



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE SAÚDE COLETIVA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA  
DOUTORADO EM SAÚDE COLETIVA**

PRISCILA RIBAS DE FARIAS COSTA

**Influência de concentrações séricas de homocisteína e  
cisteína sobre o perfil lipídico e antropométrico de crianças  
e adolescentes: um estudo prospectivo**

Salvador - Bahia  
2013

PRISCILA RIBAS DE FARIAS COSTA

**Influência de concentrações séricas de homocisteína e  
cisteína sobre o perfil lipídico e antropométrico de crianças  
e adolescentes: um estudo prospectivo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia para obtenção do Título de Doutor em Saúde Pública.

Salvador - Bahia  
agosto de 2013

PRISCILA RIBAS DE FARIAS COSTA

**Influência de concentrações séricas de homocisteína e  
cisteína sobre o perfil lipídico e antropométrico de crianças  
e adolescentes: um estudo prospectivo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia para obtenção do Título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Marlúcia Oliveira Assis

Co-orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Sanjay Kinra  
(Estágio Sanduíche na *London School of Hygiene and Tropical Medicine - University of London*)

Salvador - Bahia  
agosto 2013

*Dedico esta tese ao meu querido marido, Jamacy, por todo o apoio, amor e compreensão.*

*À minha avó Cota (in memoriam), pela vida de luta e dedicação à família.*

*Aos meus pais, Vilma e João, e à minha irmã, Olívia, por tudo que hoje sou.*

*Ao meu cunhado Pierre, por tão gentilmente carregar minha família no coração.*

*Aos meus sogros Teco e Benigno, por me acolherem como filha e sempre torcerem pelo meu sucesso.*

## **AGRADECIMENTOS**

Nenhum objetivo é alcançado sem esforço e dedicação. Foi um período de grandes desafios e muito amadurecimento, profissional e pessoal. Por isso, agradeço primeiramente a Deus, por me mostrar que, quando se tem fé, tudo é possível.

Agradeço também a minha orientadora, prof<sup>a</sup> Ana Marlúcia, que, com todo carinho e extrema dedicação, foi fundamental neste processo. Obrigada, Ana, por compartilhar conhecimentos desde meus primeiros passos na graduação, pelos diálogos, confiança e estímulos de quase uma década.

Ao professor Sanjay, pela receptividade, apoio e ensinamentos durante os quase sempre chuvosos e frios dias em Londres.

À amiga-irmã Jacqueline, por estar comigo em todos os momentos, me encorajando e me apoiando há longos anos. Jack, obrigada por completar minha vida.

À minha família, em especial minhas amadas primas Drica, Iu, Sica e Tatita, por me incluírem em todos os momentos, ainda que virtualmente, fazendo-me sentir presente, apesar de ausente.

Aos amigos do Núcleo de Nutrição e Epidemiologia: Nedja, Conceição, Mônica, Lucivalda, Valterlinda, Sandrinha, Bete e Ester, minha imensa gratidão por me apoiarem nesta conquista.

Aos amigos: Yukari e Gustavo, por compartilharem comigo tantos momentos desta jornada, pelos cafés, caminhadas e apoio de sempre; João, Patty, Mariluce, Jack, Judelita, Clotilde e Júnnia, pela amizade, parceria e acolhimento na UFRB; Juliano, pelos preciosos momentos de alegria e encorajamento; e Marcinha, Rose, Puri e Môsas, pela garantia de boa conversa e divertimento.

Aos amigos Drezito, Lê, Lou, Rô, San e Leo, por, tão carinhosamente, preencherem de brasilidade e amizade sincera a estadia na Europa.

Por fim, agradeço a todos que, de uma maneira ou de outra, participaram e me apoiaram nesta jornada. Meu muito obrigada!

*“A tarefa não é tanto ver o que ninguém viu ainda, mas pensar o que ninguém pensou sobre algo que todos veem”*

– Arthur Schopenhauer

## RESUMO

COSTA PRF. **Influência de concentrações séricas de homocisteína e cisteína sobre o perfil lipídico e antropométrico de crianças e adolescentes: um estudo prospectivo.** 2013. 243f. Tese (Doutorado) – Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

**Introdução:** estudos recentes têm identificado associações entre concentrações elevadas de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas e alterações negativas do perfil antropométrico e lipídico em adultos, mas são escassas informações sobre estas relações na faixa etária pediátrica. **Objetivo:** identificar a influência de concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas, isoladas e simultaneamente elevadas, sobre a mudança nos parâmetros antropométricos e lipídicos de crianças e adolescentes ao longo de 12 meses de seguimento. **Metodologia:** estudo de coorte envolvendo 483 indivíduos de 07 a 15 anos de ambos os sexos. As variáveis desfecho foram representadas pelo IMC/Idade, circunferência da cintura (CC), colesterol total (CT), LDL-colesterol (LDL-c), HDL-colesterol (HDL-c) e triglicérides, e a exposição principal foi representada pelas concentrações de Hcy e Cys séricas, analisadas isoladas e conjuntamente. Utilizou-se a Equação de Estimação Generalizada (GEE) para identificar as mudanças sobre as variáveis desfecho. **Resultados:** independentemente da idade, sexo, situação socioeconômica, consumo alimentar e prática de atividade física, crianças e adolescentes que estavam no mais alto quintil de distribuição de Hcy (quinto quintil  $\geq 8.5 \mu\text{mol/L}$ ) no início do estudo tiveram incrementos de 0.50 ( $p < 0.01$ ) e 3.62cm ( $p < 0.01$ ) na média do escore-z do IMC/Idade e da CC, respectivamente, durante 12 meses de seguimento, quando comparados àqueles cujos valores destes parâmetros bioquímicos estavam no 1º quintil. Valores de Cys acima do quinto quintil ( $> 463.4 \mu\text{mol/L}$ ) ao início do estudo aumentaram em 0.58 ( $p < 0.01$ ) e 5cm ( $p < 0.01$ ) o escore-z do IMC/Idade e a CC, respectivamente, durante os 12 meses do seguimento. Concentrações simultaneamente elevadas de Hcy e Cys no quinto quintil de distribuição aumentaram em 0.87 ( $p < 0.01$ ) e 6.57cm ( $p < 0.01$ ) as médias do z-escore do IMC/Idade e da CC em um período de 12 meses de acompanhamento. Para o perfil lipídico, observou-se que, independentemente da idade, sexo, situação socioeconômica, consumo alimentar e estado antropométrico, concentrações de Hcy e Cys séricas acima do 5º quintil ao início do seguimento reduziram, respectivamente, em 2.91mg/dl ( $p < 0.01$ ) e em 1.95mg/dl ( $p < 0.01$ ) a média do HDL-c, em 12 meses de seguimento. Enquanto que concentrações elevadas de Hcy e Cys, respectivamente, promoveram acréscimo de 1.58mg/dl ( $p < 0.01$ ) e de 1.76mg/dl ( $p = 0.03$ ) na média dos triglicérides séricos ao longo dos 12 meses de seguimento. A presença de valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do 5º quintil de distribuição no início do estudo diminuiu em 3.65mg/dl ( $p < 0.01$ ) a média do HDL-c e elevou em 3.53mg/dl ( $p < 0.01$ ) o valor médio dos triglicérides nos 12 meses de seguimento. O CT e o LDL-c não se associaram com as variáveis de exposição. **Conclusões:** elevadas concentrações de Hcy e Cys séricas contribuíram para o aumento do IMC/Idade, da CC, dos triglicérides e para redução do HDL-c em 12 meses de acompanhamento, sendo estes incrementos mais acentuados quando estes dois parâmetros bioquímicos estavam simultaneamente elevados.

**Palavras-chave:** homocisteína, cisteína, crianças e adolescentes, antropometria, perfil lipídico

## ABSTRACT

COSTA PRF. **Serum homocysteine and cysteine Influence in lipid and anthropometric profiles in children and adolescents: a prospective study.** 2013. 243p. Thesis (Doctorate) – Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

**Background:** studies have recently identified association between elevated serum homocysteine (Hcy) and Cysteine (Cys) levels and anthropometric and lipid profiles in adults, but these relationships for paediatric population are not clear. **Objective:** the objective was to identify the high serum Hcy and Cys levels influence, isolated and simultaneously elevated, on anthropometric and lipid profiles changes in children and adolescents after a 12-months follow-up period. **Methods:** this cohort study included 483 both sexes subjects from 07 to 15 years old. BMI, waist circumference (WC), total-cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides levels were the outcome variables and serum Hcy and Cys levels, isolated and simultaneously elevated, were the main exposure variables. Generalized estimating equations (GEE) were used to identify the outcome variables changes. **Results:** for anthropometric status, regardless of age, gender, socioeconomic status, dietary intake and physical activity, scholarships with serum Hcy level in the highest quintile (5<sup>th</sup>) in the beginning of the follow-up increased 0.50 ( $p<0.01$ ) and 3.62cm ( $p<0.01$ ) in BMI z-score and WC means, respectively, during the 12 months, if compared with that subjects with serum Hcy levels in the first quintile. Serum Cys levels in the fifth quintile in the beginning of the study increased 0.58 ( $p<0.01$ ) and 5cm ( $p<0.01$ ) in the BMI z-score and WC means after the follow-up period, if compared to the increase promoted by serum Cys levels in the first quintile. A combination of serum Hcy and Cys levels simultaneously in the highest quintile (5<sup>th</sup>) increased in 0.87 ( $p<0.01$ ) and 6.57cm ( $p<0.01$ ) the BMI z-score and WC means after the 12-months follow-up, if compared to the increase promoted by serum Hcy and Cys levels simultaneously in the first quintile. For lipid profile, regardless of age, gender, socioeconomic status, dietary intake and anthropometric status, the presence of serum Hcy level in the highest quintile (5<sup>th</sup>) in the beginning of the follow-up decreased 2.91mg/dl ( $p<0.01$ ) and increased 1.58mg/dl ( $p<0.01$ ) the HDL-c and triglycerides means levels, respectively, during the 12 months follow-up period, if compared with that subjects with serum Hcy levels lower than fifth quintile. Serum Cys levels in the fifth quintile in the beginning of the study reduced 1.95mg/dl ( $p<0.01$ ) and raised 1.76mg/dl ( $p<0.01$ ) in the HDL-c and triglycerides means levels, respectively, after the follow-up period, if compared to children and adolescent with serum Cys levels lower than fifth quintile. A combination of serum Hcy and Cys levels simultaneously in the fifth quintile decreased in 3.65mg/dl ( $p<0.01$ ) and increased in 3.53mg/dl ( $p<0.01$ ) the HDL-c and triglycerides means levels after the 12-months follow-up, if compared to the scholarship with serum Hcy and Cys levels simultaneously lower than fifth quintile. **Conclusions:** high serum Hcy and Cys levels increased the BMI z-score, WC and triglycerides levels and decreased the HDL-c levels after a 12-months follow-up period in children and adolescents, and these changes were greater when serum Hcy and Cys levels were simultaneously elevated.

**Key words:** homocysteine, cysteine, children and adolescents, anthropometry, lipid profile.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Vias metabólicas da homocisteína (Austin et al, 2004) .....	36
Figura 2 - Quadro teórico da relação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e o perfil lipídico e antropométrico .....	40
Figura 3 – Fluxograma da seleção e acompanhamento da coorte .....	43
Figura 4 - Desenho estatístico para identificação dos fatores associados às concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas .....	57
Figura 5 - Desenho estatístico para identificar a relação entre valores elevados de homocisteína e cisteína séricas e indicadores antropométricos .....	59
Figura 6 - Desenho estatístico para avaliar a relação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e o perfil lipídico .....	62
Figura 7 - Desenho estatístico para avaliar a relação entre valores de homocisteína e cisteína séricas e mudanças no perfil antropométrico após 12 meses de seguimento .....	64
Figura 8 - Desenho estatístico para avaliar a relação entre valores de homocisteína e cisteína séricas e mudanças no perfil lipídico após 12 meses de seguimento .....	66

## LISTA DE ABREVIações

AIC - Critério de Informação de Akaike

CC – circunferência da cintura

CT – colesterol total

Cys – cisteína

DCNT – doenças crônicas não transmissíveis

DCV – doenças cardiovasculares

GEE – Equação de Estimação Generalizada

Hcy – homocisteína

HCY+CYS – Homocisteína e cisteína

HDL-c – lipoproteína de alta densidade

HHS – Hordaland HomoCysteine Study

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Pressão

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL-c – lipoproteína de baixa densidade

NCEP - National Cholesterol Education Program

NHANES - National Health and Nutrition Examination Survey

OMS – Organização Mundial da Saúde

QFA – Questionário de Frequência Alimentar

QIC – critério de quasi-verossimilhança sob o modelo de independência

ROC - Receiver Operating Characteristics

RP – Razão de Prevalência

## LISTA DE TABELAS – ARTIGO 1

**ARTIGO 1:** “Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e fatores associados em crianças e adolescentes”

Tabela 1 - Concentrações médias (e desvio padrão) de homocisteína e cisteína séricas, segundo sexo e idade. Mutuípe, Ba, 2006.....	84
Tabela 2 - Concentrações médias (e desvio padrão) de homocisteína sérica por idade e sexo, segundo estado antropométrico, perfil lipídico, glicemia e pressão arterial. Mutuípe-Ba, 2006 .....	86
Tabela 3 - Concentrações médias (e desvio padrão) de cisteína sérica por idade e sexo segundo estado antropométrico, perfil lipídico, glicemia e pressão arterial. Mutuípe-Ba, 2006.....	87
Tabela 4. Fatores associados às concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006.....	89

## LISTA DE TABELAS – ARTIGO 2

**ARTIGO 2:** “Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e estado antropométrico de crianças e adolescentes”

Tabela 1 - Características sócio-demográficas, clínicas e de estilo de vida de crianças e adolescentes segundo valores séricos de Hcy, Cys e Hcy+Cys. Mutuípe-Ba, 2006 .....	117
Tabela 2 - Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre excesso de peso e concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006 .....	120
Tabela 3 - Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre excesso de gordura abdominal e concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006 .....	123
Tabela 4 - Diferença de prevalência de excesso de peso e de gordura abdominal, segundo as variáveis de exposição principal (Hcy, Cys e Hcy+Cys). Mutuípe-Ba, 2006 .....	124

### LISTA DE TABELAS – ARTIGO 3

**ARTIGO 3:** “Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e o perfil lipídico em crianças e adolescentes”

Tabela 1 - Características sóciodemográficas, clínicas e de estilo de vida de crianças e adolescentes segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Mutuípe-Ba, 2006 .....	151
Tabela 2 - Prevalência total e por sexo das alterações lipídicas de crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006 .....	152
Tabela 3 - Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre concentrações de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas e baixos valores de HDL-c em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006 .....	154
Tabela 4 - Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre concentrações de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas e elevados valores de triglicérides em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006 .....	155

## LISTA DE TABELAS – ARTIGO 4

**ARTIGO 4:** “Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e mudanças antropométricas em crianças e adolescentes em um período de 12 meses de seguimento”

Tabela 1 - Distribuição das prevalências das variáveis antropométricas e parâmetros bioquímicos, segundo o sexo. Mutuípe-Ba, 2006 .....	181
Tabela 2 - Distribuição das variáveis antropométricas das crianças e adolescentes segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Mutuípe-Ba, 2006 .....	182
Tabela 3 - Modelos de Equação de Estimação Generalizada para a relação entre concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas e o indicador antropométrico IMC/Idade, durante 12 meses de seguimento. Mutuípe-Ba, 2006 .....	184
Tabela 4 - Modelos de Equação de Estimação Generalizada para a relação entre concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas e a circunferência da cintura, durante 12 meses de seguimento. Mutuípe-Ba, 2006 .....	186

## LISTA DE TABELAS – ARTIGO 5

**ARTIGO 5:** “Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e mudanças no perfil lipídico de crianças e adolescentes no período de 12 meses de seguimento”

Tabela 1 - Prevalência total dos fatores bioquímicos alterados e distribuição segundo o sexo na população do estudo. Mutuípe-Ba, 2006..	209
Tabela 2 - Distribuição do perfil lipídico de crianças e adolescentes segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Mutuípe-Ba, 2006.....	210
Tabela 3 - Modelos de Equação de Estimação Generalizada para a relação entre concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas e o perfil lipídico, durante 12 meses de seguimento. Mutuípe-Ba, 2006.....	213

## SUMÁRIO

1 Introdução.....	22
2 Objetivos.....	31
2.1 Objetivo Geral.....	32
2.2 Objetivos Específicos.....	32
3 Quadro Teórico.....	33
4 Considerações Teórico-metodológicas.....	41
5 Resultados.....	69
5.1 Artigo 1 - Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e fatores associados em crianças e adolescentes.....	70
5.2 Artigo 2 - Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e estado antropométrico de crianças e adolescentes.....	102
5.3 Artigo 3 - Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e o perfil lipídico em crianças e adolescentes.....	135

5.4 Artigo 4 - Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e mudanças antropométricas em crianças e adolescentes em um período de 12 meses de seguimento.....	167
5.5 Artigo 5 - Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e mudanças no perfil lipídico de crianças e adolescentes no período de 12 meses de seguimento.....	195
6 Considerações Finais .....	222
Referências da Tese.....	223
Apêndices.....	236

## APRESENTAÇÃO

Esta tese apresenta resultados de um estudo de coorte prospectiva realizado com crianças e adolescentes de um município do interior da Bahia. Pesquisa anterior envolvendo esta população indicou elevadas prevalências de excesso de peso (30%) e de dislipidemia (47%). Apesar do sólido conhecimento sobre os tradicionais fatores de risco associados a estas morbidades, tanto na infância quanto na vida adulta, estudos recentes têm buscado identificar outros fatores envolvidos com a ocorrência crescente de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) – a exemplo das concentrações de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas –, uma vez que aproximadamente 25% dos portadores destas doenças não apresentam os clássicos fatores de risco.

A Hcy é um aminoácido sulfurado derivado da metionina da dieta e seu metabolismo é influenciado pelas concentrações de folato e cobalamina circulantes. Estudos têm identificado relação consistente e positiva entre concentrações elevadas deste aminoácido e DCNT. Meta-análise de estudos prospectivos registrou que, aumento de 5µmol/L nas concentrações de Hcy aumentava em 20% o risco de eventos cardíacos e, concentração elevada de Hcy se mostrou altamente preditiva de mortalidade cardiovascular em pessoas idosas; ressalta-se ainda que estes eventos são mantidos, independentemente dos tradicionais fatores de risco. Neste sentido, a adição de valores de Hcy ao tradicional escore de classificação de risco cardiovascular de Framingham melhorou significativamente a predição de risco. Além disto, concentração elevada de Hcy também está diretamente associada ao excesso de peso corporal e a alterações negativas do perfil lipídico.

Embora a Cys apresente estrutura química semelhante e seja metabolicamente relacionada à Hcy, sua associação com as DCNT só recentemente tem sido registrada. As escassas informações disponíveis destacam a relação da Cys com a obesidade, as dislipidemias e as DCV.

No entanto, poucos são os estudos que abordam a relação entre estes aminoácidos e DCNT na infância e adolescência, como são raras também investigações que versem sobre a influência de concentrações simultaneamente elevadas de Hcy e Cys sobre o perfil antropométrico e lipídico, principalmente em crianças e adolescentes. Ressalva-se ainda a escassez de estudos de caráter longitudinal que abordem a relação entre Hcy, Cys e as doenças crônicas não transmissíveis e suas comorbidades. No Brasil, os escassos estudos adotam abordagem transversal e com foco na influência individual destes aminoácidos sobre o peso corporal e os lipídios séricos.

Assim, diante da escassez de investigações sobre a relação entre concentrações séricas de Hcy, Cys e os perfis antropométrico e lipídico, e de estudos que avaliem a influência conjunta de valores aumentados destes parâmetros bioquímicos sobre as doenças crônicas não transmissíveis e comorbidades, especialmente na faixa etária pediátrica, desenvolveu-se esta investigação com o objetivo principal de colaborar com a produção de conhecimento sobre as relações aqui destacadas, o que pode contribuir para a identificação precoce de excesso de peso e dislipidemias.

Assim apresentam-se os resultados da investigação que originou esta tese organizados na forma de cinco artigos científicos, que buscam responder às lacunas do conhecimento aqui elencadas.

O primeiro artigo é um estudo exploratório que tem como objetivo identificar os fatores associados às concentrações intermediárias e elevadas de Hcy e Cys séricas em crianças e adolescentes. Este estudo serviu como base para os demais manuscritos, sendo possível identificar os principais fatores associados aos valores elevados destes aminoácidos.

O segundo artigo foi realizado utilizando-se dados do *baseline* da coorte original e trata da relação entre valores elevados de Hcy, Cys e de ambas simultaneamente e o excesso de peso corporal nas crianças e adolescentes.

No terceiro artigo, utilizando-se também os dados do *baseline* da coorte original, foi abordada a relação entre valores elevados de Hcy, Cys e Hcy+Cys e o perfil lipídico inadequado nas crianças e adolescentes.

Os artigos quatro e cinco enfocam as mudanças ao longo do tempo no perfil antropométrico e lipídico de crianças e adolescentes, dadas pela influência dos valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. No quarto estudo, o desfecho antropométrico é representado pelo Índice de Massa Corporal/Idade e circunferência da cintura. E, no quinto artigo a variável resposta é representada pelo colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicérides. Nestes estudos, as variáveis de desfecho têm caráter longitudinal e foram coletadas em três momentos do seguimento: no início, aos seis e aos 12 meses; enquanto que as variáveis de exposição principal (Hcy e Cys séricas) foram coletadas no início do seguimento.

Assim, a composição desta tese inclui os seguintes manuscritos:

- I. Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e fatores associados em crianças e adolescentes;

- II. Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e estado antropométrico de crianças e adolescentes;
- III. Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e o perfil lipídico em crianças e adolescentes;
- IV. Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e mudanças antropométricas em crianças e adolescentes em um período de 12 meses de seguimento;
- V. Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e mudanças no perfil lipídico de crianças e adolescentes no período de 12 meses de seguimento.

## **1 INTRODUÇÃO**

---

As Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT's) constituem, atualmente, importante problema de saúde no mundo, tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento (OMS e FAO, 2003; WHO, 2012). No Brasil, a ocorrência das DCNT's é elevada e tem distribuição demográfica e socioeconômica heterogênea entre as grandes regiões do país, refletindo diferentes padrões de morbimortalidade adulta (Malta *et al.*, 2006). As DCNT's vêm se desenhando com tendência crescente também para a infância e já constitui importante causa de morbidade neste ciclo de vida, destacando-se entre os escolares o sobrepeso/obesidade (Saldiva *et al.*, 2004; IBGE, 2011) e as dislipidemias (Romaldini *et al.*, 2004; Scherr, Magalhães e Malheiros, 2007).

As evidências de que as DCNT's na vida adulta são moldadas na infância são consideradas consistentes pela Organização Mundial da Saúde (OMS)(OMS e FAO, 2003). Essas conclusões são baseadas em resultados de estudos prospectivos que vêm indicando forte associação entre padrões alimentares, ambiente e crescimento durante os ciclos iniciais de vida e condições de saúde na vida adulta (WHO, 2005; Delisle e Strychar, 2006). E, especialmente o ganho de peso excessivo durante o início da vida, associa-se positivamente com a ocorrência das DCNT's, em especial à obesidade, na vida adulta.

A OMS destaca as dimensões epidêmicas da obesidade na infância, que acomete mais de 17 milhões de crianças em todo o mundo. Nos Estados Unidos, a prevalência dessa morbidade em adolescentes é de 13% e na Tailândia já atinge 15.6% (OMS e FAO, 2003). No Brasil, registrou-se nos últimos 30 anos aumento acelerado da prevalência de sobrepeso/obesidade, paralelo à redução acentuada da ocorrência da desnutrição neste ciclo de vida (SBC, 2005). Dados de três inquéritos nacionais realizados entre 1975 e 1997 revelaram aumento acelerado da obesidade

entre crianças e adolescentes de 6 a 18 anos, aumentando de 4.1% em 1975 para 13.9% em 1997 (Brasil, 2006a). Dados recentes da Pesquisa de Orçamento Familiar realizada no Brasil em 2008-2009 mostraram elevadas prevalências de excesso de peso e obesidade em crianças (33.5% e 14.3%, respectivamente) e adolescentes (20.5% e 4.9%, respectivamente) (IBGE, 2011).

As evidências indicam a existência de relação direta entre a obesidade na infância e o risco de sobrepeso e obesidade na vida adulta (SBC, 2005). A probabilidade de que crianças obesas permaneçam obesas na vida adulta varia de 20 a 50%; quando o evento ocorre na adolescência, essa probabilidade aumenta de 50% a 70%. Essa condição predispõe estes grupos a maior ocorrência de morbimortalidade por DCNT's na fase adulta, especialmente por doenças cardiovasculares (DCV) (Abeso, 2009).

Há evidências de que as dislipidemias também começam a exercer efeito negativo na infância, estando associadas às DCNT's, em especial às DCV na vida adulta. Estima-se que as dislipidemias são responsáveis por 18% dos acidentes vasculares cerebrais e 56% das DCV em todo o mundo. E, um terço dos óbitos no mundo resultam das diversas formas de DCV, não se restringindo aos países desenvolvidos (OMS e FAO, 2003). No Brasil, as DCV são responsáveis por 31% do total de mortes por ano e correspondem a 16% dos gastos do Sistema Único de Saúde e 40% das aposentadorias precoces no país, com tendências indicando aumento destas taxas para os próximos anos (Brasil, 2006a).

O aumento na prevalência das DCNT's no mundo é expressão de mudanças negativas nos hábitos de vida – que incluem, principalmente, alimentação inadequada, sedentarismo e tabagismo –, favorecendo a ocorrência das

dislipidemias, obesidade, hipertensão arterial e diabetes mellitus (OPAS e OMS, 2003; WHO, 2012). No entanto, embora estes eventos possam explicar a maior parte da ocorrência das DCNT's, 25% dos portadores destas morbidades não se enquadram no leque de fatores de risco tradicionais, não sendo possível a prevenção (Hoeg, 1997; McGill *et al.*, 2001; Schmidt *et al.*, 2011). Assim, os estudos têm procurado identificar outros fatores que possam explicar a ocorrência de DCNT em indivíduos isentos dos tradicionais fatores de risco, fornecendo elementos para as ações de prevenção primária. A identificação destes fatores de risco torna-se ainda mais relevante na infância e adolescência, fases nas quais muitas comorbidades são potencialmente reversíveis.

Assim, na atualidade, o foco da abordagem sobre os fatores de risco para as DCNT tem incluído também elevadas concentrações séricas de homocisteína (Chang *et al.*, 2008; Humphrey *et al.*, 2008; Veeranna *et al.*, 2011) e cisteína (Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy, Amany K., Kozich, Viktor, *et al.*, 2012; Elshorbagy, Amany K., Smith, A. David, *et al.*, 2012).

A homocisteína é um aminoácido sulfurado produzido exclusivamente como um produto intermediário do metabolismo intracelular da metionina da dieta (Venâncio, Burini e Yoshida, 2010). A ligação entre homocisteína e o risco para as DCNT's foi destacada inicialmente pela observação de que mais de 50% das crianças portadoras do distúrbio genético da homocistinúria morriam de doença vascular precoce (McCully, 1969; Wilcken e Wilcken, 1976) e estratégias para controle e diminuição dos níveis de homocisteína em crianças com este distúrbio favoreceram redução na taxa de eventos vasculares (Mudd e Poole, 1975; Wilcken e Wilcken, 1976).

Recente meta-análise de estudos prospectivos com população sem diagnóstico de DCV no início do acompanhamento identificou que, a cada aumento de 5  $\mu\text{mol/L}$  nas concentrações de homocisteína, aumentava em 20% o risco de eventos cardíacos independentemente dos fatores de risco tradicionais para estas doenças (Humphrey *et al.*, 2008).

Resultados do estudo de coorte *Hordaland HomoCysteine Study* (HHS) registraram vários determinantes da elevação das concentrações totais de homocisteína em adultos, dentre eles o estilo de vida, baseado no baixo consumo de folato, elevada ingestão de café, sedentarismo e prática do tabagismo (Nygard *et al.*, 1995; Nygard *et al.*, 1998). Em outro momento da coorte do HHS, incluindo adultos e idosos, o estudo identificou que indivíduos com concentrações elevadas de homocisteína tinham maiores riscos de morbi-mortalidade cardiovascular (Refsum *et al.*, 2006).

Resultados de estudos têm indicado também que concentração elevada de homocisteína está diretamente associada ao excesso de peso (Jacques *et al.*, 2001; Ganji e Kafai, 2003). Estudo recente realizado com 5179 adultos e idosos da Noruega identificou associação inversa entre Índice de Massa Corporal (IMC) e concentrações de homocisteína, após o controle por idade, sexo e concentração de cisteína plasmática (Elshorbagy *et al.*, 2008). Alguns estudos envolvendo crianças e adolescentes mostraram associação positiva entre a obesidade e elevadas concentrações de homocisteína (Osganian *et al.*, 1999; Shen *et al.*, 2002), sinalizando maior risco cardiovascular na vida adulta precoce e tardia.

Elevadas concentrações de homocisteína atingem de 5 a 10% da população geral (Stanger *et al.*, 2004). Prevalências disponíveis para crianças e adolescentes de algumas regiões do mundo variam de 10.1% a 44.6% (Anand *et al.*, 2009; Gil-Prieto

*et al.*, 2009). No Brasil, foram identificadas prevalências de hiperhomocisteinemia que variaram de 9.9% (Pereira Da Silva *et al.*, 2013) a 19.2% (Brasileiro *et al.*, 2005) entre crianças e adolescentes de dois municípios do estado de São Paulo, com prevalências mais elevadas entre os meninos.

Valores aumentados de homocisteína em humanos podem ocorrer devido a mutações genéticas associadas a anomalias das enzimas das vias metabólicas do folato e da homocisteína, alterando assim a via metabólica normal. No entanto, baixa ingestão de vitaminas do complexo B, como o ácido fólico, vitaminas B6 e B12, que atuam no metabolismo da homocisteína, constitui importante fator de risco para o aumento de suas concentrações (Jacques *et al.*, 1999; Selhub, 1999). A suplementação de ácido fólico em crianças na Grécia diminuiu significativamente os níveis pressóricos e de homocisteína nesta população, com consequente redução do risco cardiovascular (Papandreou *et al.*, 2007).

Outro aminoácido que tem sido associado a fatores de risco para as DCNT's é a cisteína. No entanto, embora seja estruturalmente similar e metabolicamente relacionada à homocisteína (Lehninger, 2000), a associação da cisteína com as DCNT's tem recebido menos atenção (El-Khairi *et al.*, 2001). Alguns estudos, porém, têm identificado importante relação entre concentrações elevadas de cisteína e DCV (El-Khairi *et al.*, 1999; El-Khairi *et al.*, 2001; El-Khairi *et al.*, 2003; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy, A. K. *et al.*, 2012), principalmente devido ao seu processo de oxidação, que favorece o desenvolvimento da aterogênese e trombogênese, estando ainda envolvida no metabolismo do LDL-colesterol, na formação de células lisas (derivadas dos macrófagos que contêm gotículas de gordura, principalmente sob a forma de colesterol livre e esterificado) e na disfunção endotelial (Mueller e Kuhn, 2009).

A concentração plasmática de cisteína em adultos é fisiologicamente mais elevada, cerca de 20 vezes os valores de homocisteína (<250  $\mu\text{mol/L}$ ) (El-Khairi *et al.*, 1999). Embora não exista ponto de corte estabelecido de cisteína para crianças e adolescentes, estudo realizado em São Paulo, utilizou a classificação de percentis calculados a partir dos valores encontrados na amostra, identificou prevalência de valores elevados de cisteína sérica de 9.6% em meninos e 9.0% em meninas (Pereira Da Silva *et al.*, 2013).

Resultados de estudo de caso-controle envolvendo pacientes de nove países da Europa registrou concentrações elevadas de cisteína associadas à doença cardiovascular, após ajuste por tradicionais fatores de risco cardíaco (El-Khairi *et al.*, 2001). Em estudo envolvendo 16176 indivíduos de 40 a 67 anos que integraram o HHS, observou-se que a cisteína associou-se significativamente com o índice de massa corporal (IMC) (El-Khairi *et al.*, 1999). E, registra-se ainda que estudo recente envolvendo 5000 participantes identificou que concentrações de cisteína no quarto quartil de distribuição elevava em 3.5 vezes a chance de ocorrência de obesidade, quando comparada à concentração de cisteína no primeiro quartil (Elshorbagy *et al.*, 2009).

Na população pediátrica, é escasso o conhecimento sobre os fatores de risco associados às concentrações elevadas de homocisteína e cisteína. Segundo Ganji e Kafai (2003), o aumento da concentração de homocisteína circulante em crianças pode estar diretamente relacionado à elevação da pressão arterial, do peso corporal e da predição de risco cardiovascular. Resultados de investigações recentes mostram que as concentrações de homocisteína apresentam-se mais elevadas em crianças com dislipidemia e história familiar de DCV, quando comparadas àquelas

com perfil lipídico normal e sem história familiar para esse grupo de doenças (Greenlund *et al.*, 1999; Laskawska-Klita, Szymczak e Radomska, 2001).

São raros os estudos brasileiros que abordam a ocorrência e distribuição das concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas em crianças e adolescentes. Estudo de caso-controle realizado com adolescentes da cidade de São Paulo identificou que a idade, sexo e consumo de folato se associavam às concentrações de homocisteína (Brasileiro *et al.*, 2005). Pereira da Silva *et al.* (2013) identificaram associação positiva entre concentrações elevadas de homocisteína e de cisteína e o excesso de gordura corporal em crianças e adolescentes do município de Santo André, São Paulo.

Também são escassas as investigações que avaliam a influência de valores simultaneamente elevados de homocisteína e cisteína sobre as DCNT's, principalmente em crianças e adolescentes. Estudo de caso-controle envolvendo amostra de indivíduos adultos de nove países da Europa identificou que participantes com valores simultaneamente elevados de homocisteína e cisteína tiveram maior chance de apresentar DCV (El Khairy *et al.*, 2001). Outro estudo, de delineamento transversal realizado com adultos e idosos na China, identificou mais baixos valores de HDL-colesterol em indivíduos com valores simultaneamente elevados de homocisteína e cisteína (Xiao *et al.*, 2011). No Brasil, não foram identificados estudos deste tipo em nenhum grupo etário.

Pouco conhecimento tem sido produzido, também, sobre a relação longitudinal entre homocisteína, cisteína e DCNT's. Estudo de coorte envolvendo 107 crianças e adolescentes da Espanha identificou relação linear positiva entre concentrações de homocisteína e peso corporal (Codoner-Franch *et al.*, 2010).

Diante da escassez de investigações sobre a relação longitudinal entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e as DCNT's, em especial o excesso de peso e as dislipidemias, e de estudos que avaliem a influência conjunta de valores aumentados destes parâmetros bioquímicos sobre estes indicadores, especialmente na faixa etária pediátrica, são necessárias investigações sistemáticas que esclareçam estas relações. Assim, conhecer o comportamento das concentrações séricas de homocisteína e cisteína em crianças e adolescentes pode auxiliar na identificação de ganho de peso e de alterações negativas do perfil lipídico precocemente.

## **2 OBJETIVOS**

---

## **2.1 OBJETIVO GERAL**

Conhecer a influência de concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas, isoladas e simultaneamente aumentadas, sobre o perfil antropométrico e lipídico de crianças e adolescentes.

## **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Apresentar os fatores associados às concentrações de Hcy e Cys séricas em crianças e adolescentes;
- identificar a associação entre os valores de Hcy e Cys séricas, isoladas e conjuntamente, e o estado antropométrico de crianças e adolescentes;
- identificar a associação entre valores elevados de Hcy e Cys séricas, isoladas e conjuntamente, e os parâmetros lipídicos em crianças e adolescentes;
- investigar a influência de concentrações séricas elevadas de Hcy, Cys e ambas simultaneamente sobre a mudança nos parâmetros antropométricos de crianças e adolescentes ao longo de 12 meses de seguimento;
- investigar a influência de concentrações elevadas de Hcy, Cys séricas e de ambas simultaneamente sobre alterações do perfil lipídico de crianças e adolescentes ao longo de 12 meses de acompanhamento.

### **3 QUADRO TEÓRICO**

---

Nas últimas décadas ocorreram mudanças progressivas nas formas de adoecer e morrer da população brasileira. Tais mudanças expressam a inversão da ocupação demográfica, do espaço físico, redução da taxa de fecundidade, de mortalidade infantil e elevação da média de idade de vida (Batista Filho *et al.*, 2008). Essas mudanças foram acompanhadas da melhora do acesso, cobertura e resolutividade das ações de saúde e da mudança do perfil alimentar das famílias (Brasil, 2006a; Batista Filho *et al.*, 2008). Tais alterações imprimiram mudanças nos padrões de trabalho e lazer, com aumento do sedentarismo e da redução das doenças carenciais e infecciosas, e aumento na ocorrência das doenças crônicas não transmissíveis, com destaque para a obesidade, dislipidemias e DCV (Brasil, 2006a; Batista Filho *et al.*, 2008), embora no Brasil, estas categorias de doenças ainda convivam de maneira concomitante.

Atualmente, as DCNT figuram como importante causa de morte no Brasil. Uma parcela importante da crescente ocorrência destas morbidades pode ser atribuída ao controle inadequado dos fatores de risco associados ao seu desenvolvimento (Brasil, 2006b), destacando-se a obesidade e as dislipidemias. Além destes, fatores como história familiar de DCV precoce, idade (homem >45 anos e mulher >55 anos), tabagismo, hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus*, sedentarismo, dieta inadequada e estresse psicossocial também têm sido elencados como importantes fatores de risco para as DCV. Nove destes fatores explicam a maior parte do risco atribuível de doença na população ao redor do mundo (Brasil, 2006b). Ainda assim, em cerca de 25% dos portadores destas morbidades estes fatores de risco não se fazem presentes (Mcgill *et al.*, 2001; Smith, 2006). Assim, tem se buscado identificar outros fatores envolvidos na sua ocorrência. Dentre estes fatores, destacam-se a hiperhomocisteinemia e as concentrações elevadas de cisteína.

A homocisteína é um aminoácido sulfurado produzido exclusivamente como produto intermediário do metabolismo intracelular da metionina da dieta, um aminoácido essencial (Venâncio, Burini e Yoshida, 2010). Seu metabolismo ocorre por meio das vias de remetilação e transulfuração. Em caso de excesso de metionina na dieta, a homocisteína é direcionada para a via da transulfuração – que ocorre principalmente no fígado e nos rins - sendo convertida em cistationina e depois em cisteína. Essa reação é catalisada pela enzima cistationina  $\beta$  sintetase, com participação da piridoxina (vitamina B6). Posteriormente, a cisteína é metabolizada para sulfato e excretada na urina.

No ciclo da remetilação – que se dá preferencialmente no jejum –, a homocisteína adquire um grupamento metil do N5-metiltetraidrofolato (metil-THF) ou da betaína e é convertida a metionina. A reação com o metil-THF (que é sintetizado no sistema co-enzimático do ácido fólico) ocorre em todos os tecidos e é catalisada pela enzima metionina sintase, e tem como coenzima a vitamina B12. A reação com a betaína se dá principalmente no fígado e rins, e é catalisada pela enzima betaína-homocisteína metiltransferase (Selhub, 2002; Selhub, 1999) (Figura 1). Assim, caso alguma das vias metabólicas seja alterada, por defeito enzimático ou deficiência das vitaminas B6, B12 e ácido fólico, os níveis de homocisteína plasmática se elevam.

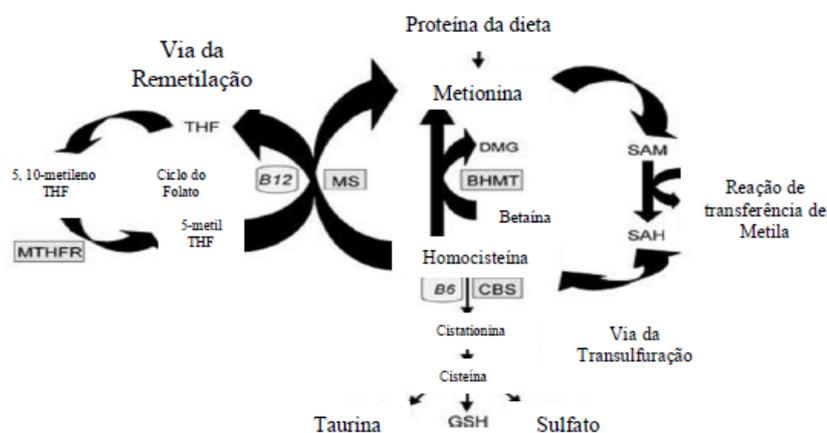


Figura 1 - Vias metabólicas da homocisteína (Austin, Lentz e Werstuck, 2004).

