a DM em função da quantidade de tensão produzida em uma mola de aço. Já os *strain gauges* são aparelhos em que a força empreendida em uma célula de carga é captada eletronicamente, amplificada e transmitida para um monitor digital⁶.

Diversos modelos de dinamômetro mecânico têm sido utilizados e, aparentemente, este é o tipo de dinamômetro portátil mais confortável e de fácil manuseio para os indivíduos avaliados. Entre os estudos revisados que utilizaram instrumentos mecânicos, os modelos mais comuns foram os dinamômetros Harpenden⁷⁻⁹ e Smedley¹⁰⁻¹². Entretanto, o modelo hidráulico do dinamômetro Jamar aparece como sendo o instrumento mais amplamente utilizado em estudos que medem valores de DM¹³⁻²⁰.

Desenvolvido por Bechtol²¹, em 1954, o dinamômetro Jamar é um aparelho de simples manuseio, fornecendo uma leitura rápida e direta, além de permitir fácil utilização tanto em estudos de campo quanto em situações clínicas ambulatoriais. O modelo hidráulico do dinamômetro Jamar é o recomendado pela Sociedade Americana de Terapeutas da Mão (*American Society of Hand Therapists* - ASHT), sendo considerado o mais acurado e preciso instrumento para avaliar a DM¹³.

A acurácia do aparelho deve ser mantida por meio de calibração regular. É recomendado que a calibração do dinamômetro Jamar seja checada ao menos uma vez por ano e, mais frequentemente (entre 4 e 6 meses), quando utilizado diariamente. Contudo, parece não haver estudos examinando por quanto tempo o dinamômetro Jamar, ou qualquer outro, mantém sua acurácia, indicando, desta forma, o tempo ótimo de recalibração⁶.

Posição do indivíduo durante a aferição

É consenso que, ao realizar a aferição de parâmetros biológicos em um indivíduo, um protocolo de teste deve ser padronizado para assegurar a confiabilidade e comparabilidade das medidas. Um protocolo de teste compreende as instruções fornecidas e os procedimentos adotados para a coleta dos dados. No caso particular da DM, entre estes procedimentos inclui-se a posição do indivíduo durante a aferição. Entretanto, diferentes posições e protocolos têm sido observados para a aferição da DM.

Alguns dos estudos revisados usam a posição padronizada proposta pela ASHT^{14,15,17,22}. Esta posição é descrita por Innes⁶ como:

[...] sentado em uma cadeira com encosto reto e sem suporte para os braços, ombro aduzido e neutralmente rodado, cotovelo flexionado a 90°, antebraço em posição neutra e punho entre 0° e 30° de extensão e 0° e 15° de desvio ulnar.

Esta posição foi desenvolvida para o uso do modelo hidráulico do dinamômetro Jamar. Contudo, há estudos nos quais pequenas variações nessa posição foram observadas, como, por exemplo: permitiu-se que a posição do punho fosse auto-selecionada pelos indivíduos, para que obtivessem a força máxima de preensão¹⁶; ou ainda que alguns indivíduos se posicionassem de pé, ao invés de sentados, mas mantendo a posição padrão para o braço¹⁸. Outros estudos simplesmente não relatam a posição utilizada, ou o fazem de forma incompleta^{7,13,21,23}.

Segundo Innes⁶, variações em relação à posição proposta pela ASHT afetam a medida de DM de algumas maneiras: (i) Posicionar-se de pé, ao invés de sentado, resulta em maiores valores de DM, usando o mesmo instrumento; (ii) O ombro flexionado a 180° possibilita o melhor resultado, quando comparado à flexão de 90° ou a posição padrão 0°; (iii) Estudos sobre o efeito da posição do cotovelo durante a aferição da DM têm apresentado resultados conflitantes. Alguns demonstram a maior medida quando o cotovelo está completamente estendido (0°), outros quando há uma flexão de 90° e outros, ainda, não encontraram relação entre a posição do cotovelo e a medida de DM.

Hillman et al.²⁴, em estudo desenvolvido para propor uma postura prática para aplicação clínica, observaram os maiores valores de DM entre indivíduos saudáveis que se posicionaram sentados em uma cadeira sem suporte para os braços. Entretanto, as comparações foram feitas apenas com as medidas obtidas em indivíduos sentados com os braços apoiados ou recostados a 30° em uma cama.

Logo, percebe-se que variações na posição usando o mesmo instrumento podem influenciar significativamente os resultados e, desta forma, deve-se manter a consistência e a padronização dos procedimentos de aferição. Além disso, é importante atentar para o fato de que a posição durante a aferição pode não depender apenas da vontade do indivíduo ou de um protocolo de teste. Principalmente para a aplicação clínica, a viabilidade de estabelecer a melhor postura para realizar a aferição pode variar, dependendo da morbidade e de seu estágio. Já para a população saudável, particularmente em inquéritos domiciliares, a postura mais prática parece ser a de pé com os braços estendidos ao longo do corpo. De qualquer forma, isso implica em uma dificuldade de estabelecer uma posição padrão, bem como, exige um cuidado do profissional de saúde/pesquisadores ao comparar as medidas observadas com valores de referência.

Posição de manuseio

Alguns instrumentos, como o dinamômetro Jamar, permitem que se ajuste a pega ao realizar o teste de DM. Isto quer dizer que é possível ajustar a empunhadura (ou posição de manuseio) do dinamômetro, para que melhor se adapte ao tamanho da mão e ao comprimento dos dedos de um indivíduo.

Primeiramente discutidas por Bechtol²¹, as posições de manuseio mais utilizadas nos estudos revisados, particularmente nos estudos que se propõem a fornecer valores normativos para esta medida, são a segunda e a terceira posição do dinamômetro Jamar^{13,14,16}, que possui ajuste para cinco posições diferentes.

Segundo Innes⁶, a ASHT recomenda que o dinamômetro Jamar seja ajustado na segunda posição para aferição da DM. Entretanto, a maioria dos estudos não faz menção em relação à posição do dinamômetro utilizada durante a aferição desta medida.

Boadella et al.²⁰ ressaltaram a capacidade dos indivíduos em auto-selecionar a posição que

lhes fornecia o melhor desempenho para realizar o teste de DM. Tanto para os indivíduos que optaram por realizar sentados, quanto para os que realizaram de pé, as maiores leituras de DM observadas foram obtidas na posição auto-selecionada. Os maiores valores absolutos foram observados para as medidas realizadas com os indivíduos de pé.

Instruções

Tão importante quanto a posição é a determinação de uma seqüência clara de instruções que serão dadas aos indivíduos a serem avaliados. Deve-se procurar optar sempre pelo menor número de instruções e, da mesma forma, que estas sejam passadas da maneira mais simples e objetiva possível.

Também é importante o tom de voz com que essas instruções são transmitidas. Johansson et al.²⁵ encontraram uma relação significativa entre o volume de voz com o qual as instruções eram transmitidas aos indivíduos e a força de contração isométrica exercida, de modo que volumes aumentados resultavam em valores de força mais elevados durante a contração. Essa diferença pode estar relacionada à motivação com que o indivíduo realiza a medida de força, já que o procedimento é considerado como uma medida de desempenho e que pode ser melhorada. A maioria dos estudos não especifica as instruções dadas aos indivíduos durante a realização dos procedimentos para a coleta de dados de DM. Entre os poucos que o fazem, alguns ressaltam o fato de que “nenhum encorajamento verbal” foi feito^{19,20}, enquanto que outros deixam claro que isso foi feito^{13,15,18}.

Independentemente de incluir ou não o estímulo verbal durante o procedimento de medição, principalmente para pacientes internados, é de extrema importância que o indivíduo avaliado esteja consciente de que uma medida de força depende, basicamente, de sua disposição em cooperar e reproduzir com eficiência o seu esforço máximo. Da mesma forma, é importante que o

avaliador esteja consciente de que, intencionalmente ou não, o tom e o volume da voz com que as instruções são transmitidas podem influenciar os resultados. Dessa forma, deve-se procurar usar sempre a mesma intensidade ao instruir o indivíduo que se pretende avaliar.

Número de aferições, duração da contração, períodos de descanso e pré-teste

Além do cálculo da média de várias leituras de DM, geralmente três, pode-se ainda usar a medida: (i) apenas de uma leitura; (ii) maior entre duas ou três leituras; (iii) média das duas maiores entre três leituras. Segundo Innes⁶, embora todas essas alternativas apresentem boa confiabilidade (coeficiente de correlação intraclassa >0,93), não foram observadas diferenças significantes entre elas, dando margem para que o avaliador escolha o método que lhe pareça mais adequado. Aparentemente, o procedimento mais comum observado nos estudos revisados é o registro da maior entre três leituras^{7,17,18,22,23}.

Sugere-se que um período de contração muscular contínua de 3 segundos seja o suficiente para registrar a máxima leitura de DM⁶. Além disso, é importante atentar para o fato de que, quando o objetivo é avaliar medidas repetidas de esforço, um período de descanso entre as aferições deve ser respeitado para evitar o efeito da fadiga muscular. A maioria dos estudos revisados utiliza um período de descanso entre as medidas de, no mínimo, 1 minuto^{7,17,19,24-26}. Porém, intervalos menores também foram observados: 2 a 5 segundos^{20,23}; 15 segundos¹⁸.

Em estudo realizado por Trossman & Li²⁷, nenhuma diferença significativa foi observada entre os períodos de descanso de 15, 30 e 60 segundos; embora tenha sido notada uma tendência de declínio nas medidas de força ao longo das aferições. O período de 60 segundos, entretanto, teve a menor percentagem de declínio da primeira para a última medida e o maior coeficiente de correlação intraclassa. Dessa forma, os autores recomendam um período de descanso entre as aferições de, no mínimo, um minuto.

Pré-testes na forma de medidas sub-máxima têm sido apontados como uma prática que, quando incorporada ao protocolo, resulta em melhor desempenho durante a aferição da DM⁶. Isso, possivelmente, está relacionado ao fato de que o indivíduo a ser avaliado pode não estar familiarizado com o aparelho. Dessa forma, se obtiveria melhor desempenho tendo a oportunidade de testar o dinamômetro e ajustar a melhor empunhadura, antes de realizar a medida de DM máxima propriamente dita.

Influência da dominância

Como a geração de força depende da área transversal do músculo e como esta depende do treinamento a que o músculo é submetido, é fácil imaginar que possam haver diferenças na DM entre os lados do corpo, dependendo da mão de preferência do indivíduo para realizar tarefas cotidianas, como comer, escrever e carregar pesos. Uma diferença de 10% na força entre a mão dominante e a não dominante foi descrita nos anos 50, derivada de uma pesquisa realizada no exército canadense, durante a Primeira Guerra Mundial¹³. Entretanto, estudos que se propuseram a quantificar a diferença de força por dominância, não confirmaram esta "regra de 10%".

Bechtol²¹, em 1954, relatou uma diferença de força entre a mão dominante e a não dominante que variava de 5,0% a 10,0% para a maioria dos indivíduos, podendo chegar a 30,0% em alguns indivíduos. Schmidt & Toews¹³, em 1970, apresentaram os resultados de DM obtidos de uma amostra composta por 1 128 homens e 80 mulheres, candidatas a vagas como empregados de uma fábrica de aço, e observaram que 97,0% dos homens estudados apresentaram diferença nos valores de força entre a mão dominante e a não dominante menor do que 10,0% (em média 3,2%). Além disso, 22,6% dos homens apresentaram maiores valores de DM para a mão não dominante e 5,4%, não apresentavam diferença significativa entre as mãos. Entre as mulheres, 20,0% apresentaram maiores valores de DM para a mão não dominante.

Outros estudos demonstraram diferença de DM significativa entre a mão dominante e a não dominante, mas somente para destros. Crosby et al.¹⁶ observaram, para a maioria dos indivíduos destros, diferença de 10,0% a mais na força da mão dominante em relação à não dominante. Entretanto, indivíduos canhotos, aparentemente, não apresentaram diferença de força entre as mãos. Na verdade, 50,0% dos canhotos e 9,0% dos destros apresentaram a mão dominante mais fraca, embora essa diferença não fosse estatisticamente significativa. Armstrong & Oldham²² observaram diferença estatisticamente significativa, mas clinicamente insignificante, de apenas 0,1% entre as medidas de força da mão dominante e não dominante para indivíduos destros e não observaram diferença significativa entre os indivíduos canhotos. Incel et al.¹⁹ observaram também diferença significativa para DM de indivíduos destros (8,2%), mas não para canhotos (3,2%).

A justificativa para essas observações seria dada, em parte, pelo fato de que indivíduos canhotos vivem em um mundo desenvolvido para pessoas destros. Dessa forma, seriam obrigados a utilizar a mão direita para realizar diversas tarefas cotidianas que, naturalmente, seriam feitas com a mão dominante¹⁶. Além disso, indivíduos canhotos possuem uma organização funcional dos dois hemisférios do cérebro mais simétrica, em contraste à lateralização cerebral (organização funcional desigual) comumente reconhecida em indivíduos destros¹⁸. Assim, isso poderia contribuir para um maior desenvolvimento da força na mão não dominante, diminuindo a diferença de força entre as mãos, em indivíduos canhotos.

Vale ressaltar ainda que, em estudo realizado por Hanten et al.¹⁸, os valores de DM observados para a mão direita foram significativamente maiores do que aqueles observados para a mão esquerda, independentemente da dominância. Esses resultados são concordantes com os resultados de outro estudo, realizado por Mathiowetz et al.¹⁴, no qual, primeiramente, se questionou a relevância em apresentar os resultados de DM por dominância. Neste estudo, 6 entre 8 medidas realizadas para avaliar a DM de indivíduos adultos

foram maiores para a mão direita, mesmo entre canhotos. Dessa forma, estes autores propõem que os valores de DM sejam apresentados não em termos de mão dominante e não dominante, mas simplesmente como DM direita e esquerda.

Outros fatores que influenciam os valores de DM

Há algumas outras características individuais que influenciam a medida de DM. Entre elas incluem-se a idade, o sexo, a massa corporal e a estatura. Segundo Innes⁶ tem-se observado que: (i) homens apresentam maiores valores de DM do que as mulheres, independentemente do instrumento utilizado; (ii) a DM tem relação curvilínea com a idade. Observa-se aumento na força conforme a idade aumenta, atingindo um pico entre os 30-45 anos. Subseqüentemente, observa-se declínio nesses valores para indivíduos com idade mais avançada; (iii) existe correlação positiva entre a DM, massa corporal e estatura, em indivíduos saudáveis até 98kg de massa corporal e 190cm de estatura. O autor não faz comentários a respeito dessa correlação a partir desses valores¹³.

A Figura 1, elaborada a partir de dados publicados por Luna-Heredia et al.²³, exemplifica alguns desses pontos em uma amostra de 517 indivíduos espanhóis com idade entre 17 e 97 anos. É interessante notar que a redução de DM é mais acentuada nos homens (23,7kg) do que nas mulheres (13kg). Além disso, a diferença de DM entre a mão dominante e a não dominante foi maior do que 10% até a faixa etária compreendida entre os 50-59 anos, para os homens; e em quase todas as faixas etárias para as mulheres. Verifica-se que essa diferença também diminui com a idade, tanto em homens quanto em mulheres.

O tipo de ocupação e as atividades de lazer praticadas por um indivíduo também são apontados como fatores que influenciam a DM^{16,21}. Segundo Innes⁶, estudos que especificamente examinaram o efeito do tipo de trabalho exercido pelos indivíduos na sua medida de DM têm

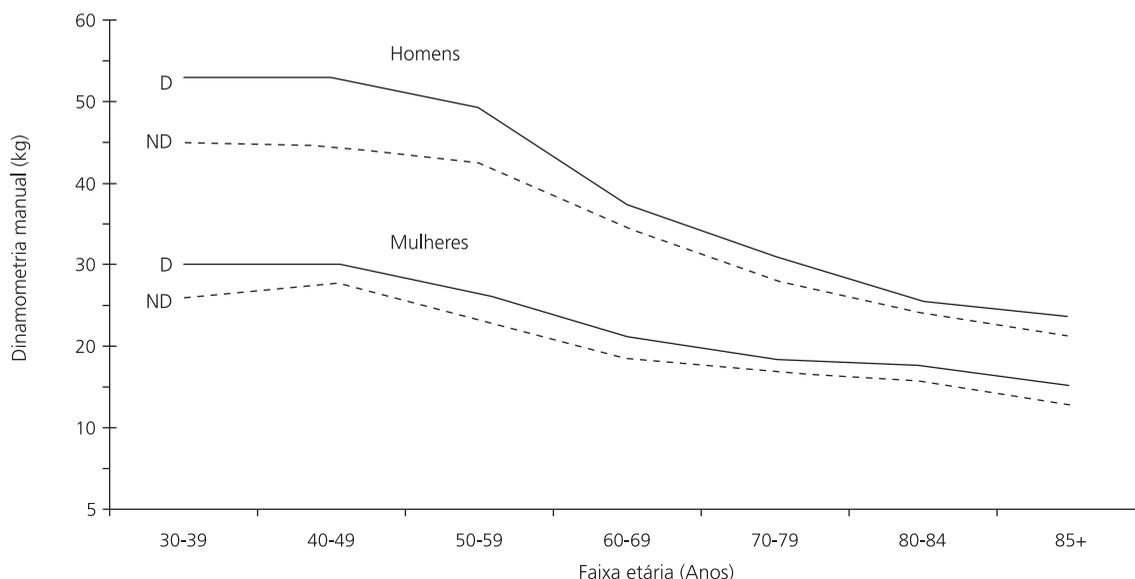


Figura 1. Valores médios de dinamometria manual (kg) em amostra de população espanhola na mão dominante (D) e não dominante (ND). Desenhado a partir de dados publicados por Luna-Heredia et al.²³.

Nota: D: Mão dominante; ND: Mão não-dominante.

observado resultados conflitantes. Alguns não observaram diferença na DM entre empregados de diferentes áreas de ocupação, enquanto outros observaram que indivíduos que realizavam trabalhos braçais pesados apresentaram maiores valores de DM, seguidos pelos que realizavam trabalhos braçais leves e empregados de escritório.

Atividades de lazer também foram sugeridas como um fator de influência na DM⁶ e até mesmo, mais importante do que a ocupação do indivíduo¹⁶. Contudo, essa premissa ainda não foi examinada a fundo, permanecendo apenas a sugestão de que estudos nesse sentido deveriam ser realizados para avaliar o real impacto dessas atividades na DM.

Valores de referência

A proposta de desenvolver valores de referência consiste em descrever valores típicos ou padrões normativos para uma dada característica, de uma determinada população considerada saudável. Para comparar os dados observados de um indivíduo com valores de referência existentes para uma determinada medida, é impor-

tante que sejam utilizados o mesmo instrumento de aferição e o mesmo protocolo de teste. Fatores a serem considerados ao comparar os resultados de uma medida com valores de referência são: a adequação do grupo de referência (por exemplo: sexo e idade), o número de indivíduos que compõem o grupo e quando e onde esses dados foram coletados.

O Quadro 1 ilustra as variações que ocorrem na DM entre indivíduos de diferentes nacionalidades, classificados em dois grandes grupos etários. Uma análise dos valores de referência indica que existe grande variação dos dados, de acordo com a nacionalidade dos indivíduos avaliados nos estudos. Essas diferenças podem ser devidas a diversos fatores como: (i) a etnia das populações de onde as amostras são extraídas (por exemplo: a maior diferença é observada entre os estudos da Austrália²⁸ e Nova Zelândia²⁹, países próximos geograficamente, mas que possuem populações de origem étnica distinta); (ii) possíveis diferenças nos modelos do dinamômetro utilizado; (iii) calibrações inadequadas dos instrumentos⁶; (iv) características da amostra (por exemplo: padrão

Quadro 1. Variações nos valores de referência para dinamometria manual (kg) para indivíduos (homens e mulheres) de 20 e 45 anos de diferentes nacionalidades.

País (referência)	Homens		Mulheres	
	D	ND	D	ND
Valores médios (kg) para indivíduos de 20 anos				
Austrália (Agnew & Maas, 1982) ²⁸	41,0	36,0	29,0	24,1
Estados Unidos (Mathiowetz et al., 1985) ¹⁴	54,9	47,4	31,9	27,7
Finlândia (Härkönen et al., 1993) ¹⁵	47,5	-	30,1	-
Nova Zelândia (Butler, 1997) ²⁹	58,8	59,9	35,6	32,7
Brasil (Caporrino et al., 1998) ¹⁷	42,8	40,7	30,0	27,2
Estados Unidos (Hanten et al., 1999) ¹⁸	54,4	49,9	31,3	28,6
Espanha (Luna-Heredia et al., 2005) ²³	-	-	-	-
Brasil (Schlüssel et al., 2008) ³⁰	45,8	43,8	27,2	25,6
Valores médios (kg) para indivíduos de 45 anos				
Austrália (Agnew & Maas, 1982) ²⁸	44,0	38,0	28,5	21,8
Estados Unidos (Mathiowetz et al., 1985) ¹⁴	49,8	45,7	28,2	25,4
Finlândia (Härkönen et al., 1993) ¹⁵	50,8	-	30,2	-
Nova Zelândia (Butler, 1997) ²⁹	51,6	49,0	35,1	33,2
Brasil (Caporrino et al., 1998) ¹⁷	44,2	39,6	32,4	29,1
Estados Unidos (Hanten et al., 1999) ¹⁸	54,9	48,5	33,1	29,9
Espanha (Luna-Heredia et al., 2005) ²³	53,0	44,5	30,2	27,9
Brasil (Schlüssel et al., 2008) ³⁰	43,2	41,6	27,0	25,7

Nota: D: Mão dominante; ND: Mão não-dominante.

de atividade física dos indivíduos); (v) representatividade da amostra.

É importante frisar, também, que apesar de as amostras desses estudos serem relativamente grandes, todos foram feitos com amostras de conveniência e podem, portanto, não representar as populações de seus países.

Utilização da DM na área da nutrição clínica

Diversos métodos e ferramentas para avaliação do estado nutricional clínico encontram-se disponíveis hoje. Porém, as baixas sensibilidade e especificidade de alguns desses instrumentos e procedimentos limitam sua utilidade como método de avaliação para determinados pacientes. Há décadas, a avaliação nutricional baseada na antropometria (massa corporal adequada, circunferência muscular do braço, dobras cutâneas) tem sido o método mais amplamente utilizado.

Embora desde o início dos anos 80 venha sendo demonstrada maior sensibilidade de testes funcionais do músculo esquelético à privação nutricional, do que a observada para parâmetros

de determinação da composição corporal³¹⁻³³, sua aplicação na rotina clínica, com o objetivo de auxiliar o acompanhamento nutricional, ainda é discreta. Recentemente, alguns estudos têm comparado parâmetros antropométricos e funcionais, reforçando a validade desses indicadores como um instrumento de avaliação nutricional^{23,34}.

Indicadores funcionais são de particular importância, uma vez que (i) estão correlacionados com complicações clínicas, (ii) a perda de função é um indicador de desnutrição, particularmente a perda de massa corporal magra, e (iii) a recuperação funcional ocorre em poucos dias em resposta ao início de suporte nutricional, em contraste com a recuperação da massa corporal magra, que pode não ocorrer durante a doença ou demorar semanas para se fazer notável durante o período de internação^{26,35}. Testes funcionais podem, dessa forma, ser os mais sensíveis e relevantes indicadores de alterações no estado nutricional em curto prazo, bem como da resposta ao suporte nutricional.

Nesse sentido, a DM é descrita como um dos mais sensíveis testes funcionais indicadores

de depleção protéica^{1,34} e tem sido utilizada como um indicador funcional de desnutrição para esses indivíduos. Para investigar esta hipótese, foi realizada uma busca por referências bibliográficas, utilizando os termos (*handgrip or hand-grip or hand grip*) and (*dynamometry*) and (*nutrition*), na base de dados *Medline*. Como critérios de inclusão, os artigos deveriam ter, ao menos, o resumo disponível; texto em português, inglês ou espanhol; e a amostra composta por humanos. Não foi aplicado nenhum filtro quanto ao ano de publicação, sexo ou idade dos participantes do estudo. Foram identificados 18 artigos, dentre os quais foram selecionados aqueles referentes à utilização da dinamometria manual como instrumento de avaliação do estado nutricional de pacientes internados. Adicionalmente, buscaram-se algumas das referências citadas nos artigos levantados.

O Quadro 2 apresenta uma síntese de artigos que apontam a DM como um indicador sensível de desnutrição. Alguns estudos apontam baixos valores de DM, apresentados por pacientes internados no período pré-operatório, como um forte indicador de complicações no pós-operatório. A DM é também um bom preditor para detectar o declínio no estado funcional durante o período de internação e, alguns autores, apontam ainda para um maior risco de mortalidade entre pacientes que apresentaram baixos valores desta medida^{8,10,35-42}. Os autores desses estudos concordam em apontar o comprometimento do estado nutricional como responsável pela perda de função do músculo esquelético e, conseqüentemente, pela perda de força manual.

É interessante observar que a metodologia inicialmente descrita por Klidjian et al.¹ é adotada na maioria desses estudos. Em sua proposta, valores de DM abaixo de 85% dos valores médios apresentados por uma amostra de indivíduos saudáveis, seriam um indicativo de comprometimento do estado nutricional do paciente internado.

Embora esta metodologia tenha demonstrado ser eficaz na predição de complicações no pós-operatório, para esses indivíduos, não há estudos que descrevam as bases fisiológicas para

estabelecer 85% do valor médio observado por uma amostra de indivíduos saudáveis como ponto de corte entre eutrofia e desnutrição. Além disso, os dados utilizados para comparação dos valores de DM, nesses estudos, são provenientes de amostras pequenas e, em sua maioria, de conveniência; não garantindo, portanto, adequada representatividade para as referidas populações estudadas. Por outro lado, não há base de dados suficiente, que permita estabelecer um outro ponto de corte a partir do qual um indivíduo de determinado sexo e faixa etária estaria classificado como desnutrido segundo seu valor de DM.

Muito da popularidade dos parâmetros antropométricos se deve à facilidade de obtenção e interpretação das medidas; e ao baixo custo para realização das aferições necessárias. A DM surge como uma alternativa tão ou mais simples, objetiva, de baixo custo e pouco invasiva. Contudo, o maior obstáculo à ampla adoção da DM como um instrumento de avaliação nutricional, consiste no fato de que não há uma definição a respeito de um ponto de corte a partir do qual um indivíduo poderia ser classificado como desnutrido.

Segundo Anjos⁴⁴, o uso de dados de uma distribuição de uma medida para determinada população não expressa, necessariamente, o estado de saúde dessa população. Porém, é razoável supor que valores de DM que classifiquem indivíduos, sem outros fatores influenciando seu desempenho muscular, nos percentis mais baixos de uma distribuição populacional para esta variável, possam ser indicativos de alguma redução funcional. Assim, o acompanhamento dessas medidas, para o paciente internado, pode auxiliar na detecção de alterações que não seriam captadas por outros parâmetros no curto prazo.

Para isso, é importante que seja desenvolvido um protocolo de teste padronizado, para que se obtenham medidas válidas. Como explicitado ao longo do texto, diversos fatores não nutricionais podem influenciar esta medida funcional entre os quais, a posição do indivíduo durante a aferição, sua mão de dominância, a motivação em exercer o seu máximo desempenho durante a medida de força, além do instrumento utilizado. Recomenda-

Quadro 2. Sumário descritivo dos estudos que apontam a dinamometria manual como um instrumento útil de avaliação do estado nutricional para pacientes hospitalizados.

Estudo	Amostra avaliada	Dinamômetro utilizado ¹	Principais resultados	Referência ²	Medida utilizada
Klidjian et al. ¹	102 pacientes (cirurgia abdominal)	NI	Valores de DM abaixo de 85% dos valores médios, observados em indivíduos saudáveis, foram considerados como indicador de alteração no estado nutricional capaz de prever complicações no pós-operatório em 87% dos pacientes que as desenvolveram.	284 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Griffith & Clark ³⁶	70 pacientes (cirurgia de grande porte)	NI	Valores de DM inferiores a 85% dos valores esperados, ajustados para sexo e idade, apresentaram menor valor preditivo (60% vs 65%), entretanto, maior sensibilidade (54% vs 39%) e especificidade (85% vs 60%) do que o INP para complicações no período pós-operatório.	NI	Maior valor entre 3 medidas
Webb et al. ³⁷	90 pacientes cirúrgicos	Mecânico	Valores de DM inferiores a 85% dos valores observados em indivíduos saudáveis, do mesmo sexo e idade, apresentaram alto valor preditivo, em termos de sensibilidade (74%) e especificidade (51%), para complicações em pacientes cirúrgicos no período pós-operatório.	247 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Kalfarentzos et al. ³⁸	95 pacientes cirúrgicos (câncer gastrointestinal)	<i>Single Spring</i>	Valores de DM inferiores a 85% dos valores observados por indivíduos saudáveis apresentaram maior valor preditivo (58% vs 32%), sensibilidade (78% vs 67%) e especificidade (86% vs 65%) do que o INP para complicações no período pós-operatório. A DM apresentou uma sensibilidade de 100% para mortalidade nestes pacientes.	240 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Hirsch et al. ³⁹	207 pacientes internados (127 cirúrgicos)	<i>Therapeutic Instruments</i>	Entre os indivíduos classificados como desnutridos segundo a ASG, a antropometria e a albumina sérica; a DM foi significativamente menor do que 85% dos valores apresentados por indivíduos saudáveis ($p<0,01$). Nenhum dos parâmetros avaliados foi útil em prever complicações no período pós-operatório.	400 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Guo et al. ⁴⁰	127 pacientes internados e 96 cirúrgicos (câncer oral e maxilofacial)	NI	Houve forte correlação positiva entre a DM e CMB (homens: $r=0,596$; $p<0,01$ e mulheres: $r=0,565$; $p<0,01$) e o ICE (homens: $r=0,661$; $p<0,01$ e mulheres: $r=0,601$; $p<0,01$). Pacientes que apresentaram valores de DM inferiores a 85% dos valores observados em indivíduos saudáveis, desenvolveram significativamente mais complicações do que aqueles que apresentaram 85% ou mais (15/31 [48%] vs 12/65 [18%], $p<0,004$).	203 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Qureshi et al. ⁸	128 pacientes em hemodiálise	<i>Harpenden</i>	Nos grupos de pacientes classificados como levemente e moderadamente/severamente desnutridos segundo ASG, os valores de DM foram significativamente menores do que os apresentados pelo grupo controle ($p<0,01$). Ao comparar os grupos de pacientes em hemodiálise, observou-se uma tendência linear de diminuição dos valores de DM conforme aumentava o grau de desnutrição ($p<0,001$).	44 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Lê Cornu et al. ⁹	82 pacientes cirúrgicos (transplante de fígado)	<i>Harpenden</i>	Valores de DM abaixo de 85% dos valores apresentados por indivíduos saudáveis, ajustados para sexo e idade, foram o único marcador do estado nutricional que esteve associado com a ocorrência de complicações no pós-operatório ($p=0,05$).	NI	Maior valor entre 3 medidas
Figueiredo et al. ³⁴	69 pacientes internados (hepatopatas terminais)	<i>Jamar</i>	A DM apresentou correlação positiva moderada com o IMC ($r=0,54$). Pacientes com valores de IMC no último quartil de distribuição para o sexo apresentaram menores valores de DM do que os demais ($p<0,001$). Na análise multivariada, observou-se que a CMB e a DM foram os melhores fatores preditivos de IMC. Valores de DM <30kg e CMB <23cm combinados apresentaram sensibilidade de 94% e valor preditivo positivo de 97% em identificar pacientes com depleção do estado nutricional segundo o IMC.	Valores preditos pelas equações propostas pelo NSDC	Média de 3 medidas

Quadro 2. Sumário descritivo dos estudos que apontam a dinamometria manual como um instrumento útil de avaliação do estado nutricional para pacientes hospitalizados.

Estudo	Amostra avaliada	Dinamômetro utilizado ¹	Principais resultados	Referência ²	continuação
					Medida utilizada
Figueiredo et al. ⁴¹	53 pacientes cirúrgicos (transplante de fígado)	<i>Jamar</i>	Menores valores de DM no período pré-operatório estiveram associados com maior tempo de permanência na UTI ($p < 0,01$), mas não com episódios de infecção pós-operatórios; rejeição do órgão transplantado e morte.	NA	Média de 3 medidas
Humphreys et al. ⁴²	50 pacientes internados (25 cirúrgicos)	<i>Therapeutic Instruments</i>	Observou-se correlação positiva fraca ($r = 0,36$; $p = 0,019$), entre a DM e alterações no valor da massa corporal durante a internação. Menores valores de DM foram observados entre pacientes classificados como "risco de desnutrição" e "severamente desnutridos", segundo a ASG; entretanto essas diferenças não foram estatisticamente significantes. A DM foi o melhor fator preditivo da evolução clínica ($\beta = 0,448$; $r^2 = 0,568$; $p < 0,001$), definida como um escore do estado funcional durante a internação.	400 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Álvares-da-Silva & da Silveira ⁴³	50 pacientes hepatopatas	<i>Kratos</i>	Usando a ASG como "padrão ouro", a DM apresentou sensibilidade de 100% e especificidade de 46% na detecção de desnutrição. A DM foi o único indicador do estado nutricional capaz de prever a ocorrência de complicações em um ano de seguimento ($p < 0,05$).	108 indivíduos saudáveis	Maior valor entre 3 medidas
Wang et al. ¹¹	233 pacientes nefropatas	<i>Smedley</i>	Tanto homens quanto mulheres que morreram ao longo do seguimento apresentaram menores valores de DM do que aqueles que permaneceram vivos ($p < 0,001$). Após ajuste para fatores de confusão, a DM foi um forte fator preditivo de morte por todas as causas (RC: 0,95; IC: 0,92-0,99; $p = 0,005$).	NA	Maior valor entre 3 medidas

¹ A informação sobre o instrumento de aferição da DM não foi fornecida de forma padronizada pelos estudos revisados. Essas informações estão disponíveis na forma de tipo e modelo do dinamômetro, quando possível; ²Indivíduos avaliados especificamente para fornecer dados de comparação. Siglas: ASG: avaliação subjetiva global; CMB: circunferência muscular do braço; DM: dinamometria manual; IC: intervalo de confiança de 95%; ICE: índice creatinina-estatura; IMC: índice de massa corporal; INP: índice nutricional prognóstico; NA: não se aplica; NI: não informado; NSDC: *the National Strength Database Consortium*; RC: razão de chances; UTI: unidade de Tratamento Intensivo.

se que as medidas de DM sejam feitas com os indivíduos de pé, quando possível, com os braços não flexionados e paralelos ao corpo, observando o maior valor entre três medidas repetidas e com um intervalo de, no mínimo, um minuto para cada medida.