A concentração normal de homocisteína sérica de indivíduos adultos de ambos os sexos varia de 5 a 15  $\mu\text{mol/L}$ . Acima deste valor, as concentrações de homocisteína são consideradas citotóxicas (Stanger *et al.*, 2004). Por consenso, valores de até 30  $\mu\text{mol/L}$  classifica a hiperhomocisteinemia como moderada; entre 31 e 100  $\mu\text{mol/L}$  identifica a forma intermediária; e concentração maior que 100  $\mu\text{mol/L}$  identifica a hiperhomocisteinemia grave, também chamada de homocisteinúria (Kang, 1996).

Sabe-se que as concentrações de homocisteína se elevam com a idade, provavelmente devido à má absorção de micronutrientes que ocorre com o aumento da idade, necessários para o adequado metabolismo da homocisteína, incluindo ácido fólico, vitamina B6 e B12, observada em idade avançada. No entanto, até o momento, não foram definidas faixas de referência por idade específica para homocisteína (Ridker *et al.*, 1999; Fukagawa *et al.*, 2000; Stanger *et al.*, 2004). Para crianças e adolescentes, não há valores estabelecidos. Estudos têm mostrado que valores médios de homocisteína nestes grupos etários equivalem à metade dos valores encontrados na população adulta (5 a 8  $\mu\text{mol/L}$ ) (Greenlund *et al.*, 1999; Rauh *et al.*, 2001; Casanueva E *et al.*, 2003).

A ocorrência de hiperhomocisteinemia pode estar associada a fatores fisiológicos, genéticos, nutricionais, e podem ainda ser induzida por drogas e hormônios (Kang, 1996). As bases genéticas da hiperhomocisteinemia variam com a via de metabolismo, podendo ocorrer deficiências homozigóticas ou heterozigóticas na codificação de enzimas envolvidas no metabolismo da homocisteína (Kang, 1996). Considerando as causas não-genéticas da hiperhomocisteinemia, o estado nutricional, com destaque para as deficiências nutricionais das vitaminas B12, B6 e ácido fólico, cofatores do metabolismo da homocisteína, são preditores da doença. Estes distúrbios nutricionais podem ser responsáveis pela hiperhomocisteinemia moderada, sendo a deficiência específica de ácido fólico a causa mais comum da elevação da homocisteína (Stanger *et al.*, 2004; Verhoef *et al.*, 2005).

É possível que a dieta ocidental não forneça a cota mínima necessária de 400 µg de ácido fólico por dia, sendo então recomendada a suplementação para os grupos de risco (Stanger *et al.*, 2004). Resultados de metanálise incluindo 72 estudos de prevalência e 20 prospectivos (coorte) indicaram que indivíduos sadios suplementados com vitaminas do complexo B apresentaram diminuição do risco cardíaco (Wald, Law e Morris, 2002). Assim, é possível pensar que, indiretamente, a identificação de deficiências destas vitaminas pode atuar na detecção precoce de risco de hiperhomocisteinemia.

Outras situações podem elevar os valores de homocisteína plasmática, como a disfunção renal, doenças hepáticas, câncer, doença de Alzheimer, hipotireoidismo (Ueland e Refsum, 1989; Taylor, Oudit e Evans, 2000), além do uso de medicamentos que alteram o metabolismo do folato, como corticóides, ciclosporinas, anticonvulsivantes e diuréticos (Malinow, 1994).

Aspecto a ser considerado em relação ao risco de concentrações elevadas de homocisteína é representado pelo estilo de vida. Alguns estudos mostram que o tabagismo e o sedentarismo podem contribuir com o aumento dos valores de homocisteína em adultos (Taylor, Oudit e Evans, 2000; Verhoef e Groot, 2005). Entretanto, a definição destas relações em crianças e adolescentes é escassa.

Assim como a hiperhomocisteinemia, valores elevados de cisteína também estão relacionados com DCNT's, especialmente a obesidade e as DCV. Os primeiros estudos que versam sobre a relação entre a cisteína e o peso corporal classificavam o IMC como forte preditor dos valores elevados de cisteína (El-Khairi *et al.*, 1999; El-Khairi *et al.*, 2003). No entanto, estudos recentes registraram o papel obesogênico da cisteína (Elshorbagy *et al.*, 2009; Elshorbagy, A. K. *et al.*, 2012; Elshorbagy, Amany K., Valdivia-Garcia, Maria, *et al.*, 2012).

O possível mecanismo pelo qual concentração elevada de cisteína sérica leva ao excesso de gordura corporal explica-se pela inibição da lipólise pelo peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) originado da auto-oxidação da cisteína, ativando a lipogênese (Elshorbagy, Amany K., Kozich, Viktor, *et al.*, 2012; Elshorbagy, A. K. *et al.*, 2012). Para a homocisteína, resultados oriundos de experimentos *in vivo* e *in vitro* indicam que sua associação com o excesso de peso corporal também esteja ligada à disfunção do tecido adiposo, inibindo a lipólise por meio da ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) (que é importante sensor do nível de energia celular), exercendo efeito ante-lipólise nos adipócitos, favorecendo o acúmulo de gordura (Wang *et al.*, 2011).

Para a relação entre valores aumentados de homocisteína, cisteína e alterações lipídicas, os mecanismos fisiopatológicos ainda não foram completamente elucidados. A hipótese etiológica mais recente – oriunda de estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* – e que tem recebido adesão de muitos investigadores é a de que valores elevados de homocisteína e cisteína séricas aumentam a expressão da SREBP-1 (proteína de ligação ao elemento regulador de esterol) – importante elemento no caminho da biossíntese de colesterol e triglicérides – favorecendo a ocorrência de alterações do perfil lipídico (Werstuck *et al.*, 2001). Além disso, estudos têm demonstrado que concentrações aumentadas de cisteína inibem a transcrição da apolipoproteína A-1, com conseqüente redução da síntese de HDL-c nos hepatócitos, contribuindo para a ocorrência e/ou agravamento das dislipidemias (Liao, Yang e Wang, 2007).

Assim, identificar a influência de concentrações aumentadas de homocisteína e cisteína séricas sobre o estado antropométrico e o perfil lipídico de crianças e adolescentes (conforme representado na Figura 2) pode contribuir para a ampliação do conhecimento sobre a prevenção e controle do excesso de peso e das dislipidemias no grupo pediátrico, contribuindo para a prevenção das DCNT's na vida adulta.

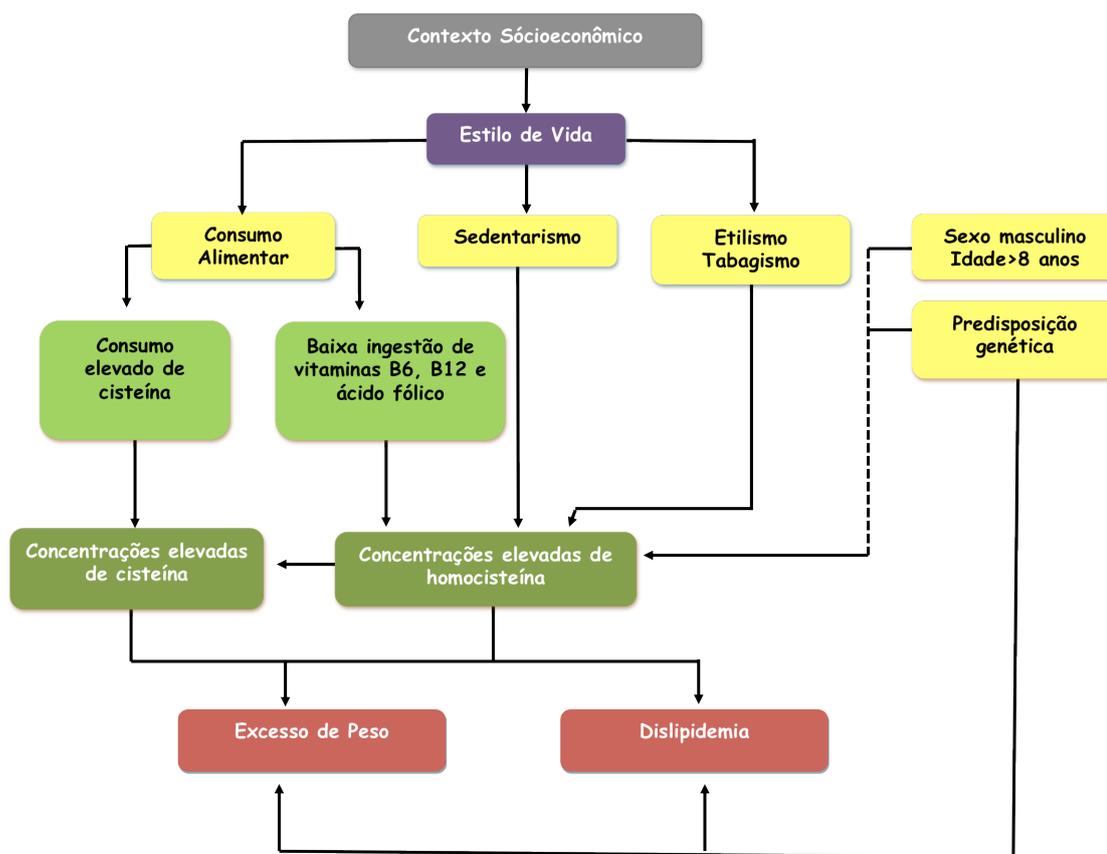


Figura 2 - Quadro teórico da relação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e o perfil lipídico e antropométrico.

## **4 CONSIDERAÇÕES TEÓRICO-METODOLÓGICAS**

---

#### **4.1 Amostra e desenho de estudo**

O estudo de coorte estava inserido em uma investigação maior intitulada “Alterações Metabólicas Associadas ao Sobrepeso/Obesidade em Escolares de Mutuípe – Bahia”. No estudo original, 540 crianças coletaram amostra de sangue e, destas, 37 não foram localizadas, 15 não tinham soro suficiente para a dosagem e em 05 não foi possível a realização das dosagens bioquímicas. Assim, a amostra deste estudo incluiu 483 crianças e adolescentes de 7 a 15 anos de idade, de ambos os sexos, selecionados aleatoriamente a partir da lista de matrícula de alunos do curso fundamental, fornecida pela Secretaria de Educação, do município de Mutuípe, Recôncavo da Bahia, no ano de 2006. A esquematização da seleção da amostra e acompanhamento da coorte está apresentada na Figura 3.

A coorte foi acompanhada pelo período de 12 meses, caracterizando-se como uma coorte prospectiva. Os estudos de coorte são estudos observacionais que permitem a investigação de diversos desfechos, tais como mortalidade, incidência de doenças e mudanças nas características de interesse ao longo do tempo, segundo diferentes tipos de exposição (Rothman, Greenland e Lash, 2008).

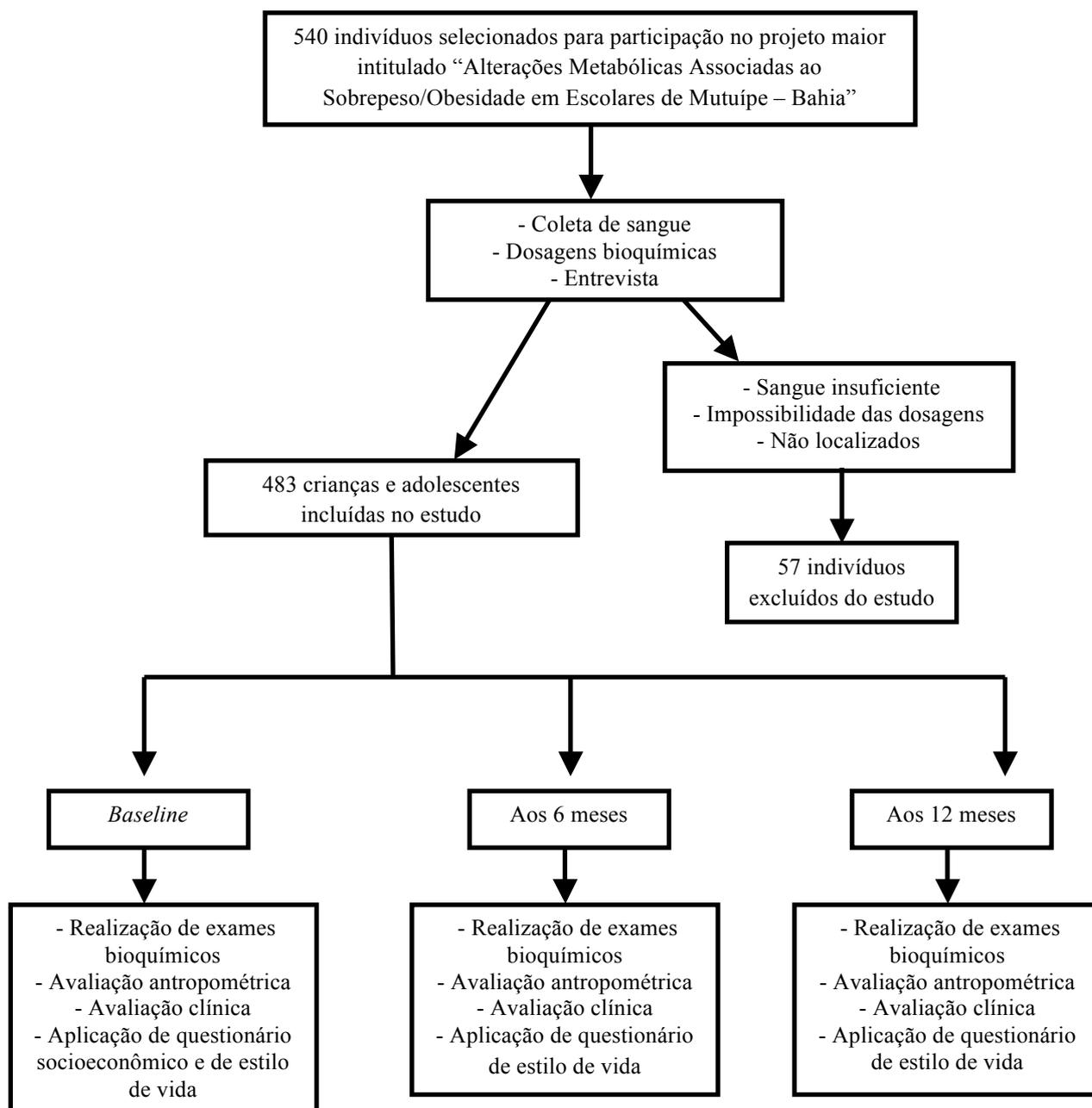


Figura 3. Fluxograma da seleção e acompanhamento da coorte.

Esta amostra tem poder de 99% e 97.6% para detectar alteração de 10% na média do Índice de Massa Corporal (IMC) e da Circunferência da Cintura (CC) dos participantes, no período de 12 meses de seguimento, considerando a média de  $22.8\text{Kg/m}^2 \pm 4.09\text{DP}$  para o IMC e média de  $71\text{cm} \pm 7.8\text{DP}$  para a CC (Pereira *et al.*, 2010). Para o perfil lipídico, a amostra tem poder de 95% para detectar alteração de

10% na média do colesterol total dos participantes, considerando a média de 158.0mg/dL  $\pm$  30.4DP (Araki, Barros e Santos, 2010); poder de 94% para detectar 10% de alteração na média do LDL-c, considerando a média de 91.4mg/dl  $\pm$  25.9DP (Araki, Barros e Santos, 2010); poder de 99% para detectar 10% de mudança na média do HDL-c, considerando média de 47.5mg/dL  $\pm$  10.5DP (Araki, Barros e Santos, 2010); e 96% de poder para identificar 10% de mudança na média dos triglicérides após 12 meses de seguimento, considerando média de 92.1mg/dL  $\pm$  48.8DP (Araki, Barros e Santos, 2010). Os cálculos do poder amostral ( $1-\beta$ ) foram baseados no nível de significância de 5% e testes bi-caudais, indicando que esse tamanho de amostra é suficiente para a realização de estimativas não viciadas dos parâmetros da população em estudo (Rosner, 2010).

Os dados do *baseline* originaram abordagens transversais. Assim, para o estudo transversal que adota o perfil antropométrico como variável desfecho, o poder da amostra foi calculado com base nas prevalências de hiperhomocisteinemia em 25.4% de escolares com excesso de peso e em 43.3% daqueles com excesso de gordura abdominal (Pereira da Silva *et al*, 2013); e, para o cálculo amostral das concentrações elevadas de cisteína e excesso de peso e excesso de gordura abdominal, tomou-se como base prevalências de hipercisteinemia em 30.3% dos escolares com excesso de peso e em 50% daqueles com excesso de gordura abdominal (Pereira da Silva *et al*, 2013). Nestas condições, a amostra de 483 indivíduos tem poder ( $1-\beta$ ) de 84% e 99% de detectar associação entre concentrações elevadas de homocisteína e excesso de peso e excesso de gordura abdominal e, poder de 92% e 99%, respectivamente, de detectar associação entre concentrações elevadas de cisteína e excesso de peso e de gordura abdominal.

Para o estudo transversal sobre perfil lipídico, a amostra apresentou poder ( $1-\beta$ ) de 97%, 99%, 98% e 99%, respectivamente, de detectar associação entre concentrações aumentadas de homocisteína sérica e valores elevados de colesterol total, LDL-c e triglicérides e baixos valores de HDL-c, tomando como base prevalências de 32%, 19.4%, 17.9% e 17.9% de valores elevados de colesterol total, LDL-c, triglicérides e baixos valores de HDL-c em indivíduos com hiperhomocisteinemia, respectivamente (Venâncio, 2002; Pereira Da Silva *et al.*, 2013).

O poder para detectar associação entre hipercisteinemia e valores aumentados de LDL-c, triglicérides e baixos valores de HDL-c foi, respectivamente, 99%, 97% e 99%, tomando como base prevalências de 21.2%, 28.8% e 13.6% de valores elevados de LDL-c e triglicérides e baixos valores de HDL-c em indivíduos com hipercisteinemia, respectivamente (Pereira da Silva *et al.*, 2013). Para a relação entre valores de cisteína e colesterol total, o cálculo do poder da amostra foi realizado *a posteriori*, uma vez que não foi identificada prevalência de hipercolesterolemia em indivíduos com hipercisteinemia. Assim, a amostra de 483 escolares apresentou poder de 95% para detectar valores elevados de cisteína sérica em indivíduos com hipercolesterolemia. Os cálculos do poder amostral ( $1-\beta$ ) para os estudos transversais foram também baseados no nível de significância de 5% e testes bi-caudais, indicando que esse tamanho de amostra é suficiente para a realização de estimativas não viciadas dos parâmetros da população em estudo (Rosner, 2010).

## 4.2 Critérios de exclusão

Seriam excluídos do estudo escolares que fizessem uso de medicamentos que alterassem as concentrações de homocisteína e cisteína (anticonvulsivante, diuréticos, tiazídicos, corticóides) ou portadores de diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, doença hepática e hipotireoidismo, por influenciarem os valores séricos de homocisteína e cisteína (Taylor, Oudit e Evans, 2000). Estado de gestação, lactação e de deficiências físicas que impedissem a avaliação antropométrica foram também adotados como critérios de exclusão. No entanto, estas condições não foram identificadas entre os escolares selecionados.

## 4.3 Métodos

### 4.3.1 Coleta de dados e definição de variáveis

A coleta de dados sócio-demográficos, de estilo de vida, clínicos, antropométricos e de consumo alimentar foi realizada por equipe de nutricionista devidamente capacitada, e o sangue foi coletado por técnico de laboratório com experiência na realização deste procedimento em crianças e adolescentes.

As variáveis de exposição principal (concentrações de homocisteína e cisteína séricas) foram coletadas no *baseline*, enquanto que as variáveis desfecho e as demais covariáveis do estudo foram coletadas ao início, aos seis e aos 12 meses do seguimento. Na atualidade, estudos de coorte com esta configuração têm sido adotados, em especial pela robustez do desenho e pela vantagem de redução dos custos em estudos de coorte, uma vez que a exposição principal é coletada no início do seguimento e os desfechos são avaliados longitudinalmente (Mai *et al.*, 2012; Nanri *et al.*, 2012).

### 4.3.2 Dados antropométricos

**Peso:** para a obtenção do peso utilizou-se balança digital portátil Filizola® com capacidade para 150kg e precisão de 100g. O procedimento de pesagem foi realizado em duplicata, a média entre as duas medidas foi adotada como medida final. O indivíduo estava descalço, com a bexiga vazia e em uso de roupa leve, posicionado sobre a plataforma da balança com o peso do corpo igualmente distribuído entre os pés. A variação permitida entre as duas medidas foi de 0,1kg (Lohman, Roche e Martorell, 1988).

**Altura:** a altura foi aferida por meio de estadiômetro marca Leicester Height Measure, com a leitura realizada no milímetro mais próximo. A criança foi medida descalça, sem adereços na cabeça, posicionada verticalmente com braços estendidos ao longo do corpo, ombros relaxados com os calcanhares juntos, e a cabeça posicionada no plano de Frankfurt. Calcanhares, nádegas, omoplatas e cabeça mantinham-se em contato com a superfície vertical do instrumento. A criança se posicionou firmemente na plataforma, enquanto a base móvel do estadiômetro era deslocada até a parte superior da cabeça. A medida foi registrada com aproximação de 0,1 cm. As medidas foram realizadas em duplicatas e a média entre as duas medições foi adotada como definitiva e registrada em ficha individual (Lohman, Roche e Martorell, 1988).

**Circunferência da Cintura (CC):** foi medida com a criança de pé e o peso distribuído de forma uniforme em ambos os pés e os braços caídos ao longo do corpo. A fita métrica inelástica, de fibra de vidro, com escala em centímetros foi posicionada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca superior. Observou-se o ajuste da fita ao corpo de forma a evitar folga ou compressão da

pele. A leitura foi feita no momento da expiração com o indivíduo respirando suavemente e, realizada no milímetro mais próximo da escala. Caso a variação entre os medidores não atendesse à precisão previamente recomendada, era realizada uma nova medida, sendo adotada a média das duas medidas mais próximas (Lohman, Roche e Martorell, 1988).

**Índice Antropométrico:** o estado antropométrico foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) por idade e pela CC. O IMC foi obtido pela divisão do peso (quilogramas) pela estatura (metros) elevada ao quadrado [ $IMC = P \text{ (kg)} / E^2 \text{ (m)}$ ], utilizando como referência as recomendações da Organização Mundial da Saúde (Onis *et al.*, 2007), para indivíduos de 5 a 19 anos. Considerando que não há consenso sobre o ponto de corte de CC para crianças e adolescentes, adotou-se neste estudo o percentil 90 da própria amostra para classificação de excesso de gordura abdominal, conforme proposto por Freedman *et al.* (Freedman *et al.*, 1999).

#### **4.3.3 Dados dietéticos**

O consumo alimentar foi avaliado utilizando-se o questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA foi adaptado de instrumento previamente utilizado em crianças e adolescentes do município (Assis *et al.*, 2002). Este instrumento era composto por 96 itens alimentares e continha 8 possibilidades de resposta de consumo: diário, de 1 a 6 vezes na semana e raramente/nunca.

Estas informações foram tratadas de acordo com a metodologia proposta por outro autor (Monteiro, Riether e Burini, 2004). Assim, o cômputo geral da frequência do consumo de cada alimento foi convertido em escores, multiplicando a frequência semanal por 4 (número de semanas no mês) e dividindo-a por 30 (número de dias no mês), encontrando-se assim, o escore de consumo médio diário mensal para

cada alimento. Os escores variaram de 1 (consumo diário) a zero (consumo “raro/nunca”), sendo, posteriormente, classificados em tercil (Monteiro, Riether e Burini, 2004).

Após o cálculo destes escores e baseado na composição dos alimentos, foram construídos dois grupos de consumo, com a seguinte caracterização:

a) Grupo de risco para excesso de peso, dislipidemia e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína: formado por alimentos com elevado teor de gorduras saturadas, de cloreto de sódio e de açúcares simples.

b) Grupo de proteção contra excesso de peso, dislipidemia e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas: formado por alimentos fontes de fibras, vitaminas, minerais e de baixa densidade calórica.

#### **4.3.4 Coleta de dados sócio-demográficos, relacionados ao estilo de vida e clínicos**

As informações deste quesito foram referidas pela mãe ou responsável pela criança/adolescente e registradas em questionário estruturado. As informações demográficas dizem respeito ao sexo e idade do escolar.

Condições socioeconômicas dizem respeito ao número de cômodos e de pessoas que residiam no domicílio, principal tipo de iluminação e ocupação do chefe da família e deram origem ao índice socioeconômico. Para o índice ambiental, utilizaram-se as condições do abastecimento de água do domicílio, a origem da água para beber, o destino dado ao lixo e aos dejetos. Essas variáveis tiveram as respostas pontuadas de 0 a 4, variando de 0 (pior condição) a 4 (melhor

classificação). Desta forma, os índices socioeconômico e o ambiental tiveram pontuação mínima de 0 e máxima de 16 e foram categorizados em tercil.

Apesar do conhecimento de que a escolaridade materna se associa às condições socioeconômicas, optou-se por não incluí-la no índice socioeconômico e avaliá-la separadamente, dado que esta variável representa também os aspectos culturais e alimentares da sociedade onde está inserido o indivíduo.

O nível de atividade física foi avaliado a partir de questionário estruturado com questões referentes à frequência da prática de atividade física não incluída no conteúdo pedagógico escolar, que é realizada uma vez na semana. Assim, a prática de dois ou mais dias de atividade física fora da escola classifica o escolar em ativo; e a prática de menos que dois dias de atividade física fora da escola classifica o escolar como pouco ativo / sedentário.

Também foi incluída no modelo teórico a variável prática de etilismo.

#### **4.3.5 História de Doença Familiar**

O escolar e/ou seu responsável foram questionados quanto à ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis na família (obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e câncer) e em caso positivo, perguntou-se sobre o grau de parentesco com o participante da pesquisa.

#### **4.3.6 Exames Bioquímicos**

A coleta de sangue foi realizada pela manhã observando-se o jejum de pelo menos 12 horas. Foram coletados, por punção venosa, 10 mL de sangue, e depositados em tubos vacutainer (BD®) estéreis e descartáveis, sem anticoagulante. O sangue foi

centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos para posterior separação do soro, que foi utilizado para as determinações bioquímicas. As alíquotas de soro foram acondicionadas em *ependorf* previamente desmineralizado e armazenadas a -20 °C. Os valores de colesterol total, HDL-C, triglicerídeos e glicemia foram determinados pelo método enzimático. Os valores de LDL colesterol (LDL-C) foram calculados pela equação de Friedewald:  $LDL-C = CT - HDL-C - (TG/5)$ ; indicada somente quando os valores de TG são menores de 400 mg% (Brandão *et al.*, 2004). As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas no espaço do Laboratório de Referência do Município, cedido pela Secretaria da Saúde.

As determinações da homocisteína e cisteína séricas foram realizadas no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da UNIFESP. Estas dosagens foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) com eluição isocrática e detecção fluorimétrica, considerada metodologia padrão-ouro para este procedimento (Cruz *et al.*, 2000).

Resumidamente, o processo de dosagem ocorre da seguinte forma: a amostra passa por preparação prévia que envolve três etapas: redução, precipitação das proteínas e derivatização. Na etapa de redução, a mistura de 50µL de plasma, com 25 µL de padrão interno (cistamina 40µM) e 25µL de PBS (pH 7.4) que é incubada por 30 minutos à temperatura ambiente adicionada de 10µL de TCEP a 10% para a redução e a liberação dos tióis ligados às proteínas. A precipitação das proteínas é obtida pela adição de 90µL de TCA 10% contendo 1mM de EDTA à mistura obtida na etapa anterior, seguido de 30 segundos de agitação e de 10 minutos de centrifugação a 13.000 rpm. A derivatização consiste na obtenção de 50µL do sobrenadante da centrifugação e adicioná-los a um microtubo escuro que já deve

conter 10 µL de NaOH 1.55 M, 125 µL de tampão borato 0.125 M (pH 9.5) contendo 4 mM de EDTA e 50 µL de SBD-F (0.1% em tampão borato), e incubados a 60°C por 60 minutos. Após o período de incubação, são injetados 10µL desta mistura no cromatógrafo. A separação é feita com uso de uma coluna Prodigy ODS2, 150 x 3.2mm com micropartículas de 5µm (Phenomenex) e por uma pré-coluna Adsorbosphere C18 de 7.5 x 4.6 mm com micropartículas de 5µm (Alltech). A detecção é realizada com o detector ajustado para excitação a 385nm e emissão a 515nm. A fase móvel é composta de tampão ácido acético-acetado 0.1 M (pH 5.5), contendo 30mL/L de metanol, num fluxo de 0.7 mL/minuto e temperatura ambiente (Pfeiffer, Huff e Gunter, 1999).

#### **4.4 Classificação das Variáveis Bioquímicas**

##### **- Glicemia**

Para a classificação da glicemia, adotou-se a recomendação da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009) que a caracteriza em condição de adequada ( $\leq$  100mg/dl) e elevada ou hiperglicemia ( $>$  100mg/dl).

##### **- Perfil lipídico**

Embora as classificações do perfil lipídico usadas no Brasil não considerem as variações da idade na infância e adolescência (Lauer *et al.*, 1992; SBC, 2005), estudos têm identificado que valores médios do colesterol total (CT), LDL-colesterol (LDL-c), HDL-colesterol (HDL-c) e triglicérides (TG) variam significativamente com a idade e gênero (Labarthe, D. *et al.*, 1997; Labarthe, D. R. *et al.*, 1997; Labarthe, 2005).

Análises de trajetória do perfil lipídico, oriundas de estudos de coorte (Labarthe, 2005) têm identificado que os valores de colesterol total variam com a idade em ambos os sexos, com declínio acentuado dos 9 aos 16 anos nas meninas e dos 10 aos 17 anos nos meninos. Para os níveis de LDL-c, registra-se redução aos 10 e 11 anos e aos 14 anos, sendo mais acentuado nos meninos do que nas meninas e nos indivíduos negros do que nos brancos. Considerando o HDL-c, os valores diferem entre os sexos e mostram homogeneidade entre a idade para as meninas, até os 14 anos, com discreto aumento dos 14 aos 18 anos neste grupo. De maneira geral, os níveis desta lipoproteína aumentam após os 14 e 15 anos para ambos os sexos e etnias. Quanto aos valores de triglicérides, observa-se aumento dos 8 aos 12 anos entre as meninas – parecendo atingir um topo em torno dos 13 anos – e, de maneira quase linear, eleva-se dos 8 aos 18 anos nos meninos. Também para os triglicérides são identificados valores mais altos entre crianças e adolescentes brancas do que nas negras (Labarthe, D. *et al.*, 1997; Labarthe, D. R. *et al.*, 1997; Labarthe, 2005; Dai *et al.*, 2009).

Assim, no presente estudo optou-se por classificar estes parâmetros segundo a idade e o sexo, adotando-se os pontos de corte sugeridos por Jolliffe e Janssen para adolescentes de 12 a 19 anos (Jolliffe e Janssen, 2006).

Para os escolares com menos de 12 anos, para os quais ainda não existem pontos de corte padronizado pela idade, adotou-se a recomendação do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) para classificar o HDL-c e aqueles propostos pelo *National Cholesterol Education Program* (NCEP) para a classificação do colesterol total, LDL-c e triglicérides. Estes pontos de corte foram adotados com base nos resultados de estudos que mostraram que o uso do ponto de corte do NHANES para o HDL e os pontos de corte do NCEP para o colesterol total, LDL-c e

triglicérides apresentaram maior acurácia na classificação de adolescentes que desenvolveram dislipidemia na fase adulta (Magnussen *et al.*, 2008; Dwyer *et al.*, 2013).

#### **- Homocisteína e Cisteína séricas**

Considerando que não há consenso sobre os pontos de corte para classificar as alterações da Hcy e Cys em crianças e adolescentes, adotou-se a distribuição em quintis para a análise descritiva [variável dicotômica:  $\leq$  5º quintil (referência = 0);  $>$  5º quintil (risco = 1)] e para os modelos de regressão [1º quintil (referência = 0); 2º quintil (primeira categoria de risco = 1); 3º quintil (segunda categoria de risco = 2); 4º quintil (terceira categoria de risco = 4); e quinto quintil (categoria de maior risco = 5)].

Para avaliar a relação entre as variáveis desfecho e a presença simultânea de concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas, criou-se uma nova variável a partir dos quintis individuais de distribuição destes parâmetros bioquímicos (Hcy+Cys). Assim, valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente no 1º quintil de suas respectivas distribuições foram incluídos na categoria de referência (0); concentrações de Hcy e Cys séricas no 2º, 3º ou 4º quintil das respectivas distribuições caracterizaram a primeira categoria de risco (1); e valores de Hcy e Cys simultaneamente no 5º quintil de distribuição caracterizaram a categoria de maior risco (2). E, assim, integraram os modelos de regressão na análise estatística.

#### **4.5 Processamento dos dados**

Após as rotinas de controle dos dados coletados, estes foram digitados, à medida que chegavam de campo, utilizando-se o programa EPI-INFO, que tem caráter simplificado e evita erros grosseiros na entrada de dados.

#### 4.6 Identificação das Variáveis

Nas investigações longitudinais, as variáveis desfecho foram representadas pelas mudanças nos valores médios do IMC/Idade, circunferência da cintura, colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicérides séricos. Estas variáveis foram medidas ao início e a cada seis meses do seguimento, totalizando três medidas ao longo do tempo, e integraram os modelos na forma contínua e variante no tempo. As variáveis desfecho dos estudos transversais foram representadas pelo excesso de peso, excesso de gordura abdominal e lipídios séricos alterados, e integraram os modelos na forma categórica.

As variáveis independentes principais, tanto nos estudos transversais quanto nos longitudinais, foram integradas pelas concentrações elevadas de homocisteína (Hcy), de cisteína (Cys) séricas e ambos parâmetros bioquímicos aumentados simultaneamente, medidas no *baseline*.

Para todos os estudos, as covariáveis incluídas foram: a idade [<12 anos (0); >=12 anos (1)], sexo [feminino (0) e masculino (1)], escolaridade materna [nível médio e/ou superior (0); fundamental, ensino básico ou analfabeto (1)], índice ambiental [3º tercil (0); 2º e 1º tercís (1)], índice socioeconômico [3º tercil (0); 2º e 1º tercís (1)], pressão arterial [< percentil 90 (0); >= percentil 90 (1)], glicemia [<100mg/dL (0); >= 100mg/dL (1)], prática de atividade física [moderadamente ativo (0); pouco ativo / sedentário (1)], história familiar de DCNT [não (0); sim (1)], consumo de alimentos protetores [3º tercil (0); 1º e 2º tercís (1)], consumo de alimentos de risco [1º tercil (0); 2º e 3º tercís (1)] e etilismo [não (0); sim (1)].

#### 4.7 Análise Estatística

A prevalência foi usada para caracterizar a distribuição do excesso de peso, excesso de gordura abdominal, dislipidemias, e valores elevados de Hcy e Cys séricas na população do estudo. A comparação das variáveis desfecho segundo variáveis de exposição foi realizada utilizando-se o teste  $\chi^2$ -quadrado de Pearson (para variáveis categóricas).

Foram calculadas média e desvio padrão para homocisteína e cisteína séricas. Distribuições das concentrações destes parâmetros bioquímicos segundo as variáveis antropométricas e lipídicas foram calculadas utilizando-se o teste estatístico de comparação de médias para variáveis contínuas (teste t de *Student* para variâncias iguais ou desiguais). Foi realizada transformação logarítmica nas variáveis Hcy e Cys, por não apresentarem distribuição normal.

Para cada estudo, foram realizadas diferentes modelagens estatísticas, que serão apresentadas na seção seguinte, separadamente por artigo.

#### 4.7.1 Artigo 1: “Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e fatores associados em crianças e adolescentes”

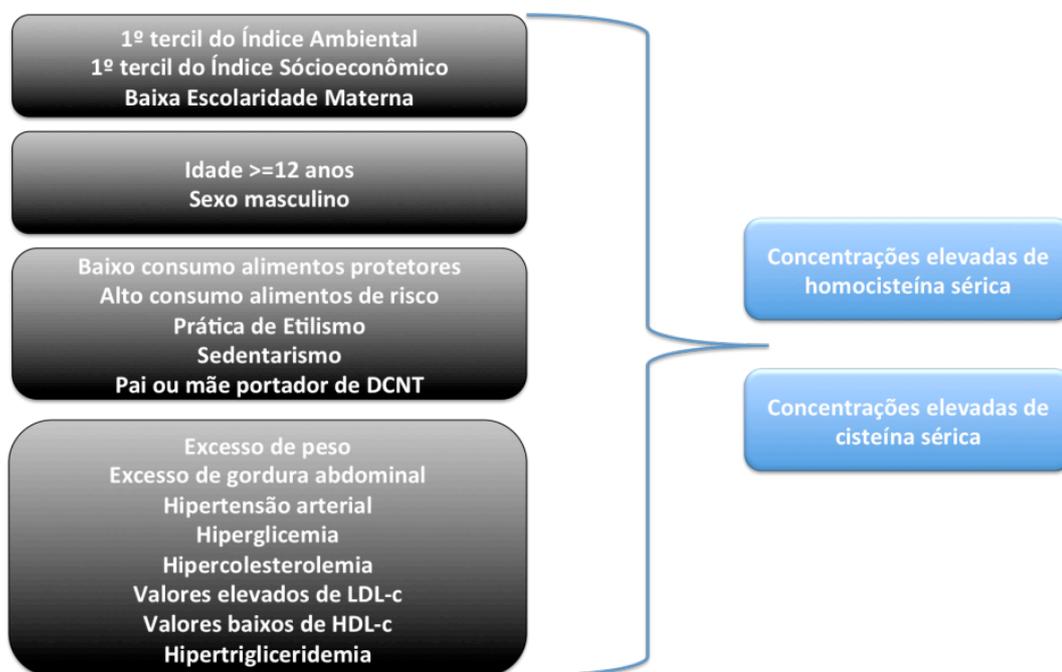


Figura 4 - Desenho estatístico para identificação dos fatores associados às concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas.

Para avaliar os fatores associados às concentrações de Hcy e Cys séricas (Figura 4), foi realizada a análise de regressão logística politômica ou regressão logística multinomial, que é uma extensão direta do modelo logístico binomial, apropriada para variáveis desfecho com mais de duas categorias (Hosmer e Lemeshow, 2000; Bittencourt, 2003; Biesheuvel *et al.*, 2008), com o intuito de avaliar os fatores associados às concentrações intermediárias de homocisteína e cisteína séricas. Assim, nesta modelagem, uma categoria da variável desfecho é escolhida como referência e a análise de regressão politômica ajusta submodelos simultâneos que comparam as demais categorias da variável desfecho com a categoria de referência

escolhida. Assim, são estimados diferentes coeficientes de regressão logística para cada variável independente em cada categoria da variável desfecho. Este método de análise tem como um dos pressupostos estatísticos o tamanho da amostra maior que 10 observações para cada variável independente (Biesheuvel *et al.*, 2008), o que foi atendido neste estudo.

A escolha desta modelagem para abordar o artigo 1 baseou-se na concepção de que, na ausência de pontos de corte de Hcy e Cys para crianças e adolescentes, a categorização destas variáveis em quintis poderia captar também os fatores associados aos seus valores intermediários.

Assim, foi construído um modelo de regressão politômica para cada variável desfecho (Hcy e Cys séricas). Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis que iriam ser testadas no modelo multivariado. Para a seleção dessas variáveis, adotou-se o nível de significância expresso por um valor de  $p$  menor que 20%. A permanência das variáveis no modelo final foi definida pela significância estatística menor que 5%.

O desempenho do modelo foi avaliado por meio da análise de discriminação e do ajuste geral do modelo. A discriminação foi avaliada por meio da curva ROC (*Receiver Operating Characteristics*), que fornece a medida da habilidade do modelo em discriminar entre aqueles indivíduos que apresentaram o desfecho de interesse e aqueles que não apresentaram (Hosmer e Lemeshow, 2000). Comumente, para desfechos binários, a curva ROC é usada como medida única de discriminação. No entanto, na regressão logística politômica, a discriminação não pode ser estimada por uma única curva ROC. Assim, foram calculadas cinco áreas sob a curva ROC, uma para cada categoria da variável desfecho, relacionando-a com as demais

(Biesheuvel *et al.*, 2008). Valores da área sob a curva ROC acima de 0.70 foram adotados como indicação de boa discriminação do modelo (Hosmer e Lemeshow, 2000).

Para avaliar o ajuste do modelo de regressão logística politômica, foram calculadas estatísticas de ajuste da bondade para cada modelo individual de regressão logística (Hosmer e Lemeshow, 2000), utilizando-se como nível de referência o 1º quintil de Hcy e Cys. Para este teste, valores de  $p \geq 0.05$  foram adotados como indicadores de bom ajuste do modelo, uma vez que o nível de significância acima do  $\alpha$  adotado indica rejeição da hipótese de que não há diferença entre os valores observados e os preditos, o que implica que o modelo se ajusta bem aos dados em análise (Hosmer e Lemeshow, 2000).