Compreender o comportamento da variável DM na população seria um primeiro passo importante para estabelecer um ponto de corte a partir do qual indivíduos poderiam ser classificados como desnutridos com base nos valores apresentados para esta variável. Estabelecer curvas com valores de distribuição percentilar para DM,

obtidas de uma amostra de base populacional pode contribuir para esse entendimento³⁰. Além disso, tais curvas poderiam servir como base para comparações entre as medidas de DM observadas em populações de diferentes países ou grupos étnicos.

C O L A B O R A D O R E S

M.M. SCHLÜSSEL participou de todas as etapas do estudo, desde o planejamento da revisão, levantamento bibliográfico, seleção dos artigos, análise dos resultados até a elaboração final do artigo. L.A. ANJOS

participou do planejamento da revisão e contribuiu no levantamento bibliográfico e nas revisões de todas as versões do artigo. G. KAC contribuiu na orientação e revisão de todas as versões do artigo e na revisão da versão final.

REFERÊNCIAS

- Klidjian AM, Foster KJ, Kammerling RM, Cooper A, Karran SJ. Relation of anthropometric and dynamometric variables to serious postoperative complications. *BMJ*. 1980; 281(6245):899-901.
- Bohannon RW. Hand-grip dynamometry provides a valid indication of upper extremity strength impairment in home care patients. *J Hand Ther*. 1998; 11(4): 258-60.
- Bohannon RW. Adoption of hand-held dynamometry. *Percept Mot Skills*. 2001; 92(1):150.
- Bohannon RW. Dynamometer measurements of hand-grip strength predict multiple outcomes. *Percept Mot Skills*. 2001; 93(2):323-8.
- Stalenhoef PA, Diederiks JPM, Knottnerus JA, Kester ADM, Crebolder HFJM. A risk model for the prediction of recurrent falls in community-dwelling elderly: a prospective cohort study. *J Clin Epidemiol*. 2002; 55(11):1088-94.
- Innes E. Handgrip strength testing: a review of literature. *Aust Occup Ther J*. 1999; 46(3):120-40.
- Vaz M, Thangam S, Prabhu A, Shetty PS. Maximal voluntary contraction as a functional indicator of adult chronic undernutrition. *Br J Nutr*. 1996; 76(1):9-15.
- Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Lindholm B, et al. Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Kidney Int*. 1998; 53(3): 773-82.
- Le Cornu KA, McKiernan FJ, Kapadia SA, Neuberger JM2nd. A prospective randomized study of preoperative nutritional supplementation in patients awaiting elective orthotopic liver transplantation. *Transplantation*. 2000; 69(7): 1364-9.
- Teraoka T. Studies on the peculiarity of grip strength in relation to body positions and aging. *Kobe J Med Sci*. 1979; 25(1):1-17.
- Wang AY, Sea MM, Ho ZS, Lui S, Li PK, Woo J. Evaluation of handgrip strength as a nutritional marker and prognostic indicator in peritoneal dialysis patients. *Am J Clin Nut*. 2005; 81(1):79-86.
- Watanabe W, Owashi K, Kanauchi Y, Mura N, Takahara M, Ogino T. The short-term reliability of grip strength measurement and the effects of posture and grip span. *J Hand Surg [Am]*. 2005; 30(3):603-9.
- Schmidt RT, Toews JV. Grip strength as measured by the Jamar dynamometer. *Arch Phys Med Rehab*. 1970; 51(6):321-7.
- Mathiowetz V, Kashman N, Volland G, Weber K, Dowe M, Rogers S. Grip and pinch strength: normative data for adults. *Arch Phys Med Rehab*. 1985; 66(2):69-72.
- Härkönen R, Piirtomaa M, Alaranta H. Grip strength and hand position of the dynamometer in 204 Finnish adults. *J Hand Surg [Br]*. 1993; 18(1):129-32.
- Crosby CA, Wehbé MA, Mawr B. Hand strength: normative values. *J Hand Surg*. 1994; 19(4):665-70.
- Caporrino FA, Faloppa F, Santos JBG, Réssio C, Soares FHC, Nakachima LR, et al. Estudo populacional de força de preensão palmar com dinamômetro Jamar®. *Rev Bras Ortop*. 1998; 33(2): 150-4.
- Hanten WP, Chen WY, Austin AA, Brooks RE, Carter HC, Law CA, et al. Maximum grip strength in normal subjects from 24 to 64 years of age. *J Hand Ther*. 1999; 12:193-200.
- Incel NA, Ceceli E, Durukan PB, Erdem HR, Yorgancioglu ZR. Grip strength: Effect of hand dominance. *Singapore Med J*. 2002; 43(5):234-7.
- Boadella JM, Kuijer PP, Sluiter JK, Frings-Dresen MH. Effect of self-selected handgrip position on maximal handgrip strength. *Arch Phys Med Rehab*. 2005; 86(2):328-31.
- Bechtol CO. The use of a dynamometer with adjustable handle spacings. *J Bone Joint Surg Am*. 1954; 36(4):820-4; 32.
- Armstrong CA, Oldham JA. A comparison of dominant and nondominant hand strengths. *J Hand Surg [Br]*. 1999; 24(4):421-5.
- Luna-Heredia E, Martín-Peña G, Ruiz-Galiana J. Handgrip dynamometry in healthy adults. *Clin Nutr*. 2005; 24(2):250-8.
- Hillman TE, Nunes QM, Hornby ST, Stanga Z, Neal KR, Rowlands BJ, et al. A practical posture for hand grip dynamometry in the clinical setting. *Clin Nutr*. 2005; 24(2):224-8.
- Johansson CA, Kent BE, Shepard KF. Relationship between verbal command volume and magnitude of muscle contraction. *Phys Ther*. 1983; 63(8): 1260-5.
- Hornby ST, Nunes QM, Hillman TE, Stanga Z, Neal KR, Rowlands BJ, et al. Relationships between structural and functional measures of nutritional status in a normally nourished population. *Clin Nutr*. 2005; 24(3):421-6.

27. Trossman PB, Li PW. The effect of the duration of intertribal rest periods on isometric grip strength performance in young adults. *Occup Ther J Res.* 1989; 9:362-78.
28. Agnew P, Maas F. An interim Australian version of the Jebsen test of hand function. *Aust J Physiother.* 1982; 28(2):23-9.
29. Butler M. Grip strength: a comparative study. *New Zealand J Occup Ther.* 1997; 48:5-12.
30. Schlüssel MM, Anjos LA, Vasconcellos MTL, Kac G. Referente values of handgrip dynamometry of health adults: A population-based study. *Clin Nutr.* 2008; doi: 10.1016/j.clin.2008.04.004.
31. Lopes J, Russell DM, Whitwell J, Jeejeebhoy, KN. Skeletal muscle function in malnutrition. *Am J Clin Nutr.* 1982; 36(4):602-10.
32. Russell DM, Leiter LA, Whitwell J, Marliss EB, Jeejeebhoy KN. Skeletal muscle function during hypocaloric diets and fasting: a comparison with standard nutritional assessment parameters. *Am J Clin Nutr.* 1983; 37(1):133-8.
33. Jeejeebhoy KN. Muscle function and nutrition. *Gut.* 1986; 27(S1):25-39.
34. Figueiredo FA, Dickson ER, Pasha TM, Porayko MK, Therneau TM, Malinchoc M, et al. Utility of standard nutritional parameters in detecting body cell mass depletion in patients with end-stage liver disease. *Liver Transpl.* 2000; 6(5):575-81.
35. Russell DM, Prendergast PJ, Darby PL, Garfinkel PE, Whitwell J, Jeejeebhoy KN. A comparison between muscle function and body composition in anorexia nervosa: the effect of refeeding. *Am J Clin Nutr.* 1983; 38(2):229-37.
36. Griffith CDM, Clark RG. A comparison of the 'Sheffield' prognostic index with forearm muscle dynamometry in patients from Sheffield undergoing major abdominal and urological surgery. *Clin Nutr.* 1984; 3(3):147-51.
37. Webb AR, Newman LA, Taylor M, Keogh JB. Hand grip dynamometry as a predictor of postoperative complications reappraisal using age standardized grip strengths. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1989; 13(1):30-3.
38. Kalfarentzos F, Spiliotis J, Velimezis G, Dougenis D, Androulakis J. Comparison of forearm muscle dynamometry with nutritional prognostic index, as a preoperative indicator in cancer patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1989; 13(1):34-6.
39. Hirsch S, De la Maza MP, Obaldia N, Espinoza J, Hübner C, Petermann M, et al. Fuerza muscular: um indicador de estado nutricional. *Rev Med Chile.* 1992; 120(6):615-20.
40. Guo C, Zhang W, Ma D, Zhang K, Huang J. Hand grip strength: an indicator of nutritional state and the mix of postoperative complications in patients with oral and maxillofacial cancers. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1996; 34(4):325-7.
41. Figueiredo F, Dickson ER, Pasha T, Kasparova P, Therneau T, Malinchoc M, et al. Impact of nutritional status on outcomes after liver transplantation. *Transplantation.* 2000; 70(9):1347-52.
42. Humphreys J, De la Maza P, Hirsch S, Barrera G, Gattas V, Bunout D. Muscle strength as a predictor of loss of functional status in hospitalized patients. *Nutrition.* 2002; 18(8):616-20.
43. Álvares-da-Silva MR, Silveira TR. Comparison between handgrip strength, subjective global assessment, and prognostic index in assessing malnutrition and predicting clinical outcome in cirrhotic outpatients. *Nutrition.* 2005; 21(2):113-7.
44. Anjos LA. *Obesidade e saúde pública.* Rio de Janeiro: Fiocruz; 2006.

Recebido em: 9/4/2007
Aprovado em: 15/4/2008

Experimentação animal: ética e legislação brasileira

Animal experimentation: ethics and the Brazilian legislation

Angélica Heringer de REZENDE¹
Maria do Carmo Gouveia PELUZIO^{1,2}
Céphora Maria SABARENSE¹

RESUMO

Este artigo trata da experimentação animal sob os pontos de vista da ética e da política, fazendo uma abordagem histórica do tema no cenário legislativo brasileiro. Os animais de laboratório desempenharam um papel decisivo para o desenvolvimento da ciência e continuam tendo um papel essencial na pesquisa biomédica, no entanto, sua utilização sempre despertou manifestação de diferentes naturezas. Apesar de as primeiras incursões na pesquisa experimental terem sido iniciadas há, pelo menos, quatro séculos, é incipiente o estabelecimento de normas que regulamentem a utilização de animais na América Latina. No Brasil, embora não haja uma lei específica em relação a essa utilização, algumas iniciativas já foram tomadas. As discussões sobre este tema continuam ocorrendo, contudo, a demora para definir uma lei que regulamente o uso de animais em pesquisa tem dificultado a padronização de procedimentos necessários à sistematização dos conhecimentos desenvolvidos no País.

Termos de indexação: Ética. Experimentação animal. Legislação.

ABSTRACT

This article covers animal experimentation under the viewpoint of ethics and politics, and does a historical review of the theme in the Brazilian legislative scenario. Laboratory animals play a decisive role in the development of science and continue to have an essential role in biomedical research. However, their use always provoked manifestations of different natures. Even though the first incursions in experimental research began at least four centuries ago, the establishment of norms that regulate the use of animals in Latin America is incipient. In Brazil, although a specific law regarding this use does not exist, some initiatives have already been taken. The discussions on this theme continue to happen, however the delay to define a law that regulates the use of animals in research has hindered the standardization of procedures that are necessary to the systematization of the knowledge produced in the country.

Indexinh terms: Ethics. Animal experimentation. Legislation.

¹ Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Nutrição e Saúde. Av. P.H. Rolfs, s/n., Campus Universitário, 36571-000, Viçosa, MG, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: C.M. SABARENSE. E-mail: <cephora@ufv.br>.

² Universidade Federal de Viçosa, Biotério Central. Viçosa, MG, Brasil.

INTRODUÇÃO

O conhecimento acerca dos processos biológicos e suas interações para a manutenção da vida está crescendo em proporção sem precedentes. Com enorme gama de ferramentas, tem sido possível manipular a vida e criar animais transgênicos, *knockouts* e clones, anunciando avanços muito maiores aos já vistos anteriormente para o desenvolvimento científico. Como resultado, existe uma preocupação entre cientistas e a população em geral sobre a segurança do uso dessas tecnologias e os efeitos que elas teriam sobre a dignidade de homens e animais, assim como o seu impacto sobre o meio ambiente¹.

O que se conhece hoje como ciência experimental teve início em 1620, com Francis Bacon, que já propunha o método científico experimental. Avanços fundamentais para o conhecimento sobre a biologia dos mamíferos puderam ser alcançados a partir de experimentos com animais².

A abordagem da utilização de animais em pesquisa experimental tem sido relacionada aos seus aspectos técnicos, éticos e políticos. Do ponto de vista técnico, a adequação dos modelos animais às metodologias utilizadas em pesquisa, bem como os benefícios decorrentes da utilização de modelos animais específicos em relação ao estudo de determinadas doenças humanas, têm sido questionados. Sob o aspecto ético, a relação entre os homens e os animais é vista como uma questão de moralidade. Já sob a visão política ou jurídica, essa interação é vista segundo a regulamentação de leis que dizem respeito também à experimentação animal³.

Este artigo trata da experimentação animal sob os pontos de vista da ética e da política, fazendo uma abordagem histórica do tema no cenário legislativo brasileiro.

Por que utilizar animais em pesquisa?

A utilização de animais para a pesquisa de doenças humanas sempre despertou reflexões e opiniões favoráveis e contrárias.

O avanço da fisiologia e da fisiopatologia foi permitido pela experimentação animal, e muitas inovações incorporadas aos cuidados em saúde humana poderiam não ter sido possíveis sem ela⁴⁻⁶.

Os experimentos devem ser planejados para evitar estresse, dor ou sofrimento desnecessário aos animais. A escolha dos delineamentos experimentais deve selecionar aqueles que utilizam menor número de animais, que envolvem menor grau de sensibilidade neurofisiológica, ou seja, causam menor dor, sofrimento, estresse e prejuízos duradouros⁷.

Em grande parte os resultados da experimentação animal justificam a sua utilização em pesquisa. Assim, do ponto de vista ético, ainda que esses resultados não sejam significativos, a sua comunicação é crucial⁸. Resultados válidos e precisos fornecem informações úteis para a decisão sobre os tratamentos que devem ser levados adiante em ensaios clínicos^{6,9}. Vários métodos já estão disponíveis para avaliar a importância da pesquisa com animais, e, talvez, o melhor modo de produzir evidências seja a revisão sistemática dos estudos com animais^{4,5,10}.

Debates éticos

Cientistas que estudam as reações dos animais reconhecem que eles possuem consciência e memória e são capazes de sofrer, sentir dor, ter medo e lutar tenazmente pela vida¹¹.

Os debates públicos e políticos sobre a experimentação animal existem oficialmente desde 1876, quando a primeira sociedade anti-viviseção foi formada em Londres¹².

Segundo Matfield⁹, em princípio, as pessoas aceitam a necessidade de utilização de animais em pesquisas, e não acreditam ou sabem que sua condução é feita dentro de padrões éticos e de bem-estar animal. Esta constatação evidencia a necessidade de levar ao conhecimento público os códigos éticos estabelecidos para a escolha do método a ser, ou já empregado, assim como a

evolução dos resultados obtidos e que propiciaram avanços importantes para o conhecimento e tratamento, por exemplo, do *Diabetes mellitus* tipo 2¹³.

A principal motivação para a condução de pesquisas é encontrar soluções para o tratamento efetivo ou para a prevenção das doenças que continuam a flagelar os seres humanos, por exemplo, a doença de Chagas. É preciso ter em conta que a ética assume dois aspectos: o positivo, derivado do empenho em prevenir ou aliviar o sofrimento dos seres humanos; e o aspecto negativo, que já demonstrou que, em várias pesquisas, os animais foram expostos ao sofrimento².

A partir da investigação crítica dos princípios e conceitos fundamentais incluídos no debate moral, a ética pode fornecer subsídios para a condução da pesquisa científica. Além disso, e em primeiro lugar, para informar à comunidade científica sobre a moralidade das ações científicas alertando-a que centros de pesquisa não aceitam mais que seja ignorada esta questão do desconhecimento e/ou ausência de ética nos ensaios com animais.

Desde a década de 1970, muita atenção foi dispensada para o estabelecimento de padrões bioéticos internacionais comuns. A comunidade científica demonstrou e iniciou a adoção de padrões para o tratamento destinados à experimentação científica. A partir de 1990, muitas sociedades científicas e de profissionais da área biomédica estabeleceram Comitês de Ética, cujos objetivos incluem a padronização de inspeções da experimentação animal¹⁴. Além disso, periódicos de todo o mundo rejeitam artigos que omitem a informação sobre a aprovação ou não da pesquisa por comitês de ética locais⁵.