#### 4.7.2 Artigo 2: “Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e estado antropométrico de crianças e adolescentes”

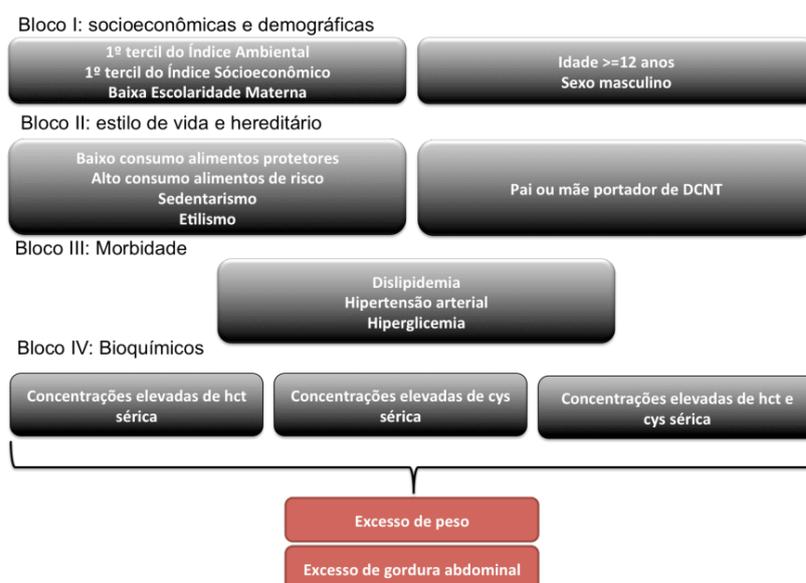


Figura 5 - Desenho estatístico para identificar a relação entre valores elevados de homocisteína e cisteína séricas e indicadores antropométricos.

Para modelar a prevalência do excesso de peso e de gordura abdominal em função dos valores elevados de Hcy e Cys séricas (Figura 5), realizou-se a regressão múltipla de *Poisson*, que integra a família dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), utilizando como estimador a razão de prevalência (RP), que compara a prevalência do desfecho nos indivíduos expostos com a prevalência nos indivíduos não expostos (Hosmer e Lemeshow, 2000). Segundo Kleinbaum e Klein, se o pressuposto de “doença rara” (arbitrariamente estabelecida como prevalência menor que 10%) não pode ser alcançado para determinado desfecho, o cálculo da *Odds Ratio* (OR) é desaconselhado, pois este tende a apresentar estimativas pontuais superestimadas e com intervalos de confiança menos precisos (Kleinbaum e Klein, 2010).

Assim, diversos métodos podem ser aplicados para se estimar a razão de prevalência (RP) em modelos de regressão, incluindo o modelo de regressão de Poisson. Este método, embora seja mais utilizado em epidemiologia na análise de dados de contagem em estudos longitudinais, pode ser aplicado a estudos transversais com variáveis dicotômicas utilizando a função de ligação *log* e mantendo o tempo constante (McCullagh e Nelder, 1989). A regressão de *Poisson* neste tipo de delineamento de estudo utiliza como estimador a razão de prevalência (RP), que compara a prevalência do desfecho de interesse nos indivíduos expostos com a prevalência nos indivíduos não expostos (Hosmer e Lemeshow, 2000) e já tem sido amplamente utilizada em estudos transversais (Barros e Hirakata, 2003; Francisco *et al.*, 2008).

Foram construídos seis modelos de regressão de Poisson: um para cada variável de exposição principal (valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys) segundo as duas variáveis desfecho, diagnosticadas pelo excesso de peso e de gordura abdominal.

Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de  $p$  menor que 20%. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento, foram incluídas no modelo como covariáveis, mesmo que o valor de  $p$  fosse maior do que 20. No modelo final, permaneceram as variáveis que apresentaram significância menor que 5%.

Para medir a capacidade de explicação do modelo foi utilizado o pseudo- $R^2$ , para modelos binomiais que avalia o ajuste da log-probabilidade do modelo completo em comparação ao modelo reduzido (Heinzi, Waldhor e Mittlbock, 2005).

Para avaliar o ajuste dos modelos de regressão de *Poisson*, foram utilizadas a análise de *deviance* – que é, por definição, a medida que contrasta a razão de verossimilhança da probabilidade do modelo atual com a probabilidade do modelo que prevê mais adequadamente os resultados observados (Kleinbaum e Klein, 2010). Quanto mais perto estão as duas probabilidades, melhor o ajuste do modelo (ou seja, quanto menor a *deviance*, melhor o ajuste) (Nelder e Wedderburn, 1972); e o Critério de Informação de Akaike (AIC), que é uma medida da qualidade do ajuste de um modelo estatístico estimado baseado na medida relativa da informação perdida na adoção de um determinado modelo. Quanto menos informação perdida, melhor o ajuste do modelo (ou seja, quanto menor o AIC, melhor o ajuste) (Akaike, 1973).

### 4.7.3 Artigo 3: “Associação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e perfil lipídico em crianças e adolescentes”

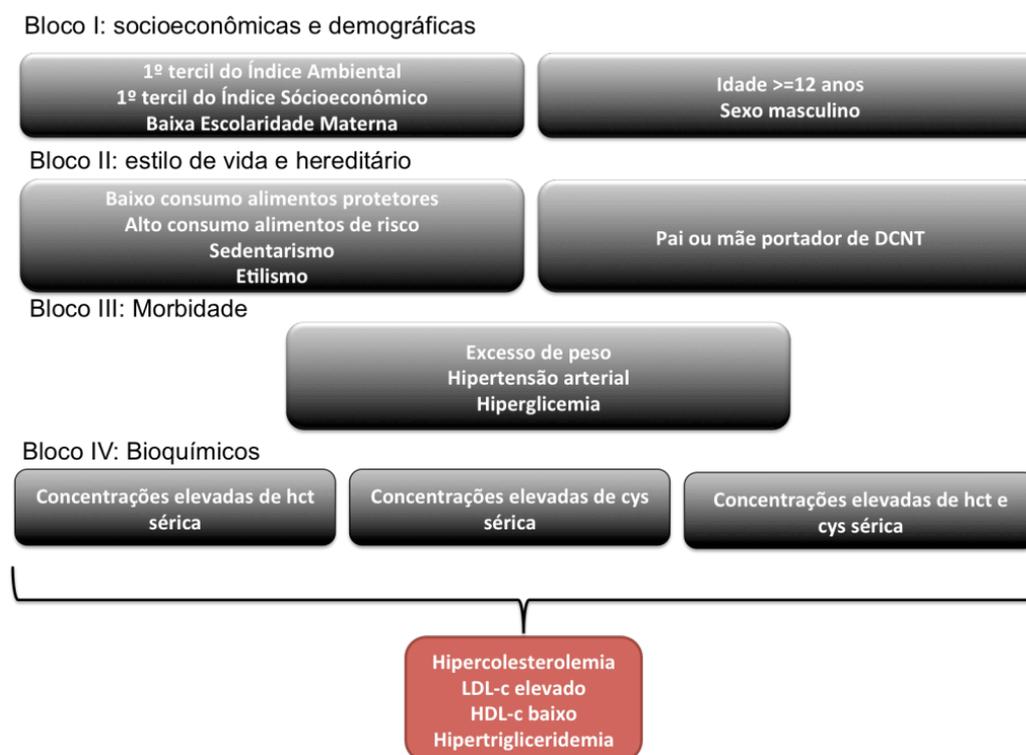


Figura 6 - Desenho estatístico para avaliar a relação entre concentrações de homocisteína e cisteína séricas e o perfil lipídico.

Para modelar a prevalência de hiperlipidemias em função dos valores elevados de Hcy e Cys séricos (Figura 6), realizou-se também neste artigo a regressão múltipla de *Poisson*, que integra a família dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), utilizando como estimador a razão de prevalência (RP), que compara a prevalência do desfecho nos indivíduos expostos com a prevalência nos indivíduos não expostos (Hosmer e Lemeshow, 2000).

Foram construídos 12 modelos de regressão de Poisson: um para cada variável de exposição principal (valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys) segundo as quatro variáveis

desfecho, diagnosticadas pela hipercolesterolemia, valores aumentados de LDL-c, baixas concentrações de HDL-c e hipertrigliceridemia.

Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de  $p$  menor que 20%. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento, foram incluídas no modelo como covariáveis, mesmo que o valor de  $p$  fosse maior do que 20. No modelo final, permaneceram as variáveis que apresentaram significância menor que 5%.

Para medir a capacidade de explicação do modelo foi utilizado o pseudo- $R^2$ , para modelos binomiais que avalia o ajuste da log-probabilidade do modelo completo em comparação ao modelo reduzido (Heinzl *et al.*, 2005).

Para avaliar o ajuste dos modelos de regressão de *Poisson*, foram utilizadas a análise de *deviance* – que é, por definição, a medida que contrasta a razão de verossimilhança da probabilidade do modelo atual com a probabilidade do modelo que prevê mais adequadamente os resultados observados (Kleinbaum e Klein, 2010). Quanto mais perto estão as duas probabilidades, melhor o ajuste do modelo (ou seja, quanto menor a *deviance*, melhor o ajuste) (Nelder e Wedderburn, 1972); e o Critério de Informação de Akaike (AIC), que é uma medida da qualidade do ajuste de um modelo estatístico estimado baseado na medida relativa da informação perdida na adoção de um determinado modelo. Quanto menos informação perdida, melhor o ajuste do modelo (ou seja, quanto menor o AIC, melhor o ajuste) (Akaike, 1973).

**4.7.4 Artigo 4:** “Concentrações séricas de homocisteína e cisteína e mudanças antropométricas em crianças e adolescentes ao longo de 12 meses”



**Figura 7** - Desenho estatístico para avaliar a relação entre valores de homocisteína e cisteína séricas e mudanças no perfil antropométrico após 12 meses de seguimento.

Com o objetivo de avaliar a influência das concentrações de Hcy e Cys séricas, isoladas e conjuntamente, sobre mudanças do estado antropométrico ao longo de 12 meses (Figura 7), foram construídos modelos de Equação de Estimação Generalizada (*Generalized Estimating Equations - GEE*), apropriados para respostas contínuas e medidas repetidas, refletindo a relação entre as variáveis respostas e as independentes, considerando a correlação entre as medidas em cada momento no tempo (Twisk, 2003). A GEE é o método baseado na teoria da quasi-

verossimilhança e nenhuma suposição é feita sobre a distribuição das observações da variável resposta (Cui, 2007).

Para estimar os coeficientes de regressão, a GEE utiliza a estatística da quasi-verossimilhança (Twisk, 2003), que tem como vantagem a necessidade apenas da especificação da relação entre a média e a variância das observações para obter os estimadores dos parâmetros nos modelos de regressão, enquanto que a verossimilhança necessita da especificação da forma de distribuição das observações (McCullagh e Nelder, 1989). A GEE é capaz de produzir estimativas mais eficientes e menos viciadas de dados correlacionados (repetidos), pois considera a estrutura de correlação entre as observações (Twisk, 2003). Assim, embora alguns autores defendam que a análise de GEE é robusta o suficiente para lidar com problemas de erros na escolha da matriz de correlação de trabalho (Liang e Zeger, 1986), entende-se que esta escolha correta aumenta a eficiência das estimativas do modelo. Para o presente estudo, a matriz escolhida foi a autoregressiva, que considera que as medidas têm uma relação auto-regressiva e em função do tempo (Twisk, 2003).

Para avaliar o ajuste do modelo aos dados, utilizou-se o *critério de quasi-verossimilhança sob o modelo de independência corrigido* (QIC<sub>c</sub>), que é uma modificação do método *Akaike's information criterion* (AIC) para análises de GEE. O QIC é calculado a partir da comparação da quasi-verossimilhança do modelo de independência com a do modelo completo. Quanto menor o QIC, melhor o ajuste do modelo (Cui, 2007; Agranonik, 2009).

Foi construído um modelo para cada variável desfecho (IMC/idade e circunferência da cintura) em função de cada variável de exposição principal (concentrações

umentadas de Hcy e Cys séricas e de ambas simultaneamente). Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de p menor que 20%. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento, foram incluídas no modelo como covariáveis. No modelo final, permaneceram as variáveis que apresentaram significância menor que 5%.

#### 4.7.5 Artigo 5: “Concentrações de homocisteína e cisteína séricas e mudanças do perfil lipídico em crianças e adolescentes ao longo de 12 meses”



**Figura 8** - Desenho estatístico para avaliar a relação entre valores de homocisteína e cisteína séricas e mudanças no perfil lipídico após 12 meses de seguimento.

Com o objetivo de avaliar a influência das concentrações séricas de Hcy e Cys, isoladas e conjuntamente, sobre mudanças do perfil lipídico ao longo de 12 meses

(Figura 8), foram também construídos modelos de GEE, apropriados para respostas contínuas e medidas repetidas, refletindo a relação entre as variáveis respostas e as independentes, considerando a correlação entre as medidas em cada momento no tempo (Twisk, 2003). Para avaliar o ajuste do modelo aos dados, foi também utilizado o critério de  $QIC_c$  (Cui, 2007; Agranonik, 2009).

Foi construído um modelo para cada variável desfecho (colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicérides) em função de cada variável de exposição principal (concentrações séricas aumentadas de Hcy, Cys e de ambas simultaneamente). Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de p menor que 20%. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento, foram incluídas no modelo como covariáveis. No modelo final, permaneceram as variáveis que apresentaram significância menor que 5%.

Para todos os estudos, foram testados possíveis termos de interação – construídos com base na referência da literatura e na própria estrutura de dados do estudo – para avaliar a existência de modificação do efeito das variáveis de exposição sobre a variável desfecho, utilizando o teste da razão de máxima verossimilhança (*log likelihood ratio test*), avaliando a significância do termo de interação no modelo multivariado; e variáveis de confundimento – aquelas associadas tanto com a exposição quanto com o desfecho, que foram avaliadas pela mudança de 10% ou mais na RP, comparando com a RP do modelo reduzido (Rothman, Greenland e Lash, 2008).

Todas as análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico *Stata/IC for Mac* (StataCorp, College Station), versão 12.0.

#### **4.8 Aspectos Éticos**

O protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia quanto à pertinência ética (Brasil, 1996), sob o número 03/06.

A participação do escolar no estudo foi dependente da autorização escrita dos pais e/ou responsáveis. Após receberem carta-convite, conhecerem os objetivos do estudo e concordarem com a inserção do menor na investigação, os pais e/ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Atendendo aos pressupostos éticos, todos os escolares que apresentaram alterações expressivas nos indicadores avaliados foram encaminhados ao serviço de saúde local e mantidos no estudo.

## **5 RESULTADOS**

---

## 5.1 Artigo 1

### CONCENTRAÇÕES DE HOMOCISTEÍNA E CISTEÍNA SÉRICAS E FATORES ASSOCIADOS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES<sup>1</sup>

Priscila Ribas de Farias Costa<sup>2,3</sup>

#### Resumo

**Introdução:** os fatores associados às concentrações elevadas de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas na idade adulta são conhecidos, mas são escassas as informações sobre estas relações na faixa etária pediátrica. **Objetivo:** o objetivo deste estudo foi identificar os fatores associados às concentrações de Hcy e Cys séricas em crianças e adolescentes. **Metodologia:** estudo transversal que utilizou dados do *baseline* de uma coorte de 483 indivíduos de 07 a 15 anos de ambos os sexos. As concentrações de Hcy e Cys séricas foram consideradas variáveis desfechos, e a exposição foi integrada pelas sóciodemográficas, clínicas, bioquímicas e de estilo de vida. Na avaliação da relação entre a exposição e o desfecho, usou-se a análise da regressão logística politômica (RLP), utilizando a razão de prevalência (RP) como medida de associação. **Resultados:** se associaram às concentrações elevadas de Hcy séricas o sexo masculino (RP=3.74; p<0.01), idade maior ou igual a 12 anos (RP=2.56; p<0.01), excesso de peso (RP=2.32; p=0.02), pressão arterial (PA) elevada (RP=1.97; p<0.01), HDL-c baixo (RP=1.21; p=0.03), triglicérides elevados (TG) (RP=1.62; p=0.03) e baixo consumo de alimentos protetores contra hiperhomocisteinemia (RP=1.46; p=0.02). Se associaram às concentrações elevadas de Cys sérica a idade maior ou igual a 12 anos (RP=2.1; p=0.03), excesso de peso (RP=2.52; p=0.03), PA elevada (RP=1.28; p=0.03), HDL-c baixo (RP=1.15; p=0.01), TG elevados (RP=1.41; p=0.02) e baixo consumo de alimentos protetores contra hiperhomocisteinemia (RP=1.46; p=0.01). **Conclusões:** idade acima de 12 anos, excesso de peso, PA elevada, baixos valores de HDL-c, triglicérides elevados e baixo consumo de alimentos protetores são fatores comuns às concentrações séricas aumentadas de Hcy e Cys, com exceção do sexo, que se associou apenas com concentrações séricas aumentadas de Hcy.

**Palavras-chave:** homocisteína, cisteína, fatores associados, crianças, adolescentes

<sup>1</sup> Financiado pelo edital FAPESB-PPSUS 001/2007 e Centro Colaborador Nordeste II/MS.

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia.

<sup>3</sup> Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

## Abstract

**Background:** the elevated serum homocysteine (Hcy) and cysteine (Cys) levels associated factors are known in adults, but information about these relationships in children and adolescents are scarce. **Objective:** the objective was to identify the elevated serum homocysteine and cysteine levels related factors in children and adolescents. **Methods:** it was a cross-sectional study that used a cohort baseline data of 483 both sexes children and adolescents from 07 to 15 years old. Hcy and Cys serum concentrations were the outcome variable and sociodemographic, clinics, biochemistries and life style variable were the exposure variables. The polytomous logistic regression (PLR) was used to evaluate the relationship between outcome and exposures variables and the prevalence ratio (PR) was the association measure. **Results:** male (PR=3.74;  $p<0.01$ ), age greater than 12 years old (PR=2.56;  $p<0.01$ ), overweight (PR=2.32;  $p=0.02$ ), high blood pressure (PR=1.97;  $p<0.01$ ), low HDL-c levels (PR=1.21;  $p=0.03$ ), high triglycerides levels (TG) (PR=1.62;  $p=0.03$ ) and low intake of protective foods against hyperhomocysteinemia (PR=1.46;  $p=0.02$ ) were associated to serum-elevated Hcy levels. And age greater than 12 years old (PR=2.1;  $p=0.03$ ), overweight (PR=2.52;  $p=0.03$ ), elevated blood pressure (PR=1.28;  $p=0.03$ ), low HDL-c levels (PR=1.15;  $p=0.01$ ), high TG levels (PR=1.41;  $p=0.02$ ) and low intake protective food (PR=1.46;  $p=0.01$ ) were associated to serum-elevated Cys levels. **Conclusions:** age greater than 12 years old, overweight, high blood pressure, low HDL-c levels, high TG levels and low intake of protective foods are commons factors associated to serum-elevated Hcy and Cys levels, except for male, that was associated only to homocysteine high levels.

**Key words:** homocysteine, cysteine, associated factors, children, adolescents

## Introdução

Estudos têm identificado concentrações elevadas de homocisteína sérica como fator de risco para doenças cardiovasculares (Wald, Law e Morris, 2002; Refsum *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2008; Humphrey *et al.*, 2008) – principal causa de morte no Brasil (Schmidt *et al.*, 2011) – cujo mecanismo é fisiologicamente explicado pela proliferação da musculatura lisa vascular, disfunção e dano endotelial (Splaver, Lamas e Hennekens, 2004).

Meta-análise de estudos prospectivos com população sem diagnóstico de doença cardiovascular no início do acompanhamento registrou que a cada aumento de 5  $\mu\text{mol/L}$  nos valores de homocisteína aumentava em 20% o risco de eventos cardíacos, independentemente dos fatores de risco tradicionais para essas doenças (Humphrey *et al.*, 2008).

Recente estudo realizado com 13247 indivíduos originários de duas coortes americanas (MESA – *Multiethnic Study of Atherosclerosis*; e NHANES III – *National Health and Nutrition Examination Survey III*) registrou que, nestas coortes com características socioeconômicas e de estilo de vida distintas, a adição de valores de homocisteína sérica ao tradicional escore de classificação de risco cardiovascular de Framingham melhorou significativamente a predição de risco, principalmente em indivíduos com risco intermediário para doenças cardiovasculares. Além disso, a homocisteína sérica se mostrou altamente preditiva de mortalidade cardiovascular em pessoas idosas, independentemente dos tradicionais fatores de risco (Veeranna *et al.*, 2011), reforçando o conhecimento sobre a relação entre homocisteína e risco cardíaco identificada em outros estudos.

Concentrações elevadas de homocisteína atingem de 5 a 10% da população adulta mundial (Stanger *et al.*, 2004). Para outros grupos populacionais, estas informações são escassas. No Brasil, a hiperhomocisteinemia foi identificada em 19.4% de crianças e adolescentes da cidade de São Paulo, com prevalência mais elevada entre os meninos (Brasileiro *et al.*, 2005).

Embora a cisteína sérica tenha estrutura química e seja metabolicamente similar à homocisteína, sua relação com eventos cardiovasculares, diferentemente da homocisteína, tem recebido pouca atenção dos estudiosos (El-Khairiy *et al.*, 2001). No entanto, as escassas informações disponíveis destacam relações similares entre estes parâmetros bioquímicos e as doenças cardiovasculares (El-Khairiy *et al.*, 1999; El-Khairiy *et al.*, 2001; El-Khairiy *et al.*, 2003; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy, A. K. *et al.*, 2012).

Apesar da inexistência de ponto de corte da cisteína para crianças e adolescentes, estudo realizado em São Paulo, utilizando a classificação do percentil 90 da própria amostra, registrou prevalência de concentrações elevadas de cisteína sérica de 9.6% para meninos e 9.0% para meninas (Pereira Da Silva *et al.*, 2013).

Embora fatores associados às concentrações séricas elevadas de homocisteína e cisteína séricas sejam conhecidos na população adulta, estudos que avaliam estas relações na faixa etária pediátrica são escassos. Assim, o presente artigo teve como objetivo identificar os fatores associados às concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas em crianças e adolescentes.

## **Considerações Teórico-metodológicas**

### **- Amostra e desenho de estudo**

Trata-se de estudo transversal que utilizou dados do *baseline* da investigação de coorte intitulada “Alterações Metabólicas Associadas ao Sobrepeso/Obesidade em Escolares de Mutuípe – Bahia”. No estudo original, 540 crianças coletaram amostra de sangue. Destas, 37 não foram localizadas, 15 não tinham soro suficiente para as dosagens e 05 foram perdidas durante a análise de homocisteína e cisteína. Assim, a amostra deste estudo incluiu 483 crianças e adolescentes de 7 a 15 anos de idade, de ambos os sexos, selecionados aleatoriamente a partir da lista de matrícula de alunos do curso fundamental, fornecida pela Secretaria de Educação, do município de Mutuípe, Recôncavo da Bahia, no ano de 2006.

Assim, a amostra deste estudo tem poder de 93% e 94% para identificar prevalências de 10% para ambas concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas, tomando como referência prevalências de 9.9% de hiperhomocisteinemia e 9.8% de valores elevados de cisteína sérica identificadas em crianças de São Paulo (Pereira Da Silva *et al.*, 2013). Todos os cálculos do poder amostral ( $1-\beta$ ) foram baseados no nível de significância de 5% e testes bi-caudais (Rosner, 2010).

### **- Critérios de exclusão**

O escolar que fizesse uso de medicamentos que alterassem as concentrações de homocisteína e cisteína (anticonvulsivante, diuréticos, tiazídicos, corticóides) ou portadores de diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, doença hepática e hipotireoidismo, por influenciarem os valores séricos de homocisteína e cisteína

(Taylor, Oudit e Evans, 2000), seriam excluídos do estudo. Gestação, lactação e deficiências físicas que impedissem a avaliação antropométrica foram também adotadas como critérios de exclusão. No entanto, estas condições não foram identificadas entre os escolares selecionados.

## **Métodos**

### **- Coleta de dados e definição de variáveis**

A coleta de dados sócio-demográficos, de estilo de vida, clínicos, antropométricos e de consumo alimentar foi realizada por equipe de nutricionistas devidamente treinadas, e o sangue foi coletado por técnico de laboratório treinado na metodologia da pesquisa e com experiência na realização deste procedimento em crianças e adolescentes.

### **- Dados sócio-demográficos e do estilo de vida**

As informações deste quesito foram referidas pela mãe ou responsável pela criança/adolescente e registradas em questionário estruturado. As informações demográficas dizem respeito ao sexo e idade.

O número de cômodos e de pessoas que residiam no domicílio, principal tipo de iluminação e ocupação do chefe da família constituem as informações socioeconômicas e deram origem ao índice socioeconômico. Para o índice ambiental, utilizaram-se as condições sobre abastecimento de água do domicílio, a origem da água para beber, o destino dado ao lixo e aos dejetos. Essas variáveis tiveram as respostas pontuadas de 0 a 4, variando de 0 (pior condição) a 4 (melhor classificação). Desta forma, os índices socioeconômico e o ambiental tiveram pontuação mínima de 0 e máxima de 16 e foram categorizados em tercil.

Apesar do conhecimento de que a escolaridade materna se associa às condições socioeconômicas, optou-se por não incluí-la no índice socioeconômico e avaliá-la separadamente, dado que esta variável está relacionada também aos aspectos culturais e alimentares da sociedade onde está inserido o indivíduo.

O nível de atividade física foi avaliado a partir de questionário estruturado com questões referentes à frequência da prática de atividade física não incluída no conteúdo pedagógico escolar, cuja atividade é realizada uma vez na semana. Assim, a prática de atividade física fora da escola por menos de dois dias na semana classificava o estudante como “pouco ativo / sedentário”, e a prática de dois ou mais dias de atividade física na semana, o classificava como “ativo”.

Outra variável de estilo de vida incluída no estudo foi a prática de etilismo.

#### **- História Familiar de Doença Crônica não Transmissível**

O escolar e/ou seu responsável informaram sobre doenças crônicas não transmissíveis na família (obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e câncer) e, em caso positivo, registrou-se o grau de parentesco com o estudante.

#### **- Dados antropométricos: peso, altura e circunferência da cintura (CC)**

O estado antropométrico do escolar foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) por idade e sexo e pelo excesso de gordura abdominal. Assim, foram aferidos o peso, altura e circunferência da cintura (CC). O peso foi aferido utilizando balança digital portátil Filizola (São Paulo, Brasil), com capacidade para 150kg e precisão de 100g e a altura por meio de estadiômetro marca Leicester Height Measure (SECA; Hamburgo, Alemanha), com a leitura realizada no milímetro mais próximo, de acordo

com as técnicas de (Lohman, Roche e Martorell, 1988). Para aferir a circunferência da cintura (CC) utilizou-se a fita métrica inelástica, de fibra de vidro, com escala em centímetros e adotou-se a técnica proposta pela WHO (Who, 1998). Todas as medidas foram realizadas em duplicata e a média entre os dois valores foi adotada como medida final.

O peso e a altura compuseram o Índice de Massa Corporal (IMC) por idade, obtido pela divisão do peso (quilogramas) pela estatura (metros) elevada ao quadrado [IMC= P (kg) / E<sup>2</sup> (m)], utilizando as recomendações da Organização Mundial da Saúde (Onis *et al.*, 2007), para indivíduos de 5 a 19 anos.

Considerando que não há consenso sobre o ponto de corte da CC para diagnosticar o excesso de gordura abdominal de crianças e adolescentes, adotou-se neste estudo o valor do percentil 90 da própria amostra para este propósito, conforme recomendam Freedman *et al* (1999).

#### **- Pressão Arterial**

A medida da pressão arterial foi realizada utilizando manguito pediátrico com bolsa de borracha. A medição e a classificação da pressão arterial foram realizadas com base nas recomendações das V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, segundo estatura, idade e sexo, adotando o percentil 90 como ponto de corte (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2010).

#### **- Consumo Alimentar**

O consumo alimentar foi avaliado utilizando-se o questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA foi adaptado de instrumento previamente utilizado em crianças e adolescentes do município (Assis *et al.*, 2002). Este instrumento era

composto por 96 itens alimentares e continha 8 possibilidades de resposta de consumo: diário, 1 vez na semana, 2, 3, 4, 5 e 6 vezes na semana e raramente/nunca.

Estas informações foram tratadas de acordo com a metodologia proposta por Monteiro, Riether e Burini (2004). Assim, o cômputo geral da frequência do consumo de cada alimento foi convertido em escores, multiplicando a frequência semanal por 4 (número de semanas no mês) e dividindo-a por 30 (número de dias no mês), encontrando-se, assim, o escore médio de consumo diário mensal para cada alimento. Os escores variaram de 1 (consumo diário) a zero (consumo “raro/nunca”), sendo, posteriormente, classificados em tercil (Monteiro, Riether e Burini, 2004).

Após o cálculo destes escores, e baseado na composição dos alimentos, foram construídos dois grupos de consumo, com a seguinte caracterização:

- a) Grupo de risco para concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas: formado por alimentos de origem animal e vegetal, com elevados teores de gorduras saturadas, além das trans-saturadas.
- b) Grupo de proteção contra concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas: foi formado por alimentos fontes de fibras, vitaminas e minerais.

### **- Exames Bioquímicos**

A coleta de sangue foi realizada pela manhã observando-se o jejum de pelo menos 12 horas. Foram coletados, por punção venosa, 10 mL de sangue, e depositados em tubos vacutainer (BD®) estéreis e descartáveis, sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos para posterior separação do soro, que foi utilizado para as determinações bioquímicas. As alíquotas de soro foram

acondicionadas em *ependorf* previamente desmineralizado e armazenadas a -20 °C. Os valores de colesterol total, HDL-C, triglicérides e glicemia foram determinados pelo método enzimático. Os valores de LDL colesterol (LDL-C) foram calculados pela equação de Friedewald, válida para valores de TG < 400 mg% (Brandão et al, 2004):  $LDL-C = CT - HDL-C - (TG/5)$ . As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas por técnico treinado sob a supervisão e orientação de integrantes da equipe, no espaço do Laboratório de Referência do Município, cedido pela Secretaria da Saúde.

As determinações séricas da homocisteína e cisteína foram realizadas no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Federal de São Paulo, por Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) com eluição isocrática e detecção fluorimétrica, considerada metodologia padrão-ouro para este procedimento (Cruz *et al.*, 2000). Resumidamente, o processo de dosagem envolveu a etapa de redução (para a redução e a liberação dos tióis ligados às proteínas), de precipitação das proteínas e a etapa de derivatização, seguindo metodologia de Pfeiffer, Huff e Gunter (1999).

#### - **Classificação das Variáveis Bioquímicas**

##### - **Glicemia**

A glicemia foi classificada segundo critério da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009).

##### - **Perfil Lipídico**

Embora as classificações para perfil lipídico na infância e adolescência mais utilizadas no Brasil não considerem as variações por idade e sexo (Lauer *et al.*,

1992; I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência, 2005), estudos têm identificado que valores médios do colesterol total (CT), LDL-colesterol (LDL-c), HDL-colesterol (HDL-c) e triglicérides variam significativamente com a idade e gênero (Labarthe, D. *et al.*, 1997; Labarthe, D. R. *et al.*, 1997; Labarthe, 2005). Assim, adotaram-se os pontos de corte sugeridos por Jolliffe e Janssen para adolescentes de 12 a 19 anos, que levam em conta as variações do perfil lipídico de acordo com idade e sexo (Jolliffe e Janssen, 2006).

Para os escolares com menos de 12 anos, para os quais ainda não existem pontos de corte padronizados pela idade, adotou-se a recomendação do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) para classificar o HDL-c e aqueles propostos pelo *National Cholesterol Education Program* (NCEP) para a classificação do colesterol total, LDL-c e triglicérides. Estes pontos de corte foram adotados com base nos resultados de estudos que mostraram que o uso do ponto de corte do NHANES para o HDL e os pontos de corte do NCEP para o colesterol total, LDL-c e triglicérides apresentaram maior acurácia na classificação do risco de adolescentes desenvolverem dislipidemia na fase adulta (Magnussen *et al.*, 2008; Dwyer *et al.*, 2013).

#### **- Processamento dos dados**

Após as rotinas de controle dos dados coletadas, estes foram digitados, à medida que chegavam de campo, utilizando-se o programa EPI-INFO, que tem caráter simplificado e evita erros grosseiros na entrada de dados.

### **- Identificação das Variáveis**

A variável desfecho foi representada pelas concentrações de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas. As concentrações de Hcy e Cys séricas foram classificadas em quintis; o primeiro quintil foi adotado como categoria de referência (0) e as demais categorias crescentes de risco (1, 2, 3 e 4). A categorização em quintis foi adotada para possibilitar a identificação das associações que ocorriam em uma ou mais categorias de classificação (quintis) de Hcy e Cys, bem como identificar em qual delas as associações eram mais acentuadas.

As covariáveis do estudo incluíram: a idade [<12 anos (0); >=12 anos (1)], sexo [feminino (0) e masculino (1)], escolaridade materna [nível médio e/ou superior (0); fundamental, ensino básico ou analfabeto (1)], índice ambiental [3º tercil (0); 2º e 1º tercils (1)], índice socioeconômico [3º tercil (0); 2º e 1º tercils (1)], pressão arterial [< percentil 90 (0); >= percentil 90 (1)], glicemia [<100 mg/dL (0); >=100mg/dL (1)], colesterol total [adequado (0); elevado (1)], LDL-c [adequado (0); elevado (1)], HDL-c [adequado (0); baixo (1)], triglicérides [adequado (0); aumentado (1)], IMC/Idade [<P85 (0); >=P85], prática de atividade física [moderadamente ativo (0); pouco ativo/sedentário (1)], história familiar de DCNT [não (0); sim (1)], consumo de alimentos protetores contra excesso de peso, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia [3º tercil (0); 1º e 2º tercils (1)], consumo de alimentos de risco para excesso de peso, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia [1º tercil (0); 2º e 3º tercils (1)] e etilismo [não (0); sim (1)].

### **- Análise Estatística**

Na análise descritiva dos dados, utilizou-se a média e desvio padrão, para variáveis contínuas. A comparação entre as concentrações de Hcy e Cys séricas segundo as

variáveis de exposição foi realizada por meio do teste estatístico de comparação de médias para variáveis contínuas (teste t de *Student* para variâncias iguais ou desiguais). As variáveis Hcy e Cys foram submetidas à transformação logarítmica por não terem apresentado distribuição normal.

Para identificar os fatores associados às concentrações de Hcy e Cys séricas, adotou-se a análise de regressão logística politômica ou regressão logística multinomial, que é uma extensão direta da análise de regressão logística binomial, apropriada para variáveis desfecho com mais de duas categorias (Hosmer e Lemeshow, 2000; Bittencourt, 2003; Biesheuvel *et al.*, 2008). Com esta técnica é possível avaliar a relação entre as variáveis de exposição e concentrações intermediárias de Hcy e Cys. Adotou-se como estimador a razão de prevalência (RP), que compara a prevalência do desfecho de interesse nos indivíduos expostos com a prevalência nos indivíduos não expostos (Hosmer e Lemeshow, 2000).

Assim, foi construído um modelo de regressão politômica para cada variável desfecho (Hcy e Cys séricas). Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado. Para a seleção dessas variáveis, adotou-se o nível de significância expresso por um valor de  $p$  menor que 20%. A permanência das variáveis no modelo final foi definida pela significância estatística menor que 5%.

O desempenho do modelo foi avaliado por meio da análise de discriminação e do ajuste geral. A discriminação do modelo, entendida como a habilidade de discriminar a ocorrência/ausência do desfecho de interesse entre os indivíduos, foi avaliada por meio da curva ROC (*Receiver Operating Characteristics*). Foram adotados como boa

discriminação do modelo valores da área sob a curva ROC acima de 0.70 (Hosmer e Lemeshow, 2000).

Para avaliar o ajuste do modelo de regressão logística politômica, foram calculadas estatísticas de bondade do ajuste para cada modelo individual (Hosmer e Lemeshow, 2000), utilizando-se como nível de referência o 1º quintil de Hcy e Cys. Para este teste, valores de  $p$  não significantes foram adotados como indicadores de bom ajuste do modelo (Hosmer e Lemeshow, 2000).

As análises foram realizadas no pacote estatístico *Stata/IC for Mac (StataCorp, College Station)*, versão 12.0.

#### **- Aspectos Éticos**

O protocolo deste estudo foi submetido ao Comitê de Ética da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia e teve a pertinência ética reconhecida sob o número 03/06 (Brasil, 1996).

A participação do escolar no estudo foi dependente da autorização dos pais e/ou responsáveis. Após serem informados dos objetivos do estudo e concordarem com a inserção do menor na investigação, os pais e/ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Atendendo aos pressupostos éticos, todos os escolares que apresentaram alterações expressivas nos indicadores de saúde avaliados foram encaminhados ao serviço de saúde local e mantidos no estudo.

## Resultados

Não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes nos valores de Hcy e Cys séricas, segundo idade e sexo, entre o grupo perdido no estudo original (N=57; 10.5%) e aquele que permaneceu no estudo (dados não mostrados).

As concentrações médias de Hcy variaram segundo o sexo, sendo 7.1 $\mu$ mol/L ( $\pm$ 1.88) para o feminino e 7.7 $\mu$ mol/L ( $\pm$ 1.88) para o masculino ( $p < 0.01$ ), tendência não observada para a Cys. Os resultados indicaram que as concentrações médias de Hcy aumentavam com a idade em ambos os sexos e as médias eram mais elevadas em meninos do que em meninas, para todas as faixas etárias (Tabela 1). Para a Cys, observou-se aumento nos valores médios a partir dos 10 anos de idade ( $p = 0.03$ ), guardando a mesma tendência segundo o sexo.

**Tabela 1** - Concentrações médias (e desvio padrão) de homocisteína e cisteína séricas, segundo sexo e idade. Mutuípe, Ba, 2006.

Concentrações séricas de homocisteína (Média em $\mu$ mol/L $\pm$ DP)				
	Sexo Feminino	Sexo Masculino	Total	Valor de p*
Idade				
- <10 anos	6.6 $\pm$ 1.43	7.4 $\pm$ 1.82	6.9 $\pm$ 1.63	<0.01
- 10-12 anos	7.0 $\pm$ 1.76g	7.5 $\pm$ 1.44	7.2 $\pm$ 1.64	0.02
- >12 anos	7.5 $\pm$ 2.12	8.0 $\pm$ 2.16	7.7 $\pm$ 2.15	0.02
<b>Total</b>	7.1 $\pm$ 1.88	7.7 $\pm$ 1.88	7.3 $\pm$ 1.90	<0.01
Concentrações séricas de Cisteína (Média em $\mu$ mol/L $\pm$ DP)				
	Sexo Feminino	Sexo Masculino	Total	Valor de p**
Idade				
- <10 anos	396.4 $\pm$ 62.9	393.1 $\pm$ 62.7	395.1 $\pm$ 62.6	> 0.38
- 10-12 anos	402.7 $\pm$ 69.8	414.3 $\pm$ 59.9	407.8 $\pm$ 65.6	0.03
- >12 anos	406.5 $\pm$ 66.3	419.5 $\pm$ 65.9	409.3 $\pm$ 65.9	0.03
<b>Total</b>	406.8 $\pm$ 66.7	410.4 $\pm$ 63.8	408.3 $\pm$ 65.5	> 0.05

\*teste-T de comparação de médias para variâncias desiguais

\*\*teste-T de comparação de médias para variâncias iguais

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios de Hcy, segundo idade e sexo, para o estado antropométrico, perfil lipídico, glicemia e pressão arterial. Identificou-se que, para as meninas menores de 10 anos de idade com valores de HDL-c

baixos, a concentração sérica de Hcy era mais elevada do que aquela identificada para as meninas da mesma faixa etária com valores adequados para esta lipoproteína ( $p < 0.05$ ). Não foram identificadas diferenças entre os valores médios de Hcy para as demais variáveis no sexo feminino, independentemente da faixa etária.

Para o sexo masculino, observou-se que a média de Hcy foi mais elevada entre aqueles com excesso de peso quando comparado aos eutróficos, para todas as idades investigadas ( $p < 0.05$ ). Identificou-se também que nos meninos de 12 anos ou mais os valores médios de Hcy foram mais elevados para aqueles com circunferência da cintura elevada, HDL-c baixo e pressão arterial elevada ( $p < 0.05$ ). Para a faixa etária menor que 10 anos, os valores médios de Hcy foram mais elevados quando as concentrações séricas de triglicérides também eram elevadas ( $p < 0.05$ ). Não foram observadas diferenças entre os valores médios de Hcy e os demais eventos no sexo masculino ( $p \geq 0.05$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2 -** Concentrações médias (e desvio padrão) de homocisteína sérica por idade e sexo, segundo estado antropométrico, perfil lipídico, glicemia e pressão arterial. Mutuípe-Ba, 2006.