A utilização de animais em pesquisa é alvo de debates duros entre cientistas que conduzem experimentos com animais e grupos de ativistas de proteção aos direitos dos animais. Embora sejam evidentes os benefícios desse tipo de experimentação, a questão é, como proteger os animais e evitar sua utilização em experimentos desnecessários, e, finalmente, como aliviar os sofrimentos sem comprometer as respostas obtidas

nos ensaios. Este problema permanece válido e controverso para a ciência, a sociedade e a política⁷.

Muitas experiências têm ocorrido com animais de forma claramente mal planejada e mal conduzida^{4,15}, portanto, existe um grau variado de conhecimento, ética, coragem e vontade entre a comunidade científica.

A primeira contribuição teórica significativa para minimizar os aspectos éticos negativos da experimentação animal foi feita por Russel & Burch, em 1959². Em sua publicação *The Principles of Humane Experimental Technique*¹⁶, os autores propuseram o conceito dos três "R" (*Reduction, Replacement e Refinement*) na experimentação animal, argumentando sobre a necessidade de buscar: 1) reduzir o número de animais usados em experimentos até um número consistente com a obtenção dos objetivos do estudo; 2) substituir os experimentos com animais por outros tipos de estudos, quando os objetivos científicos puderem ser alcançados sem a sua utilização; 3) refinar o modo de condução dos experimentos científicos para assegurar o mínimo possível de sofrimento ou estresse para os animais envolvidos na pesquisa⁸. Assim, devido ao seu embasamento em fundamentos científicos aceitáveis, a implementação desses princípios é o objetivo da legislação referente à experimentação animal em vários locais do mundo, como os Estados Unidos, a União Européia e, parcialmente, no Brasil.

Legislação brasileira

Após a II Guerra Mundial¹⁷ a conscientização sobre questões éticas relacionadas à pesquisa tornou-se evidente e teve no Código de Nuremberg e na Declaração de Helsinque dois grandes marcos. O Código de Nuremberg¹⁸ determinou que os resultados da experimentação com animais sejam utilizados como base para os experimentos com seres humanos. Nesse aspecto, a Declaração de Helsinque¹⁹ reafirma a posição do Código de Nuremberg e vai além, quando reconhece que devem ser tomados cuidados na

condução de experimentos que possam afetar o meio ambiente e o bem-estar dos animais utilizados para a pesquisa.

O princípio do direito à vida também se aplica aos animais, cujos direitos devem ser adequadamente protegidos. A legislação de proteção aos animais e a questão da experimentação animal variam entre os países e dependem muito dos valores culturais vigentes¹⁶.

No Brasil, a primeira preocupação manifestada legalmente sobre o bem-estar dos animais foi o Decreto Federal nº 24.645, de 1934²⁰. O decreto estabeleceu multas e prisão aos que praticassem atos de abuso ou crueldade em qualquer animal, reconhecendo timidamente as práticas efetuadas com interesse científico.

Três décadas depois, a Lei Federal nº 6.638, de 1979²¹ voltou à questão do uso de animais em pesquisa e estabeleceu normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais. A lei permitiu a prática de vivissecção em todo o território nacional, estabeleceu critérios para sua execução, e pontificou a necessidade de registro dos biotérios e centros de pesquisa e uso obrigatório de anestésicos durante os procedimentos. No entanto, a lei não foi regulamentada e, dessa forma, não pode ser aplicada.

Na Constituição Federal de 1988²², o artigo 225, parágrafo 1º, inciso VII, dispõe sobre sanções penais e administrativas a quem submeter animais a atos de crueldade, independentemente da obrigação de reparo dos danos causados. O artigo, no entanto, não avançou quanto à regulamentação da utilização didático-científica dos animais.

Em 1991, procurando orientar a conduta dos profissionais envolvidos com a utilização de animais em pesquisa, o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) divulgou 12 artigos intitulados *Princípios Éticos na Experimentação Animal*²³. O documento surgiu para suprir a ausência de uma lei que protegesse os profissionais envolvidos com esta prática e regulamentasse o uso de animais em experimentos.

Atualmente em vigor, a Lei de Crimes Ambientais, Lei nº 9.605, de 1998²⁴, regulamentada

pelo Decreto nº 3.179, de 1999, prevê, no artigo 32, parágrafos 1º e 2º, detenção de três meses a um ano e pagamento de multa a quem realizar experiência dolorosa ou cruel em animal vivo, ainda que com fins didáticos ou científicos, quando existirem recursos alternativos. Em caso de morte do animal, a pena é aumentada de um sexto a um terço. Esta lei adota parcialmente as noções contidas nos três "R"¹¹ e, mesmo que de forma inadequada, é a única vigente no País que pode ser aplicada à prática da experimentação animal²⁵.

Existem algumas propostas legislativas em curso, como o Projeto de Lei nº 1.153, de 1995²⁶, que estabelece procedimentos para o uso científico dos animais. A proposta prevê a criação do Sistema Nacional de Controle de Animais de Laboratório (SINALAB), ao qual compete o licenciamento de projetos ou atividades que envolvam animais, o cadastramento e o credenciamento de instituições públicas e privadas e a aplicação de penalidades administrativas previstas na lei. Cada instituição credenciada pelo SINALAB deve formar uma Comissão Institucional de Controle de Biotérios (CICB).

Ao Projeto de Lei nº 1.153, de 1995, foi anexado o Projeto de Lei nº 3.964, de 1997²⁷, que dispõe sobre a criação e o uso de animais para atividades de ensino e pesquisa, limitando-os aos estabelecimentos de ensino superior ou técnico de 2º grau. O Projeto de Lei prevê a criação do Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e exige, como condição indispensável para o credenciamento das instituições, a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUA).

Ambos os projetos de lei foram aprovados pela Comissão de Ciência e Tecnologia, Comunicação e Informática na forma de um substitutivo²⁸. O documento reestruturado restringe a utilização de animais em atividades educacionais a estabelecimentos de ensino técnico da área biomédica e a estabelecimentos de ensino superior, assim como limita a sua aplicação aos animais do Filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*.

Em 2003, o substitutivo foi aprovado com restrições pela Comissão de Defesa do Consumidor, Meio Ambiente e Minorias, tendo sido recomendado o aperfeiçoamento das proposições, a fim de incorporar padrões internacionais de respeito aos animais. Existe ainda a recomendação do funcionamento do CONCEA como órgão colegiado normativo, estando a função executiva e fiscalizadora subordinada ao Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Prevê também a possibilidade de descentralização, incluindo a participação dos Estados, de forma a facilitar a implementação da lei e a fiscalização.

Apesar da morosidade dos trâmites legislativos, a comunidade científica tem buscado viabilizar a análise dos projetos de pesquisa experimental que utilizam animais. Existem Comitês de Ética em Pesquisa com Animais instalados em várias instituições de pesquisa em diferentes regiões do Brasil, que funcionam de acordo com normas ético-científicas rígidas, efetivas e capazes de validar futuras publicações em periódicos indexados nacionais e internacionais^{5,29}.

CONCLUSÃO

Os benefícios alcançados com a utilização de animais em pesquisa são inegáveis. No entanto, é válido tratar de questões referentes à condução deste tipo de pesquisa, os princípios éticos a serem adotados e seguidos, e, finalmente refletir sobre a validade dos seus resultados. A incorporação do Princípio dos três "R" nas etapas de planejamento da pesquisa com animais oferece maior divulgação dos padrões de conduta da experimentação animal no meio científico e para a população. Cabe a cada país a regulamentação de leis, que orientem a utilização de animais em pesquisa e que estejam em conformidade com os padrões científicos internacionais. No Brasil, ainda está sendo esperada uma regulamentação definitiva neste campo, o que tem dificultado a padronização de procedimentos e, sobretudo, tem atrasado o cumprimento das normas éticas (e leis) na pesquisa com animais.

AGRADECIMENTO

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de Bolsa a Angélica Heringer de Rezende.

COLABORADORES

A.H. REZENDE participou do grupo de discussão sobre experimentação animal, realizou o levantamento bibliográfico nas bases de dados disponíveis e participou diretamente da elaboração do artigo. M.C.G. PELUZIO fez parte das reuniões de discussão para definição do tema e sobre as normas vigentes em experimentação animal. C.M. SABARENSE coordenou o grupo de discussão sobre experimentação animal, participou diretamente da seleção do conteúdo, das referências e da elaboração do artigo.

REFERÊNCIAS

1. Purchase IFH. Ethical issues for bioscientists in the new millenium. *Toxicol Letters*. 2002; 127(3): 307-13.
2. Matfield M. The ethics of animal research. *Exp Anim*. 1996; 45(3):209-15.
3. Paixão RL. Experimentação animal: razões e emoções para uma ética [tese]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz; 2001.
4. Savla U. Responsible conduct in animal research. *J Clin Invest*. 2003; 112(10):1456.
5. Aguilar-Nascimento JE. Fundamentals steps in experimental design for animal studies. *Acta Cir Bras*. 2005; 20(1):1-7.
6. Roberts I, Kwan I, Evans P, Haig S. Does animal experimentation inform human healthcare? Observations from a systematic review of international animal experiments on fluid resuscitation. *Br Med J*. 2002; 324(23):474-6.
7. Matthiessen L, Lucaroni B, Sacher E. Towards responsible animal research. *Eur Mol Biol Org Rep*. 2003; 4(2):104-7.
8. Puopolo M. Bioestatistical approaches to reducing the number of animals used in biomedical research. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. 2004; 40(2):157-63.
9. Matfield M. Talk to the people. *Forum Trends Neurosci*. 2002; 25(3):166-7.

10. Pound P, Ebrahim S, Sandercock P, Bracken MB, Roberts I. Where is the evidence that animal research benefits humans? *Br Med J*. 2004; 328(28):514-7.
11. Marques GM, Miranda ML, Caetano CER, Biondo-Simões MLP. Rumo à regulamentação da utilização de animais no ensino e na pesquisa científica no Brasil. *Acta Cir Bras*. 2005; 20(3):262-7.
12. Gannon F. Animals on the menu. *Eur Mol Biol Org Rep*. 2002; 3(7):589.
13. Yokoi N, Hayashi C, Fujiwara Y, Wang H, Seino S. Genetic reconstitution of autoimmune type 1 diabetes with two major susceptibility genes in the rat. *Diabetes*. 2007; 56(2):506-12.
14. Alleva E, Scattoni ML. Introductory keynote. The state of the art in animal experimentation. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. 2004; 40(2): 151-5.
15. Schnaider TB, Souza C. Aspectos éticos da experimentação animal. *Rev Bras Anestesiol*. 2003; 53(2):278-85.
16. Russel WMS, Burch RL, editores. *The principle of human experimental technique*. London: Methuen; 1959.
17. Weibel ER. The physiologist's ethical dilemmas. *News Physiol Sci*. 2002; 17(1):43-6.
18. Código de Nuremberg. Nuremberg: Tribunal Internacional de Nuremberg; 1947.
19. Declaração de Helsinque II. Adotada na 18ª Assembléia Médica Mundial, Helsinque, Finlândia (1964) e revista na 29ª Assembléia Mundial de Médicos, Tóquio, Japão (1975): Associação Médica Mundial; 1964-1975.
20. Brasil. Decreto-Lei nº 24.645, de 10 de Julho de 1934. *Diário Oficial da União*. 1934 14 jul.
21. Brasil. Lei nº 6.638. Estabelece normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais e determina outras providências. *Diário Oficial da União*. 1979 10 maio.
22. Brasil. Constituição da República Federativa do Brasil. Capítulo VI, Do Meio Ambiente, Art.225, § 1º, alínea VII. Promulgada em 5 de outubro de 1988. Brasília; 1988.
23. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA. Princípios éticos na experimentação animal. [acesso 2006 abr 5]. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>>.
24. Brasil. Lei nº 9.605. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*. 1998 13 fev.
25. Cardoso CVP. Leis referentes à experimentação animal no Brasil: situação atual. [acesso 2006 maio 20]. Disponível em: <<http://www.cobea.gov.br/etica.htm#5>>.
26. Brasil. Projeto de Lei nº 1.153. Regulamenta o inciso VII, do parágrafo 1º do artigo 225, da Constituição Federal, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providencias. Brasília; 1995.
27. Brasil. Projeto de Lei nº 3.964. Dispõe sobre criação e uso de animais para atividades de ensino e pesquisa. Brasília; 1997.
28. Brasil. Câmara Federal. Relatório do Deputado Federal Fernando Gabeira, de 25 de junho de 2003, na Comissão de Defesa do Consumidor, Meio Ambiente e Minorias, acerca dos Projetos de Lei nº 1.153 e 3.964 e seu substitutivo. Brasília; 2003.
29. Schanaider A, Silva PC. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir Bras*. 2004; 19(4):441-7.

Recebido em: 8/5/2007

Versão final reapresentada em: 13/11/2007

Aprovado em: 11/2/2008

Atualizações sobre β -hidroxi- β -metilbutirato: suplementação e efeitos sobre o catabolismo de proteínas

New findings on β -hydroxy- β -methylbutyrate: supplementation and effects on the protein catabolism

Everson Araújo NUNES¹
Luiz Cláudio FERNANDES¹

RESUMO

O β -hidroxi- β -metilbutirato, metabólito do aminoácido leucina, vem sendo utilizado como suplemento alimentar, em situações específicas, com o intuito de aumentar ou manter a massa isenta de gordura. Os relatos dos efeitos do β -hidroxi- β -metilbutirato em estudos recentes fizeram crescer as expectativas sobre sua utilização em casos patológicos. Também foram demonstrados melhores resultados, quando da sua ingestão, no treinamento de força em indivíduos iniciantes e em idosos. Em humanos o β -hidroxi- β -metilbutirato tem sido usado como agente anti-catabólico, e em modelos animais foi demonstrado ser eficaz em inibir a atividade de vias proteolíticas em células musculares de indivíduos caquéticos *in vitro* e *in vivo*. Os mecanismos participantes desses processos envolvem: a inibição da atividade do sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente, a inibição de vias de sinalização com participação da proteína quinase C-alfa e a diminuição da concentração citoplasmática do fator nuclear - kappa B livre, eventos relacionados ao decréscimo da proteólise em células musculares.

Termos de indexação: Leucina. Metabolismo. Suplementação alimentar.

ABSTRACT

The leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate has been used as a nutritional supplement in specific situations to prevent losing or to increase lean mass. Recent studies showed interesting results of β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation in certain disease states. Better results have also been demonstrated when it is taken by starters or old individuals doing strength training. In humans, β -hydroxy- β -methylbutyrate has been used as an anticatabolic agent and in animal models it has been demonstrated to be effective in inhibiting the activity of the proteolytic pathways in muscle cells of extremely weak individuals in vivo and in

¹ Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Departamento de Fisiologia, Laboratório de Metabolismo Celular, Setor de Ciências Biológicas. Caixa Postal: 190-31, Jd. Américas, 81531-980, Curitiba, PR, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: E.A. NUNES. E-mail: <eanunes@ufpr.br>.

vitro. The mechanisms that participate in this process involve: inhibition of the ATP-ubiquitin-proteasome pathway, inhibition of the signalization pathways involving protein kinase C- α and reduction of the cytoplasmatic concentration of free nuclear factor kappa-B, events that are associated with the reduction of proteolysis in muscle cells.

Indexing terms: Leucine. Metabolism. Supplementary feeding.

INTRODUÇÃO

Há várias categorias de suplementos nutricionais comercializadas atualmente. Entre elas estão aquelas para ganho de massa muscular, perda de gordura corporal, os energéticos etc.¹. Nissen & Sharp² apontaram o β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) como um dos suplementos comercializados com eficácia apoiada por vários estudos publicados. Seu mecanismo de ação proposto é o efeito anti-catabólico, o qual, como consequência, proporciona aumento da massa isenta de gordura. Em humanos foram obtidos resultados variados, quando da suplementação com HMB em condições de estresse patológico, de exercício ou de mudanças fisiológicas decorrentes do envelhecimento, cujas respostas diferenciadas foram dependentes do protocolo experimental utilizado.

Influência da leucina e seus metabólitos sobre o metabolismo protéico

Entre as variáveis que induzem mudanças no metabolismo das células e nos tecidos corporais estão o exercício físico, o envelhecimento e o desenvolvimento de doenças. Além destas muitos componentes dietéticos possuem efeitos fisiológicos. De longa data sabe-se que a ingestão de refeições contendo proteínas promove aumento na taxa de síntese protéica corpórea total, bem como a supressão da degradação protéica³⁻⁵. Este efeito anabólico pode ser atribuído, em parte, ao aumento do aporte de aminoácidos para a musculatura esquelética. Adicionalmente, aminoácidos específicos podem funcionar como moléculas sinalizadoras interferindo no *turnover* protéico. Em particular, o aminoácido de cadeia ramificada leucina, possui a habilidade de estimular, independentemente, a síntese protéica *in vitro*. A leucina

regula o *turnover* protéico por mecanismos que não envolvem somente sua participação como precursor para síntese protéica e sua participação ocorre de maneira independente a qualquer alteração no quadro hormonal⁶⁻⁸.