	Concentrações séricas de homocisteína (Média em $\mu\text{mol/L} \pm \text{DP}$ )					
	Sexo Feminino			Sexo Masculino		
	<10 anos	10-12 anos	>12 anos	<10 anos	10-12 anos	>12 anos
<b>IMC/idade</b>						
- Eutrofia	6.55 $\pm$ 1.34	6.93 $\pm$ 1.80	7.47 $\pm$ 2.27	7.14 $\pm$ 1.66*	7.53 $\pm$ 1.50*	8.10 $\pm$ 2.47*
- Excesso peso	6.96 $\pm$ 2.00	7.45 $\pm$ 1.70	7.99 $\pm$ 1.59	8.67 $\pm$ 2.33	8.75 $\pm$ 1.84	9.15 $\pm$ 2.03
<b>Circunferência da cintura</b>						
- <P90	6.55 $\pm$ 1.43	6.95 $\pm$ 1.76	7.56 $\pm$ 2.23	7.47 $\pm$ 1.91	7.65 $\pm$ 1.50	7.56 $\pm$ 1.95*
- $\geq$ P90	7.23 $\pm$ 1.44	7.54 $\pm$ 1.80	7.64 $\pm$ 1.90	7.21 $\pm$ 1.88	7.37 $\pm$ 1.93	8.59 $\pm$ 2.77
<b>Colesterol total</b>						
- Adequado	6.65 $\pm$ 1.47	7.16 $\pm$ 1.75	7.64 $\pm$ 2.18	7.51 $\pm$ 1.90	7.62 $\pm$ 1.59	8.39 $\pm$ 2.64
- Elevado	6.45 $\pm$ 1.33	6.70 $\pm$ 1.91	6.76 $\pm$ 1.61	7.19 $\pm$ 1.95	7.55 $\pm$ 1.42	7.42 $\pm$ 3.79
<b>LDL-c</b>						
- Adequado	6.56 $\pm$ 1.42	7.17 $\pm$ 1.77	7.64 $\pm$ 2.17	7.49 $\pm$ 1.93	7.50 $\pm$ 1.36	7.42 $\pm$ 2.64
- Elevado	6.86 $\pm$ 1.53	6.61 $\pm$ 1.80	6.65 $\pm$ 1.81	7.32 $\pm$ 1.83	7.63 $\pm$ 1.60	8.39 $\pm$ 3.79
<b>HDL-c</b>						
- Adequado	5.89 $\pm$ 1.50**	6.69 $\pm$ 1.23	7.16 $\pm$ 1.37	7.16 $\pm$ 1.50	7.40 $\pm$ 1.01	7.96 $\pm$ 2.53**
- Baixo	6.75 $\pm$ 1.40	7.17 $\pm$ 1.96	7.65 $\pm$ 2.21	7.64 $\pm$ 2.01	7.92 $\pm$ 1.64	8.98 $\pm$ 3.21
<b>Triglicérides</b>						
- Adequado	6.41 $\pm$ 1.38	7.05 $\pm$ 1.77	7.52 $\pm$ 2.45	7.08 $\pm$ 1.60**	7.54 $\pm$ 1.31	8.33 $\pm$ 2.97
- Elevado	6.77 $\pm$ 1.47	7.10 $\pm$ 1.81	7.65 $\pm$ 1.74	8.43 $\pm$ 2.28	7.71 $\pm$ 1.89	8.41 $\pm$ 2.13
<b>Glicemia</b>						
- Adequado	6.54 $\pm$ 1.44	6.49 $\pm$ 1.45	7.05 $\pm$ 1.38	7.42 $\pm$ 1.92	7.62 $\pm$ 1.58	8.15 $\pm$ 2.43
- Elevado	6.60 $\pm$ 1.40	7.11 $\pm$ 1.80	7.62 $\pm$ 2.20	8.33 $\pm$ 0.53	7.51 $\pm$ 1.47	8.39 $\pm$ 2.68
<b>Pressão arterial</b>						
- Adequada	6.48 $\pm$ 1.37	6.90 $\pm$ 1.56	7.51 $\pm$ 2.27	7.36 $\pm$ 1.93	8.21 $\pm$ 2.44	7.68 $\pm$ 1.45*
- Elevada	6.74 $\pm$ 1.55	7.32 $\pm$ 2.24	7.74 $\pm$ 1.48	7.58 $\pm$ 2.01	8.33 $\pm$ 2.47	8.15 $\pm$ 1.88

\* valor de  $p < 0.05$  para teste-T de comparação de médias para variâncias iguais

\*\* valor de  $p < 0.05$  para teste-T de comparação de médias para variâncias desiguais

Na Tabela 3 são apresentados os valores médios de Cys, segundo idade e sexo, para o estado antropométrico, perfil lipídico, glicemia e pressão arterial. Para o sexo feminino, identificou-se, na faixa etária menor que 10 anos, valores médios de Cys mais elevados nas meninas com excesso de peso do que naquelas com eutrofia ( $p < 0.05$ ). Para a faixa etária maior que 12 anos, os valores médios de Cys foram mais elevados naquelas com circunferência da cintura aumentada e pressão arterial elevada ( $p < 0.05$ ). Não foram identificadas diferenças nos valores médios de Hcy para as demais variáveis no sexo feminino. Não foram observadas diferenças entre os valores de Hcy segundo idade e sexo para o CT, LDL-c e glicemia ( $p \geq 0.05$ ).

Observou-se que, para os meninos com mais de 12 anos de idade, a média de concentrações séricas de cisteína foi maior naqueles com valores baixos de HDL-c e elevados de triglicérides ( $p < 0.05$ ). Para as demais variáveis, não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 3).

**Tabela 3** - Concentrações médias (e desvio padrão) de cisteína sérica por idade e sexo segundo estado antropométrico, perfil lipídico, glicemia e pressão arterial. Mutuípe-Ba, 2006.

	Concentrações séricas de cisteína (Média em $\mu\text{mol/L} \pm \text{DP}$ )					
	Sexo Feminino			Sexo Masculino		
	<10 anos	10-12 anos	>12 anos	<10 anos	10-12 anos	>12 anos
<b>IMC/Idade</b>						
- Eutrofia	392.7 $\pm$ 61.2*	396.6 $\pm$ 71.2	413.0 $\pm$ 63.8	387.7 $\pm$ 61.7	412.3 $\pm$ 59.8	414.5 $\pm$ 61.9
- Excesso	423.5 $\pm$ 71.8	418.5 $\pm$ 64.9	429.9 $\pm$ 75.0	413.7 $\pm$ 65.0	422.7 $\pm$ 62.7	430.9 $\pm$ 77.4
<b>peso</b>						
<b>Circunferência da cintura</b>						
- <P90	395.2 $\pm$ 61.2	417.9 $\pm$ 65.0	396.6 $\pm$ 70.3*	391.6 $\pm$ 64.3	411.5 $\pm$ 57.8	417.1 $\pm$ 61.9
- $\geq$ P90	412.0 $\pm$ 87.7	411.8 $\pm$ 71.3	426.6 $\pm$ 64.4	417.4 $\pm$ 8.03	430.0 $\pm$ 72.0	423.1 $\pm$ 79.4
<b>Colesterol total</b>						
- Adequado	393.3 $\pm$ 64.8	400.8 $\pm$ 70.0	420.4 $\pm$ 66.6	396.7 $\pm$ 63.4	414.6 $\pm$ 60.6	420.5 $\pm$ 65.2
- Elevado	374.8 $\pm$ 52.2	410.6 $\pm$ 71.0	397.3 $\pm$ 48.2	386.4 $\pm$ 60.2	412.0 $\pm$ 64.6	414.3 $\pm$ 58.1
<b>LDL-c</b>						
- Adequado	397.9 $\pm$ 63.5	400.6 $\pm$ 69.1	363.9 $\pm$ 39.3	391.7 $\pm$ 63.5	410.3 $\pm$ 58.1	380.3 $\pm$ 58.2
- Elevado	386.9 $\pm$ 61.1	412.3 $\pm$ 74.8	420.2 $\pm$ 66.3	398.0 $\pm$ 62.2	435.5 $\pm$ 68.5	420.5 $\pm$ 65.2
<b>HDL-c</b>						
- Adequado	398.1 $\pm$ 56.6	389.9 $\pm$ 72.3	411.9 $\pm$ 68.7	388.3 $\pm$ 62.1	404.1 $\pm$ 66.0	417.8 $\pm$ 58.2*
- Baixo	400.0 $\pm$ 92.2	409.6 $\pm$ 56.9	420.0 $\pm$ 53.3	403.8 $\pm$ 71.9	413.1 $\pm$ 68.9	463.2 $\pm$ 62.1
<b>Triglicérides</b>						
- Adequado	399.8 $\pm$ 62.4	402.0 $\pm$ 72.8	412.5 $\pm$ 64.9	389.5 $\pm$ 57.6	392.9 $\pm$ 48.4	404.1 $\pm$ 59.9*
- Elevado	381.2 $\pm$ 65.3	405.0 $\pm$ 64.5	417.7 $\pm$ 67.0	416.4 $\pm$ 91.7	420.1 $\pm$ 71.5	440.5 $\pm$ 57.1
<b>Glicemia</b>						
- Adequado	397.4 $\pm$ 62.2	403.7 $\pm$ 70.1	405.7 $\pm$ 80.9	366.5 $\pm$ 62.6	414.5 $\pm$ 60.3	405.8 $\pm$ 66.0
- Elevado	377.1 $\pm$ 83.8	387.8 $\pm$ 70.5	417.5 $\pm$ 65.3	394.1 $\pm$ 82.8	412.7 $\pm$ 61.3	419.8 $\pm$ 67.8
<b>Pressão arterial</b>						
- Adequada	391.3 $\pm$ 58.6	394.5 $\pm$ 57.2	404.8 $\pm$ 60.4*	393.9 $\pm$ 66.3	414.8 $\pm$ 64.2	421.4 $\pm$ 63.8
- Elevada	403.3 $\pm$ 67.3	412.7 $\pm$ 81.7	447.1 $\pm$ 82.6	387.9 $\pm$ 67.5	407.4 $\pm$ 50.5	419.3 $\pm$ 76.6

\* valor de  $p < 0.05$  para teste-T de comparação de médias para variâncias iguais

Na Tabela 4 são apresentados os resultados dos modelos de regressão logística politômica para Hcy e Cys. Com exceção do sexo masculino, que se apresentou como fator de risco para as concentrações séricas de Hcy nos diferentes quintis de distribuição, os demais fatores de risco associaram-se somente com a categoria mais elevada da concentração de Hcy (quinto quintil:  $>8.6\mu\text{mol}$ ).

Assim, identificou-se prevalência 3.74 vezes maior ( $p < 0.01$ ) de valores de Hcy sérica acima de  $8.6 \mu\text{mol/L}$  no sexo masculino, quando comparada às observadas entre as meninas. Escolares com mais de 12 anos tiveram prevalência de concentrações elevadas de Hcy sérica 2.56 vezes maior ( $p < 0.01$ ), quando comparados à prevalência em crianças menores de 12 anos de idade. Indivíduos com excesso de peso tiveram prevalência 2.32 vezes maior ( $p = 0.02$ ) de hiperhomocisteinemia, quando comparados aos indivíduos eutróficos. Observou-se, ainda, que crianças e adolescentes com pressão arterial elevada, triglicérides aumentados, HDL-c baixo e reduzido consumo de alimentos protetores apresentaram, respectivamente, prevalência 97% ( $p < 0.01$ ), 62% ( $p = 0.03$ ), 21% ( $p = 0.03$ ) e 46% ( $p = 0.02$ ) maior de hiperhomocisteinemia, quando comparados às prevalências daqueles que tinham estes fatores adequados (Tabela 4).

Para as concentrações de Cys sérica, identificou-se associação dos fatores de exposição somente quando a distribuição desta variável ocupava o quinto quintil ( $> 463.4 \mu\text{mol}$ ). Assim, observou-se prevalência 2.1 vezes maior ( $p = 0.03$ ) de concentrações elevadas de Cys em escolares com idade maior que 12 anos, quando comparada àquela dos indivíduos mais jovens; e prevalência de hipercisteinemia 2.52 vezes maior ( $p = 0.03$ ) em escolares com excesso de peso, quando comparada à identificada entre os eutróficos. Observou-se, ainda, que indivíduos com pressão arterial elevada, hipertrigliceridemia, baixos valores de HDL-c e reduzido consumo de alimentos protetores tiveram, respectivamente, prevalências 28% ( $p = 0.03$ ), 41% ( $p = 0.02$ ), 15% ( $p = 0.01$ ) e 46% ( $p = 0.01$ ) maiores de hipercisteinemia quando comparados às prevalências daqueles que tinham estes fatores adequados (Tabela 4).

**Tabela 4 - Fatores associados às concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006.**

Variáveis	HCY*			
	2º Quintil (5.8 - 6.7µmol/L)	3º Quintil (6.7- 7.4µmol/L)	4º Quintil (7.4 - 8.6µmol/L)	5º Quintil (>8.6µmol/L)
Sexo masculino	1.65 (0.82-2.32); 0.16	2.46 (1.24-2.88); 0.01	3.68(1.83-4.42); <0.01	3.74 (2.30-4.34); <0.01
Idade >12 anos	1.30 (0.67-1.71); 0.43	1.19 (0.61-1.72); 0.55	1.51 (0.76-2.01); 0.23	2.56 (1.97-3.14); <0.01
Baixo consumo protetor	1.19 (0.82-1.36); 0.58	0.95 (0.50-1.42); 0.89	1.15 (0.791.42); 0.67	1.46 (1.23-1.72); 0.02
Excesso de peso	1.33 (0.67-1.64); 0.40	1.47 (0.74-1.94); 0.26	1.73 (0.84-2.56); 0.13	2.32 (2.11-2.85); 0.02
PA <sup>†</sup> elevada	1.70 (0.65-2.42); 0.27	2.46 (0.99-3.12); 0.05	1.77 (0.76-1.99); 0.16	1.97 (1.46-2.20); <0.01
TG* elevados	1.15 (0.78-1.26); 0.67	0.94 (0.57-1.27); 0.86	1.09 (0.95-1.53); 0.79	1.62 (1.23-1.98); 0.03
HDL-c baixo	0.86 (0.41-1.58); 0.69	0.67 (0.39-1.13); 0.42	0.94 (0.81-1.15); 0.59	1.21 (1.12-1.34); 0.03
CYS***				
Variáveis	RP (IC 95%); valor de p**			
	2º Quintil (352.6-383.3µmol/L)	3º Quintil (383.3-416.2µmol/L)	4º Quintil (416.2-463.4µmol/L)	5º Quintil (>463.4µmol/L)
Idade >12 anos	0.89 (0.46-1.72); 0.73	1.37 (0.69-2.73); 0.36	1.10 (0.55-2.20); 0.77	2.10 (1.79-2.39); 0.03
Baixo consumo protetor	1.73 (0.89-1.97); 0.33	1.51 (0.77-1.96); 0.79	1.91 (1.78-2.01); 0.06	1.46 (1.34-1.67); 0.01
Excesso de peso	1.47 (0.59-2.65); 0.39	1.79 (0.74-2.31); 0.19	2.31 (0.97-2.51); 0.06	2.52 (1.60-2.95); 0.03
PA <sup>†</sup> elevada	1.03 (0.81-1.32); 0.76	1.19 (0.94-1.52); 0.13	1.22 (0.97-1.55); 0.08	1.28 (1.19-1.62); 0.03
TG* elevados	1.01 (0.51-1.94); 0.98	1.20 (0.62-2.32); 0.58	0.95 (0.47-1.91); 0.90	1.41 (1.19-1.88); 0.02
HDL-c baixo	0.97 (0.94-1.01); 0.25	0.98 (0.94-1.01); 0.30	0.95 (0.92-1.09); 0.06	1.15 (1.05-1.25); 0.01

Tamanho da amostra: 497

Nota: a categoria de referencia para a equação foi o 1º Quintil (HCY<5.8 µmol/L e CIS<352.6µmol/L)

<sup>†</sup> Pressão Arterial

\* Triglicérides

\*HCY = homocisteína sérica

\*\*Modelos de regressão logística politômica

\*\*\*CYS = cisteína sérica

## Discussão

No presente estudo, a idade acima de 12 anos, baixo consumo de alimentos protetores, excesso de peso, pressão arterial elevada, baixas concentrações de HDL-c e altas de triglicérides foram fatores comuns para as concentrações aumentadas de Hcy e Cys séricas. O sexo masculino se associou somente aos valores elevados de Hcy sérica, e à medida que as concentrações destes valores aumentavam do 3º para o 5º quintil de distribuição, aumentava também a razão de prevalência, indicando maior suscetibilidade para hiperhomocisteinemia no sexo masculino.

Outros investigadores têm registrado também, tanto em escolares quanto em diversos grupos etários, valores mais elevados de Hcy no sexo masculino (Osganian *et al.*, 1999; Kamdi e Palkar, 2013). Estas diferenças podem encontrar explicação na maior competência feminina – por meio de mecanismos ainda desconhecidos – nas etapas de remetilação e transmetilação, importantes passos no metabolismo da Hcy, resultando em diferenças nas concentrações séricas deste parâmetro bioquímico entre os sexos (Fukagawa *et al.*, 2000), justificando a associação identificada no presente estudo.

É possível que a relação entre valores elevados de Hcy e Cys séricas e o aumento da idade possa ser mediada pelo baixo consumo de alimentos fontes de micronutrientes pelos adolescentes – destacando-se as vitaminas do complexo B, fundamentais para o metabolismo da Hcy e Cys – cuja deficiência pode interromper etapas fisiológicas do metabolismo destes aminoácidos, refletindo em valores mais elevados destes parâmetros bioquímicos. Recentemente, prevalências de inadequação no consumo de vitaminas do complexo B variando de 7.6% a 22.9% no sexo masculino e de 9.5% a 34.2% no sexo feminino foram identificadas para adolescentes brasileiros de 13 a 19 anos (IBGE, 2011). Assim, é possível que estes padrões de consumo sejam comuns também entre os adolescentes avaliados neste estudo e contribuam para a explicação da relação entre elevadas concentrações de Hcy e Cys séricas e a idade.

O baixo consumo de alimentos protetores (frutas, hortaliças e legumes - fontes de micronutrientes) se associou positivamente aos valores elevados de Hcy e Cys no presente estudo. Neste cenário de baixo consumo de micronutriente, a deficiência de piridoxina, vitamina B12 e ácido fólico pode interromper e ou comprometer as vias metabólicas da remetilação e transulfuração da metionina e, desta maneira,

alterar positivamente as concentrações séricas deste aminoácido. Em síntese, na situação de excesso de metionina, a Hcy é direcionada para a via da transulfuração, sendo convertida em cistationina e depois em Cys. Essa reação é catalisada pela enzima cistationina  $\beta$  sintetase, com participação da piridoxina (vitamina B6). No ciclo da remetilação a Hcy adquire um grupamento metil do N5-metiltetraidrofolato (metil-THF) ou da betaína e é convertida a metionina. A reação com o metil-THF (que é sintetizado no sistema co-enzimático do ácido fólico) é catalisada pela enzima metionina sintase, e tem como coenzima a vitamina B12 (Stipanuk e Beck, 1982; Selhub, 1999). Assim, deficiências das vitaminas B6, B12 e ácido fólico alteram as vias metabólicas, levando ao aumento das concentrações séricas de Hcy e Cys.

Outro achado de importância epidemiológica observada neste estudo diz respeito à relação das concentrações elevadas de Hcy e Cys e o excesso de peso em escolares. Estes resultados se somam àqueles que têm identificado o papel obesogênico de valores elevados de Hcy e Cys, fortalecendo a teoria recentemente descrita do papel metabólico destes parâmetros no acúmulo do peso (Elshorbagy *et al.*, 2009; Elshorbagy, Amany K. *et al.*, 2012). Esta teoria é amparada, sobretudo, por resultados de estudos experimentais que demonstraram que concentrações elevadas de Cys estimulam a síntese de ácidos graxos, promovendo a adiposidade. E, estes ácidos sofrem auto-oxidação nos adipócitos, liberando peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que atua como inibidor da lipólise, estimulando a síntese lipídica, conduzindo à ativação da lipogênese (Elshorbagy *et al.*, 2012).

Além disso, o efeito inibidor da elevada concentração de Hcy sobre a lipólise foi demonstrada, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo*, por Wang *et al.*, (2011). Estes autores identificaram que altas concentrações de Hcy inibem a lipólise via mecanismo de ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) (importante

sensor do nível de energia celular), que exerce efeito anti-lipólise nos adipócitos, favorecendo o acúmulo de gordura.

Estes resultados contribuem para as evidências de que, também neste grupo etário, concentrações elevadas de Hcy e Cys têm importante relação com o ganho de peso, e se tornam mais preocupantes se for levada em consideração também a associação destes parâmetros bioquímicos aumentados com baixos valores de HDL-c e elevada concentração de triglicérides.

Neste sentido, Gil-Prieto *et al.* (2009) também identificaram, em adolescentes, associação inversa entre concentrações séricas de HDL-c e valores de Hcy. Anand *et al.* (2009), em estudo transversal envolvendo crianças e adolescentes, identificaram associação entre concentrações elevadas de Hcy, baixos valores de HDL-c e elevados valores de triglicérides. Para a Cys, são escassos os estudos avaliando sua relação com o perfil lipídico em crianças e adolescentes. Pereira da Silva e cols (2013) identificaram associação entre Cys e HDL-c em estudo transversal realizado com escolares de um município brasileiro.

Um possível mecanismo para a relação entre Hcy, Cys e alterações do HDL-c pauta-se na inibição da transcrição da apolipoproteína A-1 e, conseqüentemente, redução da síntese hepática de HDL-c, induzindo a aterosclerose (Liao, Yang e Wang, 2007). Embora estudos tenham identificado relação entre Hcy e triglicérides, os mecanismos desta relação ainda não estão esclarecidos. Por outro lado, considerando que o excesso de peso está associado com perfil lipídico indesejado de baixo HDL-c e elevados valores de triglicérides (Codoner-Franch *et al.*, 2010), é possível que a relação entre esses lipídios e a Hcy e Cys ocorra por vias

metabólicas comuns ao excesso de peso que, direta ou indiretamente, atuam na determinação do evento.

No presente estudo, a pressão arterial aumentada também se associou com as concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas. Alguns estudos epidemiológicos têm encontrado fraca, porém significativa associação entre valores de Hcy e pressão arterial em crianças e adolescentes (Osganian *et al.*, 1999) e em outros grupos etários (Hoogeveen *et al.*, 1998; Nygard *et al.*, 1998). Embora não tenham sido identificados estudos sobre a relação entre Cys e pressão arterial no grupo pediátrico, dados do *Hordaland HomoCysteine Study* para população adulta, identificou forte associação entre a pressão arterial e concentrações elevadas de Cys (El-Khairy *et al.*, 1999).

Sobre esta relação, estudos têm demonstrado que concentrações aumentadas de Hcy e Cys séricas se relacionam com a pressão arterial devido à reação destes elementos com o óxido nítrico – formando nitrosotiol –, diminuindo sua biodisponibilidade, levando a dano na vasodilatação mediada pelo endotélio dependente de óxido nítrico (Stamler e Slivka, 1996). Estudos experimentais demonstraram também que a hiperhomocisteinemia leva ao aumento da rigidez arterial causado pela destruição das fibras de elastina, aumentando a produção de colágeno e a atividade das células do músculo liso (Joseph *et al.*, 2002), tendo como principais consequências o aumento da pressão arterial, principalmente devido à pressão arterial sistólica, e sobrecarga cardíaca (Doshi *et al.*, 2005; Tsuda, 2007).

Ressalta-se que este estudo sofre com a limitação de não estabelecer relações causais ou temporais entre as variáveis (Rothman, Greenland e Lash, 2008), inerentes ao desenho de estudo transversal, o que torna necessária a realização de

estudos confirmatório das hipóteses aqui geradas. No entanto, considerando o rigor metodológico, a robusta análise estatística e as evidências registradas por outros autores, pode-se concluir que concentrações elevadas de Hcy e Cys em crianças e adolescentes estão associadas a um conjunto de fatores que configuram importante cenário epidemiológico de morbidades por doenças crônicas não transmissíveis, a exemplo do excesso de peso, pressão arterial elevada, baixos valores de HDL-c e triglicérides elevados. E, considerando que estes fatores já se expressam em idade precoce da vida, medidas de prevenção e controle das concentrações elevadas de Hcy e Cys devem ser adotadas para a promoção da saúde e prevenção de doenças crônicas não transmissíveis nesta fase da vida.

## Referências

ANAND, P. et al. Serum homoCysteine in Indian adolescents. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 76, n. 7, p. 705-709, Jul 2009. ISSN 0019-5456. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000269152700004 >.

ASSIS, A. et al. **Diagnóstico de saúde e nutrição da população de Mutuípe-Ba**. Salvador: Editora UFBA, 2002.

BIESHEUVEL, C. J. et al. Polytomous logistic regression analysis could be applied more often in diagnostic research. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 61, n. 2, p. 125-134, Feb 2008. ISSN 0895-4356. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000252333700005 >.

BITTENCOURT, H. Regressão Logística Politémica: revisão teórica e aplicações. **Revista de Ciências Naturais e Exatas**, v. 5, n. 1, 2003.

BRASIL. **Resolução nº 196 de 1996. Aprova as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. SAÚDE, M. D. S. C. N. D. Brasília: Ministério da Saúde 1996.

BRASILEIRO, R. S. et al. Plasma total homoCysteine in Brazilian overweight and non-overweight adolescents: a case-control study. **Nutr Hosp**, v. 20, n. 5, p. 313-9, Sep-Oct 2005. ISSN 0212-1611 (Print)

0212-1611 (Linking).

CHANG, P.-Y. et al. HomoCysteine inhibits arterial endothelial cell growth through transcriptional downregulation of fibroblast growth factor-2 involving G protein and DNA methylation. **Circulation Research**, v. 102, n. 8, p. 933-941, Apr 25 2008. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000255296300012 >.

CODONER-FRANCH, P. et al. New factors of cardiometabolic risk in severely obese children: influence of pubertal status. **Nutricion Hospitalaria**, v. 25, n. 5, p. 845-851, Sep-Oct 2010. ISSN 0212-1611. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000282562800025 >.

CRUZ, E. N. D. et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **J Bras Patol**, v. 36, n. 3, p. 166-73, 2000.

DOSHI, S. et al. Relationship between S-adenosylmethionine, S-adenosylhomocysteine, asymmetric dimethylarginine, and endothelial function in healthy human subjects during experimental hyper- and hypohomocysteinemia. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 54, n. 3, p. 351-360, Mar 2005. ISSN 0026-0495. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227663200012 > .

DWYER, T. et al. Cohort Profile: The International Childhood Cardiovascular Cohort (i3C) Consortium. **International Journal of Epidemiology**, v. 42, n. 1, p. 86-96, Feb 2013. ISSN 0300-5771. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000316699300010 > .

EL-KHAIRY, L. et al. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total Cysteine in plasma: the Hordaland Homocysteine Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1016-1024, Dec 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000089688800011 > .

\_\_\_\_\_. Plasma total Cysteine as a risk factor for vascular disease - The European Concerted Action project. **Circulation**, v. 103, n. 21, p. 2544-2549, May 29 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000169012800015 > .

\_\_\_\_\_. Plasma total Cysteine, mortality, and cardiovascular disease hospitalizations: The Hordaland Homocysteine Study. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 895-900, Jun 2003. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000183088100009 > .

ELSHORBAGY, A. K. et al. The Association of Plasma Cysteine and gamma-Glutamyltransferase With BMI and Obesity. **Obesity**, v. 17, n. 7, p. 1435-1440, Jul 2009. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267483800023 > .

\_\_\_\_\_. The association of fasting plasma sulfur-containing compounds with BMI, serum lipids and apolipoproteins. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 12, p. 1031-1038, Dec 2012. ISSN 0939-4753. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000311798500005 > .

\_\_\_\_\_. The Association of Cysteine with Obesity, Inflammatory Cytokines and Insulin Resistance in Hispanic Children and Adolescents. **Plos One**, v. 7, n. 9, Sep 11 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000308638700047 > .

FREEDMAN, D. S. et al. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 308-317, Feb 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078198000022 > .

GIL-PRIETO, R. et al. Plasma homoCysteine in adolescents depends on the interaction between methylenetetrahydrofolate reductase genotype, lipids and folate: a seroepidemiological study. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, Oct 5 2009. ISSN 1743-7075. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000270973700001 >.

HOOGEVEEN, E. K. et al. HyperhomoCysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus - A population-based. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 18, n. 1, p. 133-138, Jan 1998. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000071503900020 >.

HOSMER, D.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley, 2000.

HUMPHREY, L. L. et al. HomoCysteine Level and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 11, p. 1203-1212, Nov 2008. ISSN 0025-6196. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000260743900003 >.

I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, p. 3-36, 2005. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso) >.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. ESTATÍSTICA, I. B. D. G. E. Rio de Janeiro: IBGE: 150 p. 2011.

JOLLIFFE, C. J.; JANSSEN, I. Distribution of lipoproteins by age and gender in adolescents. **Circulation**, v. 114, n. 10, p. 1056-1062, Sep 5 2006. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000240244700010 >.

JOSEPH, J. et al. HyperhomoCysteinemia leads to adverse cardiac remodeling in hypertensive rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 283, n. 6, p. H2567-H2574, Dec 2002. ISSN 0363-6135. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000179156000051 >.

KAMDI, S. P.; PALKAR, P. Prevalence of hyperhomoCysteinemia in healthy Indian doctors. **Bioinformation**, v. 9, n. 4, p. 193-6, 2013. ISSN 0973-2063 (Electronic) 0973-2063 (Linking).

LABARTHE, D. Emergency of risk factors in children. In: MARMOT, M. e ELLIOTT, P. (Ed.). **Coronary Heart Disease Epidemiology: from aetiology to public health**. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Oxford, 2005. cap. 34,

LABARTHE, D. et al. Change in blood lipid components during adolescence differs importantly by sex and is not consistently related to change in body fat: Project HeartBeat! **Canadian Journal of Cardiology**, v. 13, n. Suppl.B, 1997.

LABARTHE, D. R. et al. Development of cardiovascular risk factors from ages 8 to 18 in Project HeartBeat! Study design and patterns of change in plasma total cholesterol concentration. **Circulation**, v. 95, n. 12, p. 2636-2642, Jun 17 1997. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XD76100011 >.

LAUER, R. M. et al. NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION-PROGRAM (NCEP) - HIGHLIGHTS OF THE REPORT OF THE EXPERT PANEL ON BLOOD CHOLESTEROL LEVELS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS. **Pediatrics**, v. 89, n. 3, p. 495-501, Mar 1992. ISSN 0031-4005. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1992HG52900026 >.

LIAO, D.; YANG, X.; WANG, H. HyperhomoCysteinemia and high-density lipoprotein metabolism in cardiovascular disease. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 45, n. 12, p. 1652-1659, 2007 2007. ISSN 1434-6621. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000251964000011 >.

LOHMAN, T.; ROCHE, A.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Human Kinetics Books, 1988.

MAGNUSSEN, C. G. et al. Utility of currently recommended pediatric dyslipidemia classifications in predicting dyslipidemia in adulthood - Evidence from the childhood determinants of adult health (CDAH) study, Cardiovascular Risk in Young Finns Study, and Bogalusa Heart Study. **Circulation**, v. 117, n. 1, p. 32-42, Jan 1 2008. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000252094100008 >.

MONTEIRO, R. D. C. D. A.; RIETHER, P. T. A.; BURINI, R. C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 479-489, 2004. ISSN 1415-5273. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso) >.

NYGARD, O. et al. Major lifestyle determinants of plasma total homoCysteine distribution: the Hordaland homoCysteine study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 263-270, Feb 1998. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000071708100015 >.

ONIS, M. D. et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, p. 660-667, 2007. ISSN 0042-9686. Disponível em: < [http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso](http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso) >.

OSGANIAN, S. K. et al. Distribution of and factors associated with serum homoCysteine levels in children - Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 281, n. 13, p. 1189-1196, Apr 7 1999. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000079464400033 >.

PEREIRA DA SILVA, N. et al. HomoCysteine and Cysteine levels in prepubertal children: Association with waist circumference and lipid profile. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 166-171, 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900712002675> >.

PFEIFFER, C. M.; HUFF, D. L.; GUNTER, E. W. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homoCysteine and Cysteine in a clinical laboratory setting. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 290-292, Feb 1999. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078496700022 >.

REFSUM, H. et al. The hordaland homoCysteine study: A community-based study of homoCysteine, its determinants, and associations with disease. **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1731S-1740S, Jun 2006. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237993400017 >.

**ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. *Modern Epidemiology*. 3<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.**

SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes** 2009.

SCHMIDT, M. I. et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. **Lancet**, v. 11, p. 61-74, 2011.

SELHUB, J. HomoCysteine metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 19, p. 217-246, 1999. ISSN 0199-9885. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000082007300012 >.

SPLAVER, A.; LAMAS, G. A.; HENNEKENS, C. H. HomoCysteine and cardiovascular disease: Biological mechanisms, observational epidemiology, and the

need for randomized trials. **American Heart Journal**, v. 148, n. 1, p. 34-40, Jul 2004. ISSN 0002-8703. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000222357700006 >.

STAMLER, J. S.; SLIVKA, A. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. **Nutrition Reviews**, v. 54, n. 1, p. 1-30, Jan 1996. ISSN 0029-6643. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UC32000001 >.

STANGER, O. et al. Clinical use and rational management of homoCysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. **Zeitschrift Fur Kardiologie**, v. 93, n. 6, p. 439-453, Jun 2004. ISSN 0300-5860. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000222576600002 >.

STIPANUK, M. H.; BECK, P. W. CHARACTERIZATION OF THE ENZYMIC CAPACITY FOR CYSTEINE DESULFHYDRATION IN LIVER AND KIDNEY OF THE RAT. **Biochemical Journal**, v. 206, n. 2, p. 267-277, 1982 1982. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1982PC29800010 >.

TAYLOR, B. V.; OUDIT, G. Y.; EVANS, M. HomoCysteine, vitamins, and coronary artery disease - Comprehensive review of the literature. **Canadian Family Physician**, v. 46, p. 2236-2245, Nov 2000. ISSN 0008-350X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000165435700021 >.

TSUDA, K. HyperhomoCysteinaemia and membrane fluidity of red blood cells in normotensive and hypertensive men: An electron paramagnetic resonance investigation. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, p. S70-S72, Nov 2007. ISSN 0305-1870. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000250780400028 >.

VEERANNA, V. et al. HomoCysteine and Reclassification of Cardiovascular Disease Risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 58, n. 10, p. 1025-1033, Aug 30 2011. ISSN 0735-1097. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000294205900007 >.

VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, p. I-III, 2010. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso) >.

WALD, D. S.; LAW, M.; MORRIS, J. K. HomoCysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 325, n. 7374, p. 1202-1206K, Nov 23 2002. ISSN 0959-535X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000179506200018 >.

WANG, Z. et al. HomoCysteine suppresses lipolysis in adipocytes by activating the AMPK pathway. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 301, n. 4, p. E703-E712, Oct 2011. ISSN 0193-1849. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000295576300014 > .

WHO. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic – Report of a WHO consultation on obesity**. World Health Organization. Geneva. 1998

XIAO, Y. et al. Relationship between lipid profiles and plasma total homoCysteine, Cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, Aug 12 2011. ISSN 1476-511X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000294844400001 > .

## 5.2 Artigo 2

# ASSOCIAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÕES DE HOMOCISTEÍNA E CISTEÍNA SÉRICAS E ESTADO ANTROPOMÉTRICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES<sup>1</sup>

Priscila Ribas de Farias Costa<sup>2,3</sup>

### Resumo

**Introdução:** as evidências da relação entre concentrações de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas e o estado antropométrico em adultos são consistentes, mas informações sobre estas relações na faixa etária pediátrica ainda são escassas. E, são escassas também as informações sobre as alterações simultâneas destes parâmetros bioquímicos no mesmo indivíduo e o estado antropométrico, independentemente da faixa etária. **Objetivo:** identificar a relação entre os valores de Hcy e Cys séricas, isolados e simultaneamente alterados, e o estado antropométrico de crianças e adolescentes. **Metodologia:** trata-se de estudo que utiliza dados do *baseline* de uma coorte de 483 indivíduos de 07 a 15 anos de ambos os sexos. A variável desfecho foi representada pelo estado antropométrico e as concentrações de Hcy e Cys séricas foram adotadas como variáveis de exposição principal. Construiu-se um modelo de regressão de Poisson para cada variável desfecho, segundo a condição de exposição principal. **Resultados:** prevalências de excesso de peso foram 36% ( $p<0.01$ ) e 46% ( $p=0.01$ ) mais altas, respectivamente, em indivíduos com valores elevados de Hcy e Cys isoladamente, e 61% mais elevada ( $p<0.01$ ) quando a Hcy e Cys séricas estavam simultaneamente aumentadas. Para o excesso de gordura abdominal foi identificada razão de prevalência 1.64 vezes mais elevada quando os valores séricos de Hcy e Cys estavam simultaneamente aumentados ( $p<0.01$ ); diminuindo para 1.54 para valores elevados de Cys ( $p<0.01$ ) e 1.40 para concentrações aumentadas de Hcy ( $p<0.01$ ) isoladamente. **Conclusões:** concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas se associaram ao excesso de peso e excesso de gordura abdominal em crianças e adolescentes, e as prevalências foram mais acentuadas quando estes dois parâmetros estavam simultaneamente aumentados.

**Palavras-chave:** homocisteína, cisteína, concentrações elevadas, excesso de peso, gordura abdominal, crianças, adolescentes

<sup>1</sup> Financiado pelo edital Fapesb PPSUS 001/2007 e Centro Colaborador Nordeste II/MS.

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia.

<sup>3</sup> Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

## Abstract

**Background:** the evidences about the relationship between serum homocysteine (Hcy) and cysteine (Cys) levels and anthropometric status are consistent in adults, but information about these relationships in children and adolescents are rare. Besides that, evidences about the simultaneous changes of these biochemical parameters in the same subject and anthropometric status are scarce, regardless of age. **Objective:** the objective was to identify the relationship between serum Hcy and Cys levels, isolated and simultaneously modified and anthropometric status in children and adolescents. **Methods:** it was a cross-sectional study that used a cohort baseline data of 483 both sexes children and adolescents from 07 to 15 years old. The anthropometric status (assessed by BMI/Age and waist circumference) was the outcome variable and serum Hcy and Cys levels were the main exposure variables. A Poisson regression model was built for each outcome variable, according to the main exposure variables and prevalence ratio (PR) was used as association measure. **Results:** overweight prevalence was 36% ( $p < 0.01$ ) and 46% ( $p = 0.01$ ) higher in individuals with elevated isolated Hcy and Cys levels, respectively, and 61% ( $p < 0.01$ ) higher when the serum Hcy and Cys levels were simultaneously elevated. For high waist circumference, the prevalence was 64% higher in scholarship with serum Hcy and Cys levels simultaneously elevated ( $p < 0.01$ ); it was 54% ( $p < 0.01$ ) higher when only serum Hcy levels were elevated; and 40% ( $p < 0.01$ ) higher in children and adolescent with only elevated serum Cys levels. **Conclusions:** elevated serum Hcy and Cys levels were associated to overweight and high waist circumference in children and adolescent, and the association was higher when both Hcy and Cys levels were simultaneously elevated.

**Key words:** homocysteine, cysteine, elevated levels, overweight, high waist circumference, children, adolescents.

## Introdução

Elevadas concentrações de homocisteína sérica atingem 5 a 10% de grupos populacionais em todo o mundo (Stanger *et al.*, 2004). Prevalências disponíveis para crianças e adolescentes de algumas regiões do mundo variam de 10.1% a 44.6% (Anand *et al.*, 2009; Gil-Prieto *et al.*, 2009). No Brasil, prevalências de 9.9% e 19.6% de hiperhomocisteinemia foram identificadas entre crianças e adolescentes, adotando-se como ponto de corte o percentil 90 da própria amostra (Brasileiro *et al.*, 2005; Pereira Da Silva *et al.*, 2013). Para valores elevados de cisteína, não foram identificadas prevalências em grupos diferenciados por região do mundo e para quaisquer faixas etárias. No Brasil, identificou-se um estudo que registrou prevalência de 9.6% de hipercisteinemia em crianças e adolescentes, também adotando-se o percentil 90 da amostra como ponto de corte (Pereira Da Silva *et al.*, 2013).

Concentrações elevadas de homocisteína e cisteína têm sido reconhecidas como fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), particularmente a obesidade, doenças cardiovasculares (DCV), dislipidemias e hipertensão arterial (El-Khairi *et al.*, 1999; El-Khairi *et al.*, 2001; Refsum *et al.*, 2006; Elshorbagy *et al.*, 2008; Humphrey *et al.*, 2008; Mueller e Kuhn, 2009; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy, A. K. *et al.*, 2012).