O efeito regulatório da leucina em estimular a síntese e/ou inibir a degradação protéica, em tecidos isolados, tem sido confirmado em vários estudos⁶. No entanto, o mecanismo pelo qual esse aminoácido altera o *turnover* protéico ainda não está bem descrito. Inibidores da transaminação da leucina inibem seu efeito sobre o catabolismo protéico, mas não afetam seu efeito estimulatório sobre a síntese protéica. Isto sugeriu, fortemente, que o efeito da leucina sobre a degradação protéica é mediado por algum metabólito. Um metabólito da leucina, candidato a promotor do efeito inibitório sobre o catabolismo protéico, é o β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) ao lado do α -ceto-isocaproato (CIC ou KIC)^{9,10}. Ostaszewski et al.⁹ incubaram músculos de aves e ratos na presença de HMB e encontraram aumento da síntese protéica em 20% e redução do catabolismo protéico em, aproximadamente, 80%. Alguns autores propõem que, em situações de estresse, tanto animais quanto humanos não sintetizam quantidades de HMB necessárias para suprir a demanda tecidual¹¹.

Suplementação com CaHMB

Doses utilizadas, segurança e efeitos adversos

O sal de cálcio do ácido β -hidroxi- β -metilbutírico forma um monohidrato com fórmula química $\text{Ca}(\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (CaHMB monohidrato), no qual o elemento cálcio corresponde a 13,7% do peso molecular. Este composto, quando colocado em

água, dissolve-se rapidamente formando uma solução saturada a 27% (p/p) a 20°C¹². A adição de HMB a suplementos ou a comercialização do produto puro se faz, então, na forma de CaHMB monohidrato, o qual pode ser encontrado em formulações em pó, cápsulas e adicionado a barras protéicas ou substitutas de refeição.

Em sua maioria, os trabalhos envolvendo suplementação com HMB utilizam doses entre 1-3g/indivíduo/dia², porém há estudos com doses de 6g/dia ou ainda ministradas de acordo com o peso dos voluntários. Exemplos de doses encontradas em alguns estudos podem ser 38mg/kg/dia e 76mg/kg/dia¹³⁻¹⁵. Estes valores correspondem a, aproximadamente, 3 e 6g/dia para indivíduos com peso próximo a 80kg. Em estudo que demonstrou efeito positivo da suplementação com HMB sobre a massa isenta de gordura, a utilização de 6g/dia não promoveu resultado significativamente diferente, quando comparado ao que usou dose de 3g/dia¹⁴.

Nas doses preconizadas na literatura, a suplementação com HMB não trouxe nenhum efeito colateral deletério aparente¹⁵. Estudos em modelos animais não demonstraram efeito tóxico com doses maiores que 100g/dia. Recentemente, Baxter et al.¹⁶ demonstraram, em estudo com ratos, que dietas com até 5% de HMB por 91 dias não provocaram mudança em nenhum dos 18 parâmetros hematológicos nem nos 17 parâmetros bioquímicos analisados, assim como não provocou alteração perceptível nos pesos e na aparência dos principais órgãos e algumas glândulas dos indivíduos de ambos os sexos. A suplementação de HMB em humanos não causou nenhum efeito colateral após suplementação com doses altas por mais de 7 semanas¹¹. Estudos clínicos por períodos de até 12 semanas não demonstraram nenhum potencial efeito tóxico^{11,17}. Entre estes estudos foram realizados levantamentos com questionários objetivando a pesquisa de efeitos adversos, porém nada foi encontrado. Após a ingestão de HMB a única variável modificada agudamente nos parâmetros metabólicos dos indivíduos foi a concentração plasmática do próprio HMB. A excreção

de hormônios esteróides, as funções hepáticas e as renais também não tiveram nenhuma alteração após duas semanas de ingestão de 3g/HMB/dia¹³. Crowe et al.¹⁸ relataram que atletas de rugby que utilizaram 3g/dia de HMB por seis semanas não apresentaram efeito adverso à saúde. Contudo, estudos adicionais em humanos e, principalmente, em populações especiais, como grávidas e crianças, devem ser conduzidos antes de qualquer recomendação com maior abrangência.

Cinética após ingestão

Um dos destinos da molécula de HMB após sua síntese ou ingestão é sua excreção na urina¹⁹. Valores obtidos em estudos com suínos e ovinos suplementados relataram excreção de até um terço do HMB²⁰, enquanto que em humanos suplementados com HMB este valor alcançou 50% da dose administrada¹¹.

A concentração plasmática basal do HMB no estado pós-absortivo em humanos e animais é, aproximadamente, zero¹⁹. A ingestão de 50g de leucina ou 2g de HMB pode aumentar suas concentrações plasmáticas em até 6 vezes. Em adição, alguns protocolos, avaliando a meia-vida do HMB em suínos e ovinos, demonstraram que após a ingestão de 2g de HMB a meia-vida foi de, aproximadamente, 2 horas¹¹. Um recente estudo em humanos¹⁹ investigou a cinética do HMB após ingestão de 1g ou 3g do mesmo. Os resultados deste estudo demonstram que as concentrações plasmáticas de HMB atingem pico de, aproximadamente, 120nmol/mL após 2h da ingestão de 1g, enquanto pico em torno de 480nmol/mL foi atingido em apenas 1h após a ingestão de 3g de HMB. A meia-vida plasmática foi de, aproximadamente, 2,3h, enquanto a excreção na urina foi dependente da dose, 14% para a de 1g e 29% para a de 3g. Quando HMB é ingerido juntamente com glicose, foi demonstrado que esse procedimento é capaz de provocar interferência na cinética do HMB; houve atraso, de, aproximadamente, 1h, e diminuição no pico

de HMB plasmático. Ao mesmo tempo existiu pequeno aumento da meia-vida plasmática, o que pode estar relacionado à leve diminuição na excreção urinária de HMB. Outra constatação dos autores neste estudo foi a provável ausência de interferência da insulina na cinética do HMB.

Estudos adicionais com outros macronutrientes devem ser formulados para o total entendimento das variáveis com possível participação na cinética do HMB, a ingestão de refeições mistas contendo proteínas, lipídeos e fibras, certamente, pode influenciar o comportamento cinético do HMB no organismo humano.

Suplementação em indivíduos sedentários e treinados

Aumento de massa isenta de gordura

A real eficácia da suplementação com HMB sobre parâmetros de composição corporal ainda está por ser comprovada. Vários estudos envolvendo exercício de força e suplementação de HMB visando, a melhorar os resultados do treinamento, foram realizados nos últimos 10 anos, porém resultados conflitantes foram gerados. A administração de 1,5 ou 3g de HMB/dia, por três semanas a indivíduos jovens que realizavam três sessões de treinamento de força por semana, com duração de 90 minutos, foi capaz de aumentar a força e a massa isenta de gordura mensurada por condutividade elétrica corporal total. O grupo que recebeu 3g/dia apresentou resultados superiores ao que recebeu 1,5g/dia. Foram avaliados ainda marcadores de estresse muscular (creatina fosfoquinase e lactato desidrogenase plasmática) e degradação protéica (3-metil-histidina), os quais se revelaram reduzidos a partir da segunda semana nos grupos suplementados. Neste mesmo estudo, outros indivíduos do sexo masculino ingeriram 3g de HMB/dia ou placebo por sete semanas. Seis dias por semana os voluntários faziam treinamento de força por duas a três horas diárias. O grupo suplementado com HMB apresentou aumento significativo da força no exercício de supino reto

acompanhado de, aproximadamente, 2kg de massa isenta de gordura, quando comparado ao grupo placebo²¹.

Estudo seguindo modelo duplo-cego utilizando indivíduos idosos, homens e mulheres na faixa dos 70 anos de idade, que faziam exercício de força, que eram suplementados com HMB na dose de 3g/dia, demonstrou haver aumento significativo na massa isenta de gordura desses indivíduos, quando avaliada por tomografia computadorizada e absormetria de raio X de dupla energia²². Este achado é corroborado pelos estudos de Panton et al.²³ que também encontraram aumento na resposta ao exercício de força em grupo de homens e mulheres que receberam HMB por quatro semanas. Nesses estudos não houve o cuidado de avaliar a repercussão dos resultados sobre a qualidade de vida dos participantes, contudo os grupos suplementados demonstraram sofrer influência da suplementação em sua composição corporal.

Apesar dos resultados positivos em indivíduos suplementados com HMB iniciantes de treinamento de força, o mesmo parece não ocorrer quando a suplementação com HMB é feita em pessoas consideradas treinadas ou atletas de competição. Estudos realizados nos últimos sete anos, que investigaram os efeitos ergogênicos do HMB em atletas e praticantes de atividade física, demonstraram que em indivíduos treinados e em atletas de potência de elite, a ingestão de HMB não aumentou a massa magra²⁴⁻²⁶ ou a capacidade anaeróbia²⁷. O HMB também parece não afetar os marcadores de catabolismo ou a integridade da membrana muscular em indivíduos bem treinados^{25,26,28}. Ransone et al.²⁵ suplementaram jogadores de futebol com 3g/dia de HMB e relataram não observar nenhum efeito sobre parâmetros de força ou composição corporal; e afirmam que existem poucas evidências clínicas que sustentem a utilização de HMB com o objetivo de melhorar o desempenho de atletas. Esses achados foram corroborados posteriormente por Hoffman et al.²⁹, que verificaram que 10 dias de suplementação com HMB (3g/dia) não modificaram parâmetros

de estresse e lesão muscular causados pelo treinamento da pré-temporada da liga de futebol.

Em resumo, se o objetivo buscado for verificar o efeito sobre variáveis de composição corporal, a suplementação com HMB é plausível apenas quando se tratar de indivíduos saudáveis em início de programa de treinamento ou idosos. O incremento de parâmetros relacionados diretamente à melhora do desempenho e da *performance* em atletas ainda está por ser comprovado.

Suplementação com HMB em idosos e situações hipercatabólicas

Efeitos sobre a massa isenta de gordura e proteólise muscular.

Estratégia com grande potencial sobre situações de catabolismo muscular intenso é a utilização de suplementação nutricional direcionada para a estimulação da síntese proteica ou a redução da quebra de proteínas³⁰. Alguns estudos em humanos indicam que o HMB pode inibir significativamente o aumento da proteólise induzida pelo exercício, mensurada pela concentração de 3-metilhistidina na urina, assim como evitar aumento da concentração sérica de marcadores de lesão muscular decorrente do exercício de *endurance*³¹. Em adição, o HMB demonstrou ser capaz de prevenir a excessiva proteólise durante o estresse metabólico^{10,32-33} e aumentar o ganho de massa muscular tanto em homens quanto em mulheres idosos que fazem exercício físico^{23,30}, bem como em modelos animais³⁴.

Em mulheres idosas, a suplementação diária com HMB, arginina e lisina por 12 semanas, alterou positivamente alguns parâmetros de funcionalidade, força, massa magra e síntese proteica, sugerindo que a estratégia de nutrição direcionada tem a habilidade de afetar a saúde muscular. Na 3ª idade as mulheres podem apresentar perda de 1,5% de massa magra por ano, por razões multifatoriais³⁰. Em pacientes com AIDS e câncer, a suplementação com HMB demonstrou também melhorar o perfil emocional dos indivíduos³²⁻³³.

Clark et al.³³, May et al.³² e Marcora et al.³⁵ utilizaram HMB em conjunto com arginina e glutamina, com o objetivo de tentar reverter o quadro de perda muscular esquelética observada em pacientes com artrite reumatóide, câncer e síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), respectivamente. Com exceção do trabalho de Marcora et al.³⁵, a suplementação mostrou ser eficaz em promover ganho de massa muscular esquelética, quando comparada ao placebo. Nesses trabalhos os autores atribuíram ao aumento da massa muscular o efeito anti-catabólico do HMB associado ao aumento da síntese proteica, causado pelos aminoácidos glutamina e arginina. Contudo, os modelos utilizados não possibilitam afirmar o real efeito anti-catabólico específico do HMB. Kuhls et al.³⁶ tiveram o cuidado de testar os efeitos da suplementação com HMB em conjunto com arginina e glutamina e isoladamente para indivíduos com trauma em estado crítico. Nestes pacientes, o HMB promoveu significativa melhora no balanço nitrogenado, quando em comparação com o grupo placebo (-4,3g/d vs. -8,9g/d).

Essas observações levantam a hipótese de possível ação do HMB sobre vias de sinalização intracelulares específicas, responsáveis pelo metabolismo proteico nas células musculares.

São três as vias responsáveis pelo catabolismo das proteínas no músculo esquelético: sistema lisossomal, o qual é responsável, predominantemente, pela quebra de proteínas extracelulares, como os receptores de membrana³⁷; sistema citosólico ativado pelo cálcio independente de ATP, o qual pode representar papel importante na destruição tecidual, na necrose e na autólise³⁸; e sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente, o qual se acredita ser o responsável pela quebra do conjunto de proteínas intracelulares no músculo esquelético. O sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente é responsável pela degradação de proteínas musculares em situações de estresse fisiológico³⁷. Nesse sistema, proteínas são marcadas para degradação pela ligação com a ubiquitina, o que requer a atividade de três enzimas. A proteína poliubiquitinada é, então, degradada em

um complexo, formado por multi-subunidades, denominado proteossoma 26S. Esse complexo é formado por três porções, duas denominadas 19S nas extremidades e uma central, conhecida como 20S. A porção 20S, a partir da qual ocorre a proteólise, é estruturada em forma de tubo constituído por quatro anéis, dois α nas extremidades e dois β na região central³⁹. O proteossoma libera pequenos oligopeptídeos contendo de seis a nove resíduos de aminoácidos, que são rapidamente degradados a aminoácidos pelas peptidases citosólicas⁴⁰.

Quando a proteólise, por intermédio do sistema ubiquitina proteossoma, está acelerada na musculatura esquelética, geralmente há aumento paralelo da produção de mRNAs das enzimas desta via³⁷. Moléculas que estimulam o catabolismo de proteínas musculares aumentam a produção das subunidades do proteossoma 26S. Inibindo a expressão de uma única subunidade do proteossoma, o número de proteossomas fica diminuído, bem como a atividade proteolítica e a degradação proteica³⁸. Smith et al.⁴¹ demonstraram, em experimentos *in vitro*, que o HMB tem a capacidade de diminuir a expressão de genes do sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente induzida por fatores proteolíticos em miotúbulos de roedores, o que acarretou em decréscimo da proteólise muscular. Resposta esta que também foi observada em estudo posterior *ex vivo*, preservando a massa muscular de camundongos caquéticos suplementados com doses maiores que 0,125g/kg de HMB¹⁰.

Em poucas palavras, a suplementação com HMB em situações especiais de hipercatabolismo, ou em indivíduos idosos, parece produzir efeitos significativos que podem, potencialmente, servir de estratégia terapêutica, paralela a outras terapias, visando à manutenção da massa isenta de gordura dos indivíduos e melhora do prognóstico. Estudos adicionais devem ser planejados com o objetivo de averiguar a relação entre os efeitos da suplementação com HMB sobre a massa magra e variáveis ligadas ao quadro clínico do indivíduo ou a sua qualidade de vida.

Influência do HMB sobre vias de sinalização intracelular

Smith et al.⁴² demonstraram que o HMB pode inibir a atividade da proteína quinase C- α (PKC α) em miotúbulos C2C12 *in vitro*, a qual pode estar relacionada com a diminuição da atividade e a expressão de componentes do sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente. Em estudo posterior, Smith et al.¹⁰, relataram haver diminuição da expressão das subunidades α e β da porção 20S e da proteína p42 da porção 19S, após suplementação com HMB. Em adição, o HMB demonstrou ter a habilidade de bloquear a ativação da PKC induzida pelo fator indutor de proteólise (PIF), molécula encontrada em concentrações aumentadas em indivíduos com câncer em estado de caquexia. Essas observações ajudariam a explicar a inibição da expressão do sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente e a subsequente redução na degradação proteica^{10,41}.

A PKC α parece ter participação importante no processo de indução da expressão do sistema ubiquitina proteossoma pelo PIF. Esta expressão foi bloqueada com a utilização de inibidores de PKC e após a transfecção de genes dominante negativo para PKC α em miotúbulos, os quais não demonstraram atividade da PKC α ⁴². A ativação da PKC induz a fosforilação e a ativação do complexo inibidor do fator nuclear kappa-B alfa quinase (complexo I κ B- α quinase), responsável pela fosforilação do inibidor do fator nuclear kappa-B (I κ B- α), levando este à ubiquitinação e à subsequente degradação pelo sistema proteossômico. A degradação do I κ B- α libera o fator nuclear kappa-B (NF- κ B), que agora pode seguir ao núcleo celular e se ligar a regiões específicas levando à expressão gênica^{41,42}. Esse evento está relacionado ao aumento da concentração de proteínas do sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente⁴⁰. O PIF induz a diminuição do I κ B α citosólico e o aumento da ligação do NF κ B ao seu receptor nuclear, fato relacionado ao aumento da atividade de vias proteolíticas. Esse efeito foi atenuado por inibidores de PKC. Isto sugere que a PKC está

CONCLUSÃO

envolvida na fosforilação e na degradação do $I\kappa B\alpha$, induzida pelo PIF, necessário para liberação do NF κ B do seu complexo citosólico inativo⁴². Várias vias envolvendo o NF- κ B são ativadas por múltiplos estímulos extracelulares, levando à fosforilação e à subsequente degradação de proteínas inibitórias, exemplo: $I\kappa B\alpha$ ^{41,42}.

O HMB na concentração de 50 μ mol/L atenua, efetivamente, a degradação do $I\kappa B\alpha$ em presença do PIF em miotúbulos de roedores, impedindo o acúmulo de NF- κ B⁴¹. Dessa maneira, as vias de expressão de proteínas do proteossoma, de inibição da síntese protéica e do reparo celular são atenuadas pela presença do HMB, diminuindo o desbalanço no metabolismo protéico muscular (Figura 1).