As evidências indicam que concentrações elevadas de homocisteína e cisteína se associam com o excesso de peso corporal (El-Khairi *et al.*, 1999; El-Khairi *et al.*, 2003; Huemer *et al.*, 2006; Elshorbagy *et al.*, 2009) e os mecanismos que explicam esta relação parecem envolver disfunção do tecido adiposo em face das elevações das concentrações de homocisteína e cisteína, que promovem a

inibição da lipólise e o aumento da lipogênese (Wang *et al.*, 2011; Elshorbagy, Amany K. *et al.*, 2012).

Resultados de estudos destacam a influência mais acentuada do risco de excesso de peso em adultos quando os valores de homocisteína e cisteína estão simultaneamente elevados (El-Khairi *et al.*, 2001; Xiao *et al.*, 2011). No entanto, investigações que avaliam a relação entre a presença isolada ou conjunta de concentrações aumentadas de homocisteína e cisteína séricas e alterações dos indicadores antropométricos na faixa etária pediátrica são escassas.

Assim, o objetivo do presente estudo foi identificar a associação entre concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas, isoladas e conjuntamente, e o excesso de peso e excesso de gordura abdominal em crianças e adolescentes.

### **Considerações Teórico-metodológicas**

#### **- Amostra e desenho de estudo**

Trata-se de estudo transversal que utilizou dados do *baseline* da coorte intitulada “Alterações Metabólicas Associadas ao Sobrepeso/Obesidade em Escolares de Mutuípe – Bahia”. No estudo original, 540 crianças coletaram amostra de sangue e, destas, 37 não foram localizadas, 15 não tinham soro suficiente para a dosagem e em 05 não foi possível a realização das dosagens bioquímicas. Assim, a amostra deste estudo incluiu 483 crianças e adolescentes de 7 a 15 anos de idade, de ambos os sexos, selecionados aleatoriamente a partir da lista de matrícula de alunos do curso fundamental, fornecida pela Secretaria de Educação, do município de Mutuípe, Recôncavo da Bahia, no ano de 2006.

O poder da amostra foi calculado com base nas prevalências de hiperhomocisteinemia em 25.4% de escolares com excesso de peso e em 43.3% daqueles com excesso de gordura abdominal (Pereira da Silva *et al.*, 2013); e, para o cálculo amostral das concentrações elevadas de cisteína e excesso de peso e excesso de gordura abdominal, tomou-se como base prevalências de hipercisteinemia em 30.3% dos escolares com excesso de peso e em 50% daqueles com excesso de gordura abdominal (Pereira da Silva *et al.*, 2013). Nestas condições, a amostra de 483 indivíduos tem poder ( $1-\beta$ ) de 84% e 99% de detectar associação entre concentrações elevadas de homocisteína e excesso de peso e excesso de gordura abdominal e, poder de 92% e 99%, respectivamente, de detectar associação entre concentrações elevadas de cisteína e excesso de peso e de gordura abdominal.

Todos os cálculos do poder amostral foram baseados no nível de significância de 5% e testes bi-caudais (Rosner, 2010), e indicaram que o tamanho da amostra é suficiente para realizar estimativas não viciadas dos parâmetros investigados na população em estudo.

#### **- Critérios de exclusão**

Seriam excluídos do estudo escolares que fizessem uso de medicamentos que alterassem as concentrações de homocisteína e cisteína (anticonvulsivante, diuréticos, tiazídicos, corticóides) ou portadores de diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, doença hepática e hipotireoidismo, por influenciarem os valores séricos de homocisteína e cisteína (Taylor, Oudit e Evans, 2000). Estado de gestação, lactação e de deficiências físicas que impedissem a avaliação

antropométrica foram também adotados como critérios de exclusão. No entanto, estas condições não foram identificadas entre os escolares selecionados.

## **Métodos**

### **- Coleta de dados e definição de variáveis**

A coleta de dados sócio-demográficos, de estilo de vida, clínicos, antropométricos e de consumo alimentar foi realizada por equipe de nutricionista devidamente capacitada, e o sangue foi coletado por técnico de laboratório com experiência na realização deste procedimento em crianças e adolescentes.

### **- Dados antropométricos**

O peso foi aferido utilizando balança digital portátil Filizola (São Paulo, Brasil), com capacidade para 150kg e precisão de 100g e a altura por meio de estadiômetro marca Leicester Height Measure (SECA; Hamburgo, Alemanha), com precisão de 1mm. O indivíduo foi pesado e medido de acordo com as técnicas de Lohman, Roche e Martorell (1988). Para a circunferência da cintura (CC) utilizou-se a fita métrica inelástica, de fibra de vidro, com escala em centímetros e precisão de 1mm, adotando-se a técnica proposta pela WHO (1998). Todas as medidas foram realizadas em duplicata e a média entre os dois valores foi adotada como medida final.

O estado antropométrico foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) por idade e pela circunferência da cintura (CC). O IMC foi obtido pela divisão do peso (quilogramas) pela estatura (metros) elevada ao quadrado [IMC= P (kg) / E<sup>2</sup> (m)], utilizando como referência as recomendações da Organização Mundial da Saúde (Onis *et al.*, 2007) para indivíduos de 5 a 19 anos.

Considerando que não há consenso sobre o ponto de corte de CC para crianças e adolescentes, adotou-se neste estudo o percentil 90 da própria amostra para classificação de excesso de gordura abdominal, conforme proposto por Freedman *et al.* (1999).

#### **- Pressão Arterial**

A medida da pressão arterial foi realizada utilizando manguito pediátrico com bolsa de borracha. A medição e a classificação da pressão arterial foram realizadas com base nas recomendações das VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, segundo estatura, idade e sexo (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2010).

#### **- Consumo Alimentar**

O consumo alimentar foi avaliado utilizando-se o questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA foi adaptado de instrumento previamente utilizado em crianças e adolescentes do município (Assis *et al.*, 2002). Este instrumento era composto por 96 itens alimentares e continha 8 possibilidades de resposta de consumo: diário, 1 vez na semana, 2, 3, 4, 5 e 6 vezes na semana e raramente/nunca.

Estas informações foram tratadas de acordo com a metodologia proposta por (Monteiro, Riether e Burini, 2004). Assim, o cômputo geral da frequência do consumo de cada alimento foi convertido em escores, multiplicando a frequência semanal por 4 (número de semanas no mês) e dividindo-a por 30 (número de dias no mês), encontrando-se assim, o escore de consumo médio diário mensal para cada alimento. Os escores variaram de 1 (consumo diário) a zero (consumo

“raro/nunca”), sendo, posteriormente, classificados em tercil (Monteiro, Riether e Burini, 2004).

Após o cálculo destes escores e baseado na composição dos alimentos, foram construídos dois grupos de consumo, com a seguinte caracterização:

a) Grupo de risco para excesso de peso e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína: formado por alimentos com elevado teor de gorduras saturadas, de cloreto de sódio e de açúcares simples.

b) Grupo de proteção contra excesso de peso e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas: formado por alimentos fontes de fibras, vitaminas, minerais e de baixa densidade calórica.

#### **- Dados demográficos, socioeconômicos, relacionados ao estilo de vida e clínico**

As informações deste quesito foram referidas pela mãe ou responsável pela criança/adolescente e registradas em questionário estruturado. As informações demográficas dizem respeito ao sexo e idade do escolar.

Condições socioeconômicas dizem respeito ao número de cômodos e de pessoas que residiam no domicílio, principal tipo de iluminação e ocupação do chefe da família e deram origem ao índice socioeconômico. Para o índice ambiental, utilizaram-se as condições do abastecimento de água do domicílio, a origem da água para beber, o destino dado ao lixo e aos dejetos. Essas variáveis tiveram as respostas pontuadas de 0 a 4, variando de 0 (pior condição) a 4 (melhor classificação). Desta forma, os índices socioeconômico e o ambiental tiveram pontuação mínima de 0 e máxima de 16 e foram categorizados em tercil.

Apesar do conhecimento de que a escolaridade materna se associa às condições socioeconômicas, optou-se por não incluí-la no índice socioeconômico e avaliá-la separadamente, dado que esta variável representa também os aspectos culturais e alimentares da sociedade onde está inserido o indivíduo.

O nível de atividade física foi avaliado a partir de questionário estruturado com questões referentes à frequência da prática de atividade física não incluída no conteúdo pedagógico escolar, que é realizada uma vez na semana. Assim, a prática de dois ou mais dias de atividade física fora da escola classifica o escolar em ativo; e a prática de menos que dois dias de atividade física fora da escola classifica o escolar como pouco ativo / sedentário.

Também foi incluída no modelo teórico a variável prática de etilismo.

#### **- História Familiar de Doença Crônica não Transmissível**

O escolar e/ou seu responsável foram questionados quanto à ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis na família (obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e câncer) e em caso positivo, perguntou-se sobre o grau de parentesco do portador da doença com o participante da pesquisa.

#### **- Exames Bioquímicos**

A coleta de sangue foi realizada pela manhã observando-se o jejum de pelo menos 12 horas. Foram coletados, por punção venosa, 10 mL de sangue, e depositados em tubos vacutainer (BD®) estéreis e descartáveis, sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos para posterior separação do soro, que foi utilizado para as determinações bioquímicas.

As alíquotas de soro foram acondicionadas em *ependorf* previamente desmineralizado e armazenadas a -20 °C. A glicemia foi determinada pelo método enzimático e foi adotada a classificação proposta pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009).

As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas no espaço do Laboratório de Referência do Município, cedido pela Secretaria da Saúde.

As determinações séricas da homocisteína e cisteína foram realizadas no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Federal de São Paulo, por Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) com eluição isocrática e detecção fluorimétrica, considerada metodologia padrão-ouro para este procedimento (Cruz *et al.*, 2000). Resumidamente, o processo de dosagem envolveu a etapa de redução (para a redução e a liberação dos tióis ligados às proteínas), de precipitação das proteínas e a etapa de derivatização, seguindo metodologia de Pfeiffer, Huff e Gunter (1999).

#### **- Processamento dos dados**

Após as rotinas de controle dos dados coletados, estes foram digitados, à medida que chegavam de campo, utilizando-se o programa EPI-INFO, que tem caráter simplificado e evita erros grosseiros na entrada de dados.

#### **- Identificação e Definição das Variáveis**

As variáveis desfecho deste estudo foram representadas pelo excesso de peso (IMC/Idade $\geq$ P85) e excesso de gordura abdominal (CC $\geq$ P90). E, as concentrações de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas, isoladas e conjuntas, foram as variáveis independentes principais.

Considerando que não há consenso sobre os pontos de corte para classificar as alterações da Hcy e Cys em crianças e adolescentes, adotou-se a distribuição em quintis para a análise descritiva [variável dicotômica:  $\leq$  5º quintil (referência = 0);  $>$  5º quintil (risco = 1)] e para os modelos de regressão [1º quintil (referência = 0); 2º quintil (primeira categoria de risco = 1); 3º quintil (segunda categoria de risco = 2); 4º quintil (terceira categoria de risco = 4); e quinto quintil (categoria de maior risco = 5)].

Para avaliar a relação entre as variáveis desfecho e a presença simultânea de concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas, criou-se uma nova variável a partir dos quintis individuais de distribuição destes parâmetros bioquímicos (Hcy+Cys). Assim, valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente no 1º quintil de suas respectivas distribuições foram incluídos na categoria de referência (0); concentrações de Hcy e Cys séricas no 2º, 3º ou 4º quintil das respectivas distribuições caracterizaram a primeira categoria de risco (1); e valores de Hcy e Cys simultaneamente no 5º quintil de distribuição caracterizaram a categoria de maior risco (2). E, assim, integraram os modelos de regressão na análise estatística.

As covariáveis do estudo incluíram: a idade [ $<$ 12 anos (0);  $\geq$ 12 anos (1)], sexo [feminino (0) e masculino (1)], escolaridade materna [nível médio e/ou superior (0); fundamental, ensino básico ou analfabeto (1)], índice ambiental [3º tercil (0); 2º e 1º tercis (1)], índice socioeconômico [3º tercil (0); 2º e 1º tercis (1)], pressão arterial [ $<$  percentil 90 (0);  $\geq$  percentil 90 (1)], glicemia [ $<$ 100mg/dL (0);  $\geq$  100mg/dL (1)], prática de atividade física [moderadamente ativo (0); pouco ativo / sedentário (1)], história familiar de DCNT [não (0); sim (1)], consumo de alimentos

protetores [3º tercil (0); 1º e 2º tercís (1)], consumo de alimentos de risco [1º tercil (0); 2º e 3º tercís (1)] e etilismo [não (0); sim (1)].

### **- Análise Estatística**

A prevalência foi usada para caracterizar a distribuição dos indicadores antropométricos (IMC e gordura abdominal) na população de estudo. A comparação entre as prevalências das variáveis de interesse e valores de Hcy e Cys séricas, isoladas e conjuntamente, foi realizada utilizando-se o teste  $\chi^2$ -quadrado de Pearson (para variáveis categóricas).

Para modelar a prevalência do excesso de peso e de gordura abdominal em função dos valores elevados de Hcy e Cys séricas, realizou-se a regressão múltipla de *Poisson*, que integra a família dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), utilizando como estimador a razão de prevalência (RP), que compara a prevalência do desfecho nos indivíduos expostos com a prevalência nos indivíduos não expostos (Hosmer e Lemeshow, 2000).

Foram construídos seis modelos de regressão de Poisson: um para cada variável de exposição principal (valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys) segundo as duas variáveis desfecho, caracterizadas pelo excesso de peso e de gordura abdominal.

Inicialmente, realizou-se a análise univariada para selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de p menor que 20% e aquelas que mostraram potencial de confundimento, sendo incluídas no modelo mesmo que o valor de p fosse maior do que 0.20. No modelo final, permaneceram as variáveis, cuja associação com as variáveis desfechos apresentaram significância menor que 5%.

Foram testados possíveis termos de interação – construídos com base na referência da literatura e na própria estrutura de dados do estudo – para avaliar a existência de modificação do efeito das variáveis de exposição sobre a variável desfecho, utilizando o teste da razão de máxima verossimilhança (*log likelihood ratio test*), avaliando a significância do termo de interação no modelo multivariado; e variáveis de confundimento – aquelas associadas tanto com a exposição quanto com o desfecho, que foram avaliadas pela mudança de 10% ou mais na RP, comparando com a RP do modelo reduzido (Rothman, Greenland e Lash, 2008).

Para medir a capacidade de explicação do modelo foi utilizado o pseudo-R<sup>2</sup>, para modelos binomiais que avalia o ajuste da log-probabilidade do modelo completo em comparação ao modelo reduzido (Heinzi, Waldhor e Mittlbock, 2005).

Para avaliar o ajuste dos modelos de regressão de *Poisson*, foram utilizadas a análise de *deviance* – que é, por definição, a medida que contrasta a razão de verossimilhança da probabilidade do modelo atual com a probabilidade do modelo que prevê mais adequadamente os resultados observados (Kleinbaum e Klein, 2010). Quanto mais perto estão as duas probabilidades, melhor o ajuste do modelo - ou seja, quanto menor a *deviance*, melhor o ajuste (Nelder e Wedderburn, 1972); e o Critério de Informação de Akaike (AIC), que é uma medida da qualidade do ajuste de um modelo estatístico estimado baseado na medida relativa da informação perdida na adoção de um determinado modelo. Quanto menos informação perdida, melhor o ajuste do modelo - ou seja, quanto menor o AIC, melhor o ajuste (Akaike, 1973).

As análises foram realizadas no pacote estatístico *Stata/IC for Mac (StataCorp, College Station)*, versão 12.0.

### **- Aspectos Éticos**

A pertinência ética do protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, sob número 03/06.

A participação do escolar no estudo foi dependente da autorização escrita dos pais e/ou responsáveis. Após conhecerem os objetivos do estudo e concordarem com a inserção do menor na investigação, os pais e/ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Atendendo aos pressupostos éticos, todos os escolares que apresentaram alterações expressivas nos indicadores avaliados foram encaminhados ao serviço de saúde local e mantidos no estudo.

### **Resultados**

Cinquenta e sete indivíduos da amostra do estudo original foram perdidos neste estudo (10.5%), pois apresentavam apenas dados referentes às dosagens de Hcy e Cys séricas. No entanto, ao comparar estas medidas com a idade e o sexo (únicas variáveis disponíveis), não houve diferença estatisticamente significativa para as dosagens bioquímicas de Hcy e Cys entre os escolares perdidos e aqueles que foram incluídos no presente estudo (dados não mostrados).

Na Tabela 1 estão apresentadas as distribuições das características sócio-demográficas, clínicas e de estilo de vida da população investigada, segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Observou-se que a maioria dos escolares com valores séricos de Hcy acima do quinto quintil de distribuição ( $8.5\mu\text{mol/L}$ ) era maior de 12 anos (58.9%;  $p<0.01$ ), do sexo masculino (53.3%;  $p=0.02$ ) e apresentava ambiente da residência e do seu entorno abaixo do 3º tercil (67.8%;

p=0.01); além disso, a maioria das crianças e adolescentes que tinham concentrações elevadas de Hcy apresentou história familiar de DCNT (91.1%; p=0.02), baixo escore de consumo médio diário de alimentos protetores (60.3%; p=0.04) e elevado escore de consumo médio diário de alimentos de risco (75.6%; p=0.01).

Observou-se ainda que 51.6% dos escolares que apresentaram valores de cisteína acima do quinto quintil (463.4 $\mu$ mol/L) eram maiores de 12 anos (p=0.04); 85.7% tinham história familiar de DCNT (p=0.04); e 63.3% deles apresentaram baixo escore de consumo diário de alimentos protetores (p=0.03). Por fim, a maioria das crianças e adolescentes que apresentou valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do quinto quintil era maior de 12 anos (65%; p=0.03); 62.5% viviam nos tercís mais baixos do índice ambiental (p=0.04); 93% deles tinham história familiar de DCNT (p=0.03); e 80% deles apresentavam elevado escore de consumo médio diário de alimentos de risco (p=0.01). As demais associações não foram significantes (Tabela 1).

**Tabela 1** - Características sócio-demográficas, clínicas e de estilo de vida de crianças e adolescentes segundo valores séricos de Hcy, Cys e Hcy+Cys. Múltipe-Ba, 2006.

Variável	HCY $\geq$ 5 $^{\circ}$ quartil (8,5 $\mu$ mol/L) n(%)	HCY< 5 $^{\circ}$ quartil (8,5 $\mu$ mol/L) n(%)	Valor de p	CIS $\geq$ 5 $^{\circ}$ quartil (463,4 $\mu$ mol/L) n(%)	CIS < 5 $^{\circ}$ quartil (463,4 $\mu$ mol/L) n(%)	Valor de p	HCY+CYS ( $\geq$ 5 $^{\circ}$ quartil) n(%)	HCY+CYS (< 5 $^{\circ}$ quartil) n(%)	Valor de p
<b>Idade</b>									
-<12 anos	37 (41.1)	241 (61.3)	<b>&lt;0.01*</b>	44 (48.4)	234 (59.7)	<b>0.04*</b>	14 (35.0)	264 (59.6)	<b>0.03*</b>
->=12 anos	53 (58.9)	152 (38.7)		47 (51.6)	158 (40.3)		26 (65.0)	179 (40.4)	
<b>Sexo</b>									
-Feminino	42 (46.7)	242 (61.6)	<b>0.02*</b>	53 (58.2)	231 (58.9)	0.15	22 (55.0)	262 (59.1)	0.11
-Masculino	48 (53.3)	151 (38.4)		38 (41.8)	161 (41.1)		18 (45.0)	181 (40.9)	
<b>Escolaridade da mãe</b>									
- Ensino médio/Superior	77 (85.6)	319 (81.2)	0.32	74 (81.3)	322 (82.1)	0.85	34 (85.0)	362 (81.7)	0.22
- Analfabeto/ fundamental	13 (14.4)	74 (18.8)		17 (18.7)	70 (17.9)		06 (15.0)	81 (18.3)	
<b>Índice Ambiental</b>									
- 3 $^{\circ}$ Terçil	29 (32.2)	185 (47.0)	<b>0.01*</b>	37 (40.7)	177 (45.1)	0.07	15 (37.5)	199 (44.9)	<b>0.04*</b>
- 1 $^{\circ}$ e 2 $^{\circ}$ Terçis	61 (67.8)	208 (53.0)		54 (59.3)	215 (54.9)		25 (62.5)	244 (55.1)	
<b>Índice Socioeconômico</b>									
- 3 $^{\circ}$ Terçil	40 (44/4)	156 (39.7)	0.40	43 (47.3)	153 (39.0)	0.15	20 (50.0)	176 (39.7)	0.20
- 1 $^{\circ}$ e 2 $^{\circ}$ Terçis	50 (55.6)	237 (60.3)		48 (52.7)	239 (61.0)		20 (50.0)	267 (60.3)	
<b>Pressão arterial</b>									
- Adequada	59 (69.4)	237 (72.5)	0.60	59 (69.5)	237 (72.5)	0.60	24 (63.3)	268 (72.6)	0.27
- Hipertenso/pré-hipertenso	31 (30.6)	90 (27.5)		31 (30.5)	90 (27.5)		16 (36.7)	101 (27.4)	
<b>Glicemia</b>									
- Adequada	84 (93.3)	365 (92.8)	0.87	84 (92.3)	365 (93.1)	0.78	35 (94.5)	410 (92.5)	0.24
- hiperglicemia	06 (06.7)	28 (07.1)		07 (07.7)	27 (06.9)		05 (05.5)	33 (07.5)	
<b>Nível de Atividade Física</b>									
- Ativo	19 (21.1)	87 (22.1)	0.13	18 (19.8)	88 (22.4)	0.17	09 (22.5)	97 (21.9)	0.13
- Pouco ativo/sedentário	71 (78.9)	306 (77.9)		73 (80.2)	304 (77.6)		31 (77.5)	346 (78.1)	
<b>HF de DCNT</b>									
- Não	08 (08.9)	74 (18.8)	<b>0.02*</b>	13 (14.3)	69 (17.6)	<b>0.04*</b>	05 (08.0)	80 (18.1)	<b>0.03*</b>
- Sim	82 (91.1)	319 (81.2)		78 (85.7)	323 (82.4)		35 (93.0)	363 (81.9)	
<b>Consumo protetor</b>									
- Alto	31 (39.7)	246 (71.3)	<b>0.04*</b>	29 (36.7)	243 (70.6)	<b>0.03*</b>	17 (50.0)	276 (70.9)	0.10
- Baixo	47 (60.3)	99 (28.7)		50 (63.3)	101 (29.4)		17 (50.0)	113 (29.1)	
<b>Consumo de risco</b>									
- Baixo	22 (24.4)	241 (61.3)	<b>0.01*</b>	27 (29.7)	245 (62.5)	0.15	08 (20.0)	277 (62.5)	<b>0.01*</b>
- Alto	68 (75.6)	152 (38.7)		64 (70.3)	147 (37.5)		32 (80.0)	166 (37.5)	
<b>Etilismo</b>									
- Não	65 (83.3)	299 (88.2)	0.24	68 (85.0)	296 (87.8)	0.49	29 (82.8)	335 (87.7)	0.19
- Sim	13 (16.7)	40 (11.8)		12 (15.0)	41 (12.2)		06 (17.2)	47 (12.3)	

Tamanho da amostra: 483. \*Valor de p significante para o teste Qui-quadrado de Pearson; Legenda: HF de DCNT=História familiar (pai e/ou mãe) de doenças crônicas não transmissíveis; Prevalência de excesso de peso: 20.1%; Prevalência de excesso de gordura abdominal: 17%

Os resultados da análise de regressão de *Poisson* para o excesso de peso segundo a exposição à valores elevados de Hcy estão apresentados na Tabela 2. Concentrações de Hcy acima do 5º quintil de distribuição ( $>8.5 \mu\text{mol/L}$ ) aumentavam em 36% a prevalência de excesso de peso, quando comparada à prevalência em indivíduos com concentrações situadas abaixo do 1º quintil ( $5.8 \mu\text{mol/L}$ ) ( $p < 0.01$ ), quando o modelo foi ajustado por variáveis demográficas, socioeconômicas e de consumo alimentar. As demais distribuições quintílicas não se associaram com o desfecho, independentemente do processo de ajuste.

Para este mesmo desfecho, quando a Cys sérica foi a exposição principal, observou-se que escolares que apresentaram concentrações de Cys no quarto (entre  $416.2$  e  $463.4 \mu\text{mol/L}$ ) e quinto ( $>463.4 \mu\text{mol/L}$ ) quintis de distribuição tiveram, respectivamente, prevalências 1.12 ( $p = 0.03$ ) e 1.49 vezes ( $p = 0.01$ ) mais elevadas de excesso de peso, quando comparadas àquelas promovidas pela concentração de Cys abaixo do primeiro quintil ( $352.6 \mu\text{mol/L}$ ) (Tabela 2). Observou-se também que a inclusão do bloco das variáveis demográficas, socioeconômicas e de consumo alimentar ajustou de forma significativa e sistemática e ampliou consistentemente o poder explicativo dos modelos. Neste sentido, nos modelos processados para avaliar a concentração elevada da Hcy e Cys isoladas e o excesso de peso, o valor do pseudo- $R^2$  aumentou, respectivamente, de 2.3% e 1.4% nos modelos reduzidos, para 3.6% e 4.9% nos primeiros modelos – ajustados pelo bloco das variáveis demográficas (sexo e idade) –, aumentando progressivamente para 4.7% e 6.7%, respectivamente, no 2º modelo, alcançando 7.9% e 8.9% nos modelos finais, quando o ajuste foi processado pelos blocos de todas as covariáveis. Esta ampliação no poder explicativo do modelo foi acompanhada pela redução do AIC de

512.9 no modelo bruto, para 455.3 no modelo final, para a concentração elevada de Hcy. E, de 519.1 para 453.1 no modelo para valores elevados de Cys, indicando melhor ajuste do modelo final.

Para valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente elevados (no quinto quintil de distribuição), identificou-se prevalência 1.61 vezes maior de excesso de peso entre crianças e adolescentes quando comparada àquela promovida pelos valores de Hcy+Cys no primeiro quintil de distribuição ( $p < 0.01$ ). Este modelo indicou também redução do AIC, variando de 511.6 no modelo reduzido para 433.8 no modelo ajustado, e ampliação do poder de explicação de 2.8% no modelo bruto para 10.3% no modelo final, quando ajustado pelos blocos das covariáveis (Tabela 2).

Observou-se que os resultados da modelagem para o excesso do peso, segundo os quintis de distribuição das concentrações isoladamente elevadas de Cys sérica e da Hcy+Cys conjuntamente, mostraram RP que aumentavam consistente e sistematicamente à medida que aumentavam também os quintis das concentrações séricas destes parâmetros, e ampliavam a expressão das covariáveis de ajuste, indicando relação dose-resposta. Estes resultados não foram observados para a modelagem processada para as concentrações elevadas de Hcy e o excesso de peso.

**Tabela 2 - Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre excesso de peso e concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006.**

	Excesso de Peso			
	Bruto	Modelo 1 <sup>†</sup>	Modelo 2 <sup>§</sup>	Modelo 3 <sup>∞</sup>
RP (IC 95%); valor de p*				
<b>- HCY **</b>				
1º Quintil	Referência	Referência	Referência	Referência
2º Quintil	1.01 (0.91-1.13); 0.74	1.04 (0.93-1.16); 0.27	1.08 (0.93-1.16); 0.16	1.07 (0.77-1.13); 0.16
3º Quintil	1.08 (0.96-1.21); 0.17	1.11 (0.98-1.25); 0.07	1.12 (0.99-1.26); 0.06	1.12 (0.93-1.22); 0.32
4º Quintil	1.09 (0.97-1.22); 0.14	1.11 (0.99-1.25); 0.06	1.12 (0.99-1.26); 0.05	1.15 (0.95-1.25); 0.07
5º Quintil	1.26 (1.14-1.33); <0.01	1.29 (1.18-1.37); <0.01	1.31 (1.25-1.38); <0.01	1.36 (1.22-1.49); <0.01
Pseudo-R <sup>2</sup> (%)	2.3%	3.6%	4.7%	7.9%
AIC	512.9	507.2	462.2	455.3
<b>- CIS ***</b>				
1º Quintil	Referência	Referência	Referência	Referência
2º Quintil	1.02 (0.97-1.07); 0.42	1.05 (0.97-1.08); 0.18	1.04 (0.55-1.14); 0.55	1.05 (0.97-1.09); 0.44
3º Quintil	1.05 (0.99-1.11); 0.07	1.07 (0.97-1.08); 0.20	1.07 (0.87-1.22); 0.10	1.08 (0.98-1.12); 0.08
4º Quintil	1.12 (1.10-1.18); 0.03	1.07 (1.06-1.15); 0.03	1.09 (1.05-1.15); 0.02	1.12 (1.08-1.19); 0.03
5º Quintil	1.29 (1.19-1.38); 0.01	1.32 (1.19-1.43); 0.01	1.44 (1.33-1.58); 0.01	1.49 (1.36-1.58); 0.01
Pseudo-R <sup>2</sup> (%)	1.4%	4.9%	6.7%	8.9%
AIC	519.1	513.9	469.2	453.1
<b>- HCY+CIS</b>				
1º Quintil	Referência	Referência	Referência	Referência
2º, 3º e 4º Quintis	1.06 (0.98-1.12); 0.05	1.06 (0.98-1.14); 0.06	1.16 (0.92-1.24); 0.07	1.19 (1.07-1.29); 0.03
5º Quintil	1.46(1.18-1.54); 0.01	1.43 (1.17-1.60); <0.01	1.56(1.38-1.71); <0.01	1.61 (1.52-1.78); <0.01
Pseudo-R <sup>2</sup> (%)	2.8%	4.7%	8.6%	10.3%
AIC	511.6	505.7	461.1	433.8

Tamanho da amostra: 483

\* valor de p para modelos de regressão de *Poisson*

\*\*HCY = homocisteína → 1ºquartil < 5.8 μmol/L; 2ºquartil: 5.8-6.7 μmol/L; 3ºquartil: 6.7-7.4 μmol/L; 4ºquartil: 7.4-8.5 μmol/L; 5ºquartil: >8.5 μmol/L

\*\*\*CIS = cisteína → 1ºquartil < 352.6 μmol/L; 2ºquartil: 352.6-383.3 μmol/L; 3ºquartil: 383.3- 416.2 μmol/L; 4ºquartil: 416.2-463.4 μmol/L; 5ºquartil: >463.4 μmol/L

† Ajustado por idade e sexo

§ Ajustado por variáveis do modelo 1 mais variáveis socioeconômicas

∞ Ajustado por variáveis do modelo 2 mais escore médio de consumo de alimentos de risco para excesso de peso e concentrações elevadas de Hcy e Cys

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados da análise bruta e ajustada multivariada para a relação entre excesso de gordura abdominal e valores de Hcy e Cys séricas, isoladas e simultaneamente elevadas. Observou-se, nos modelos ajustados para as concentrações elevadas de Hcy e excesso de gordura abdominal, que as RP do quinto quintil de distribuição foram estatisticamente significantes desde o modelo bruto e vão se tornando sistematicamente mais elevadas e significantes à medida que vão sendo ajustadas pelos blocos de covariáveis.

Assim, prevalência de excesso de gordura abdominal entre os escolares com concentrações de Hcy no quinto quintil de distribuição (>8.5 μmol/L) foi 32% maior

no modelo bruto ( $p < 0.01$ ), quando comparada com a prevalência da referência (1º quintil de distribuição;  $< 5.8 \mu\text{mol/L}$ ). No entanto, quando este modelo foi ajustado por todos os blocos das covariáveis (3º modelo), a prevalência do excesso de gordura abdominal entre as crianças e adolescentes era 14% mais elevada já a partir do 3º quintil de distribuição ( $6.7-7.4 \mu\text{mol/L}$ ); aumentando para 20% quando a concentração se situava no 4º quintil de distribuição ( $7.4-8.5 \mu\text{mol/L}$ ) e para 40% quando a distribuição de Hcy se situava no quinto quintil ( $> 8.5 \mu\text{mol/L}$ ), indicando também consistente relação dose-resposta (Tabela 3).

Para a Cys, observou-se relação significativa entre concentrações elevadas deste parâmetro bioquímico e o excesso de gordura abdominal desde o 3º quintil de distribuição em todos os modelos e níveis de ajuste. No modelo bruto, no patamar do 3º quintil ( $383.3-416.2 \mu\text{mol/L}$ ), a prevalência de 16% ( $p = 0.03$ ) de excesso de gordura abdominal aumentava para 17% ( $p = 0.04$ ) no 4º quintil ( $416.2-463.4 \mu\text{mol/L}$ ), alcançando 36% ( $p < 0.01$ ) no 5º quintil ( $> 463.4 \mu\text{mol/L}$ ), quando comparada à referência, situada no 1º quintil de distribuição ( $< 352.6 \mu\text{mol/L}$ ). Notou-se que, a partir do ajuste pelo bloco das variáveis demográficas (modelo 1), valores situados a partir do 3º quintil da distribuição já aumentavam em 18% a prevalência de excesso de gordura abdominal entre os escolares, quando comparado com a prevalência derivada dos valores situados no primeiro quintil da distribuição (referência). Esta tendência de aumento foi observada também para o modelo 2, ajustado pelas covariáveis demográficas e socioeconômicas (Tabela 3).

Observou-se que no modelo completo (modelo 3) (ajustado por todos os blocos das covariáveis previamente selecionadas), valores elevados de Cys sérica desde o 2º quintil da distribuição ( $352.6-383.3 \mu\text{mol/L}$ ) já aumentavam significativamente a

prevalência de excesso de gordura abdominal entre os escolares em 18%, quando comparada com a prevalência daqueles valores situados no primeiro quintil da distribuição ( $p=0.04$ ). Estas concentrações aumentavam consistentemente a prevalência do excesso de gordura abdominal em 24% ( $p=0.01$ ), 28% ( $p<0.01$ ) e 54% ( $p<0.01$ ), respectivamente, quando valores de Cys sérica encontravam-se no 3º, 4º e 5º quintis da distribuição, se comparados à referência (1º quintil).

Na análise processada para avaliar a associação entre o excesso de gordura abdominal e concentrações séricas de Hcy e Cys simultaneamente elevadas, observou-se que as associações aumentam progressiva e significativamente à medida que aumentavam também as distribuições quintílicas das concentrações de Hcy+Cys séricas, indicando tendência de relação dose-resposta entre a gradação dos valores destas variáveis. Assim, a prevalência de excesso de gordura abdominal foi 1.33 vezes maior quando a distribuição das concentrações séricas de Hcy e Cys estavam alocadas entre o 2º e 4º quintil, quando comparada à prevalência do 1º quintil de distribuição ( $p<0.01$ ). Esta prevalência se elevou para 1.64 vezes quando os valores séricos de Hcy e Cys encontravam-se simultaneamente no 5º quintil de distribuição ( $p<0.01$ ), quando comparado àquela impressa pela categoria de referência (1º quintil) (Tabela 3).

Também para o desfecho excesso de gordura abdominal, de uma maneira geral, todos os modelos se ajustaram adequadamente aos dados e mostraram aumento do poder explicativo, independentemente das variáveis de exposição principal adotadas. À medida que foram incluídas variáveis demográficas, socioeconômicas e de consumo alimentar nos modelos 1, 2 e 3, reduzia o AIC e aumentava o pseudo- $R^2$ , a partir do modelo bruto. Neste sentido, o poder explicativo, avaliado pelo

pseudo-R<sup>2</sup>, indicou melhora da log-probabilidade da relação entre excesso de gordura abdominal e valores de Hcy (modelo bruto: pseudo-R<sup>2</sup>=1.5%; modelo final: pseudo-R<sup>2</sup>= 8.9%), de Cys (modelo bruto: pseudo-R<sup>2</sup>=1.3%; modelo final: pseudo-R<sup>2</sup>= 9.2%) e de Hcy+Cys (modelo bruto: pseudo-R<sup>2</sup>=1.8%; modelo final: pseudo-R<sup>2</sup>= 9.5%). Nestas condições, houve também redução do AIC de 646.4 no modelo bruto para 593.9 no modelo final, quando a exposição principal era a Hcy sérica; de 647.9 (modelo bruto) para 601.3 (modelo final) para a Cys como exposição principal; e de 640.5 no modelo bruto para 598.5 no modelo final quando a variável de exposição principal era Hcy+Cys simultaneamente elevadas (Tabela 3).

**Tabela 3** - Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre excesso de gordura abdominal e concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006.

	Excesso de gordura abdominal (Percentil 90)			
	Bruto	Modelo 1 <sup>†</sup>	Modelo 2 <sup>§</sup>	Modelo 3 <sup>∞</sup>
RP (IC 95%); valor de p*				
<b>- HCY sérica**</b>				
1º Quintil	Referência	Referência	Referência	Referência
2º Quintil	1.06 (0.89-1.11); 0.12	1.06 (0.92-1.23); 0.39	1.08 (0.93-1.23); 0.18	1.13 (1.08-1.19); 0.04
3º Quintil	1.07 (0.71-1.17); 0.33	1.08 (0.94-1.24); 0.19	1.10 (0.98-1.25); 0.14	1.14 (1.07-1.22); 0.03
4º Quintil	1.14 (0.98-1.19); 0.07	1.14 (0.98-1.32); 0.06	1.15 (1.08-1.21); 0.03	1.20 (1.12-1.36); <0.01
5º Quintil	1.32 (1.23-1.41); <0.01	1.38 (1.28-1.45); <0.01	1.35 (1.69-5.71); <0.01	1.40 (1.25-7.59); <0.01
Pseudo-R <sup>2</sup> (%)	1.5%	4.3%	7.6%	8.9%
AIC	646.4	629.4	610.3	593.9
<b>- CIS sérica***</b>				
1º Quintil	Referência	Referência	Referência	Referência
2º Quintil	1.11 (0.91-1.23); 0.13	1.11 (0.99-1.25); 0.06	1.12 (0.97-1.22); 0.05	1.18 (1.09-1.27); 0.04
3º Quintil	1.16 (1.08-1.23); 0.03	1.18 (1.08-1.24); <0.01	1.17 (1.07-1.25); 0.03	1.24 (1.14-1.32); 0.01
4º Quintil	1.17 (1.11-1.28); 0.04	1.19 (1.10-1.25); <0.01	1.21 (1.11-1.29); 0.01	1.28 (1.17-1.39); <0.01
5º Quintil	1.36 (1.21-1.52); <0.01	1.46 (1.29-1.63); <0.01	1.47 (1.34-1.58); <0.01	1.54 (1.41-1.76); <0.01
Pseudo-R <sup>2</sup> (%)	1.3%	4.5%	7.4%	9.2%
AIC	647.9	628.6	611.7	601.3
<b>- HCY+CIS</b>				
1º Quintil	Referência	Referência	Referência	Referência
2º, 3º e 4º Quintis	1.24 (1.13-1.38); <0.01	1.23 (1.17-1.30); <0.01	1.25 (1.15-1.38); 0.01	1.33 (1.18-1.50); <0.01
5º Quintil	1.46 (1.24-1.66); <0.01	1.45 (1.26-1.64); <0.01	1.50 (1.31-1.73); <0.01	1.64 (1.42-1.85); <0.01
Pseudo-R <sup>2</sup> (%)	1.8%	4.9%	7.9%	9.5%
AIC	640.5	622.1	604.7	598.5

Tamanho da amostra: 483

\* valor de p para modelos de regressão de *Poisson*

\*\*HCY = homocisteína → 1ºquartil < 5.8 μmol/L; 2ºquartil: 5.8-6.7 μmol/L; 3ºquartil: 6.7-7.4 μmol/L; 4ºquartil: 7.4-8.5 μmol/L; 5ºquartil: >8.5 μmol/L

\*\*\*CIS = cisteína → 1ºquartil < 352.6 μmol/L; 2ºquartil: 352.6-383.3 μmol/L; 3ºquartil: 383.3- 416.2 μmol/L; 4ºquartil: 416.2-463.4 μmol/L; 5ºquartil: >463.4 μmol/L

†Ajustado por idade e sexo

§Ajustado por variáveis do modelo 1 mais variáveis socioeconômicas

∞ Ajustado por variáveis do modelo 2 mais consumo de alimentos de risco para excesso de gordura abdominal e concentrações elevadas de Hcy e Cys

Segundo os cálculos da diferença de prevalência (Rothman & Greenland, 2008) para os eventos de interesse (Tabela 4), pôde-se observar, respectivamente, 4.1% e 19% de excesso de casos prevalentes de excesso de peso e de obesidade abdominal em escolares que apresentaram hiperhomocisteinemia (expostos), em comparação às crianças não expostas (com valores de Hcy abaixo do 5º quintil). E 4.0% e 11.5% de excesso de casos prevalentes, respectivamente, de excesso de peso e de obesidade abdominal em escolares com hipercisteinemia (expostos), em comparação às crianças com valores de Cys abaixo do 5º quintil (não expostos).

Observou-se, ainda, 10.9% e 14.2% de excesso de casos prevalentes de excesso de peso e de obesidade abdominal, respectivamente, em crianças e adolescentes com valores de Hcy e Cys simultaneamente acima do 5º quintil (expostas), em comparação às crianças não expostas (com valores de Hcy e Cys simultaneamente abaixo deste quintil) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Diferença de prevalência de excesso de peso e de gordura abdominal, segundo as variáveis de exposição principal (Hcy, Cys e Hcy+Cys). Mutuípe-Ba, 2006.

	Homocisteína			Valor de p*
	Expostos N (%)	Não expostos N (%)	Diferença de prevalência (%)	
Excesso de peso	10 (23.8)	87 (19.7)	4.1	0.01
Excesso de gordura abdominal	15 (37.5)	82 (18.5)	19.0	0.29
	Cisteína			Valor de p
	Expostos N (%)	Não expostos N (%)	Diferença de prevalência (%)	
Excesso de peso	06 (14.2)	76 (18.2)	4.0	0.13
Excesso de gordura abdominal	11 (27.5)	71 (16.0)	11.5	0.03
	Homocisteína + Cisteína			Valor de p
	Expostos N (%)	Não expostos N (%)	Diferença de prevalência (%)	
Excesso de peso	04 (30.7)	93 (19.8)	10.9	0.20
Excesso de gordura abdominal	04 (30.7)	78 (16.5)	14.2	0.03

Tamanho da amostra: 483

\* Valor de p para o Teste de proporção

## Discussão

As elevadas prevalências de excesso de peso (20.1%) e de gordura abdominal (17%) identificadas nas crianças e adolescentes deste estudo refletem a tendência crescente da ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis nesta faixa etária, com destaque para o excesso de peso, que atinge 34.8% das crianças e 20.5% dos adolescentes do Brasil (IBGE, 2011).

Um conjunto de fatores do ambiente e do próprio indivíduo tem sido sistematicamente investigado como determinante ou mediador da ocorrência do excesso de peso e da obesidade em todas as faixas etárias e, especialmente, em crianças e adolescentes. Na atualidade, as concentrações elevadas de Hcy e de Cys séricas têm recebido especial destaque como preditoras do ganho de peso, embora tanto para as concentrações de Hcy quanto de Cys séricas, ainda não existam evidências consistentes da direção causal da relação entre estes parâmetros bioquímicos e os indicadores antropométricos.

Neste sentido, os resultados deste estudo somam-se aos registrados por outros autores que também observaram esta associação em crianças e adolescentes

(Papandreou *et al.*, 2007; Codoner-Franch *et al.*, 2010; Elshorbagy, Amany K. *et al.*, 2012; Pereira Da Silva *et al.*, 2013). Essas relações podem estar indicando o papel obesogênico destes parâmetros bioquímicos, condição que foi recentemente registradas a partir de estudos experimentais (Elshorbagy *et al.*, 2009; Elshorbagy, A. K. *et al.*, 2012; Elshorbagy, Amany K. *et al.*, 2012).

A ação obesogênica da Cys em humanos foi também identificada por Elshorbagy (Elshorbagy *et al.*, 2008). Estes autores observaram que em indivíduos adultos

concentrações elevadas de Cys promovem a deposição da gordura corporal, independentemente da dieta, perfil lipídico e do nível de atividade física, sugerindo que a Cys possa ser determinante direta da obesidade, ao invés de ser determinada por ela, indicando, assim, a relação direta entre estes eventos.

O mecanismo fisiopatológico da Cys na determinação da obesidade vem sendo sistematicamente consolidado. Estes mesmos autores (Elshorbagy *et al.*, 2009) observaram que a relação entre obesidade e concentrações elevadas de Cys ocorria independentemente da concentração de  $\gamma$ -glutamilttransferase (GGT), enzima localizada nos hepatócitos e membrana celular que, por meio de mecanismo ainda não definido, tem sido associada ao excesso de peso corporal por promover o aumento da produção hepática de gordura. Assim, estes resultados indicam que a Cys pode exercer efeito obesogênico, independentemente da GGT.

Outra rota fisiológica da ação obesogênica da Cys tem sido indicada por estudos experimentais (Baines *et al.*, 2007), celulares (Li *et al.*, 2008) e aqueles que usam o animal como unidade experimental (Akahoshi *et al.*, 2008). Este mecanismo fisiológico sugere que concentrações elevadas de Cys estimulam a síntese de ácidos graxos, promovendo a adiposidade, e, nos adipócitos, a Cys sofre auto-oxidação, liberando peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que atua como inibidor da lipólise, estimulando a síntese lipídica, conduzindo à ativação da lipogênese (Elshorbagy, Amany K. *et al.*, 2012).

Nota-se que enquanto várias rotas metabólicas têm sido propostas para explicar o papel obesogênico da Cys, a exploração do papel da Hcy carece ainda de maior investimento científico. Os escassos resultados disponíveis, oriundos de experimentos *in vivo* e *in vitro*, indicam que a associação entre concentrações

séricas elevadas de Hcy e o excesso de peso corporal também esteja ligada à disfunção do tecido adiposo, inibindo a lipólise por meio da ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) (que é importante sensor do nível de energia celular), exercendo efeito ante-lipólise nos adipócitos, favorecendo o acúmulo de gordura (Wang *et al.*, 2011).

Os resultados deste estudo permitem pressupor ainda o papel sinérgico entre concentrações simultaneamente aumentadas de Hcy e Cys séricas na ocorrência do excesso de peso e da gordura abdominal. Neste sentido, as concentrações destes parâmetros bioquímicos, sejam elas isoladas ou conjuntamente elevadas, exercem efeito deletério sobre o estado antropométrico, mas, com base nos mecanismos fisiopatológicos aqui comentados, a ocorrência de ambas alterações bioquímicas no mesmo indivíduo conduz a reações metabólicas que favorecem mais fortemente as mudanças negativas do estado antropométrico dos escolares.

Outro fato que torna os resultados deste estudo epidemiológico mais relevantes é a relação dose-resposta identificada entre valores de Hcy e Cys séricas e os indicadores antropométricos: na medida em que aumentam as concentrações séricas destes parâmetros, aumenta também a intensidade da alteração antropométrica. Estes resultados se tornam ainda mais preocupantes na medida em que ocorrem em crianças e adolescentes, fases precoces da vida. Reconhece-se no entanto, que outras investigações em humanos são necessárias para se estabelecer a relação causal entre valores elevados de Hcy e Cys e obesidade.

Comenta-se ainda, que resultados de estudos têm indicado que a relação entre Hcy e Cys séricas aumentadas e excesso de peso possa ocorrer independentemente de alguns fatores demográficos, do ambiente e do estilo de vida (Elshorbagy

(Elshorbagy *et al.*, 2008). Os resultados do presente estudo corroboram com estas suposições, uma vez que as associações entre os parâmetros bioquímicos e as alterações do estado antropométrico ocorreram mesmo no modelo bruto, independentemente do ajuste por covariáveis demográficas, socioeconômicas e do estilo de vida. No entanto, os ajustes processados por estes blocos de variáveis contribuíram para exacerbar a força das estimativas e a significância da relação entre os parâmetros antropométricos e concentrações de Hcy e Cys séricas.

Além disso, a inclusão das covariáveis aumentou o poder explicativo dos modelos, sinalizando que valores elevados de Hcy, Cys e ambas simultaneamente explicam 7.9%, 8.9% e 10.3% dos casos de excesso de peso na população estudada, respectivamente; e 8.9%, 9.2% e 9.5% dos casos de excesso de gordura abdominal são explicados pelos valores aumentados de Hcy, Cys e ambas simultaneamente, respectivamente. Embora o poder explicativo dos modelos finais não tenha alcançado valores elevados, deve-se levar em conta a importância epidemiológica destes achados, as atuais evidências disponíveis, a condução logística e a análise estatística sólida, ademais da plausibilidade científica destas evidências.

E, avaliando-se o excesso da prevalência decorrente dos valores elevados de Hcy e Cys, observou-se que, caso as concentrações de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas no quinto quintil fossem reduzidas diminuiriam, respectivamente, em 4.1%, 4.0% e 10.9% o excesso de peso; e em 19.0%, 11.5% e 14.2% o excesso de gordura abdominal entre crianças e adolescentes deste estudo. Estes valores representam uma parcela expressiva de casos preveníveis de excesso de peso e de gordura abdominal na população pediátrica e, portanto, ações que visem a prevenção e controle das concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas poderiam exercer

impacto epidemiológico expressivo na redução da ocorrência das doenças crônicas não transmissíveis, a exemplo da obesidade, na infância e adolescência.

Vale ressaltar que a este estudo acompanham as limitações inerentes aos desenhos transversais, na medida em que impossibilita estabelecer relações causais ou temporais entre as variáveis (Rothman, Greenland e Lash, 2008), sendo necessárias investigações confirmatórias sobre estas relações.

Com os resultados desta investigação pode-se concluir que concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas isoladas se associam com o excesso de peso e de gordura abdominal em crianças e adolescentes, relação que se intensifica quando as concentrações de Hcy e Cys estão simultaneamente elevadas, sugerindo a importância destes parâmetros bioquímicos, que podem se configurar como preditores precoces e independentes do ganho de peso nesta faixa etária.

## Referências

AKAHOSHI, N. et al. Genetic background conversion ameliorates semi-lethality and permits behavioral analyses in Cystathionine beta-synthase-deficient mice, an animal model for hyperhomocysteinemia. **Human Molecular Genetics**, v. 17, n. 13, p. 1994-2005, Jul 1 2008. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000256978200012 >.

AKAIKE, H. Information theory and an extension of the likelihood ratio principle. In: PETROV, B. e CSAKI, F. (Ed.). **Proceedings of the second international symposium of information theory**. Budapest: Akademiai Kiado, 1973.

ANAND, P. et al. Serum homocysteine in Indian adolescents. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 76, n. 7, p. 705-709, Jul 2009. ISSN 0019-5456. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000269152700004 >.

ASSIS, A. et al. **Diagnóstico de saúde e nutrição da população de Mutuípe-Ba**. Salvador: Editora UFBA, 2002.

BAINES, M. et al. The association between Cysteine, bone turnover, and low bone mass. **Calcified Tissue International**, v. 81, n. 6, p. 450-454, Dec 2007. ISSN 0171-967X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000251873800005 >.

BRASILEIRO, R. S. et al. Plasma total homocysteine in Brazilian overweight and non-overweight adolescents: a case-control study. **Nutr Hosp**, v. 20, n. 5, p. 313-9, Sep-Oct 2005. ISSN 0212-1611 (Print)

0212-1611 (Linking).

CODONER-FRANCH, P. et al. New factors of cardiometabolic risk in severely obese children: influence of pubertal status. **Nutricion Hospitalaria**, v. 25, n. 5, p. 845-851, Sep-Oct 2010. ISSN 0212-1611. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000282562800025 >.

CRUZ, E. N. D. et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **J Bras Patol**, v. 36, n. 3, p. 166-73, 2000.

EL-KHAIRY, L. et al. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total Cysteine in plasma: the Hordaland Homocysteine Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1016-1024, Dec 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000089688800011 >.

\_\_\_\_\_. Plasma total Cysteine as a risk factor for vascular disease - The European Concerted Action project. **Circulation**, v. 103, n. 21, p. 2544-2549, May 29 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000169012800015 >.

\_\_\_\_\_. Predictors of change in plasma total Cysteine: Longitudinal findings from the hordaland homoCysteine study. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 113-120, Jan 2003. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000180195700015 >.

ELSHORBAGY, A. K. et al. HomoCysteine, Cysteine, and body composition in the Hordaland HomoCysteine Study: does Cysteine link amino acid and lipid metabolism? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 738-746, Sep 1 2008. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000259057700021 >.

\_\_\_\_\_. The Association of Plasma Cysteine and gamma-Glutamyltransferase With BMI and Obesity. **Obesity**, v. 17, n. 7, p. 1435-1440, Jul 2009. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267483800023 >.

\_\_\_\_\_. The association of fasting plasma sulfur-containing compounds with BMI, serum lipids and apolipoproteins. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 12, p. 1031-1038, Dec 2012. ISSN 0939-4753. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000311798500005 >.

\_\_\_\_\_. The Association of Cysteine with Obesity, Inflammatory Cytokines and Insulin Resistance in Hispanic Children and Adolescents. **Plos One**, v. 7, n. 9, Sep 11 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000308638700047 >.

FREEDMAN, D. S. et al. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 308-317, Feb 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078198000022 >.

GIL-PRIETO, R. et al. Plasma homoCysteine in adolescents depends on the interaction between methylenetetrahydrofolate reductase genotype, lipids and folate: a seroepidemiological study. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, Oct 5 2009. ISSN 1743-7075. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000270973700001 >.

HEINZL, H.; WALDHOR, T.; MITTLBOCK, M. Careful use of pseudo R-squared measures in epidemiological studies. **Statistics in Medicine**, v. 24, n. 18, p. 2867-2872, Sep 30 2005. ISSN 0277-6715. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232118700009 >.

HOSMER, D.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley, 2000.

HUEMER, M. et al. Total homoCysteine, folate, and cobalamin, and their relation to genetic polymorphisms, lifestyle and body mass index in healthy children and adolescents. **Pediatric Research**, v. 60, n. 6, p. 764-769, Dec 2006. ISSN 0031-3998. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000242239400020 >.

HUMPHREY, L. L. et al. HomoCysteine Level and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 11, p. 1203-1212, Nov 2008. ISSN 0025-6196. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000260743900003 >.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. ESTATÍSTICA, I. B. D. G. E. Rio de Janeiro: IBGE: 150 p. 2011.

KLEINBAUM, D. G.; KLEIN, M. **Logistic Regression A Self-Learning Text**. 5.ed. Springer, 2010.

LI, Y. et al. HomoCysteine upregulates resistin production from adipocytes in vivo and in vitro. **Diabetes**, v. 57, n. 4, p. 817-827, Apr 2008. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000254591700005 >.

LOHMAN, T.; ROCHE, A.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Human Kinetics Books, 1988.

MONTEIRO, R. D. C. D. A.; RIETHER, P. T. A.; BURINI, R. C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 479-489, 2004. ISSN 1415-5273. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso) >.

MUELLER, T.; KUHN, W. Cysteine Elevation in Levodopa-Treated Patients with Parkinson's Disease. **Movement Disorders**, v. 24, n. 6, p. 929-932, Apr 30 2009. ISSN 0885-3185. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000265587900021 >.

NELDER, J.; WEDDERBURN, R. Generalized Linear Models. **Journal of the Royal Statistical Society A**, v. 135, p. 370-384, 1972.

ONIS, M. D. et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, p. 660-667,

2007. ISSN 0042-9686. Disponível em: <  
[http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso](http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso)> .

PAPANDREOU, D. et al. Association of blood pressure, obesity and serum homoCysteine levels in healthy children. **Acta Paediatrica**, v. 96, n. 12, p. 1819-1823, Dec 2007. ISSN 0803-5253. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000250915700020 >.

PEREIRA DA SILVA, N. et al. HomoCysteine and Cysteine levels in prepubertal children: Association with waist circumference and lipid profile. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 166-171, 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900712002675>> .

PFEIFFER, C. M.; HUFF, D. L.; GUNTER, E. W. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homoCysteine and Cysteine in a clinical laboratory setting. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 290-292, Feb 1999. ISSN 0009-9147. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000078496700022 >.

REFSUM, H. et al. The hordaland homoCysteine study: A community-based study of homoCysteine, its determinants, and associations with disease. **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1731S-1740S, Jun 2006. ISSN 0022-3166. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000237993400017 >.

ROSNER, B. **Fundamentals of Biostatistics**. 7.ed. Brooks/Cole, Cengage Learning, 2010.

ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern Epidemiology**. 3<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes** 2009.

STANGER, O. et al. Clinical use and rational management of homoCysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. **Zeitschrift Fur Kardiologie**, v. 93, n. 6, p. 439-453, Jun 2004. ISSN 0300-5860. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000222576600002 >.

TAYLOR, B. V.; OUDIT, G. Y.; EVANS, M. HomoCysteine, vitamins, and coronary artery disease - Comprehensive review of the literature. **Canadian Family Physician**, v. 46, p. 2236-2245, Nov 2000. ISSN 0008-350X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000165435700021 >.

VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, p. I-III, 2010. ISSN 0066-782X. Disponível em: <  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso)>.

WANG, Z. et al. HomoCysteine suppresses lipolysis in adipocytes by activating the AMPK pathway. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 301, n. 4, p. E703-E712, Oct 2011. ISSN 0193-1849. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000295576300014 >.

WHO. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic – Report of a WHO consultation on obesity**. World Health Organization. Geneva. 1998

XIAO, Y. et al. Relationship between lipid profiles and plasma total homoCysteine, Cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, Aug 12 2011. ISSN 1476-511X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000294844400001 >.

### 5.3 Artigo 3

## ASSOCIAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÕES DE HOMOCISTEÍNA E CISTEÍNA SÉRICAS E O PERFIL LIPÍDICO EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES<sup>1</sup>

Priscila Ribas de Farias Costa<sup>2,3</sup>

### Resumo

**Introdução:** estudos recentes têm identificado associações positivas entre concentrações de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas e alteração do perfil lipídico em adultos, mas são escassas estas informações na faixa etária pediátrica. **Objetivo:** identificar a associação entre valores elevados de Hcy e Cys séricas, isoladas e conjuntamente, e os parâmetros lipídicos em crianças e adolescentes. **Metodologia:** trata-se de estudo realizado com dados do *baseline* de uma coorte de 483 indivíduos de 07 a 15 anos de ambos os sexos. As variáveis desfecho foram representadas pelos indicadores lipídicos e a exposição principal pelas concentrações de Hcy e Cys séricas. Construiu-se um modelo de regressão de Poisson para cada variável desfecho, segundo a condição de exposição principal. **Resultados:** os resultados indicaram maior prevalência de baixas concentrações de HDL-c em escolares com valores simultaneamente aumentados de Hcy e Cys séricas (RP=1.82; p<0.01) e isoladamente para Hcy (RP=1.72; p=0.01) e Cys (RP=1.49; p=0.01). Identificou-se também prevalências mais elevadas de hipertrigliceridemia em indivíduos com valores simultaneamente aumentados de Hcy e Cys (RP=1.94; p=0.03), e com valores de Hcy (RP=1.66; p<0.01) e de Cys (RP=1.49; p<0.01) isoladamente elevados. Não foram identificadas associações entre as exposições e as concentrações de colesterol total e LDL-c. **Conclusões:** elevadas concentrações de Hcy e Cys séricas se associaram com baixos valores de HDL-c e concentrações elevadas de triglicérides, relação que foi intensificada quando as concentrações de Hcy e Cys séricas estavam simultaneamente elevadas.

**Palavras-chave:** homocisteína sérica, cisteína sérica, triglicérides, HDL-colesterol, crianças, adolescentes

<sup>1</sup> Financiado pelo edital Fapesb PPSUS 001/2007 e Centro Colaborador Nordeste II/MS.

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia.

<sup>3</sup> Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

## Abstract

**Background:** studies have recently identified positive associations between serum homocysteine (Hcy) and cysteine (Cys) levels and lipid profile in adults, but information about these relationships in children and adolescents are scarce. **Objective:** the objective was to identify the association between elevated serum Hcy and Cys levels, isolated and simultaneously elevated, and lipid profile in children and adolescents. **Methods:** it was a cross-sectional study that used a cohort baseline data of 483 both sexes children and adolescents from 07 to 15 years old. Serum lipids (total-cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides) were the outcome variables and serum Hcy and Cys levels were the main exposure variables. A Poisson regression model was built for each outcome variable, according to the main exposure variables and prevalence ratio (PR) was used as association measure. **Results:** the highest PR for low HDL-c was observed for the combination of elevated serum Hcy and Cys levels (PR=1.82,  $p<0.01$ ), followed by isolated elevated serum Hcy levels (PR=1.72,  $p=0.01$ ) and by isolated elevated serum Cys levels (PR=1.49,  $p=0.01$ ). For elevated triglycerides levels, the highest PR was identified for the combination of elevated serum Hcy and Cys levels (PR=1.94,  $p=0.03$ ), followed by isolated elevated serum Hcy levels (PR=1.66,  $p<0.01$ ) and by isolated elevated serum Cys levels (PR=1.49,  $p<0.01$ ). It was not identified association between exposure variables and total cholesterol and LDL-cholesterol levels. **Conclusions:** elevated serum Hcy and Cys levels are associated with low HDL-cholesterol and high triglycerides levels in children and adolescents, and these relationships are increased when both biochemistries parameters are simultaneously elevated.

**Key words:** homocysteine, cysteine, HDL-cholesterol, triglycerides, children, adolescents.

## Introdução

As hiperlipidemias em crianças e adolescentes se configuram como importante problema de saúde em todo o mundo, com prevalências que variam de 3% a 40% (Moura (Moura *et al.*, 2000; Al-Shehri *et al.*, 2004; Romaldini *et al.*, 2004; Giuliano *et al.*, 2005; Scherr, Magalhães e Malheiros, 2007). No Brasil, as prevalências são semelhantes, variando de 3% para hipercolesterolemia (Grillo *et al.*, 2005) a 35% para hipertrigliceridemia (Ramos *et al.*, 2011).

Vários fatores têm sido associados com as alterações nos parâmetros lipídicos, a exemplo dos demográficos (Giuliano *et al.*, 2005), ambientais (Fletcher *et al.*, 1996), socioeconômicos (SBC, 2005), do estilo de vida (Kavey *et al.*, 2003; Maron *et al.*, 2004), do consumo alimentar (Lichtenstein, Deckelbaum e Amer Heart Assoc Nutr, 2001), genéticos (Bertolini *et al.*, 2004) e biológicos (Bachorik e Ross, 1995; Stein e Myers, 1995). Recentemente, concentrações elevadas de homocisteína (Wald, Law e Morris, 2002; Refsum *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2008) *et al.*, 2008) e cisteína séricas (El-Khairiy *et al.*, 2003; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy *et al.*, 2012) também têm sido identificadas como marcadores de alterações nos parâmetros lipídicos.

Neste sentido, associação positiva entre valores aumentados de cisteína e hipertrigliceridemia foi registrada por estudo multicêntrico realizado com adultos de 9 países da Europa (El-Khairiy *et al.*, 2001). E, relação inversa entre concentrações séricas tanto de homocisteína quanto de cisteína e valores de HDL-c foi também recentemente registrada (Xiao *et al.*, 2011). Estas relações têm sido identificadas não somente em adultos, mas também em adolescentes (Gil-Prieto (Anand *et al.*, 2009; Gil-Prieto *et al.*, 2009; Pereira Da Silva *et al.*, 2013).

No entanto, poucos estudos têm investigado a influência de concentrações de homocisteína e cisteína séricas simultaneamente alteradas sobre o perfil lipídico. Estudo realizado com população adulta identificou valores mais baixos de HDL-c em indivíduos com concentrações conjuntamente elevadas de homocisteína e cisteína (Xiao *et al.*, 2011). Porém, investigações sobre estas relações em escolares são escassas.

Assim, levando-se em conta a escassez de estudos sobre associação entre concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas e alterações negativas do perfil lipídico na faixa etária pediátrica, busca-se ampliar o conhecimento desta relação em crianças e adolescentes.

### **Considerações Teórico-metodológicas**

#### **- Amostra e desenho de estudo**

Trata-se de estudo transversal que utilizou dados do *baseline* da coorte intitulada “Alterações Metabólicas Associadas ao Sobrepeso/Obesidade em Escolares de Mutuípe – Bahia”. No estudo original, 540 crianças coletaram amostra de sangue e, destas, 37 não foram localizadas, 15 não tinham sangue suficiente para a dosagem e em 05 não foi possível a realização das dosagens bioquímicas. Assim, a amostra deste estudo incluiu 483 crianças e adolescentes de 7 a 15 anos de idade, de ambos os sexos, selecionados aleatoriamente a partir da lista de matrícula de alunos do curso fundamental, fornecida pela Secretaria de Educação do município de Mutuípe, Recôncavo da Bahia, no ano de 2006.

A amostra assim constituída tem poder  $(1-\beta)$  de 97%, 99%, 98% e 99% de detectar, respectivamente, associação entre concentrações aumentadas de

homocisteína sérica e valores elevados de colesterol total, LDL-c e triglicérides e baixos valores de HDL-c, tomando como base prevalências de 32%, 19.4%, 17.9% e 17.9% de valores elevados de colesterol total, LDL-c, triglicérides e baixos valores de HDL-c em indivíduos com hiperhomocisteinemia, respectivamente (Venâncio, 2002; Pereira Da Silva *et al.*, 2013).

O poder para detectar associação entre hipercisteinemia e valores aumentados de LDL-c, triglicérides e baixos valores de HDL-c foi, respectivamente, 99%, 97% e 99%, tomando como base prevalências de 21.2%, 28.8% e 13.6% de valores elevados de LDL-c e triglicérides e baixos valores de HDL-c em indivíduos com hipercisteinemia, respectivamente (Pereira da Silva *et al.*, 2013). Para a relação entre valores de cisteína e colesterol total, o cálculo do poder da amostra foi realizado *a posteriori*, uma vez que não foi identificada prevalência de hipercolesterolemia em indivíduos com hipercisteinemia. Assim, a amostra de 483 escolares apresentou poder de 95% para detectar valores elevados de cisteína sérica em indivíduos com hipercolesterolemia.

Todos os cálculos do poder amostral foram baseados no nível de significância de 5% e testes bi-caudais (Rosner, 2010) e indicaram que o tamanho da amostra é suficiente para realizar estimativas não viciadas dos parâmetros investigados na população em estudo.

#### **- Critérios de exclusão**

Seriam excluídos do estudo escolares que fizessem uso de medicamentos que alterassem as concentrações de homocisteína e cisteína (anticonvulsivante, diuréticos, tiazídicos, corticóides) ou portadores de diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, doença hepática e hipotireoidismo, por influenciarem os valores

séricos de homocisteína e cisteína (Taylor, Oudit e Evans, 2000). Estado de gestação, lactação e de deficiências físicas que impedissem a avaliação antropométrica foram também adotados como critérios de exclusão. No entanto, estas condições não foram identificadas entre os escolares selecionados.

## **Métodos**

### **- Coleta de dados e definição de variáveis**

A coleta de dados sócio-demográficos, de estilo de vida, clínicos, antropométricos e de consumo alimentar foi realizada por equipe de nutricionista devidamente capacitada, e o sangue foi coletado por técnico de laboratório com experiência na realização deste procedimento em crianças e adolescentes.

### **- Dados antropométricos**

O peso foi aferido utilizando balança digital portátil Filizola (São Paulo, Brasil), com capacidade para 150kg e precisão de 100g e a altura por meio de estadiômetro marca Leicester Height Measure (SECA; Hamburgo, Alemanha), com precisão de 1mm. O indivíduo foi pesado e medido de acordo com as técnicas de Lohman, Roche e Martorell (1988). Todas as medidas foram realizadas em duplicata e a média entre os dois valores foi adotada como medida final.

O estado antropométrico foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) por idade, obtido pela divisão do peso (quilogramas) pela estatura (metros) elevada ao quadrado [IMC= P (kg) / E<sup>2</sup> (m)], utilizando como referência as recomendações da Organização Mundial da Saúde (Onis *et al.*, 2007), para indivíduos de 5 a 19 anos.

### **- Pressão Arterial**

A medida da pressão arterial foi realizada utilizando manguito pediátrico com bolsa de borracha. A medição e a classificação da pressão arterial foram realizadas com base nas recomendações das VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, segundo estatura, idade e sexo (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2010).

### **- Consumo Alimentar**

O consumo alimentar foi avaliado utilizando-se o questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA foi adaptado de instrumento previamente utilizado em crianças e adolescentes do município (Assis *et al.*, 2002). Este instrumento era composto por 96 itens alimentares e continha 8 possibilidades de resposta de consumo: diário, 1 vez na semana, 2, 3, 4, 5 e 6 vezes na semana e raramente/nunca.

Estas informações foram tratadas de acordo com a metodologia proposta por (Monteiro, Riether e Burini, 2004). Assim, o cômputo geral da frequência do consumo de cada alimento foi convertido em escores, obtido pela multiplicação da frequência semanal por 4 (número de semanas no mês) e dividindo-a por 30 (número de dias no mês), encontrando-se assim, o escore de consumo médio diário mensal para cada alimento. Os escores variaram de 1 (consumo diário) a zero (consumo “raro/nunca”), sendo, posteriormente, classificados em tercil (Monteiro, Riether e Burini, 2004).

Após o cálculo destes escores e baseado na composição dos alimentos, foram construídos dois grupos de consumo, com a seguinte caracterização:

a) Grupo de risco para dislipidemia e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína: formado por alimentos com elevado teor de gorduras saturadas, gorduras trans-saturadas e de açúcares simples.

b) Grupo de proteção contra dislipidemias e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas: formado por alimentos fontes de fibras, vitaminas, minerais e com baixos teor de gorduras saturadas e densidade calórica.

**- Dados demográficos, socioeconômicos, relacionados ao estilo de vida e clínico**

As informações deste quesito foram referidas pela mãe ou responsável pela criança/adolescente e registradas em questionário estruturado. As informações demográficas dizem respeito ao sexo e idade do escolar.

O número de cômodos e de pessoas que residiam no domicílio, principal tipo de iluminação e ocupação do chefe da família e deram origem ao índice socioeconômico. O índice ambiental, foi composto pelas condições do abastecimento de água do domicílio, origem da água para beber, destino dado ao lixo e aos dejetos. Essas variáveis tiveram as respostas pontuadas de 0 a 4, variando de 0 (pior condição) a 4 (melhor classificação). Desta forma, os índices socioeconômico e o ambiental tiveram pontuação mínima de 0 e máxima de 16 e foram categorizados em tercil.

Apesar do conhecimento de que a escolaridade materna se associa às condições socioeconômicas, optou-se por não incluí-la no índice socioeconômico e avaliá-la

separadamente, dado que esta variável reflete os aspectos culturais e alimentares da sociedade onde está inserido o indivíduo.

O nível de atividade física foi avaliado a partir de questionário estruturado com questões referentes à frequência da prática de atividade física não incluída no conteúdo pedagógico escolar, que é realizada uma vez na semana. Assim, a prática de dois ou mais dias de atividade física fora da escola classifica o escolar em ativo; e a prática de menos que dois dias de atividade física fora da escola classifica o escolar como pouco ativo / sedentário.

Também foi incluída no modelo teórico a variável prática de etilismo.

#### **- História Familiar de Doença Crônica não Transmissível**

O escolar e/ou seu responsável foram questionados quanto à ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis na família (obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e câncer) e em caso positivo, perguntou-se sobre o grau de parentesco do portador da doença com o participante da pesquisa.

#### **- Exames Bioquímicos**

A coleta de sangue foi realizada pela manhã observando-se o jejum de pelo menos 12 horas. Foram coletados, por punção venosa, 10 mL de sangue, e depositados em tubos vacutainer (BD<sup>®</sup>) estéreis e descartáveis, sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos para posterior separação do soro, que foi utilizado para as determinações bioquímicas. As alíquotas de soro foram acondicionadas em *ependorf* previamente desmineralizado e armazenadas a -20 °C. Os valores de colesterol total, HDL-C,

triglicerídeos e glicemia foram determinados pelo método enzimático. Os valores de LDL colesterol (LDL-C) foram calculados pela equação de Friedewald:  $LDL-C = CT - HDL-C - (TG/5)$ ; usada somente quando os valores de TG eram menores de 400 mg% (Brandão *et al.*, 2004). As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas no espaço do Laboratório de Referência do Município, cedido pela Secretaria da Saúde.

A glicemia foi classificada segundo critério da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009).

As determinações séricas da homocisteína e cisteína foram realizadas no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Federal de São Paulo, por Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) com eluição isocrática e detecção fluorimétrica, considerada metodologia padrão-ouro para este procedimento (Cruz *et al.*, 2000). Resumidamente, o processo de dosagem envolveu a etapa de redução (para a redução e a liberação dos tióis ligados às proteínas), de precipitação das proteínas e a etapa de derivatização, seguindo metodologia de Pfeiffer, Huff e Gunter (1999).

#### **- Processamento dos dados**

Após as rotinas de controle dos dados coletados, estes foram digitados, à medida que chegavam de campo, utilizando-se o programa EPI-INFO, que tem caráter simplificado e evita erros grosseiros na entrada de dados.

#### **- Identificação das Variáveis**

As variáveis desfecho foram representadas pelas concentrações séricas de colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicérides. Embora as classificações para perfil

lipídico na infância e adolescência mais utilizadas no Brasil não considerem as variações por idade e sexo (Lauer *et al.*, 1992; Sbc, 2005), estudos têm identificado que valores médios do colesterol total (CT), LDL-colesterol (LDL-c), HDL-colesterol (HDL-c) e triglicérides (TG) variam significativamente com a idade e gênero (Labarthe, D. *et al.*, 1997; Labarthe, D. R. *et al.*, 1997; Labarthe, 2005). Assim, optou-se por classificar estes parâmetros segundo a idade e o sexo, adotando-se os pontos de corte sugeridos por Jolliffe e Janssen (2006) para adolescentes de 12 a 19 anos.

Para os escolares com menos de 12 anos, para os quais ainda não existem pontos de corte padronizados pela idade, adotou-se a recomendação do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) para classificar os valores de HDL-c e aqueles propostos pelo *National Cholesterol Education Program* (NCEP) para a classificação das concentrações de colesterol total, LDL-c e triglicérides. Esta referência é fundamentada nos resultados de estudos que mostraram que o ponto de corte do NHANES para o HDL e aqueles do NCEP para o colesterol total, LDL-c e triglicérides têm maior acurácia na classificação do risco da dislipidemia na adolescência e a ocorrência na fase adulta (Magnussen *et al.*, 2008; Dwyer *et al.*, 2013).

As variáveis independentes principais foram representadas pelas concentrações de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas avaliadas isoladamente e conjuntamente, para identificar a influência da exposição conjunta destas variáveis sobre o desfecho. Para isto, construiu-se uma variável derivada, denominada Hcy+Cys. Considerando que não há consenso sobre os pontos de corte para classificar as alterações da Hcy e Cys em crianças e adolescentes, adotou-se a distribuição em quintis para categorização destes parâmetros.

Para as variáveis isoladamente, as concentrações de Hcy e Cys séricas abaixo do quinto quintil de suas respectivas distribuições foram consideradas categorias de referência (0); e acima deste ponto de corte caracterizou-se o risco (1). Para a variável derivada (Hcy+Cys), consideraram-se como condição de proteção as concentrações de Hcy e Cys simultaneamente abaixo do quinto quintil ou apenas um destes parâmetros acima deste quintil (0). E, valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do quinto quintil de distribuição caracterizou a categoria de risco (1).

As covariáveis incluídas no estudo foram: a idade [ $<12$  anos (0);  $\geq 12$  anos (1)], sexo [feminino (0) e masculino (1)], índice socioeconômico [3º tercil (0); 2º e 1º tercís (1)], índice ambiental [3º tercil (0); 2º e 1º tercís (1)], escolaridade materna [nível médio e/ou superior (0); fundamental, ensino básico ou analfabeto (1)], estado antropométrico [ $<P85$  (0);  $\geq P85$ (1)], pressão arterial [ $<P90$  (0);  $\geq P90$  (1)], glicemia [ $<100$ mg/dL (0);  $\geq 100$ mg/dL (1)], prática de atividade física [moderadamente ativo (0); pouco ativo / sedentário (1)], história familiar de DCNT [não (0); sim (1)], consumo de alimentos protetores contra dislipidemia, hiperhomocistemia e hipercistemia [3º tercil (0); 1º e 2º tercís (1)], consumo de alimentos de risco para dislipidemia, hiperhomocistemia e hipercistemia [1º tercil (0); 2º e 3º tercís (1)] e etilismo [não (0); sim (1)].

#### **- Análise Estatística**

A prevalência foi usada para caracterizar a distribuição das hiperlipidemias na população de estudo. A comparação dos parâmetros lipídicos segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas foi realizada utilizando-se o teste  $\chi^2$ -quadrado de Pearson (para variáveis categóricas).

Para modelar a prevalência de hiperlipidemias em função dos valores elevados de Hcy e Cys, isolados e conjuntamente, realizou-se a regressão múltipla de *Poisson*, que integra a família dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), utilizando como estimador a razão de prevalência (RP), que compara a prevalência do desfecho nos indivíduos expostos com a prevalência nos indivíduos não expostos (Hosmer e Lemeshow, 2000).

Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de p menor que 20%. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento, foram incluídas no modelo como covariáveis, mesmo que o valor de p fosse maior do que 0.20. No modelo final, permaneceram as variáveis que apresentaram significância menor que 5%.

Para medir a capacidade de explicação do modelo foi utilizado o pseudo-R<sup>2</sup>, para modelos binomiais que avalia o ajuste da log-probabilidade do modelo completo em comparação ao modelo reduzido (Heinzi, Waldhor e Mittlbock, 2005).

Para avaliar o ajuste dos modelos de regressão de *Poisson*, foram utilizadas a análise de *deviance* – que é, por definição, a medida que contrasta a razão de verossimilhança da probabilidade do modelo atual com a probabilidade do modelo que prevê mais adequadamente os resultados observados (Kleinbaum e Klein, 2010). Quanto mais perto estão as duas probabilidades, melhor o ajuste do modelo - ou seja, quanto menor a *deviance*, melhor o ajuste (Nelder e Wedderburn, 1972); e o Critério de Informação de Akaike (AIC), que é uma medida da qualidade do ajuste de um modelo estatístico estimado baseado na medida relativa da informação perdida na adoção de um determinado modelo.

Quanto menos informação perdida, melhor o ajuste do modelo - ou seja, quanto menor o AIC, melhor o ajuste (Akaike, 1973).

Foram testados possíveis termos de interação – construídos com base na referência da literatura e na própria estrutura de dados do estudo – para avaliar a existência de modificação do efeito das variáveis de exposição sobre a variável desfecho, utilizando o teste da razão de máxima verossimilhança (*log likelihood ratio test*), avaliando a significância do termo de interação no modelo multivariado; e variáveis de confundimento – aquelas associadas tanto com a exposição quanto com o desfecho, que foram avaliadas pela mudança de 10% ou mais na RP, comparando com a RP do modelo reduzido (Rothman, Greenland e Lash, 2008).

As análises foram realizadas no pacote estatístico *Stata/IC for Mac* (*StataCorp, College Station*), versão 12.0.

#### **- Aspectos Éticos**

A pertinência ética do protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, sob o número 03/06, em atendimento as normas estabelecidas pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (Brasil, 1996).

A participação do escolar no estudo foi dependente da autorização escrita dos pais e/ou responsáveis. Após conhecerem os objetivos do estudo e concordarem com a inserção do menor na investigação, os pais e/ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Atendendo aos pressupostos éticos, todos os escolares que apresentaram alterações expressivas nos indicadores avaliados foram encaminhados ao serviço de saúde local e mantidos no estudo.

## **Resultados**

Comparando a amostra do presente estudo com aquela do estudo original, houve perda de 57 indivíduos (10.5%), que apresentavam apenas dados referentes às dosagens de Hcy e Cys séricas. No entanto, quando comparadas com a idade e o sexo (únicas variáveis disponíveis), não houve diferenças significantes entre estas dosagens bioquímicas para os escolares perdidos e aqueles que integraram este estudo (dados não mostrados).

Na Tabela 1 estão apresentadas as distribuições das características sócio-demográficas, clínicas e de estilo de vida da população investigada, segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Observou-se que 58.9% dos escolares com valores séricos de Hcy acima do quinto quintil de distribuição ( $8.5\mu\text{mol/L}$ ) eram maiores de 12 anos ( $p<0.01$ ) e do sexo masculino ( $p=0.02$ ). A maioria deles apresentava ambiente da residência e do seu entorno abaixo do 3º tercil (67.8%;  $p=0.01$ ) e apresentaram história familiar de DCNT (91.1%;  $p=0.02$ ). Além disso, 60.3% ( $p=0.04$ ) e 75.6% ( $p=0.01$ ) dos escolares com valores de Hcy acima do quinto quintil apresentaram, respectivamente, baixo escore de consumo médio diário de alimentos protetores e elevado escore de consumo médio diário de alimentos de risco.

Pôde-se observar, ainda, que a maioria dos escolares que apresentou valores de Cys acima do quinto quintil ( $463.4\mu\text{mol/L}$ ) era maior de 12 anos (51.6%;  $p=0.04$ ); tinha história familiar de DCNT (85.7%  $p=0.04$ ); e 63.3% deles apresentaram

baixo escore de consumo diário de alimentos protetores ( $p=0.03$ ). Por fim, a maioria das crianças e adolescentes que apresentou valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do quinto quintil era maior de 12 anos (65%;  $p=0.03$ ); 62.5% viviam nos tercis mais baixos do índice ambiental ( $p=0.04$ ); 93% deles tinham história familiar de DCNT ( $p=0.03$ ); e 80% apresentavam elevado escore de consumo diário de alimentos de risco ( $p=0.01$ ). As demais associações não foram significantes (Tabela 1).