A suplementação com o metabólito do aminoácido leucina, conhecido como HMB, ainda possui eficácia discutível dependendo do resultado pretendido e da população na qual será aplicada. Em indivíduos iniciantes em treinamento de força os resultados parecem ser favoráveis ao aumento de massa isenta de gordura e força muscular, contudo em estudos que utilizaram atletas e indivíduos treinados não foi demonstrado efeito significativo da suplementação durante os períodos analisados. Diferentemente do observado em atletas, a administração de HMB a indivíduos idosos ou em situação patológica de hipercatabolismo muscular, provocou efeitos importantes sobre ganho ou preservação da massa isenta de gordura. Os

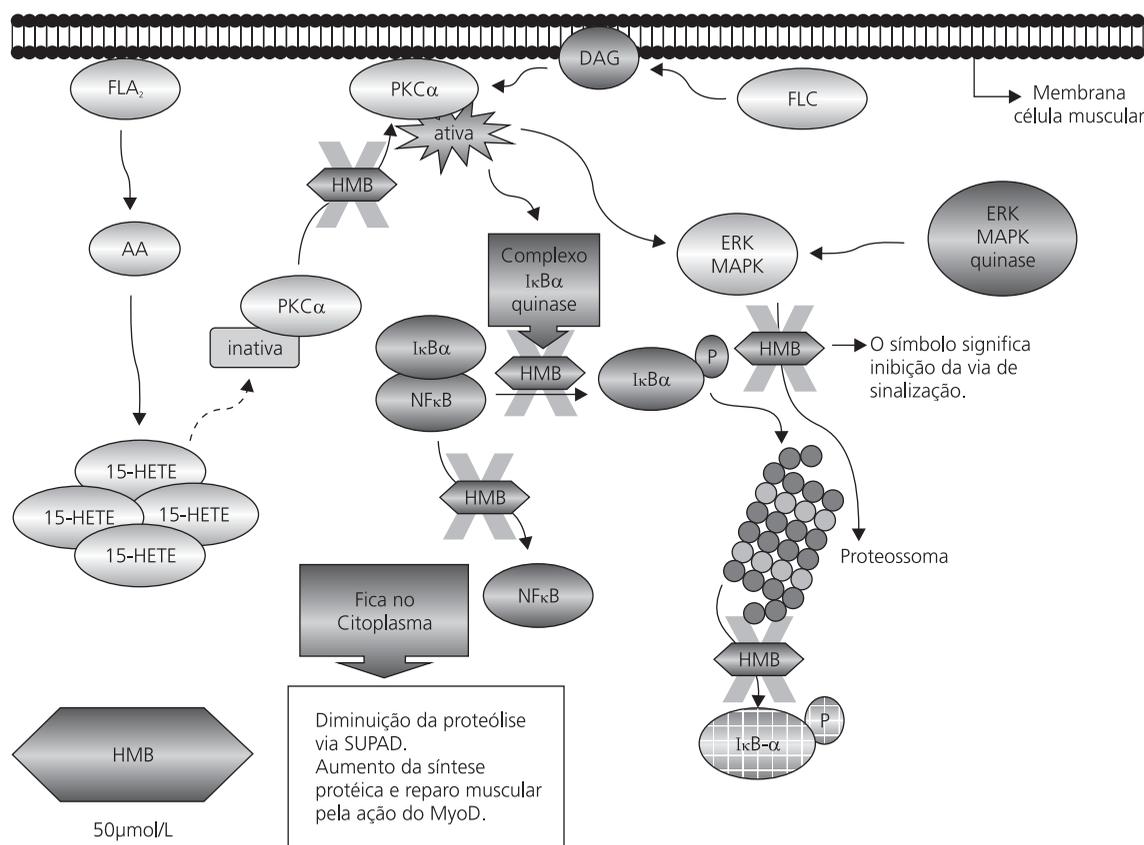


Figura 1. Efeito inibitório do β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre vias responsáveis pela proteólise em células musculares esqueléticas. Nota: Síntese de ações observadas em estudos *in vitro* e *ex vivo*^{10,41,42}. FLA₂: fosfolipase A₂, AA: ácido araquidônico, 15-HETE: ácido 15 - hidroxieicosatetraenóico, PKC α : proteína quinase C- α ; I κ B α : inibidor do fator nuclear kappa-B; NF- κ B: fator nuclear kappa-B; DAG: diacilglicerol; FLC: fosfolipase C, ERK/MAPK: proteína quinase ativada por mitógeno; Proteossoma: proteossoma 26S; SUPAD: sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente.

mecanismos de ação do HMB sobre o metabolismo muscular envolvem ação inibitória sobre vias de sinalização da PKC α e NF- κ B, e sobre sistemas que induzem a proteólise no tecido muscular esquelético, em especial sobre o sistema ubiquitina proteossoma ATP-dependente. Em suma, o HMB tem ação anti-catabólica demonstrada em modelos animais, restando identificar os completos mecanismos de ação e averiguar se estes resultados também se repetem em humanos com a mesma magnitude.

COLABORADORES

E.A. NUNES foi responsável pela seleção dos trabalhos e pela divisão dos tópicos presentes na revisão. O desenvolvimento dos tópicos discutidos foi realizado pelos dois autores. L.C. FERNANDES fez a revisão crítica do manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Kreider RB, Almada AL, Antonio J, Broeder C, Earnest C, Greenwood M, et al. International society of sports nutrition exercise & sport nutrition review: research & recommendations. *Sports Nutr Rev J*. 2004; 1(1):1-44.
- Nissen SL, Sharp RL. Effect of dietary supplements on lean mass and strength gains with resistance exercise: a meta-analysis. *J Appl Physiol*. 2003; 94(2):651-9.
- Biolo G, Tessari P, Inshioistro S, Bruttomesso C, Fongher C, Sabadin L, et al. Leucine and phenylalanine kinetics during mixed meal ingestion. A multiple tracer approach. *Am J Physiol*. 1992; 262(4Pt1):E455-E63
- De Feo P, Horber PFF, Haymond MW. Meal stimulate albumin synthesis: a significant contributor to whole body protein synthesis in humans. *Am J Physiol*. 1992; 263(4Pt1):E794-9.
- Gautsch TA, Anthony JC, Kimball SR, Paul GL, Layman DK, Jefferson LS. Eukaryotic initiation factor 4E availability regulates skeletal muscle protein synthesis during recovery from exercise. *Am J Physiol*. 1998; 274(2Pt1):C406-C14.
- Anthony JC, Lang CH, Crozier SJ, Anthony TG, MacLean DA, Kimball SR, et al. Contribution of insulin to the translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. *Am J Physiol Endocrinol Metabol*. 2002; 282(5):E1092-E01.
- Anthony JC, Anthony TG, Kimball SR, Jefferson LS. Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. *J Nutr*. 2001; 131(3):856S-60S.
- Shah OJ, Anthony JC, Kimball SR, Jefferson LS. Glucocorticoids oppose translational control by leucine in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metabol*. 2000; 279(5):E1185-E90.
- Ostaszewski P, Kostiuik S, Balasinska M, Jank M, Papet I, Glomot F. The leucine metabolite 3-hydroxy-3methylbutyrate (HMB) modifies protein turnover in muscles of laboratory rats and domestic chickens *in vitro*. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2000; 84:1-8.
- Smith HJ, Mukerji P, Tisdale MJ. Attenuation of proteasome-induced proteolysis in skeletal muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate in cancer-induced muscle loss. *Cancer Res*. 2005; 65(1):277-83.
- Nissen SL, Abumrad NN. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB). *Nutr Biochem*. 1997; 8:300-11.
- Wiley DB, Dobbins TA. Composition and method for enhancing the bioavailability of calcium and magnesium in dietary supplements and food additives. United States Patent. 2004; 20040220266.
- Van Koeving M, Nissen S. Oxidation of leucine and alpha-ketoisocaproate to beta-hydroxy-beta-methylbutyrate *in vivo*. *Am J Physiol*. 1992; 262(1 Pt 1):E27-31.
- Gallagher PM, Carrithers JA, Godard MP, Schulze KE, Trappe SW. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate ingestion, part II: effects on hematology, hepatic and renal function. *Med Sci Sports Exerc*. 2000; 32(12):2116-9.
- Peterson AL, Qureshi M A, Ferket PR, Fuller JC Jr. Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of β -hydroxy- β -methylbutyrate. *Immunopharm Immunotoxicol*. 1999; 21(2):307-30.
- Baxter JH, Carlos JL, Thurmond J, Rehani RN, Bultman J, Frost D. Dietary toxicity of calcium b-hydroxy-b-methylbutyrate (CaHMB). *Food and Chem Toxicol*. 2005; 43(12):1731-41.
- Nissen S, Sharp RL, Panton L, Vukovich M, Trappe S, Fuller JC Jr. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J Nutr*. 2000; 130(8):1937-45.
- Crowe MJ, O'Connor DM, Lukins JE. The effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2003; 13(2):184-97.
- Vukovich MD, Slater G, Macchi MB, Turner MJ, Fallon K, Ratchmacher J. β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) kinetics and the influence of glucose ingestion in humans. *J Nutr Biochem*. 2001; 12(11):631-9.

20. Gallagher PM, Carrithers JA, Godard MP, Schulze KE, Trappe SW. β -hydroxy- β -methylbutyrate ingestion, Part I: effects on strength and fat free mass. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32(12):2109-15.
21. Nissen S, Sharp R, Ray M, Rathmacher JA, Rice D, Fuller JC Jr, et al. Effect of leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. *J Appl Physiol.* 1996; 81(5):2095-104.
22. Vukovich MD, Stubbs NB, Bohlken RM. Body composition in 70-year-old adults responds to dietary beta-hydroxy-beta-methylbutyrate similarly to that of young adults. *J Nutr.* 2001; 131(7): 2049-52.
23. Panton LB, Rathmacher JA, Baier S, Nissen S. Nutritional supplementation of the leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) during resistance training. *Nutrition.* 2000; 16 (9):734-9.
24. Ransone J, Neighbors K, Lefavi R, Chromiak J. The effect of beta-hydroxy beta-methylbutyrate on muscular strength and body composition in collegiate football players. *J Strength Cond Res.* 2003; 17(1):34-9.
25. Slater G, Jenkins D, Logan P, Lee H, Vukovich M, Rathmacher JA, et al. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation does not affect changes in strength or body composition during resistance training in trained men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2001; 11(3):384-96.
26. Kreider RB. Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise. *Sports Med.* 1999; 27(2):97-110.
27. O'Connor DM, Crowe MJ. Effects of beta-hydroxy-betamethylbutyrate and creatine monohydrate supplementation on the aerobic and anaerobic capacity of highly trained athletes. *J Sports Med Phys Fitness.* 2003; 43(1):64-8.
28. Paddon-Jones D, Keech A, Jenkins D. Short-term beta-hydroxy-beta methylbutyrate supplementation does not reduce symptoms of eccentric muscle damage. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2001; 11(4): 442-50.
29. Hoffman JR, Cooper J, Wendell M, Im J, Kang J. Effects of beta-hydroxy beta-Methylbutyrate on power performance and indices of muscle damage and stress during high-intensity training. *J Strength Cond Res.* 2004; 18(4):747-52.
30. Flakoll P, Sharp R, Baier S, Levenhagen D, Carr C, Nissen S. Effect of betahydroxy- beta-methylbutyrate, arginine, and lysine supplementation on strength, functionality, body composition, and protein metabolism in elderly women. *Nutrition.* 2004; 20(5):445-51.
31. Knitter AE, Panton L, Rathmacher JA, Petersen A, Sharp R. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *J Appl Physiol.* 2000; 89(4):1340-4.
32. May PE, Barber A, D'Olimpio JT, Hourihane A, Abumrad NN. Reversal of cancer-related wasting using oral supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, arginine, and glutamine. *Am J Surg.* 2002; 183(4):471-9.
33. Clark RH, Feleke G, Din M, Yasmin T, Singh G, Khan FA, et al. Nutritional treatment for acquired immunodeficiency virus-associated wasting using beta-hydroxy beta-methylbutyrate, glutamine, and arginine: a randomized, doubleblind, placebo-controlled study. *J Parenter Enteral Nutr.* 2000; 24(3):133-9.
34. Jowko E, Ostaszewski P, Jank M, Sacharuk J, Zieniewicz A, Wilczak J, et al. Creatine and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. *Nutrition.* 2001; 17(7-8):558-66.
35. Marcora S, Lemmey A, Maddison P. Dietary treatment of rheumatoid cachexia with b-hydroxy-b-methylbutyrate, glutamine and arginine: a randomized controlled trial. *Clin Nutr.* 2005; 24(3):442-54.
36. Kuhls DA, Rathmacher JA, Musngi MD, Frisch DA, Nielson J, Barber A, et al. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in critically ill trauma patients. *J Trauma.* 2007; 62(1):125-31.
37. Lecker SH, Solomon V, Mitch WE, Goldberg AL. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Nutr.* 1999; 129(1S-Suppl): 227S-37S.
38. Goll DE, Thompson VF, Taylor RG, Christiansen JA. Role of the calpain system in muscle growth. *Biochemie.* 1992; 74(3):225-37.
39. Lorite MJ, Thompson MG, Drake JL, Carling G, Tisdale MJ. Mechanism of muscle protein degradation induced by a cancer cachectic factor. *Br J Cancer.* 1998; 78(7):850-6.
40. Tisdale MJ. The ubiquitin-proteasome pathway as a therapeutic target for muscle wasting. *J Support Oncol.* 2005; 3(3):209-17.
41. Smith HJ, Wyke SM, Tisdale MJ. Mechanism of the attenuation of proteolysis-inducing factor stimulated protein degradation in muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate. *Cancer Res.* 2004; 64(23):8731-35.
42. Smith HJ, Wyke SM, Tisdale MJ. Role of Protein Kinase C and NF- κ B in proteolysis inducing factor induced proteosome expression in C2C12 myotubes. *Br J Cancer.* 2004; 90(9):1850-7.

Recebido em: 24/10/2006

Versão final reapresentada em: 26/10/2007

Aprovado em: 15/2/2008

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A Revista de Nutrição/*Brazilian Journal of Nutrition* é um periódico especializado que publica artigos que contribuem para o estudo da Nutrição em suas diversas subáreas e interfaces; com periodicidade bimestral, está aberta a contribuições da comunidade científica nacional e internacional.

A Revista aceita artigos inéditos em português, espanhol ou inglês, com título, resumo e termos de indexação no idioma original e em inglês, 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 (limite máximo de 6 mil palavras).

Especial: artigos a convite sobre temas atuais (limite máximo de 7 mil palavras).

Revisão (a convite): síntese 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, que discuta os limites e alcances metodológicos, permitindo indicar perspectivas de continuidade de estudos naquela linha de pesquisa (limite máximo de 8 mil palavras). Serão publicados até dois trabalhos por 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 (limite máximo de 5 mil palavras).

Nota científica: dados inéditos parciais de uma pesquisa em andamento (limite máximo de 4 mil palavras).

Ensaio: trabalhos que possam trazer reflexão e discussão de assunto que gere questionamentos e hipóteses para futuras pesquisas (limite máximo de 5 mil palavras).

Seção temática (a convite): seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual (máximo de 12 mil palavras no total).

Pesquisas envolvendo seres vivos

Resultados de pesquisas relacionadas a seres vivos devem ser acompanhados de cópia do parecer do Comitê de Ética da Instituição de origem, ou outro credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde. Além disso, deverá constar, no último parágrafo do item Métodos, uma clara afirmação do cumprimento dos princípios éticos contidos

na Declaração de Helsinki (2000), além do atendimento a legislações específicas do país no qual a pesquisa foi realizada.

Nos experimentos com animais devem ser seguidos os guias da Instituição dos Conselhos Nacionais de Pesquisa sobre o uso e cuidado dos animais de laboratório.

Registros de Ensaios Clínicos

Artigos com resultados de pesquisas clínicas devem apresentar um número de identificação em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação deverá ser registrado ao final do resumo.

Procedimentos editoriais

1) Avaliação de manuscritos

A revisão dos textos submetidos à Revista, que atenderem à política editorial, só terá início se os manuscritos encaminhados estiverem de acordo com as Instruções aos Autores. Caso contrário, **serão devolvidos para adequação às normas**, inclusão de carta ou de outros documentos eventualmente necessários.

Recomenda-se fortemente que o(s) autor(es) busque(m) assessoria lingüística profissional (revisores e/ou tradutores certificados em língua portuguesa e inglesa) antes de submeter(em) originais que possam conter incorreções e/ou inadequações morfológicas, sintáticas, idiomáticas ou de estilo. Devem ainda evitar o uso da primeira pessoa "meu estudo...", ou da terceira pessoa do plural "percebemos...", pois em texto científico o discurso deve ser impessoal, sem juízo de valor e na terceira pessoa do singular.

Originais identificados com incorreções e/ou inadequações morfológicas ou sintáticas **serão devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação** quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Aprovados nesta fase, os manuscritos serão encaminhados aos revisores *ad hoc* selecionados pelos editores. Cada manuscrito será enviado para dois revisores de reconhecida competência na temática abordada. Em caso de desacordo, o original será enviado para uma terceira avaliação.

O processo de avaliação por pares é o sistema de *blind review*, em procedimento sigiloso quanto à identidade

tanto dos autores quanto dos revisores. Por isso os autores deverão empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito.