**Tabela 1** - Características sócio-demográficas, clínicas e de estilo de vida de crianças e adolescentes segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Mutuípe-Ba, 2006.

Variável	Hcy $\geq$ 5 $^{\circ}$ quintil (8.5 $\mu$ mol/L) n(%)	Hcy < 5 $^{\circ}$ quintil (8.5 $\mu$ mol/L) n(%)	Valor de p	CIS $\geq$ 5 $^{\circ}$ quintil (463.4 $\mu$ mol/L) n(%)	CIS < 5 $^{\circ}$ quintil (463.4 $\mu$ mol/L) n(%)	Valor de p	Hcy+Cys ( $\geq$ 5 $^{\circ}$ quintil) n(%)	Hcy+Cys (< 5 $^{\circ}$ quintil) n(%)	Valor de p
<b>Idade</b>									
- <12 anos	37 (41.1)	241 (61.3)	<b>&lt;0.01*</b>	44 (48.4)	234 (59.7)	<b>0.04*</b>	14 (35.0)	264 (59.6)	<b>0.03*</b>
- $\geq$ 12 anos	53 (58.9)	152 (38.7)		47 (51.6)	158 (40.3)		26 (65.0)	179 (40.4)	
<b>Sexo</b>									
- Feminino	42 (46.7)	242 (61.6)	<b>0.02*</b>	53 (58.2)	231 (58.9)	0.15	22 (55.0)	262 (59.1)	0.11
- Masculino	48 (53.3)	151 (38.4)		38 (41.8)	161 (41.1)		18 (45.0)	181 (40.9)	
<b>Escolaridade da mãe</b>									
- Ensino médio/Superior	77 (85.6)	319 (81.2)	0.32	74 (81.3)	322 (82.1)	0.85	34 (85.0)	362 (81.7)	0.22
- Analfabeto/ fundamental	13 (14.4)	74 (18.8)		17 (18.7)	70 (17.9)		06 (15.0)	81 (18.3)	
<b>Índice Ambiental</b>									
- 3 $^{\circ}$ Tercil	29 (32.2)	185 (47.0)	<b>0.01*</b>	37 (40.7)	177 (45.1)	0.07	15 (37.5)	199 (44.9)	<b>0.04*</b>
- 1 $^{\circ}$ e 2 $^{\circ}$ Tercis	61 (67.8)	208 (53.0)		54 (59.3)	215 (54.9)		25 (62.5)	244 (55.1)	
<b>Índice Socioeconômico</b>									
- 3 $^{\circ}$ Tercil	40 (44/4)	156 (39.7)	0.40	43 (47.3)	153 (39.0)	0.15	20 (50.0)	176 (39.7)	0.20
- 1 $^{\circ}$ e 2 $^{\circ}$ Tercis	50 (55.6)	237 (60.3)		48 (52.7)	239 (61.0)		20 (50.0)	267 (60.3)	
<b>Pressão arterial</b>									
- Adequada	59 (69.4)	237 (72.5)	0.60	59 (69.5)	237 (72.5)	0.60	24 (63.3)	268 (72.6)	0.27
- Hipertenso/pré-hipertenso	31 (30.6)	90 (27.5)		31 (30.5)	90 (27.5)		16 (36.7)	101 (27.4)	
<b>Glicemia</b>									
- Adequada	84 (93.3)	365 (92.8)	0.87	84 (92.3)	365 (93.1)	0.78	35 (94.5)	410 (92.5)	0.24
- hiperglicemia	06 (06.7)	28 (07.1)		07 (07.7)	27 (06.9)		05 (05.5)	33 (07.5)	
<b>Nível de Atividade Física</b>									
- Ativo	19 (21.1)	87 (22.1)	0.13	18 (19.8)	88 (22.4)	0.17	09 (22.5)	97 (21.9)	0.13
- Pouco ativo/sedentário	71 (78.9)	306 (77.9)		73 (80.2)	304 (77.6)		31 (77.5)	346 (78.1)	
<b>HF de DCNT</b>									
- Não	08 (08.9)	74 (18.8)	<b>0.02*</b>	13 (14.3)	69 (17.6)	<b>0.04*</b>	05 (08.0)	80 (18.1)	<b>0.03*</b>
- Sim	82 (91.1)	319 (81.2)		78 (85.7)	323 (82.4)		35 (93.0)	363 (81.9)	
<b>Consumo protetor</b>									
- Alto	31 (39.7)	246 (71.3)	<b>0.04*</b>	29 (36.7)	243 (70.6)	<b>0.03*</b>	17 (50.0)	276 (70.9)	0.10
- Baixo	47 (60.3)	99 (28.7)		50 (63.3)	101 (29.4)		17 (50.0)	113 (29.1)	
<b>Consumo de risco</b>									
- Baixo	22 (24.4)	241 (61.3)	<b>0.01*</b>	27 (29.7)	245 (62.5)	0.15	08 (20.0)	277 (62.5)	<b>0.01*</b>
- Alto	68 (75.6)	152 (38.7)		64 (70.3)	147 (37.5)		32 (80.0)	166 (37.5)	
<b>Etilismo</b>									
- Não	65 (83.3)	299 (88.2)	0.24	68 (85.0)	296 (87.8)	0.49	29 (82.8)	335 (87.7)	0.19
- Sim	13 (16.7)	40 (11.8)		12 (15.0)	41 (12.2)		06 (17.2)	47 (12.3)	

Tamanho da amostra: 483; \*valor de p significativo para o teste Qui-quadrado de Pearson; Legenda: HF=História familiar (pai e/ou mãe) de doenças crônicas não transmissíveis

A prevalência da hipercolesterolemia total foi de 22.1%, distribuindo-se em 19.3% de LDL-c elevado, 25.7% de hipertrigliceridemia e 18.4% de baixos valores de HDL-c. As prevalências de concentrações elevadas de colesterol total e de baixos valores de HDL-c se distribuíram de forma diferenciada e significativa entre os sexos (Tabela 2).

**Tabela 2** - Prevalência total e por sexo das alterações lipídicas de crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006.

	Total N(%)	Feminino N(%)	Masculino N(%)	Valor de p*
CT elevado	107 (22.1)	79 (27.8)	28 (14.0)	<b>&lt;0.01</b>
LDL-c elevado	93 (19.3)	59 (20.8)	34 (17.1)	0.31
HDL-c baixo	89 (18.4)	43 (15.1)	46 (23.1)	<b>0.02</b>
TGL elevados	124 (25.7)	82 (28.9)	42 (21.1)	0.05

Tamanho da amostra: 483

Legenda: CT=colesterol total; HDL=lipoproteína de alta densidade; LDL=lipoproteína de baixa densidade; TGL=triglicérides

\*significância estatística para o teste Qui-quadrado de Pearson

Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos modelos bruto e ajustado de regressão de Poisson para as relações de interesse. Observou-se prevalência 73% maior de baixos valores de HDL-c em escolares com concentrações de Hcy sérica acima do 5º quintil ( $>8.5\mu\text{mol/L}$ ), quando comparada àquela quando as concentrações deste parâmetro bioquímico estavam abaixo deste quintil ( $p=0.01$ ). Ajustando-se o modelo pelo bloco das variáveis sócio-demográficas, de estilo de vida e antropométrica, este valor se manteve em 72%, apresentando redução do AIC (de 731.7 no modelo bruto para 716.5 no modelo final) e aumento do pseudo- $R^2$  (de 3.8% para 8.5%), indicando melhora do ajuste e do poder explicativo do modelo, respectivamente (Tabela 3).

Observou-se prevalência 43% maior de baixos valores de HDL-c em indivíduos que apresentaram concentrações de Cys sérica acima do quinto quintil

(>463.4 $\mu$ mol/L), quando comparada àquela quando as concentrações se encontravam abaixo deste quintil ( $p=0.02$ ). Quando o modelo foi ajustado pelo bloco das variáveis sócio-demográficas, de estilo de vida e antropométrica, este valor se elevou para 49% ( $p=0.01$ ), havendo redução do AIC (de 824.4 no modelo bruto para 701.2 no modelo final) e aumento do pseudo- $R^2$  (de 1.5% para 6.5%), indicando melhora do ajuste e do poder explicativo do modelo, respectivamente (Tabela 3).

Identificou-se, ainda, prevalência 92% maior de baixos valores de HDL-c em indivíduos que apresentavam valores de Hcy e Cys simultaneamente acima do 5º quintil de distribuição, no modelo bruto, quando comparados àqueles que se encontravam abaixo deste quintil ( $p<0.01$ ). Ao ajustar por variáveis sócio-demográficas, de estilo de vida e antropométrica, a RP se manteve elevada, atingindo 1.82, indicando maior prevalência de baixos valores de HDL-c em indivíduos que tinham concentrações de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do 5º quintil, quando comparada àquela originada dos valores de Hcy e Cys abaixo deste ponto de corte. Este modelo assim ajustado teve redução do AIC (de 806.4 no modelo bruto para 712.4 no modelo final) e aumento do pseudo- $R^2$ , indicando, respectivamente, melhor ajuste do modelo final e do poder explicativo (pseudo- $R^2=8.3\%$ ).

**Tabela 3.** Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre concentrações de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas e baixos valores de HDL-c em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006.

	HDL-colesterol	
	RP (IC 95%); valor de p*	
	Modelo Bruto	Ajustado <sup>†</sup>
<b>Hcy**</b>	1.73 (1.13-2.63); 0.01	1.72 (1.12-2.62); 0.01
Pseudo-R <sup>2</sup>	3.8%	8.5%
AIC	731.7	716.5
<b>Cys***</b>	1.43 (1.04-1.98); 0.02	1.49 (1.05-2.13); 0.01
Pseudo-R <sup>2</sup>	1.5%	6.5%
AIC	824.4	701.2
<b>Hcy+Cys</b>	1.92 (1.47-2.51); <0.01	1.82 (1.35-2.45); <0.01
Pseudo-R <sup>2</sup>	2.6%	8.3%
AIC	806.4	712.4

Tamanho da amostra: 483

\* Modelo de Regressão de *Poisson*

\*\*Hcy = homocisteína sérica → acima do 5º quintil > 8.5µmol/L

\*\*\*Cys = cisteína sérica → acima do 5º quintil >463.4µmol/L

† Ajustado por variáveis sociodemográficas, de estilo de vida e antropométrica

Para a relação entre concentrações de Hcy sérica e valores de triglicérides, observou-se prevalência de hipertrigliceridemia 66% maior em escolares cujos valores de Hcy encontravam-se acima do quinto quintil, quando comparada à prevalência daqueles que apresentavam concentrações abaixo deste quintil (p=0.03), ajustando-se pelo bloco das variáveis sócio-demográficas, de estilo de vida e antropométricas. O modelo final apresentou melhores ajuste e poder explicativo, segundo os critérios de AIC e o pseudo-R<sup>2</sup>, respectivamente (Tabela 4).

A prevalência de valores aumentados de triglicérides foi 49% maior em crianças e adolescentes que apresentaram concentrações de Cys sérica acima do quinto quintil, quando comparados àqueles com valores de Cys abaixo deste quintil (p<0.01), sendo estes resultados ajustados pelas variáveis sócio-demográficas, de estilo de vida e antropométricas. Também para este modelo, identificou-se melhora do ajuste e do poder explicativo no modelo final (Tabela 4).

A prevalência de hipertrigliceridemia foi 94% maior em escolares com valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do quinto quintil, quando comparada à prevalência identificada para os valores destes dois parâmetros bioquímicos abaixo quinto quintil ( $p < 0.01$ ), sendo estes resultados ajustados pelo bloco de variáveis sócio-demográficas, de estilo de vida e antropométricas. O modelo final assim ajustado apresentou redução do AIC (de 750.9 no modelo bruto para 646.0 no modelo ajustado) e aumento do pseudo- $R^2$  (de 2.5% para 8.3%), indicando melhor ajuste e poder explicativo do modelo, respectivamente (Tabela 4).

O colesterol total e o LDL-c não se associaram com os valores aumentados das variáveis de exposição principal na população do estudo.

**Tabela 4.** Razão de prevalência bruta e ajustada da associação entre concentrações de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas e elevados valores de triglicérides em crianças e adolescentes. Mutuípe-Ba, 2006.

<b>Triglicérides</b>		
<b>RP (IC 95%); valor de p*</b>		
	<b>Modelo Bruto</b>	<b>Ajustado<sup>†</sup></b>
<b><u>HCY**</u></b>	1.53 (1.10-2.15); 0.01	1.66 (1.23-2.26); 0.03
Pseudo- $R^2$	3.8%	8.4%
AIC	764.6	756.3
<b><u>CYS***</u></b>	1.44 (1.09-1.90); <0.01	1.49 (1.05-1.84); <0.01
Pseudo- $R^2$	1.8%	8.0%
AIC	762.0	725.2
<b><u>HCY+CYS</u></b>	1.92 (1.43-2.56); <0.01	1.94 (1.40-2.70); <0.01
Pseudo- $R^2$	2.5%	8.3%
AIC	750.9	646.0

Tamanho da amostra: 483

\* Modelo de Regressão de *Poisson*

\*\*Hcy = homocisteína sérica → acima do 5º quintil > 8.5 μmol/L

\*\*\*Cys = cisteína sérica → acima do 5º quintil > 463.4 μmol/L

† Ajustado por variáveis sociodemográficas, de estilo de vida e antropométrica

## Discussão

As elevadas prevalências de hiperlipidemias identificadas entre as crianças e adolescentes deste estudo (variando de 18.4% de baixos valores de HDL-c a

25.7% de hipertrigliceridemia) são compatíveis com a tendência de aumento crescente da ocorrência de DCNT na população pediátrica não só no Brasil, mas em todo o mundo (Romaldini *et al.*, 2004; Scherr, Magalhães e Malheiros, 2007; WHO, 2012).

Embora não se disponha de dados populacionais deste evento no Brasil, a prevalência distribui-se de forma diferenciada entre crianças e adolescentes de regiões do país. Assim, entre os escolares de municípios do Sul, as dislipidemias variam de 3% para a hipercolesterolemia a 17.9% para baixos valores de HDL-c (Grillo *et al.*, 2005). No Sudeste, foram observadas, respectivamente, 7.3% e 13.8% de hipercolesterolemia e valores baixos de HDL-c (Romaldini *et al.*, 2004) entre escolares. E, as prevalências de dislipidemias observadas entre crianças e adolescentes em cidades da região Nordeste, computadas em 7.3% para valores elevados de LDL-c e em 35% de hipertrigliceridemia (Araki, Barros e Santos, 2010; Ramos *et al.*, 2011), se destacam pela importância epidemiológica do evento nestas regiões.

Outro importante resultado identificado na presente investigação diz respeito à relação entre Hcy, Cys e perfil lipídico de crianças e adolescentes. Neste sentido, concentrações aumentadas de Hcy e Cys séricas podem se associar à ocorrência de perfil lipídico caracterizado por baixas concentrações de HDL-c e elevadas de triglicérides entre crianças e adolescentes.

Este resultado soma-se àqueles que também têm identificado associação entre valores elevados de Hcy, Cys e baixos valores de HDL-c (Anand *et al.*, 2009; Gil-Prieto *et al.*, 2009) e concentrações elevadas de triglicérides em escolares (Anand *et al.*, 2009) e destaca a evidência da relação da Hcy e Cys séricas na predição

das dislipidemias também entre crianças e adolescentes e não somente em adultos, grupo para o qual as evidências já são consistentes (El-Khairi *et al.*, 2001; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy *et al.*, 2012).

Os mecanismos fisiológicos explicativos desta relação entre valores de Hcy e perfil lipídico ainda não são totalmente conhecidos, mas um conjunto de mecanismos fisiopatológicos tem sido proposto. Um deles se ampara no conhecimento de que concentrações elevadas de Hcy inibem o fator de transcrição da apolipoproteína A-1 (Apo-A1) – receptor ativado por proliferadores de peroxissoma (PPAR) elemento que participa na síntese de HDL-c – reduzindo, conseqüentemente, a produção hepática desta fração lipídica, contribuindo para a ocorrência e/ou agravamento das doenças cardiovasculares por comprometer o transporte reverso de colesterol (Mikael, Genest e Rozen, 2006; Liao, Yang e Wang, 2007). Além disso, estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que a hiperhomocisteinemia parece aumentar a expressão da SREBP-1 (proteína de ligação ao elemento regulador de esterol) – que é um importante elemento da síntese do colesterol e dos triglicérides – favorecendo a ocorrência de alterações negativas do perfil lipídico (Werstuck *et al.*, 2001).

Também são pouco conhecidos os mecanismos envolvidos na relação entre valores elevados de Cys e dislipidemia. No entanto, é possível considerar que a semelhança estrutural da Cys com a Hcy e a ligação metabólica entre elas possam definir os efeitos da Cys similares àqueles observados para a relação entre valores de Hcy e lipídios séricos, justificando os achados empíricos desta investigação.

Pode-se considerar ainda como outro importante resultado deste estudo a associação mais acentuada entre valores simultaneamente aumentados de Hcy e Cys e baixos valores de HDL-c e elevadas concentrações de triglicérides. Embora não tenham sido identificados, na literatura nacional e internacional, registros de resultados semelhantes avaliando a relação entre valores simultaneamente aumentados de Hcy e Cys e alterações negativas do perfil lipídico na população pediátrica, as evidências disponíveis para indivíduos adultos indicam que o risco é maior quando valores destes parâmetros bioquímicos estão conjuntamente aumentados (Xiao *et al.*, 2011; El-Khairy *et al.*, 2001). Assim, pode-se pressupor que, também em escolares, valores de Cys e Hcy simultaneamente aumentados intensificam os mecanismos fisiopatológicos que conduzem ao aumento do risco de alterações metabólicas – como as hiperlipidemias – nesta fase precoce da vida, justificando os achados empíricos consistentemente mais acentuados quando as concentrações de Hcy e Cys estavam simultaneamente aumentadas no grupo estudado.

Os resultados desta investigação realçam a possibilidade da adoção destes parâmetros bioquímicos na identificação precoce de risco de dislipidemias entre crianças e adolescentes, que podem sinalizar a ocorrência de outras comorbidades do grupo das DCNT, em especial as cardiovasculares.

Vale ressaltar que este e outros estudos transversais têm limitação em traçar relação de causalidade na medida em que não é possível estabelecer relações causais ou temporais entre a exposição e o desfecho (Rothman, Greenland e Lash, 2008), o que torna necessária a realização de estudos confirmatórios destes resultados e das hipóteses aqui geradas.

No entanto os resultados gerados por este estudo têm plausibilidade biológica e são consistentes para a população adulta (El-Khairiy *et al.*, 2001; Elshorbagy *et al.*, 2012), fortalecendo as evidências de que concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas isoladas se associam com a hipertrigliceridemia e baixos valores de HDL-c em crianças e adolescentes, relação que se intensifica quando as concentrações séricas destes parâmetros bioquímicos estão simultaneamente elevadas, podendo se configurar como preditores precoces e independentes da dislipidemia nesta faixa etária.

## Referências

AKAIKE, H. Information theory and an extension of the likelihood ratio principle. In: PETROV, B. e CSAKI, F. (Ed.). **Proceedings of the second international symposium of information theory**. Budapest: Akademiai Kiado, 1973.

AL-SHEHRI, S. N. et al. Prevalence of hyperlipidemia among Saudi school children in Riyadh. **Annals of Saudi Medicine**, v. 24, n. 1, p. 6-8, Jan-Feb 2004. ISSN 0256-4947. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000188879200003 >.

ANAND, P. et al. Serum homoCysteine in Indian adolescents. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 76, n. 7, p. 705-709, Jul 2009. ISSN 0019-5456. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000269152700004 >.

ARAKI, M.; BARROS, C.; SANTOS, E. Análise do perfil lipídico de crianças e adolescentes do estado de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 6, n. 12, 2010.

ASSIS, A. et al. **Diagnóstico de saúde e nutrição da população de Mutuípe-Ba**. Salvador: Editora UFBA, 2002.

BACHORIK, P. S.; ROSS, J. W. NATIONAL-CHOLESTEROL-EDUCATION-PROGRAM RECOMMENDATIONS FOR MEASUREMENT OF LOW-DENSITY-LIPOPROTEIN CHOLESTEROL - EXECUTIVE SUMMARY. **Clinical Chemistry**, v. 41, n. 10, p. 1414-1420, Oct 1995. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RZ00400003 >.

BERTOLINI, S. et al. Genetic polymorphisms affecting the phenotypic expression of familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, v. 174, n. 1, p. 57-65, May 2004. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000221673700008 >.

BRANDÃO, A. et al. *Prevenção da Doença Cardiovascular: A Aterosclerose se Inicia na Infância?* **Revista da SOCERJ**, v. 17, n. 1, 2004.

BRASIL. **Resolução nº 196 de 1996. Aprova as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. SAÚDE, M. D. S. C. N. D. Brasília: Ministério da Saúde 1996.

CHANG, P.-Y. et al. HomoCysteine inhibits arterial endothelial cell growth through transcriptional downregulation of fibroblast growth factor-2 involving G protein and DNA methylation. **Circulation Research**, v. 102, n. 8, p. 933-941, Apr 25 2008. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000255296300012 >.

CRUZ, E. N. D. et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **J Bras Patol**, v. 36, n. 3, p. 166-73, 2000.

DWYER, T. et al. Cohort Profile: The International Childhood Cardiovascular Cohort (i3C) Consortium. **International Journal of Epidemiology**, v. 42, n. 1, p. 86-96, Feb 2013. ISSN 0300-5771. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000316699300010 >.

EL-KHAIRY, L. et al. Plasma total Cysteine as a risk factor for vascular disease - The European Concerted Action project. **Circulation**, v. 103, n. 21, p. 2544-2549, May 29 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000169012800015 >.

\_\_\_\_\_. Plasma total Cysteine, mortality, and cardiovascular disease hospitalizations: The Hordaland HomoCysteine Study. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 895-900, Jun 2003. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000183088100009 >.

ELSHORBAGY, A. K. et al. The Association of Plasma Cysteine and gamma-Glutamyltransferase With BMI and Obesity. **Obesity**, v. 17, n. 7, p. 1435-1440, Jul 2009. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267483800023 >.

\_\_\_\_\_. The association of fasting plasma sulfur-containing compounds with BMI, serum lipids and apolipoproteins. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 12, p. 1031-1038, Dec 2012. ISSN 0939-4753. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000311798500005 >.

FLETCHER, G. F. et al. Statement on exercise: Benefits and recommendations for physical activity programs for all Americans - A statement for health professionals by the committee on exercise and cardiac rehabilitation of the council on clinical cardiology, American Heart Association. **Circulation**, v. 94, n. 4, p. 857-862, Aug 15 1996. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996VC36000046 >.

GIL-PRIETO, R. et al. Plasma homoCysteine in adolescents depends on the interaction between methylenetetrahydrofolate reductase genotype, lipids and folate: a seroepidemiological study. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, Oct 5 2009. ISSN 1743-7075. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000270973700001 >.

GIULIANO, I. D. C. B. et al. Lípidos séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis, SC: Estudo Floripa saudável 2040. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, p. 85-91, 2005. ISSN 0066-782X. Disponível em: <

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2005001500003&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2005001500003&nrm=iso) >.

GRILLO, L. P. et al. Perfil lipídico e obesidade em escolares de baixa renda. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 8, p. 75-81, 2005. ISSN 1415-790X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-790X2005000100009&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2005000100009&nrm=iso) >.

HEINZL, H.; WALDHOR, T.; MITTLBOCK, M. Careful use of pseudo R-squared measures in epidemiological studies. **Statistics in Medicine**, v. 24, n. 18, p. 2867-2872, Sep 30 2005. ISSN 0277-6715. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232118700009 >.

HOSMER, D.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley, 2000.

JOLLIFFE, C. J.; JANSSEN, I. Distribution of lipoproteins by age and gender in adolescents. **Circulation**, v. 114, n. 10, p. 1056-1062, Sep 5 2006. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000240244700010 >.

KAVEY, R. E. W. et al. American heart association guidelines for primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. **Circulation**, v. 107, n. 11, p. 1562-1566, Mar 25 2003. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000181764600022 >.

KLEINBAUM, D. G.; KLEIN, M. **Logistic Regression A Self-Learning Text**. 5.ed. Springer, 2010.

LABARTHE, D. Emergency of risk factors in children. In: MARMOT, M. e ELLIOTT, P. (Ed.). **Coronary Heart Disease Epidemiology: from aetiology to public health**. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Oxford, 2005. cap. 34,

LABARTHE, D. et al. Change in blood lipid components during adolescence differs importantly by sex and is not consistently related to change in body fat: Project HeartBeat! **Canadian Journal of Cardiology**, v. 13, n. Suppl.B, 1997.

LABARTHE, D. R. et al. Development of cardiovascular risk factors from ages 8 to 18 in Project HeartBeat! Study design and patterns of change in plasma total cholesterol concentration. **Circulation**, v. 95, n. 12, p. 2636-2642, Jun 17 1997. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XD76100011 >.

LAUER, R. M. et al. NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION-PROGRAM (NCEP) - HIGHLIGHTS OF THE REPORT OF THE EXPERT PANEL ON BLOOD

CHOLESTEROL LEVELS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS. **Pediatrics**, v. 89, n. 3, p. 495-501, Mar 1992. ISSN 0031-4005. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1992HG52900026 >.

LIAO, D.; YANG, X.; WANG, H. HyperhomoCysteinemia and high-density lipoprotein metabolism in cardiovascular disease. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 45, n. 12, p. 1652-1659, 2007 2007. ISSN 1434-6621. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000251964000011 >.

LICHTENSTEIN, A. H.; DECKELBAUM, R. J.; AMER HEART ASSOC NUTR, C. Stanol/sterol ester-containing foods and blood cholesterol levels - A Statement for Healthcare Professionals from the Nutrition Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism of the American Heart Association. **Circulation**, v. 103, n. 8, p. 1177-1179, Feb 27 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000167562100034 >.

LOHMAN, T.; ROCHE, A.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Human Kinetics Books, 1988.

MAGNUSSEN, C. G. et al. Utility of currently recommended pediatric dyslipidemia classifications in predicting dyslipidemia in adulthood - Evidence from the childhood determinants of adult health (CDAH) study, Cardiovascular Risk in Young Finns Study, and Bogalusa Heart Study. **Circulation**, v. 117, n. 1, p. 32-42, Jan 1 2008. ISSN 0009-7322. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000252094100008 >.

MARON, B. J. et al. Recommendations for physical activity and recreational sports participation for young patients with genetic cardiovascular diseases. **Circulation**, v. 109, n. 22, p. 2807-2816, Jun 8 2004. ISSN 0009-7322. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000221883900023 >.

MIKAEL, L. G.; GENEST, J.; ROZEN, R. Elevated homoCysteine reduces apolipoprotein A-I expression in hyperhomoCysteinemic mice and in males with coronary artery disease. **Circulation Research**, v. 98, n. 4, p. 564-571, Mar 3 2006. ISSN 0009-7330. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000235728300022 >.

MONTEIRO, R. D. C. D. A.; RIETHER, P. T. A.; BURINI, R. C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 479-489, 2004. ISSN 1415-5273. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso) >.

MOURA, E. C. et al. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 499-505, 2000. ISSN 0034-8910. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-8910200000500010&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-8910200000500010&nrm=iso) >.

NELDER, J.; WEDDERBURN, R. Generalized Linear Models. **Journal of the Royal Statistical Society A**, v. 135, p. 370-384, 1972.

ONIS, M. et al. **Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents**. ORGANIZATION, W. W. H. 85 2007.

PEREIRA DA SILVA, N. et al. HomoCysteine and Cysteine levels in prepubertal children: Association with waist circumference and lipid profile. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 166-171, 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900712002675> >.

PFEIFFER, C. M.; HUFF, D. L.; GUNTER, E. W. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homoCysteine and Cysteine in a clinical laboratory setting. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 290-292, Feb 1999. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078496700022 >.

RAMOS, A. T. et al. Perfil lipídico em crianças e adolescentes com excesso de peso. **Revista brasileira de crescimento e desenvolvimento humano**, v. 21, p. 780-788, 2011. ISSN 0104-1282. Disponível em: < [http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-12822011000300004&nrm=iso](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12822011000300004&nrm=iso) >.

REFSUM, H. et al. The hordaland homoCysteine study: A community-based study of homoCysteine, its determinants, and associations with disease. **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1731S-1740S, Jun 2006. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237993400017 >.

ROMALDINI, C. C. et al. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. 135-140, 2004. ISSN 0021-7557. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-75572004000200011&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572004000200011&nrm=iso) >.

ROSNER, B. **Fundamentals of Biostatistics**. 7.ed. Brooks/Cole, Cengage Learning, 2010.

ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern Epidemiology**. 3<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

SBC. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, p. 3-36, 2005. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso) >.

SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes** 2009.

SCHERR, C.; MAGALHÃES, C. K.; MALHEIROS, W. Análise do perfil lipídico em escolares. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 89, p. 73-78, 2007. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2007001400001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007001400001&nrm=iso) >.

STEIN, E. A.; MYERS, G. L. NATIONAL-CHOLESTEROL-EDUCATION-PROGRAM RECOMMENDATIONS FOR TRIGLYCERIDE MEASUREMENT - EXECUTIVE SUMMARY. **Clinical Chemistry**, v. 41, n. 10, p. 1421-1426, Oct 1995. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RZ00400004 >.

TAYLOR, B. V.; OUDIT, G. Y.; EVANS, M. HomoCysteine, vitamins, and coronary artery disease - Comprehensive review of the literature. **Canadian Family Physician**, v. 46, p. 2236-2245, Nov 2000. ISSN 0008-350X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000165435700021 >.

VENÂNCIO, L. **Indicadores nutricionais e níveis de homocisteína em pacientes com doença arterial periférica**. 2002. 161 (Dissertação (mestrado)). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, p. I-III, 2010. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso) >.

WALD, D. S.; LAW, M.; MORRIS, J. K. HomoCysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 325, n. 7374, p. 1202-1206K, Nov 23 2002. ISSN 0959-535X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000179506200018 >.

WERSTUCK, G. H. et al. HomoCysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 10, p. 1263-1273, May 2001. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000168867400011 >.

WHO. **World health statistics 2012**. Geneva. 2012

XIAO, Y. et al. Relationship between lipid profiles and plasma total homoCysteine, Cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, Aug 12 2011. ISSN 1476-511X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000294844400001 > .

## 5.4 Artigo 4

### CONCENTRAÇÕES DE HOMOCISTEÍNA E CISTEÍNA SÉRICAS E MUDANÇAS ANTROPOMÉTRICAS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES EM UM PERÍODO DE 12 MESES DE SEGUIMENTO<sup>1</sup>

Priscila Ribas de Farias Costa<sup>2,3</sup>

#### Resumo

**Introdução:** estudos recentes têm identificado associações entre concentrações elevadas de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas e o excesso de peso em adultos, mas são escassas informações sobre estas relações na faixa etária pediátrica. **Objetivo:** identificar a influência de concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas, isoladas e simultaneamente elevadas, sobre a mudança nos parâmetros antropométricos de crianças e adolescentes ao longo de 12 meses de seguimento. **Metodologia:** estudo de coorte envolvendo 483 indivíduos de 07 a 15 anos de ambos os sexos. As variáveis desfecho foram o IMC/Idade e a circunferência da cintura (CC) e a exposição principal foi a Hcy e a Cys séricas, isoladas e conjuntamente. Utilizou-se a Equação de Estimação Generalizada (GEE) para identificar as mudanças sobre as variáveis desfecho. **Resultados:** independentemente da idade, sexo, situação socioeconômica, consumo alimentar e prática de atividade física, crianças e adolescentes que estavam no 5º quintil de distribuição de Hcy no início do estudo tiveram incrementos de 0.50 ( $p<0.01$ ) e 3.62cm ( $p<0.01$ ) na média do score-z do IMC/Idade e da CC, respectivamente, durante 12 meses de seguimento, quando comparados àqueles cujos valores destes parâmetros bioquímicos estavam no 1º quintil. Valores de Cys acima do 5º quintil ao início do estudo aumentaram em 0.58 ( $p<0.01$ ) e 5cm ( $p<0.01$ ) o score-z do IMC/Idade e a CC, respectivamente, durante os 12 meses do acompanhamento. Concentrações simultaneamente elevadas de Hcy e Cys no 5º quintil de distribuição aumentaram em 0.87 ( $p<0.01$ ) e 6.57cm ( $p<0.01$ ) as médias do z-escore do IMC/Idade e da CC em um período de 12 meses de seguimento **Conclusões:** elevadas concentrações de Hcy e Cys séricas contribuíram para o aumento do IMC/Idade e da CC em 12 meses de acompanhamento em crianças e adolescentes, sendo estes incrementos mais acentuados quando estes dois parâmetros bioquímicos estavam conjuntamente elevados.

**Palavras-chave:** concentrações elevadas, homocisteína, cisteína, excesso de peso, coorte, crianças, adolescentes

<sup>1</sup> Financiado pelo edital Fapesb PPSUS 001/2007 e Centro Colaborador Nordeste II/MS

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia

<sup>3</sup> Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

## Abstract

**Background:** recent studies have identified associations between elevated serum homocysteine (Hcy) and cysteine (Cys) levels and overweight in adults, but information about these relationships in paediatric population are scarce. **Objective:** the objective was to identify the high serum Hcy and Cys levels influence, isolated and simultaneously elevated, on anthropometrics changes in children and adolescents after a 12-months follow-up period. **Methods:** this cohort study included 483 both sexes subjects from 07 to 15 years old. BMI z-score and waist circumference (WC) were the outcome variables and serum Hcy and Cys levels, isolated and simultaneously elevated, were the main exposure variables. Generalized estimating equations (GEE) were used to identify the outcome variables changes. **Results:** regardless of age, gender, socioeconomic status, dietary intake and physical activity, scholarships with serum Hcy level in the highest quintile (5<sup>th</sup>) in the beginning of the follow-up increased 0.50 ( $p<0.01$ ) and 3.62cm ( $p<0.01$ ) in BMI z-score and WC means, respectively, during the 12 months, if compared with that subjects with serum Hcy levels in the first quintile. Serum Cys levels in the fifth quintile in the beginning of the study increased 0.58 ( $p<0.01$ ) and 5cm ( $p<0.01$ ) in the BMI z-score and WC means after the follow-up period, if compared to the increase promoted by serum Cys levels in the first quintile. A combination of serum Hcy and Cys levels simultaneously in the highest quintile (5<sup>th</sup>) increased in 0.87 ( $p<0.01$ ) and 6.57cm ( $p<0.01$ ) the BMI z-score and WC means after the 12-months follow-up, if compared to the increase promoted by serum Hcy and Cys levels simultaneously in the first quintile. **Conclusions:** high serum Hcy and Cys levels increased the BMI z-score and WC after a 12-months follow-up period in children and adolescents, and these increases were greater when serum Hcy and Cys levels were simultaneously elevated.

**Key words:** homocysteine, cysteine, overweight, children, adolescents, cohort

## Introdução

O excesso de peso atinge grande contingente de crianças e adolescentes em todo o mundo e está associado à maior chance de ocorrência da obesidade, de morte prematura e incapacidade na vida adulta (WHO, 2012). No Brasil, as prevalências de excesso de peso são elevadas e variam de 14.3% a 33.5% em crianças de 5 a 9 anos de idade e de 4.9% a 20.5% em adolescentes (IBGE, 2011).

Na atualidade, concentrações elevadas de homocisteína (Huemer *et al.*, 2006; Papandreou *et al.*, 2007; Pereira Da Silva *et al.*, 2013) e cisteína séricas (Elshorbagy *et al.*, 2008; Elshorbagy *et al.*, 2012; Pereira Da Silva *et al.*, 2013) têm sido associadas ao excesso de peso em crianças e adolescentes, registradas a partir de estudos transversais.

Estudos com delineamento robusto que avaliem a relação longitudinal entre concentrações aumentadas de homocisteína e cisteína séricas – isoladas ou conjuntamente – com o excesso de peso são escassos, particularmente no Brasil. Codoñer-Franch *et al.*, em estudo de coorte envolvendo 107 crianças e adolescentes na Espanha, identificaram que concentrações de homocisteína séricas aumentaram à medida que aumentava a gravidade da obesidade (Codoner-Franch *et al.*, 2010). Não foram identificados estudos longitudinais que avaliassem a relação entre valores séricos aumentados de cisteína e o excesso de peso ou a influência conjunta de concentrações aumentadas de homocisteína e cisteína sobre os indicadores antropométricos na faixa etária pediátrica, tanto no Brasil quanto em outras regiões do mundo, o que justifica a realização de investigações sistemáticas sobre estas relações.

Assim, o objetivo deste estudo foi identificar a influência das concentrações séricas elevadas de homocisteína e cisteína, isoladas e conjuntamente, sobre as mudanças no estado antropométrico de crianças e adolescentes durante o período de 12 meses.

### **Considerações Teórico-metodológicas**

#### **- Amostra e desenho de estudo**

Trata-se de estudo de coorte com duração de 12 meses inserido em uma investigação maior intitulada “Alterações Metabólicas Associadas ao Sobrepeso/Obesidade em Escolares de Mutuípe – Bahia”. No estudo original, 540 crianças coletaram amostra de sangue e, destas, 37 não foram localizadas, 15 não tinham soro suficiente para a dosagem e em 05 não foi possível a realização das dosagens bioquímicas. Assim, a amostra deste estudo incluiu 483 crianças e adolescentes de 7 a 15 anos de idade, de ambos os sexos, selecionados aleatoriamente a partir da lista de matrícula de alunos do curso fundamental, fornecida pela Secretaria de Educação, do município de Mutuípe, Recôncavo da Bahia, no ano de 2006.

Com este número amostral, o estudo teve poder de 99% e 97.6% para detectar alteração de 10% na média Índice de Massa Corporal (IMC) e da Circunferência da Cintura (CC) dos participantes, no período de 12 meses de seguimento, considerando a média de  $22.8\text{Kg/m}^2 \pm 4.09\text{DP}$  para o IMC e média de  $71\text{cm} \pm 7.8\text{DP}$  para a CC (Pereira *et al*, 2010). O cálculo do poder amostral ( $1-\beta$ ) foi baseado no nível de significância de 5% e testes bi-caudais, indicando que este tamanho de

amostra é suficiente para a realização de estimativas não viciadas dos parâmetros da população em estudo (Rosner, 2010).

#### **- Critérios de exclusão**

Seriam excluídos do estudo, crianças e adolescentes em uso de medicamentos que alterassem as concentrações de homocisteína e cisteína (anticonvulsivante, diuréticos, tiazídicos, corticóides) ou medicamentos para diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, doença hepática e hipotireoidismo, por influenciarem os valores séricos de homocisteína e cisteína (Taylor, Oudit e Evans, 2000). Gestantes, lactantes e portadores de deficiências físicas que impedissem a avaliação antropométrica foram também excluídos do estudo. No entanto, estas condições não foram identificadas entre os escolares selecionados.

### **Métodos**

#### **- Coleta de dados e definição de variáveis**

A coleta de dados sócio-demográficos, de estilo de vida, clínicos, antropométricos e de consumo alimentar foi realizada por equipe de nutricionista devidamente treinada, e o sangue foi coletado por técnico de laboratório com experiência na realização deste procedimento em crianças e adolescentes.

A coleta de sangue que deu origem às variáveis de exposição principal (concentrações de homocisteína e cisteína séricas) foi coletada ao *baseline*, enquanto que as variáveis desfecho e as demais covariáveis do estudo foram coletadas ao início, aos seis e aos 12 meses do seguimento. Na atualidade, estudos de coorte com esta configuração têm sido adotados e têm como principal vantagem a redução dos custos, uma vez que a exposição principal é coletada no início do

seguimento e os desfechos são avaliados longitudinalmente (Mai *et al.*, 2012; Nanri *et al.*, 2012), mantendo a robustez dos resultados.

**- Dados antropométricos: peso, altura e circunferência da cintura**

O peso foi aferido utilizando balança digital portátil Filizola (São Paulo, Brasil), com capacidade para 150kg e precisão de 100g e a altura por meio de estadiômetro marca Leicester Height Measure (SECA; Hamburgo, Alemanha), com precisão de 1mm. O indivíduo foi pesado e medido de acordo com as técnicas de Lohman *et al* (Lohman, Roche e Martorell, 1988). Para a circunferência da cintura (CC) utilizou-se a fita métrica inelástica, de fibra de vidro, com escala em centímetros e precisão de 1mm, adotando-se a técnica proposta pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1998). Todas as medidas foram realizadas em duplicata e a média entre os dois valores foi adotada como medida final.