No caso da identificação de conflito de interesse da parte dos revisores, o Comitê Editorial encaminhará o manuscrito a outro revisor *ad hoc*.

Os pareceres dos consultores comportam três possibilidades: a) aceitação integral; b) aceitação com reformulações; c) recusa integral. Em quaisquer desses casos, o autor será comunicado.

A decisão final sobre a publicação ou não do manuscrito é sempre dos editores, aos quais é reservado o direito de efetuar os ajustes que julgarem necessários. Na detecção de problemas de redação, o manuscrito será devolvido aos autores para as alterações devidas; o trabalho reformulado deve retornar no prazo máximo determinado.

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos poderão retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações, no processo de editoração e normalização, de acordo com o estilo da Revista.

Provas: serão enviadas provas tipográficas aos autores para a correção de erros de impressão. As provas devem retornar ao Núcleo de Editoração na data estipulada. Outras mudanças no manuscrito original não serão aceitas nesta fase

2) Submissão de trabalhos

Serão aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho e da área temática, 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.

Autoria: o número de autores deve ser coerente com as dimensões do projeto. O crédito de autoria deverá ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho, ou análise e interpretação dos dados. Não se justifica a inclusão de nomes de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima, podendo, neste caso, figurar na seção Agradecimentos.

Os manuscritos devem conter, na página de identificação, explicitamente, a contribuição de cada um dos autores.

3) Apresentação do manuscrito

Enviar os manuscritos para o Núcleo de Editoração da Revista em quatro cópias, preparados em espaço entrelinhas 1,5, com fonte Arial 11, acompanhados de

cópia em disquete ou CD-ROM. O arquivo deverá ser gravado em editor de texto similar ou superior à versão 97-2003 do *Word (Windows)*. Os nomes do(s) autor(es) e do arquivo deverão estar indicados no rótulo do disquete ou CD-ROM.

Das quatro cópias descritas no item anterior, três deverão vir sem nenhuma identificação dos autores, para que a avaliação possa ser realizada com sigilo; porém, deverão ser completas e idênticas ao original, omitindo-se apenas esta informação. É fundamental que o escopo do artigo **não contenha qualquer forma de identificação da autoria**, o que inclui referência a trabalhos anteriores do(s) autor(es), da instituição de origem, por exemplo.

O texto deverá ter de 15 a 20 laudas. As folhas deverão ter numeração personalizada desde a folha de rosto (que deverá apresentar o número 1). O papel deverá ser de tamanho A4, com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).

Os artigos devem ter, aproximadamente, 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de 50.

Todas as páginas devem ser numeradas a partir da página de identificação. Para esclarecimentos de eventuais dúvidas quanto à forma, sugere-se consulta a este fascículo.

Versão reformulada: a versão reformulada deverá ser encaminhada em três cópias completas, em papel, e em disquete ou CD-ROM etiquetado, indicando o número do protocolo, o número da versão, o nome dos autores e o nome do arquivo. **O(s) autor(es) deverá(ão) enviar apenas a última versão do trabalho.**

O texto do artigo deverá empregar fonte colorida (cor azul) para todas as alterações, juntamente com uma carta ao editor, reiterando o interesse em publicar nesta Revista e informando quais alterações foram processadas no manuscrito. Se houver discordância quanto às recomendações dos revisores, o(s) autor(es) deverão apresentar os argumentos que justificam sua posição. O título e o código do manuscrito deverão ser especificados.

Página de título: deve conter:

a) título completo - deve ser conciso, evitando excesso de palavras, como "avaliação do....", "considerações acerca de..." "estudo exploratório....";

b) *short title* com até 40 caracteres (incluindo espaços), em português (ou espanhol) e inglês;

c) nome de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um. Será aceita uma única titulação e filiação por autor. O(s) autor(es) deverá(ão), portanto, escolher, entre suas titulações e filiações institucionais, aquela que julgar(em) a mais importante.

d) Todos os dados da titulação e da filiação deverão ser apresentados por extenso, sem siglas.

e) Indicação dos endereços completos de todas as universidades às quais estão vinculados os autores;

f) Indicação de endereço para correspondência com o autor para a tramitação do original, incluindo fax, telefone e endereço eletrônico;

Observação: esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

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 máximo de 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, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicando formas de continuidade do estudo.

Para as demais categorias, o formato dos resumos deve ser o narrativo, mas com as mesmas informações.

O texto não deve conter citações e abreviaturas. Destacar no mínimo três e no máximo seis termos de indexação, utilizando os descritores em Ciência da Saúde - DeCS - da Bireme.

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.

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

Em relação à análise estatística, os autores devem demonstrar que os procedimentos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (ex. $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) devem ser mencionados.

Informar que a pesquisa foi aprovada por Comitê de Ética credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde e fornecer o número do processo.

Ao relatar experimentos com animais, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais - ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório - foram seguidas.

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 limitados 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. **É imprescindível a informação do local e ano do estudo.** A cada um se deve atribuir um título breve. Os quadros e tabelas terão as bordas laterais abertas.

O(s) autor(es) se responsabiliza(m) pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações, tabelas, quadros e gráficos), que deverão permitir redução sem perda de definição, para os tamanhos de uma ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente); **não é permitido o formato paisagem.** Figuras digitalizadas deverão ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 DPI.

A publicação de imagens coloridas, após avaliação da viabilidade técnica de sua reprodução, será custeada pelo(s) autor(es). Em caso de manifestação de interesse por parte do(s) autor(es), a Revista de Nutrição providenciará um orçamento dos custos envolvidos, que poderão variar de acordo com o número de imagens, sua distribuição em páginas diferentes e a publicação concomitante de material em cores por parte de outro(s) autor(es).

Uma vez apresentado ao(s) autor(es) o orçamento dos custos correspondentes ao material de seu interesse, este(s) deverá(ão) efetuar depósito bancário. As informações para o depósito serão fornecidas oportunamente.

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. **Não serão aceitas citações bibliográficas nesta seção.**

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

Anexos: deverão ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Caberá aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

Abreviaturas e siglas: deverão ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas às 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.

Referências de acordo com o estilo Vancouver

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, seguindo a ordem em que foram mencionadas pela primeira vez no texto, conforme o estilo *Vancouver*.

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*.

Não serão aceitas citações/referências de **monografias** de conclusão de curso de graduação, **de trabalhos** de Congressos, Simpósios, Workshops, Encontros, entre outros, e de **textos não publicados** (aulas, entre outros).

Se um trabalho não publicado, de autoria de um dos autores do manuscrito, for citado (ou seja, um artigo *in press*), será necessário incluir a carta de aceitação da revista que publicará o referido artigo.

Se dados não publicados obtidos por outros pesquisadores forem citados pelo manuscrito, será necessário incluir uma carta de autorização, do uso dos mesmos por seus autores.

Citações bibliográficas no texto: deverão ser expostas 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. Todos os autores cujos trabalhos forem citados no texto deverão ser listados na seção de Referências.

Exemplos

Artigo com mais de seis autores

Nascimento E, Leandro CVG, Amorim MAF, Palmeiras A, Ferro TC, Castro CMMB, et al. Efeitos do estresse agudo de contenção, do estresse crônico de natação e da administração de glutamina sobre a liberação de superóxido por macrófagos alveolares de ratos. *Rev Nutr.* 2007; 20(4): 387-96.

Artigo com um autor

Traverso-Yépez MA. Dilemas na promoção da saúde no Brasil: reflexões em torno da política nacional. *Interface: Comunic, Saúde, Educ.* 2007; 11(22):223-38.

Artigo em suporte eletrônico

Mendonça MHM, Giovanella L. Formação em política pública de saúde e domínio da informação para o desenvolvimento profissional. *Ciênc Saúde Coletiva* [periódico na Internet]. 2007 jun [acesso 2008 jan 28]; 12(3):601-610. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. doi:10.1590/S1413-81232007000300010.

Livro

Rouquayrol MZ, Almeida Filho N. *Epidemiologia & saúde*. 6a. ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2005.

Livro em suporte eletrônico

World Health Organization. The world health report 2007: a safer future: global public health security in the 21st century [monograph online]. Geneva: WHO; 2007. [cited 2008 Jan 30]. Available from: <<http://www.who.int/whr/2007/en/index.html>>.

Capítulos de livros

Monteiro CA. Ther underweight/overweight double burden for the poorest in low-income countries. In: Dube L, Bechara A, Dagher A, Drewnowski V, LeBel, James P, et al., editors. *Obesity prevention: the role of society and brain on individual behavior*. New York: Elsevier; 2007. v.1.

Capítulo de livro em suporte eletrônico

New health threats in the 21st century. In: World Health Organization. The world health report 2007: a safer future: global public health security in the 21st century [monograph online]. Geneva: WHO; 2007. [cited 2008 Jan 30]. Available from: <<http://www.who.int/whr/2007/chapter3/en/index.html>>.

Dissertações e teses

Franco AC. Educação nutricional na formação do nutricionista: bases teóricas e relação teoria-prática [mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2006.

Texto em formato eletrônico

World Health Organization. Malaria elimination: a field manual for low and moderate endemic countries. Geneva, 2007. [cited 2007 Dec 21]. Available from: <http://www.who.int/malaria/docs/elimination/MalariaElimination_BD.pdf>.

Programa de computador

Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, SmithDC, Burton AH, et al. *Epi Info, versão 6: a word processing, database, and statistics program for public health on*

IBM-compatible microcomputers. Atlanta (Georgia): Centers for Disease Control and Prevention; 1996.

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

LISTA DE CHEGAGEM

- Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais assinada por cada autor.
- Enviar ao editor quatro vias do original (um original e três cópias) e um disquete ou CD-ROM, etiquetado com as seguintes informações: nome do(s) autor(es) e nome do arquivo. Na reapresentação incluir o número do protocolo.
- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências, está reproduzido com letras Arial, corpo 11 e entrelinhas 1,5 e com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).
- Verificar se estão completas as informações de legendas das figuras e tabelas.
- Preparar página de rosto com as informações soli-citadas.
- Incluir o 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, o ano de defesa e o número de páginas.
- Incluir título do manuscrito, em português e inglês.
- Incluir título abreviado (*short title*), com 40 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas.
- Incluir resumos estruturados para trabalhos originais e narrativos para manuscritos que não são de pesquisa, com até 250 palavras nos dois idiomas, português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com termos de indexação.
- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo *Vancouver*, ordenadas na ordem em que foram mencionadas pela 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.

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, nos quais constarão:

- Título do manuscrito:

- Nome por extenso dos autores (na mesma ordem em que aparecem no manuscrito).

- Autor responsável pelas negociações:

1. Declaração de responsabilidade: todas as pessoas relacionadas como autoras 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".

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 ____/____/____

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

Núcleo de Editoração SBI/CCV - Campus II

Av. John Boyd Dunlop, s/n. - Prédio de Odontologia - Jd. Ipaussurama - 13060-904, Campinas, SP, Brasil.

Fone/Fax: +55-19-3343-6875

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

Web: <http://www.scielo.br/rn>

INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS

The Brazilian Journal of Nutrition is a specialized periodical that publishes articles that contribute for the study of nutrition in its many sub-areas and interfaces; with a bimonthly periodicity, it is open to contributions of the national and international scientific community.

The journal accepts unpublished articles in Portuguese, Spanish or English, with title, abstract and keywords in the original language and in English in the following categories:

Original: contributions that divulge the results of unpublished researches taking into account the relevance of the theme, the reach and the knowledge generated for the research area (maximum limit of 6000 words).

Special: invited articles on current themes (maximum limit of 7000 words).

Review: (invited): synthesis of available knowledge on a given theme through analysis and interpretation of the pertinent bibliography containing a critical and comparative analysis of the works in the area, discussing the methodological limits and reaches, allowing the indication of perspectives of continued studies in that line of research (maximum limit of 8000 words). Two articles at most will be published by issue.

Communication: report on relevant themes based on recent research whose objective is to subsidize the work of professionals who work in the area, acting as a presentation or update on the theme (maximum limit of 5000 words).

Research Note: unpublished partial data of an ongoing research (maximum limit of 4000 words).

Assay: works that can lead to reflection and discussion of a subject that generates questioning and hypotheses for future researches (maximum limit of 5000 words).

Thematic section (invited): section designated for the publication of 2 to 3 coordinated articles from different authors and based on a theme of current interest (maximum limit of 12000 words).

Research involving living beings

Results of research including living beings should be accompanied by a copy of the opinion of the Research Ethics Committee of the Institution of origin or another certified National Council of Health. Furthermore, the last paragraph of the item Methods should contain a clear

affirmation of abiding by the ethical principles contained in the Declaration of Helsinki (2000) and of being in agreement with the specific legislation of the country where the research took place.

Experiments with animals should follow the institutional guides of the National Councils of Research on the use and care of laboratory animals.

Records of Clinical Assays

Articles with results of clinical researches should present a number of identification in one of the Records of Clinical Assays validated by the World Health Organization (WHO) criteria and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria whose addresses are available at the ICMJE site. The identification number should be located at the end of the abstract.

Editorial procedures

1) Manuscript assessment

Texts submitted to the journal for review that are in agreement with the editorial policy will only start if they are also in agreement with the "instructions to the authors." If not, **they will be returned so that they can be formatted according to the rules** or to include a letter or other documents that may become necessary.

It is strongly recommended that the authors seek for professional linguistic advisement (certified reviewers or translators of Portuguese and English) before they submit articles that may contain errors and/or morphological, syntax, idiomatic or stylistic inadequacies. The use of the first person of the singular or plural should be avoided since scientific discourses should be impersonal and not contain judgment of value.

Original articles identified with errors or morphological and syntax inadequacies **will be returned even before they are submitted to assessment regarding** the merit of the work and the convenience of its publication.

The manuscripts that are approved in this phase will be sent to *ad hoc* referees (reviewers) selected by the editors. Each manuscript will be sent to two reviewers of known competence in the selected theme. If they are not in agreement, the manuscript will be sent to a third referee.

The peer review assessment is the blind review system where the identity of the authors and the referees

are kept secret. Thus, the authors should do everything possible to avoid the identification of the authors of the manuscript.

If there is a conflict of interest on the part of the referees, the Editorial Committee will send the manuscript to another *ad hoc* referee.

The opinions of the referees consist of three possibilities: a) full acceptance; b) accepted with reformulations; c) fully refused. They authors will be notified whatever the case.

The final decision regarding the publishing of the article is always from the editors and they are allowed to make any adjustments they find necessary. If there are essay problems, the text will be returned to the authors so that corrections are made within the maximum stipulated period.

Accepted manuscripts: accepted manuscripts can be returned to the authors for approval of changes that were made in the editing and formatting processes, according to the style of the journal.

Copies: typographical copies will be sent to the others for correction of printing errors. The copies should return to the Núcleo a Editoração on the stipulated deadline. Other changes in the original manuscript will not be accepted during this phase.

2) Submission of works

Works must be accompanied by a letter signed by all authors describing the type of work and thematic area, declaring that the manuscript is being presented only to the Brazilian Journal of Nutrition and agreeing to transfer the copyright to the journal.

If figures and tables published elsewhere are used, the authorization for their use must also be attached to the manuscript.

Authorship: the number of authors must be coherent with the dimensions of the project. Authorship credit must be based on substantial contributions, such as conception and design, or data analysis and interpretation. Including the names of authors who do not fit within the parameters listed above is not justified. Other contributors may be cited in the Acknowledgement section.

The identification page of the manuscripts should contain explicitly how each one of the authors contributed.

3) Presentation of the manuscript

Please send four copies of the manuscript to the Núcleo de Editoração of the Journal formatted with 1,5 line spacing between the lines and font Arial 11. The material should also be sent in floppy disc or CD-ROM. The file should

be saved in a text editor similar or above version 97-2003 of MSWord (Windows). The names of the authors or file should be printed on the label of the floppy disc or CD-ROM.

Of the four copies mentioned above, three should come without any identification of the authors so that the assessment can be done secretly; however they should be complete and identical to the original manuscript, omitting only the authorship. It is essential that the scope of the article **does not contain any form of identification of the authors**, which includes, for example, references to previous works of one or more of the authors or the institution where the work was done.

The text should contain from 15 to 20 pages. The pages must have personalized numbering starting with the cover page which should be number 1. The paper must be size A4 with at least 2.5cm of upper and lower margins and 3cm of left and right margins.

The articles should have approximately 30 references, except for review articles which can have around 50.

All pages should be numbered starting from the identification page. This document contains information that should clarify doubts regarding the formatting.

Reformulated version: the reformulated version must be sent in three complete copies, in paper and in a floppy disc or CD-ROM with a label indicating the number of the protocol, the version number, the name of the authors and the name of the file. It is absolutely forbidden to return the previous version.

The text of the article must use a colored font (blue) for all changes, together with a letter to the editor confirming the interest in publishing in this journal and informing what changes were made in the manuscript. If there is disagreement regarding the recommendations of the referees, the authors should present the arguments that justify their stance. The manuscript title and code should be specified.

The title page: should contain:

a) full title - must be concise, avoiding excess words such as "assessment of...", "considerations on...", "exploratory study...";

b) short title with up to 40 characters in Portuguese (or Spanish) and English;

c) full name of all the authors indicating where each one works. Each author is allowed one employee and one title. The authors should therefore choose among their titles and employees those that they judge to be most important.

d) All data regarding titles and employees should be presented in full, without abbreviations.

e) List the full addresses of all the universities with which the authors have affiliations;

f) Indicate an address to exchange correspondence, including the manuscript, with the authors, including facsimile, telephone and e-mail address;

Observation: this should be the only part of the text with identification of the authors.

Abstract: all articles submitted in Portuguese or Spanish should have an abstract in the original language and English, with at least 150 words and at most 250 words.

The articles submitted in English should contain the abstract in Portuguese or Spanish and in English.

For original articles, the abstracts must be structured highlighting objectives, basic methods adopted, information on the location, population and sample of the research, most relevant results and conclusions, considering the objectives of the work and indicating ways to continue the study.

For the remaining categories, the format of the abstract must be narrative but with the same information.

The text should not contain citations and abbreviations. Highlight at least three and at most six keywords using the descriptors of Health Science - DeCS - of Bireme.

Text: except for manuscripts presented as Review, Research Note and Assay, the works should follow the formal structure for scientific works:

Introduction: must contain current literature review and pertinent to the theme, adequate to the presentation of the problem and that highlights its relevance. It should not be extensive unless it is a manuscript submitted as Review.

Methods: must contain a clear and brief description of the method employed along with the correspondent bibliography, including: adopted procedures, universe and sample; measurement instruments and if applicable, validation method; statistical treatment.

In relation the statistical analyses, the authors must demonstrate that the procedures employed were not only appropriate to test the hypotheses of the study but have also been correctly interpreted. Do not forget to mention the level of significance adopted (e.g. $p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$).

Inform that the research was approved by an Ethics Committee certified by the National Council of Health and inform the number of the procedure.

If experiments with animals are reported, indicate if the directives of the institutional or national research councils - or any law regarding the care and use of laboratory animals - were followed.

Results: whenever possible, the results should be presented in tables and figures and constructed in a way as to be self-explanatory and contain statistical analysis. Avoid repeating the data within the text.

Tables, charts and figures together should be limited to five and numbered consecutively and independently with Arabic characters according to the order in which data is mentioned and must come in individual and separate sheets. Their locations should be indicated in the text. **Information on the location and year of the study is absolutely necessary.** Each element should have a brief title. Tables and charts must have open side borders.

The author is responsible for the quality of the figures (drawings, illustrations, tables, charts and graphs). It must be possible to reduce their size to one or two columns (7 and 15cm, respectively) without loss of sharpness. **Landscape format is not allowed.** Digital figures should have the jpeg extension and a minimum resolution of 300 DPI.

Printing of colored images when this printing is possible is paid by the authors. If the authors are interested, the Brazilian Journal of Nutrition will inform them of the costs which will vary according to the number of images, their distribution in different pages and the concomitant publication of colored material by other authors.

Once the costs are presented to the authors, these are asked to deposit the amount in a bank account. The information regarding the account will be disclosed when necessary.

Discussion: should explore adequately and objectively the results and discuss them in light of other observations already registered in the literature.

Conclusion: present the relevant conclusions taking into account the objectives of the work and indicate ways that the study can be continued. Bibliographical citations in this section are absolutely forbidden.

Acknowledgements: acknowledgments are accepted in a paragraph with no more than three lines and may contain the names of institutions or individuals who actually collaborated with the research.

Attachments: include attachments only when they are absolutely essential for the understanding of the text. The editors will determine if their publication is necessary.

Abbreviations: these must be used in the standard manner and restricted to the usual or sanctioned ones. They should be followed by their full meaning when first cited in a text. They should not be used in the title and abstract.

References according to the Vancouver Style

References: must be numbered consecutively according to the order in which they were first mentioned in the text, according to the Vancouver Style.

In references with two or up to the limit of six authors, all authors are cited; references with more than six authors, the first six should be mentioned and the remaining referred to as *et al.*

The abbreviations of the titles of mentioned journals should be in agreement with the *Index Medicus*.

Citations/references of **senior research papers, works** of congresses, symposiums, workshops, meetings, among others and **unpublished texts will** (examples, classes among others) **not be accepted**.

If an unpublished work of one of the authors of the study is mentioned (that is, an article in press) it is necessary to include the letter of acceptance of the journal who accepted the article for publication.

If unpublished data obtained by other researchers are cited in the manuscript, it is necessary to include a letter authorizing the disclosure of the data by their authors.

Bibliographical citations in the text: they should be placed in numerical order, in Arabic characters, half a line above and after the citation and must be included in the list of references. If there are only two authors, both are mentioned and separated by a "&"; if more than two, only the first one is mentioned followed by the expression "*et al.*"

The exactness and adequateness of the references to works that have been consulted and mentioned in the text of the article are of responsibility of the authors. All authors whose works are cited in the text should be listed in the "References" section.

Examples

Article with more than six authors

Nascimento E, Leandro CVG, Amorim MAF, Palmeiras A, Ferro TC, Castro CMMB, et al. Efeitos do estresse agudo de contenção, do estresse crônico de natação e da administração de glutamina sobre a liberação de super oxido por macrófagos alveolares de ratos. *Rev Nutr.* 2007; 20(4): 387-96.

Article with one author

Traverso-Yépez MA. Dilemas na promoção da saúde no Brasil: reflexões em torno da política nacional. *Interface: Comunic, Saúde, Educ.* 2007; 11(22):223-38.

Electronic article

Mendonça MHM, Giovanella L. Formação em política pública de saúde e domínio da informação para o desenvolvimento profissional. *Ciênc Saúde Coletiva* [periódico na Internet]. 2007 jun [acesso 2008 jan 28]; 12(3):601-610. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. doi: 10.1590/S1413-81232007000300010.

Book

Rouquayrol MZ, Almeida Filho N. *Epidemiologia & saúde*. 6a. ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2005.

Electronic book

World Health Organization. The world health report 2007: a safer future: global public health security in the 21st century [monograph online]. Geneva: WHO; 2007. [cited 2008 Jan 30]. Available from: <<http://www.who.int/whr/2007/en/index.html>>.

Book chapters

Monteiro CA. Ther underweight/overweight double burden for the poorest in low-income countries. In: Dube L, Bechara A, Dagher A, Drewnowski V, LeBel, James P, et al., editors. *Obesity prevention: the role of society and brain on individual behavior*. New York: Elsevier; 2007. v.1.

Electronic book chapters

New health threats in the 21st Century. In: World Health Organization. The world health report 2007: a safer future: global public health security in the 21st century [monograph online]. Geneva: WHO; 2007. [cited 2008 Jan 30]. Available from: <<http://www.who.int/whr/2007/chapter3/en/index.html>>.

Dissertations and theses

Franco AC. Educação nutricional na formação do nutricionista: bases teóricas e relação teoria-prática [mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2006.

Electronic text

World Health Organization. *Malaria elimination: a field manual for low and moderate endemic countries*. Geneva, 2007. [cited 2007 Dec 21]. Available from: <http://www.who.int/malaria/docs/elimination/MalariaElimination_BD.pdf>.

Computer software

Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, SmithDC, Burton AH, et al. *Epi Info, Version 6: a word processing, database, and statistics program for public health on*

IBM-compatible microcomputers. Atlanta (Georgia): Centers for Disease Control and Prevention; 1996.

For other examples please check the norms of the Committee of Medical Journals Editors (Vancouver Group) at <<http://www.icmje.org>>.

CHECKLIST

- Declaration of responsibility and transfer of copyright signed by each author.
- Send four copies of the original to the Editor (one original and three copies) and a floppy disc or CD-ROM labeled with the following information: name of the authors and name of the file. If it is a second or more version, include the number of the protocol.
- Verify if the text, including abstract, tables and references, is written with Arial font size 11 and 1,5 line spacing. The upper and lower margins should have at least 2.5 cm and the lateral margins should have at least 3 cm.
- Verify if the information of the legends of the figures and tables is complete.
- Prepare a cover page with the requested information.
- Include the name of the sponsors and the number of the proceeding.
- Indicate if the article is based on a thesis/dissertation placing the title, name of the institution, year of defense and number of pages.
- Include the title of the manuscript in Portuguese and in English.
- Include a short title with 40 characters at most for the legend of each page.
- Include structured abstracts for works and narratives for manuscripts that do not regard research with up to 250 words, in Portuguese or Spanish and English, and keywords when applicable.
- Verify if the references are listed according to the Vancouver Style, ordered in the way they were first mentioned in the text and if they are all cited in the text.

- Include permission of the editors for tables and figures that have been published before.

- Include the opinion of the Ethics Committee of the Institution.

DECLARATION OF RESPONSIBILITY AND COPYRIGHT TRANSFER

Each author must read and sign the documents (1) Declaration of Responsibility and (2) Copyright Transfer.

- Title of the manuscript:

- Name of the authors must be consecutively according to the orders in which they were mentioned in the text.

- Author responsible for the negotiations:

1. Declaration of responsibility: all the persons mentioned as authors must sign the declarations of responsibility in the terms mentioned below:

- I certify that I have participated in the creation of this work and render public my responsibility for its content; I have not omitted any affiliations or financial agreements between the authors and companies that may be interested in the publication of this article;

- I certify that the manuscript is original and the work, in part or in full, or any other work with a substantially similar content of my authorship was not sent to another journal and will not be sent to another journal while its publication is being considered by the Brazilian Journal of Nutrition, whether in the printed or electronic format.

2. Copyright transfer: "I declare that, if this article is accepted, the Brazilian Journal of Nutrition will have its copyright and exclusive ownership and any reproduction, in part or in full, printed or electronic, is forbidden without the previous and necessary consent of this journal. If the consent is granted, I will include my thanks for this journal."

Signature of the author(s)

Date ____/____/____

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

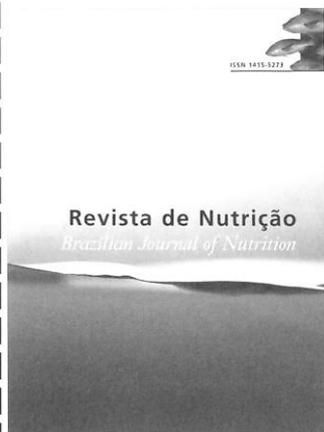
Núcleo de Editoração SBI/CCV - *Campus II*

Av. John Boyd Dunlop, s/n. Prédio de Odontologia - Jd. Ipaussurama -13060-904, Campinas, SP, Brazil

Fone/Fax: +55-19-3343-6875

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

Web: <http://www.scielo.br/rn>



Prezado amigo,

É com satisfação que vimos convidá-lo **ASSINAR ou RENOVAR** a *Revista de Nutrição*, a melhor forma de ter contato com os trabalhos desenvolvidos por pesquisadores da área através de uma publicação nacional, indexada nas bases de dados internacionais: LILACS, Chemical Abstract, CAB Abstract, FSTA, EMBASE, POPLINE, NISC, SciELO, Latindex, Scopus, Web of Science. Lista Qualis: A-Nacional - Medicina II

Esperamos contar com sua presença entre nossos assinantes regulares. Preencha o canhoto abaixo.

Um abraço,
Comissão Editorial

ASSINATURA

RENOVAÇÃO

<input type="checkbox"/> Volume 18 (2005)	Pessoas Físicas	R\$ 70,00	<input type="checkbox"/>	Institucional	R\$ 100,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Volume 19 (2006)	Pessoas Físicas	R\$ 70,00	<input type="checkbox"/>	Institucional	R\$ 100,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Volume 20 (2007)	Pessoas Físicas	R\$ 70,00	<input type="checkbox"/>	Institucional	R\$ 120,00	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Volume 21 (2008)	Pessoas Físicas	R\$ 90,00	<input type="checkbox"/>	Institucional	R\$ 140,00	<input type="checkbox"/>

Nome: _____

Endereço: _____

CEP: _____ Cidade: _____ Estado: _____ Telefone: _____

Anexo cheque número: _____ Banco: _____ Valor: _____

Cheque nominal à SOCIEDADE CAMPINEIRA DE EDUCAÇÃO E INSTRUÇÃO.

Assinatura: _____ Data: ____ / ____ / ____

FORMAS DE PAGAMENTO

PARCELADO

Pré-datado para 30 dias Pagamentos em 2 vezes: 1 entrada e o restante para 30 dias

À VISTA

Cheque ou depósito bancário: depósito bancário: Banco Itaú ag. 0009 cc 49371-9

Código de Identificação do assinante: **Institucional** CNPJ **Pessoas Físicas** CPF

Razão Social: Sociedade Campineira de Educação e Instrução. CNPJ: 46.020.301/0001-88

Enviar esta ficha juntamente com seu pagamento para:

Revista de Nutrição - Núcleo de Editoração - Prédio de Odontologia - *Campus II*
Av. John Boyd Dunlop, s/n. - Jd Ipaussurama - 13060-904 - Campinas - SP. Fone/Fax: (19) 3343-6875
E-mail: ccv.assinaturas@puc-campinas.edu.br - Home Page: www.scielo.br/rn

Pontifícia Universidade Católica de Campinas
(Sociedade Campineira de Educação e Instrução)

Grão-Chanceler: Dom Bruno Gamberini

Reitor: Prof. Pe. Wilson Denadai

Vice-Reitora: Profa. Angela de Mendonça Engelbrecht

Pró-Reitoria de Graduação: Prof. Germano Rigacci Júnior

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação: Profa. Vera Engler Cury

Pró-Reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários: Prof. Paulo de Tarso Barbosa Duarte

Pró-Reitoria de Administração: Prof. Marco Antonio Carnio

Diretora do Centro de Ciências da Vida: Profa. Miralva Aparecida de Jesus Silva

Diretor-Adjunto: Prof. José Gonzaga Teixeira de Camargo

Diretora da Faculdade de Nutrição: Profa. Angela de Campos Trentin

Revista de Nutrição

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

Normalização e Indexação / *Standardization and Indexing*

Maria Cristina Matoso - PUC-Campinas

Editoração Eletrônica / *DTP*

Fátima Cristina Camargo - PUC-Campinas

Capa / *Cover*

Katia Harumi Terasaka

Editoração eletrônica / *DTP*

Beccari Propaganda e Marketing

Impressão / *Printing*

Gráfica Editora Modelo Ltda

Tiragem / *Edition*

1000

Distribuição / *Distribution*

Sistema de Bibliotecas e Informação da PUC-Campinas.
Serviço de Publicação, Divulgação e Intercâmbio

Artigos Originais | Original Articles

- 129 Efeito da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*, L.) sobre o metabolismo glicídico e lipídico em ratos**
*The pumpkin (*Cucurbita maxima*, L.) seed flour effect on the rat glucose and lipid metabolism*
• Priscila Machado de Cerqueira, Maria Cristina Jesus Freitas, Matilde Pumar, Sabrina Barreiros Santangelo
- 137 Influência de frações da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos em crescimento**
*Influence of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell wall fractions on some nutritional parameters of growing rats*
• Saula Goulart Chaud, Valdemiro Carlos Sgarbieri, Eduardo Vicente
- 149 Alimentos sujeitos à fortificação compulsória com ferro: um estudo com gestantes**
Foods subject to mandatory fortification with iron: a study with pregnant women
• Ivana Aragão Lira Vasconcelos, Mariana Helcias Côrtes, Denise Costa Coitinho
- 161 Estimativa da disponibilidade de zinco em refeições com preparações padronizadas da alimentação escolar do município de Campinas**
Estimated zinc availability in school meals done with standard foods in the city of Campinas (SP), Brazil
• Semíramis Martins Álvares Domene, Thalita Cremonesi Pereira, Rye Katsurayama de Arrivillaga
- 169 Prevalência de sobrepeso e obesidade em nipo-brasileiros: comparação entre sexos e geração**
Prevalence of overweight and obesity among Japanese-Brazilian: comparison across sex and generation
• Rosana Farah Simony, Suely Godoy Agostinho Gimeno, Sandra Roberta Gouvea Ferreira, Laércio Joel Franco, Japanese-Brazilian Diabetes Study Group
- 177 A qualidade das refeições de empresas cadastradas no Programa de Alimentação do Trabalhador na cidade de São Paulo**
The quality of meals in companies participating in the worker's food program in the city of São Paulo Brazil
• Daniel Henrique Bandoni, Patrícia Constante Jaime
- 185 Rotulagem de alimentos para lactentes e crianças de primeira infância**
Labeling food products for breastfeeding infants and toddlers
• Sheyllle Almeida da Silva, Márcia Regina de Moura Dias, Tânia Aparecida Pinto de Castro Ferreira

Revisão | Review

- 195 Os efeitos do ácido linoléico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro**
Effects of conjugated linoleic acid on animal metabolism: advances in research and perspectives for the future
• Lília Ferreira Santos-Zago, Adriana Prais Botelho, Admar Costa de Oliveira
- 223 A dinamometria manual e seu uso na avaliação nutricional**
Hand grip strength test and its use in nutritional assessment
• Michael Maia Schlüssel, Luiz Antonio dos Anjos, Gilberto Kac

Comunicação | Communication

- 237 Experimentação animal: ética e legislação brasileira**
Animal experimentation: ethics and the Brazilian legislation
• Angélica Heringer de Rezende, Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Céphora Maria Sabarense
- 243 Atualizações sobre β -hidroxi- β -metilbutirato: suplementação e efeitos sobre o catabolismo de proteínas**
New findings on β -hydroxy- β -methylbutyrate: supplementation and effects on the protein catabolism
• Everson Araújo Nunes, Luiz Cláudio Fernandes