O estado antropométrico foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) por idade e pela Circunferência da Cintura (CC). O IMC foi obtido pela divisão do peso (quilogramas) pela estatura (metros) elevada ao quadrado [ $IMC = P \text{ (kg)} / E^2 \text{ (m)}$ ], utilizando as recomendações da Organização Mundial da Saúde (Onis *et al.*, 2007), para indivíduos de 5 a 19 anos.

Na ausência de ponto de corte para classificar estado antropométrico segundo a CC para crianças e adolescentes, adotou-se o percentil 90 da própria amostra para classificação de excesso de gordura abdominal, conforme proposto por Freedman *et al* (Freedman *et al.*, 1999).

### **- Pressão Arterial**

A medida da pressão arterial foi realizada utilizando manguito pediátrico com bolsa de borracha. A medição e a classificação da pressão arterial foram realizadas com base nas recomendações da Sociedade Brasileira de Cardiologia, segundo estatura, idade e sexo (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2010).

### **- Consumo Alimentar**

O consumo alimentar foi avaliado utilizando-se o questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA foi adaptado de instrumento previamente utilizado em crianças e adolescentes do município (Assis *et al.*, 2002). Este instrumento era composto por 96 itens alimentares e continha 8 possibilidades de resposta de consumo: diário, 1 vez na semana, 2, 3, 4, 5 e 6 vezes na semana e raramente/nunca.

Estas informações foram tratadas de acordo com a metodologia proposta por (Monteiro, Riether e Burini, 2004). Assim, o cômputo geral da frequência do consumo de cada alimento foi convertido em escores, multiplicando a frequência semanal por 4 (número de semanas no mês) e dividindo-a por 30 (número de dias no mês), encontrando-se assim, o escore de médio de consumo diário mensal para cada alimento. Os escores variaram de 1 (consumo diário) a zero (consumo “raro/nunca”), sendo, posteriormente, classificados em tercil (Monteiro, Riether e Burini, 2004).

Após o cálculo destes escores e baseado na composição dos alimentos, foram construídos dois grupos de consumo, com a seguinte caracterização:

a) Grupo de risco para excesso de peso e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína: formado por alimentos com elevado teor de gorduras saturadas, de cloreto de sódio e de açúcares simples.

b) Grupo proteção contra excesso de peso e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas: formado por alimentos fontes de fibras, vitaminas, minerais e de baixa densidade calórica.

#### **- Dados sócio-demográficos, ambientais e do estilo de vida**

As informações deste quesito foram referidas pela mãe ou responsável pela criança/adolescente e registradas em questionário estruturado. As informações demográficas dizem respeito ao sexo e idade do escolar.

As condições socioeconômicas dizem respeito ao número de cômodos e de pessoas que residiam no domicílio, principal tipo de iluminação e ocupação do chefe da família e deram origem ao índice socioeconômico. Para o índice ambiental, utilizaram-se as condições referentes ao abastecimento de água do domicílio, a origem da água para beber, o destino dado ao lixo e aos dejetos. Essas variáveis tiveram as respostas pontuadas de 0 a 4, variando de 0 (pior condição) a 4 (melhor classificação). Desta forma, os índices socioeconômico e o ambiental tiveram pontuação mínima de 0 e máxima de 16 e foram categorizados em tercil.

Apesar do conhecimento de que a escolaridade materna se associa às condições socioeconômicas, optou-se por não incluí-la no índice socioeconômico e avaliá-la separadamente, dado que esta variável expressa também os aspectos culturais e alimentares da sociedade onde está inserido o indivíduo.

O nível de atividade física foi avaliado a partir de questionário estruturado com questões referentes à frequência da prática de atividade física não incluída no conteúdo pedagógico escolar, a qual era realizada uma vez na semana. Assim, o escolar poderia ser classificado em ativo, pouco ativo e sedentário.

Também foi incluída no modelo teórico a variável prática de etilismo.

#### **- História de Doença Familiar**

O escolar e/ou seu responsável foram questionados quanto à ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis na família (obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e câncer) e em caso positivo, perguntou-se sobre o grau de parentesco do portador da doença com o participante da pesquisa.

#### **- Exames Bioquímicos**

A coleta de sangue foi realizada pela manhã observando-se o jejum de pelo menos 12 horas. Foram coletados, por punção venosa, 10 mL de sangue, e depositados em tubos vacutainer (BD<sup>®</sup>) estéreis e descartáveis, sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos para posterior separação do soro, que foi utilizado para as determinações bioquímicas. As alíquotas de soro foram acondicionadas em *ependorf* previamente desmineralizado e armazenadas a -20 °C. Os valores de colesterol total, HDL-C, triglicérides e glicemia foram determinados pelo método enzimático. Os valores de LDL colesterol (LDL-C) foram calculados pela equação de Friedewald, válida para valores de TG < 400 mg% (Brandão et al, 2004):  $LDL-C = CT - HDL-C - (TG/5)$ . A glicemia foi determinada pelo método enzimático e foi adotada a classificação proposta pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009). As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas por

técnico treinado sob a supervisão e orientação de integrantes da equipe, no espaço do Laboratório de Referência do Município, cedido pela Secretaria da Saúde.

As determinações séricas da homocisteína e cisteína foram realizadas no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Federal de São Paulo, por Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) com eluição isocrática e detecção fluorimétrica, considerada metodologia padrão-ouro para este procedimento (Cruz *et al.*, 2000). Resumidamente, o processo de dosagem envolveu a etapa de redução (para a redução e a liberação dos tióis ligados às proteínas), de precipitação das proteínas e a etapa de derivatização, seguindo metodologia de (Pfeiffer, Huff e Gunter, 1999).

#### **- Processamento dos dados**

Após as rotinas de controle dos dados coletados, estes foram digitados, à medida que chegavam de campo, utilizando-se o programa EPI-INFO, que tem caráter simplificado e evita erros grosseiros na entrada de dados.

#### **- Identificação das Variáveis**

As variáveis desfecho deste estudo foram representadas pelo IMC/Idade e circunferência da cintura. Estas medidas foram realizadas ao início e a cada seis meses do seguimento, totalizando três medidas ao longo do tempo. Para a análise descritiva dos dados, estas variáveis foram utilizadas nas suas formas categorizadas. Para integrarem os modelos estatísticos, elas foram inseridas na forma contínua e variante no tempo.

As variáveis independentes principais foram integradas pela concentração de homocisteína (Hcy) e de cisteína (Cys) séricas, isoladamente e simultaneamente.

Considerando que não há consenso sobre os pontos de corte para classificar as alterações da Hcy e Cys em crianças e adolescentes, utilizou-se a categorização de acordo com seus quintis de distribuição, estabelecendo como categoria de referência o 1º quintil (0) e os demais quintis como categorias crescentes de risco (1, 2, 3 e 4). Para avaliar a relação entre as variáveis desfecho e a presença simultânea de concentrações séricas elevadas de Hcy e Cys, criou-se uma nova variável a partir dos quintis individuais de distribuição destes parâmetros (Hcy+Cys). Assim, escolares com valores séricos de Hcy e Cys simultaneamente no 1º quintil de suas respectivas distribuições foram incluídos na categoria de referência (0); aqueles cujas concentrações séricas de Hcy e Cys encontravam-se no 2º, 3º ou 4º quintil das respectivas distribuições foram incluídos na primeira categoria de risco (1); e escolares com valores séricos de Hcy e Cys simultaneamente no 5º quintil de distribuição foram incluídos na categoria de maior risco (2).

As covariáveis do estudo incluíram: a idade [<12 anos (0); >=12 anos (1)], sexo [feminino (0) e masculino (1)], escolaridade materna [nível médio e/ou superior (0); fundamental, ensino básico ou analfabeto (1)], índice ambiental [3º tercil (0); 2º e 1º tercís (1)], índice socioeconômico [3º tercil (0); 2º e 1º tercís (1)], pressão arterial [< percentil 90 (0); >= percentil 90 (1)], glicemia [<100 mg/dL (0); >=100mg/dL (1)], prática de atividade física [moderadamente ativo (0); pouco ativo/sedentário (1)], história familiar de DCNT [não (0); sim (1)], consumo de alimentos protetores contra excesso de peso, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia [3º tercil (0); 1º e 2º tercís (1)], consumo de alimentos de risco para excesso de peso, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia [1º tercil (0); 2º e 3º tercís (1)] e etilismo [não (0); sim (1)].

### - Análise Estatística

A prevalência foi usada para caracterizar a distribuição das variáveis desfecho (excesso de peso e excesso de gordura abdominal) e de exposição principal (concentrações de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas) na população de estudo. A comparação dos indicadores antropométricos e das demais covariáveis do estudo, segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas, foi realizada utilizando-se o teste  $\chi^2$ -quadrado de Pearson (para variáveis categóricas).

Com o objetivo de avaliar a influência das concentrações de Hcy e Cys séricas, isoladas e conjuntamente, sobre mudanças do estado antropométrico no período de 12 meses no seguimento, foram construídos modelos de Equação de Estimação Generalizada (*Generalized Estimating Equations - GEE*), apropriados para variáveis respostas contínuas e medidas repetidas, refletindo a relação entre as variáveis respostas e as independentes, considerando a correlação e interdependência entre as medidas em cada momento no tempo (Twisk, 2003). Além disso, nenhuma suposição é feita sobre a distribuição das observações da variável resposta (Cui, 2007).

Para estimar os coeficientes de regressão, a GEE utiliza a estatística da quasi-verossimilhança (Twisk, 2003), que tem como vantagem a necessidade apenas da especificação da relação entre a média e a variância das observações para obter os estimadores dos parâmetros nos modelos de regressão (McCullagh e Nelder, 1989). A GEE é capaz de produzir estimativas mais eficientes e menos viciadas de dados correlacionados (repetidos), pois considera a estrutura de correlação intra e inter indivíduos (Twisk, 2003). Para o presente estudo, a matriz escolhida foi a

autoregressiva, que considera que as medidas têm uma relação auto-regressiva de interdependência em função do tempo (Twisk, 2003).

Para avaliar o ajuste do modelo aos dados, utilizou-se o *critério de quasi-verossimilhança sob o modelo de independência corrigido* (QIC<sub>c</sub>), que é uma adaptação do método *Akaike's information criterion* (AIC) para análises de GEE. O QIC é calculado a partir da comparação da quasi-verossimilhança do modelo de independência com a do modelo completo. Quanto menor o QIC, melhor o ajuste do modelo (Cui, 2007; Agranonik, 2009).

Foi construído um modelo para cada variável desfecho (IMC/idade e circunferência da cintura) – inserida na forma contínua e variante no tempo – em função de cada variável de exposição principal (concentrações aumentadas de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas) – categorizada em quintis. Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de p menor que 20%. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento na análise bivariada, foram incluídas no modelo. Foram consideradas potenciais variáveis de confundimento aquelas associadas tanto com a exposição quanto com o desfecho, expressa na mudança de 10% ou mais na medida de associação, comparando com a medida do modelo reduzido (Rothman, Greenland e Lash, 2008). Foram testados possíveis termos de interação – construídos com base na referência da literatura e na própria estrutura de dados do estudo – para avaliar a existência de modificação do efeito das variáveis de exposição sobre a variável desfecho, utilizando o teste da razão de máxima verossimilhança (*log likelihood ratio test*), avaliando a significância do termo

de interação no modelo multivariado. No modelo final, permaneceram as variáveis que apresentaram significância menor que 5%.

As análises foram realizadas no pacote estatístico *Stata/IC for Mac (StataCorp, College Station)*, versão 12.0.

### **- Aspectos Éticos**

O protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia quanto à pertinência ética (Brasil, 1996), sob número 03/06.

A participação do escolar no estudo foi dependente da autorização escrita dos pais e/ou responsáveis. Após conhecerem os objetivos do estudo e concordarem com a inserção do menor na investigação, os pais e/ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Atendendo aos pressupostos éticos, todos os escolares que apresentaram alterações expressivas nos indicadores avaliados foram encaminhados ao serviço de saúde local e mantidos no estudo.

### **Resultados**

Considerando a amostra de onde originou este estudo, registrou-se perda de 57 sujeitos (10.5%), para os quais existiam somente informações das dosagens de Hcy e Cys séricas. Estas concentrações, quando comparadas com a idade e o sexo (únicas variáveis disponíveis), indicaram que não houve diferenças significantes entre estes fatores para as crianças perdidas e as que continuaram no estudo.

Foram identificadas prevalências de 20.1% e 17.0%, respectivamente, para o excesso de peso e de gordura abdominal nas crianças e adolescentes. A prevalência de concentrações elevadas de Hcy (18.7%) e Cys séricas (18.8%) foram similares. A distribuição da hiperhomocisteinemia (14.8% para meninas e 24.2% para meninos;  $p=0.01$ ) ocorreu de forma diferenciada segundo o sexo (Tabela 1).

**Tabela 1** - Distribuição das prevalências das variáveis antropométricas e parâmetros bioquímicos, segundo o sexo. Mutuípe-Ba, 2006.

	Total N(%)	Feminino N(%)	Masculino N(%)	Valor de p*
Excesso de Peso (IMC/Idade $\geq$ P85)	97 (20.1)	57 (20.1)	40 (20.0)	0.90
Excesso de gordura abdominal (CC $\geq$ P95)	82 (17.0)	50 (17.6)	32 (16.1)	0.66
HCY elevada ( $\geq$ 5º quintil)	90 (18.7)	42 (14.8)	48 (24.2)	<b>0.01</b>
CYS elevada ( $\geq$ 5º quintil)	91 (18.8)	53 (18.7)	38 (19.1)	0.78
HCY + CYS elevadas ( $\geq$ 5º quintil)	40 (08.3)	19 (07.8)	21 (09.0)	0.61

Tamanho da amostra: 483

Legenda: CC=circunferência da cintura; HCY= homocisteína; CYS= cisteína

\*significância estatística para o teste Qui-quadrado de Pearson

HCY 5º quintil  $>8.5 \mu\text{mol/L}$

CYS 5º quintil  $463.4 \mu\text{mol/L}$

A distribuição das variáveis antropométricas da população investigada, segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas, está apresentada na Tabela 2. Identificou-se maior prevalência de hiperhomocisteinemia (26.8%) em crianças e adolescentes com excesso de peso ( $p=0.02$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa para as demais associações.

**Tabela 2** – Distribuição das variáveis antropométricas das crianças e adolescentes segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Mutuípe-Ba, 2006.

Variável	HCY elevada* n(%)	Valor de p	CYS elevada** n(%)	Valor de p	HCY+CYS elevadas n(%)	Valor de p <sup>†</sup>
<b>IMC/Idade</b>						
Excesso peso	26 (26.8)	<b>0.02</b>	22 (22.7)	0.27	10 (10.3)	0.41
Eutrofia	64 (16.6)		69 (17.9)		30 (07.7)	
<b>CC<sup>§</sup></b>						
Elevada (≥ P90)	17 (20.7)	0.59	20 (24.4)	0.15	10 (12.2)	0.15
Adequado	73 (18.2)		71 (17.7)		30 (07.5)	

Tamanho da amostra: 483

\*HCY elevada ≥ 5ºquartil (8.5µmol/L)

\*\*CIS ≥ 5ºquartil (463.4µmol/L)

§CC= circunferência da cintura

† Valor de p para o teste de Chi-quadrado de Pearson

Na Tabela 3 apresentam-se os resultados brutos e ajustados das análises de GEE para o estado antropométrico avaliado pelo indicador IMC/Idade. Observou-se que crianças no mais alto quintil de distribuição deste parâmetro bioquímico (5º quintil=>8.5 µmol/L) ao início do estudo tiveram incremento médio de 0.50 escore-z no IMC/Idade ( $p<0.01$ ), durante um ano de seguimento, quando comparado ao incremento médio ocorrido nos indivíduos que se encontravam no 1º quintil de distribuição (<5.8µmol/L) ao início do estudo, após o ajuste do modelo estatístico pelos blocos das covariáveis demográficas, socioeconômicas e de estilo de vida (consumo alimentar e prática de atividade física).

Para a Cys, observou-se que crianças e adolescentes com valores iniciais no 5º quintil deste parâmetro bioquímico – o mais alto da distribuição (>463.4µmol/L) – tiveram aumento médio de 0.59 escore-z no IMC/Idade ( $p<0.01$ ) nos 12 meses de seguimento, quando comparados àqueles com valores iniciais de Cys sérica no 1º quintil de distribuição (<352.6µmol/L), resultados ajustados por variáveis demográficas, socioeconômicas e de estilo de vida (consumo alimentar e prática de atividade física).

Quando os valores de Hcy e Cys séricas estavam simultaneamente entre o 2º e 4º quintil de distribuição ao início do estudo promoviam ganho médio de 0.45 escore-z no IMC/Idade ( $p < 0.01$ ) nos 12 meses do seguimento, quando comparado ao ganho médio promovido pelas concentrações séricas destes parâmetros simultaneamente baixos (distribuídos no 1º quintil), no início do estudo. Este incremento aumentou para 0.87 escore-z no IMC/Idade em 12 meses de seguimento quando os valores iniciais do Hcy e Cys estavam simultaneamente no 5º quintil de distribuição ( $p < 0.01$ ), quando comparado ao incremento promovido pelos valores de Hcy e Cys simultaneamente no 1º quintil ao início do seguimento. Estes resultados foram ajustados pelos blocos de variáveis demográficas, socioeconômicas e de estilo de vida (consumo alimentar e prática de atividade física).

**Tabela 3** - Modelos de Equação de Estimação Generalizada para a relação entre concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas e o indicador antropométrico IMC/Idade, durante 12 meses de seguimento. Mutuípe-Ba, 2006.

	IMC/Idade	
	Coeficiente (IC95%); valor de p*	
	Bruto	Modelo final <sup>∞</sup>
<b>- HCY **</b>		
QIC	1785	1561
1º Quintil (<5.8µmol/L)	Referência	Referência
2º Quintil (5.8-6.7µmol/L)	0.09 (-0.20-0.39); 0.53	0.16 (-0.16-0.48); 0.33
3º Quintil (6.7-7.4µmol/L)	0.19 (-0.10-0.49); 0.20	0.23 (-0.09-0.56); 0.16
4º Quintil (7.4-8.5 µmol/L)	0.25 (-0.05-0.54); 0.11	0.30 (-0.03-0.63); 0.07
5º Quintil (>8.5 µmol/L)	0.39 (0.18-0.70); <0.01	0.50 (0.27-0.84); <0.01
<b>- CIS ***</b>		
QIC	1793	1574
1º Quintil (<352.6µmol/L)	Referência	Referência
2º Quintil (352.6-383.3µmol/L)	0.11 (-0.14-0.45); 0.52	0.13 (-0.20-0.47); 0.36
3º Quintil (383.3- 416.2µmol/L)	0.15 (-0.18-0.41); 0.16	0.25 (-0.07-0.57); 0.16
4º Quintil (416.2-463.4µmol/L)	0.27 (-0.02-0.58); 0.07	0.27 (-0.06-0.61); 0.10
5º Quintil (>463.4µmol/L)	0.46 (0.15-0.77); 0.01	0.59 (0.24-0.94); <0.01
<b>- HCY+CIS</b>		
QIC	1779	1554
1º Quintil	Referência	Referência
2º, 3º, 4º Quintis	0.35 (0.01-0.69); 0.03	0.45 (0.08-0.81); 0.01
5º Quintil	0.66 (0.19-1.13); <0.01	0.87 (0.37-1.38); <0.01

Tamanho da amostra: 483

\* Modelos de Equação de Estimação Generalizada – GEE

\*\* Homocisteína

\*\*\* Cisteína

<sup>∞</sup> Ajustado por idade, sexo, variáveis socioeconômicas, consumo de alimentos de risco para excesso de peso, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia e prática de exercício físico fora da escola

Na Tabela 4 são apresentados os resultados brutos e ajustados das análises de GEE para o estado antropométrico avaliado pelo indicador circunferência da cintura. Para a relação entre Hcy e CC, observou-se que concentrações de Hcy no 5º quintil de distribuição ao início do seguimento aumentou em 3.62cm a CC (p<0.01) no período de 12 meses de seguimento, quando comparado ao incremento promovido pelas concentrações deste parâmetro bioquímico situadas no 1º quintil de distribuição ao início do seguimento. Resultados estatisticamente significantes observados no 4º quintil de distribuição no modelo não ajustado foram anulados após o ajuste (Tabela 4).

Valores de Cys acima do 5º quintil de distribuição ao início do estudo promoveram aumento médio de 5cm na CC ( $p < 0.01$ ) durante os 12 meses de seguimento, quando comparado ao incremento observado nos escolares com valores iniciais de Cys no 1º quintil de distribuição. Observou-se que incrementos estatisticamente significantes na média da CC no 3º e 4º quintis de distribuição no modelo bruto não foram mantidos ao ajustar por variáveis demográficas, socioeconômicas e de estilo de vida (consumo alimentar e prática de atividade física) (Tabela 4).

Concentrações de Hcy e Cys simultaneamente entre o 2º e 4º quintil de distribuição ao início do estudo aumentaram em 3.58cm a média da CC ( $p < 0.01$ ) em 12 meses de seguimento, quando comparado ao incremento nos escolares com valores de Hcy e Cys simultaneamente no 1º quintil, no modelo bruto. Ainda neste modelo, registrou-se aumento de 8.47cm ( $p < 0.01$ ) na média da CC em escolares cujos valores de Hcy e Cys estavam simultaneamente no mais alto quintil de distribuição (5º quintil), quando comparado ao incremento em escolares com valores de ambos parâmetros bioquímicos no 1º quintil (Tabela 4).

Ao ajustar por variáveis demográficas, socioeconômicas e de estilo de vida (consumo alimentar e prática de atividade física) (modelo final), o incremento foi mais discreto. Assim, escolares com valores de Hcy e Cys simultaneamente entre o 2º e 4º quintil de distribuição tiveram aumento de 2.72cm na média da CC em um ano de acompanhamento, quando comparado ao aumento naqueles cujos valores de ambos parâmetros encontravam-se no 1º quintil de distribuição ( $p = 0.04$ ). E, escolares com valores de Hcy e Cys simultaneamente no mais alto quintil de distribuição (5º quintil) tiveram incremento de 6.57cm na média da CC no período de

12 meses, quando comparado ao incremento em escolares com valores de ambos parâmetros bioquímicos conjuntamente no 1º quintil ( $p < 0.01$ ) (Tabela 4).

Todos os modelos apresentados se ajustaram bem aos dados, avaliados por meio do critério de QIC, havendo redução deste indicador nos modelos finais em comparação aos modelos brutos (Tabelas 3 e 4).

**Tabela 4 - Modelos de Equação de Estimação Generalizada para a relação entre concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas e a circunferência da cintura, durante 12 meses de seguimento. Mutuípe-Ba, 2006.**

	<b>Circunferência da Cintura (Percentil 90)</b>	
	Coeficiente (IC 95%); valor de p*	
	<b>Bruto</b>	<b>Modelo final<sup>∞</sup></b>
<b>- HCY **</b>		
QIC	101.286	79.319
1º Quintil (<5.8µmol/L)	Referência	Referência
2º Quintil (5.8-6.7µmol/L)	1.09 (-1.27-3.46); 0.38	1.06 (-1.34-3.48); 0.30
3º Quintil (6.7-7.4µmol/L)	1.92 (-0.45-4.29); 0.13	1.08 (-1.30-3.48); 0.40
4º Quintil (7.4-8.5 µmol/L)	2.50 (0.14-4.87); 0.02	2.36 (-0.09-4.82); 0.05
5º Quintil (>8.5 µmol/L)	4.52 (2.10-6.84); <0.01	3.62 (1.17-6.07); <0.01
<b>- CIS ***</b>		
QIC	101.283	79.315
1º Quintil (<352.6µmol/L)	Referência	Referência
2º Quintil (352.6-383.3µmol/L)	2.10 (-0.24-4.45); 0.08	1.87 (-0.62-4.36); 0.15
3º Quintil (383.3-416.2µmol/L)	2.68 (0.32-4.97); 0.03	1.90 (-0.52-4.33); 0.12
4º Quintil (416.2-463.4µmol/L)	2.67 (0.32-4.98); 0.01	2.37 (0.01-4.74); 0.05
5º Quintil (>463.4µmol/L)	6.07 (3.66-8.47); <0.01	5.00 (2.49-7.51); <0.01
<b>- HCY+CIS</b>		
QIC	101.647	79.793
1º Quintil	Referência	Referência
2º, 3º, 4º Quintis	3.58 (0.90-6.20); <0.01	2.72 (0.03-5.42); 0.04
5º Quintil	8.47 (4.82-12.11); <0.01	6.57 (2.57-9.98); <0.01

Tamanho da amostra: 483

\* Modelos de Equação de Estimação Generalizada – GEE

\*\* Homocisteína

\*\*\* Cisteína

<sup>∞</sup> Ajustado por idade, sexo, variáveis socioeconômicas, consumo de alimentos de risco para excesso de peso, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia e prática de exercício físico fora da escola

## Discussão

As elevadas prevalências de excesso de peso (20.1%) e de gordura abdominal (17%) identificadas nas crianças e adolescentes do presente estudo refletem a

tendência crescente de ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis nesta faixa etária (Costa, Cintra e Fisberg, 2006; IBGE, 2011; Romanzini, Pelegrini e Petroski, 2011).

A prevalência de hiperhomocisteinemia identificada nas crianças e adolescentes deste estudo (18.7%) assemelha-se à registrada por Brasileiro *et al* em adolescentes de um município de São Paulo (19.2%) (Brasileiro *et al.*, 2005), e é mais elevada do que a recentemente identificada em escolares de Santo André (Pereira da Silva *et al.*, 2013). Para as concentrações elevadas de Cys, a prevalência encontrada (18.8%) foi maior que a única registrada em escolares brasileiros (9.8%) (Pereira da Silva *et al.*, 2013). Essas diferenças nas prevalências podem refletir os variados pontos de corte adotados nos estudos, uma vez que não há consenso sobre a melhor classificação para as concentrações séricas de Hcy e Cys em crianças e adolescentes. Mas, independentemente destas diferenças, os achados sinalizam a magnitude do problema e que pode se configurar como importante fator de risco para o aumento do peso corporal na população estudada.

Além disso, outro importante achado deste estudo refere-se ao aumento da gravidade do IMC/Idade e da medida da circunferência da cintura em um ano de seguimento nas crianças e adolescentes que apresentaram concentrações elevadas de Hcy e/ou Cys séricas ao início do estudo. Associações entre estes eventos são registradas para a faixa etária pediátrica por investigadores que tratam desta problemática, a partir de estudos transversais e de caso-controle, identificando relação positiva tanto para concentrações elevadas de Hcy e excesso de peso corporal (Atabek *et al.*, 2004; Huemer *et al.*, 2006; Zhu *et al.*, 2006; Papandreou *et al.*, 2007; Pereira Da Silva *et al.*, 2013) quanto para Cys séricas (Elshorbagy *et al.*,

2008; Elshorbagy *et al.*, 2012; Pereira Da Silva *et al.*, 2013) e indicadores antropométricos. No entanto, estudos longitudinais abordando estas relações são escassos.

Único estudo com delineamento longitudinal semelhante ao aplicado nesta investigação, registrado nas bases de dados consultadas, foi realizado com 107 escolares na Espanha e registrou correlação positiva entre concentrações séricas de Hcy e obesidade (Codoner-Franch *et al.*, 2010). Evidências científicas oriundas de estudos confirmatórios são necessárias para esclarecer a relação entre valores elevados destes parâmetros bioquímicos e excesso de gordura corporal em crianças e adolescentes. Os achados deste estudo contribuem nesta direção e sinalizam para a importância destes parâmetros bioquímicos na predição do ganho de peso precoce.

No entanto, reconhece-se também que estudos clínicos e experimentais devam ser realizados, na busca dos mecanismos fisiológicos explicativos desta relação, e cujos resultados possam fortalecer as evidências que vêm sendo construídas pelas investigações epidemiológicas. Um dos mecanismos mais recentes que descreve a ação obesogênica da Cys pauta-se na concepção de que concentrações elevadas deste parâmetro bioquímico estimulam a síntese de ácidos graxos, promovendo a adiposidade; e, nos adipócitos, sofrem auto-oxidação, liberando peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), atuando como inibidor da lipólise, estimulando a síntese lipídica e conduzindo à ativação da lipogênese (Elshorbagy *et al.*, 2012), favorecendo o ganho excessivo de peso e acúmulo de gordura abdominal, justificando os resultados identificados nesta coorte.

Soma-se a isso a disfunção do tecido adiposo induzida pelas concentrações séricas elevadas de Hcy, recentemente demonstrada por experimentos *in vivo* e *in vitro*. Valores aumentados de Hcy sérica inibem a lipólise por meio da ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), que exerce efeito ante-lipólise nos adipócitos, favorecendo o acúmulo de gordura (Wang *et al.*, 2011). Este pode ser um dos mecanismos envolvidos no aumento de peso corporal associado às elevações das concentrações de Hcy sérica.

Ressalta-se ainda que, embora não tenham sido identificados estudos longitudinais que avaliassem a influência conjunta de concentrações aumentadas de Hcy e Cys séricas sobre os indicadores antropométricos, os resultados desta investigação indicam que a alteração de ambos parâmetros no mesmo indivíduo ao início do estudo desencadeou a ocorrência dos mecanismos fisiopatológicos citados anteriormente com mais intensidade, conduzindo a reações metabólicas que intensificaram o ganho de peso, justificando as alterações mais acentuadas no peso corporal e no acúmulo de gordura abdominal, durante um ano de seguimento, registradas nas crianças da coorte. Os resultados são ainda mais preocupantes ao se considerar esta ocorrência na idade pediátrica, não só pelo risco *per se*, mas também pelo risco cardiovascular e de outras comorbidades na vida adulta precoce e/ou tardia.

Embora se reconheça que outros estudos devam ser realizados, na busca da confirmação destes resultados, não se pode deixar de considerar a robustez do desenho de estudo empregado nesta investigação, bem como o cuidado no acompanhamento da coorte e a plausibilidade biológica das associações aqui identificadas, previamente registradas por outros autores.

Assim, é possível que os resultados deste estudo permitam concluir que concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas, isoladas ou conjuntamente, podem favorecer o aumento de peso e o acúmulo de gordura abdominal em crianças e adolescentes, sugerindo a importância clínica e epidemiológica destes indicadores bioquímicos, também entre crianças e adolescentes, que podem se configurar como preditores precoces e independentes do ganho de peso, expressivo fator de risco para as doenças crônicas não transmissíveis de maior magnitude no cenário de saúde mundial.

## Referências

- AGRANONIK, M. **Equações de Estimação Generalizada (GEE): aplicação em estudo sobre mortalidade neonatal em gemelares de Porto Alegre, RS (1995-2007)**. 2009. 110 (Dissertação (mestrado)). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- ASSIS, A. et al. **Diagnóstico de saúde e nutrição da população de Mutuípe-Ba**. Salvador: Editora UFBA, 2002.
- ATABEK, M. et al. Plasma Total HomoCysteine Levels in Childhood Obesity. **Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 3, p. 107-111, 2004.
- BRASIL. **Resolução nº 196 de 1996. Aprova as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. SAÚDE, M. D. S. C. N. D. Brasília: Ministério da Saúde 1996.
- BRASILEIRO, R. S. et al. Plasma total homoCysteine in Brazilian overweight and non-overweight adolescents: a case-control study. **Nutr Hosp**, v. 20, n. 5, p. 313-9, Sep-Oct 2005. ISSN 0212-1611 (Print)  
0212-1611 (Linking).
- CODONER-FRANCH, P. et al. New factors of cardiometabolic risk in severely obese children: influence of pubertal status. **Nutricion Hospitalaria**, v. 25, n. 5, p. 845-851, Sep-Oct 2010. ISSN 0212-1611. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000282562800025 >.
- COSTA, R. F. D.; CINTRA, I. D. P.; FISBERG, M. Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares da cidade de Santos, SP. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 60-67, 2006. ISSN 0004-2730. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-27302006000100009&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302006000100009&nrm=iso) >.
- CRUZ, E. N. D. et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **J Bras Patol**, v. 36, n. 3, p. 166-73, 2000.
- CUI, J. QIC program and model selection in GEE analyses. **Stata Journal**, v. 7, n. 2, p. 209-220, 2007 2007. ISSN 1536-867X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000248072200005 >.

ELSHORBAGY, A. K. et al. HomoCysteine, Cysteine, and body composition in the Hordaland HomoCysteine Study: does Cysteine link amino acid and lipid metabolism? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 738-746, Sep 1 2008. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000259057700021 > .

\_\_\_\_\_. The Association of Cysteine with Obesity, Inflammatory Cytokines and Insulin Resistance in Hispanic Children and Adolescents. **Plos One**, v. 7, n. 9, Sep 11 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000308638700047 > .

FREEDMAN, D. S. et al. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 308-317, Feb 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078198000022 > .

HUEMER, M. et al. Total homoCysteine, folate, and cobalamin, and their relation to genetic polymorphisms, lifestyle and body mass index in healthy children and adolescents. **Pediatric Research**, v. 60, n. 6, p. 764-769, Dec 2006. ISSN 0031-3998. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000242239400020 > .

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. ESTATÍSTICA, I. B. D. G. E. Rio de Janeiro: IBGE: 150 p. 2011.

LOHMAN, T.; ROCHE, A.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Human Kinetics Books, 1988.

MAI, X.-M. et al. Cross-Sectional and Prospective Cohort Study of Serum 25-Hydroxyvitamin D Level and Obesity in Adults. **American Journal of Epidemiology**, v. 175, n. 10, p. 1029-1036, May 15 2012. ISSN 0002-9262. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304199000008 > .

MCCULLAGH, P.; NELDER, J. **Generalized Linear Models**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Chapman & Hall, 1989.

MONTEIRO, R. D. C. D. A.; RIETHER, P. T. A.; BURINI, R. C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 479-489, 2004. ISSN 1415-5273. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso) > .

NANRI, A. et al. Serum Folate and Depressive Symptoms Among Japanese Men and Women: A Cross-Sectional and Prospective Study. **Psychiatry Research**, v. 200, n. 2-3, p. 349-353, Dec 30 2012. ISSN 0165-1781. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000313764700045 > .

ONIS, M. D. et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, p. 660-667, 2007. ISSN 0042-9686. Disponível em: < [http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso](http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso) > .

PAPANDREOU, D. et al. Association of blood pressure, obesity and serum homoCysteine levels in healthy children. **Acta Paediatrica**, v. 96, n. 12, p. 1819-1823, Dec 2007. ISSN 0803-5253. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000250915700020 > .

PEREIRA DA SILVA, N. et al. HomoCysteine and Cysteine levels in prepubertal children: Association with waist circumference and lipid profile. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 166-171, 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900712002675> > .

PFEIFFER, C. M.; HUFF, D. L.; GUNTER, E. W. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homoCysteine and Cysteine in a clinical laboratory setting. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 290-292, Feb 1999. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078496700022 > .

ROMANZINI, M.; PELEGRINI, A.; PETROSKI, E. L. Prevalência e fatores associados à obesidade abdominal em adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, p. 546-552, 2011. ISSN 0103-0582. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-05822011000400012&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-05822011000400012&nrm=iso) > .

ROSNER, B. **Fundamentals of Biostatistics**. 7.ed. Brooks/Cole, Cengage Learning, 2010.

ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern Epidemiology**. 3<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes** 2009.

TAYLOR, B. V.; OUDIT, G. Y.; EVANS, M. HomoCysteine, vitamins, and coronary artery disease - Comprehensive review of the literature. **Canadian Family**

**Physician**, v. 46, p. 2236-2245, Nov 2000. ISSN 0008-350X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000165435700021 >.

TWISK, J. **Applied longitudinal data analysis for epidemiology: a practical guide**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.

VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, p. I-III, 2010. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010001700001&nrm=iso) >.

WANG, Z. et al. HomoCysteine suppresses lipolysis in adipocytes by activating the AMPK pathway. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 301, n. 4, p. E703-E712, Oct 2011. ISSN 0193-1849. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000295576300014 >.

WHO. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic – Report of a WHO consultation on obesity**. World Health Organization. Geneva. 1998

\_\_\_\_\_. **World health statistics 2012**. Geneva. 2012

ZHU, W. H. et al. Elevated plasma homoCysteine in obese schoolchildren with early atherosclerosis. **European Journal of Pediatrics**, v. 165, n. 5, p. 326-331, May 2006. ISSN 0340-6199. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000236357200009 >.

## 5.5 Artigo 5

### CONCENTRAÇÕES DE HOMOCISTEÍNA E CISTEÍNA SÉRICAS E MUDANÇAS NO PERFIL LIPÍDICO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES NO PERÍODO DE 12 MESES DE SEGUIMENTO<sup>1</sup>

Priscila Ribas de Farias Costa<sup>2,3</sup>

#### Resumo

**Introdução:** estudos recentes têm identificado associações entre concentrações elevadas de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas e alteração no perfil lipídico em adultos, embora sejam escassas informações sobre estas relações na faixa etária pediátrica. **Objetivo:** identificar a influência de concentrações elevadas de Hcy, Cys séricas e de ambas simultaneamente ao início do estudo sobre o perfil lipídico de crianças e adolescentes em um período de 12 meses de seguimento. **Metodologia:** estudo de coorte de 12 meses de duração envolvendo 483 indivíduos de 07 a 15 anos de ambos os sexos. As variáveis desfecho foram representadas pelos indicadores lipídicos e a exposição principal pela Hcy e Cys séricas. Utilizou-se a Equação de Estimação Generalizada (GEE) para identificar as relações de interesse. **Resultados:** independentemente da idade, sexo, situação socioeconômica, consumo alimentar e estado antropométrico, concentrações de Hcy sérica acima do 5º quintil de distribuição ao início do seguimento reduziram em 2.91mg/dl ( $p<0.01$ ) e aumentaram em 1.58mg/dl ( $p<0.01$ ) a média do HDL-c e dos triglicérides, respectivamente, em 12 meses de seguimento. Enquanto que concentração elevada de Cys ao início do estudo promoveu diminuição de 1.95mg/dl ( $p<0.01$ ) e acréscimo de 1.76mg/dl ( $p<0.01$ ) na média do HDL-c e dos triglicérides séricos, respectivamente, ao longo dos 12 meses de seguimento. A presença simultânea de valores de Hcy e Cys séricas acima do 5º quintil no início do estudo diminuiu em 3.65mg/dl ( $p<0.01$ ) a média do HDL-c e elevou em 3.53mg/dl ( $p<0.01$ ) o valor médio dos triglicérides nos 12 meses de seguimento. **Conclusões:** concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas ao início do seguimento contribuíram para a redução do valor médio do HDL-c e aumento da concentração dos triglicérides nos 12 meses de seguimento em crianças e adolescentes, e estas alterações foram mais acentuadas quando os dois parâmetros bioquímicos estavam simultaneamente elevados ao início do seguimento

**Palavras-chave:** hiperhomocisteína, hipercisteinemia, alteração perfil lipídico, crianças, adolescentes, coorte

<sup>1</sup> Financiado pelo edital Fapesb PPSUS 001/2007

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia

<sup>3</sup> Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

## Abstract

**Background:** studies have recently identified association between elevated serum homocysteine (Hcy) and cysteine (Cys) levels and lipid profile negative changes in adults, but these relationships for children and adolescents are not clear. **Objective:** the objective was to identify the high serum Hcy and Cys levels influence, isolated and simultaneously elevated, on lipid profile changes in children and adolescents after a 12-months follow-up period. **Methods:** this cohort study included 483 both sexes subjects from 07 to 15 years old. Total-cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides levels were the outcome variables and serum Hcy and Cys levels, isolated and simultaneously elevated, were the main exposure variables. Generalized estimating equations (GEE) were used to identify the outcome variables changes. **Results:** regardless of age, gender, socioeconomic status, dietary intake and anthropometric status, the presence of serum Hcy level in the highest quintile (5<sup>th</sup>) in the beginning of the follow-up decreased 2.91mg/dl ( $p<0.01$ ) and increased 1.58mg/dl ( $p<0.01$ ) the HDL-c and triglycerides means levels, respectively, during the 12 months follow-up period, if compared with that subjects with serum Hcy levels lower than fifth quintile. Serum Cys levels in the fifth quintile in the beginning of the study reduced 1.95mg/dl ( $p<0.01$ ) and raised 1.76mg/dl ( $p<0.01$ ) in the HDL-c and triglycerides means levels, respectively, after the follow-up period, if compared to children and adolescent with serum Cys levels lower than fifth quintile. A combination of serum Hcy and Cys levels simultaneously in the fifth quintile decreased in 3.65mg/dl ( $p<0.01$ ) and increased in 3.53mg/dl ( $p<0.01$ ) the HDL-c and triglycerides means levels after the 12-months follow-up, if compared to the scholarship with serum Hcy and Cys levels simultaneously lower than fifth quintile. **Conclusions:** high serum Hcy and Cys levels decreased the HDL-c and increased the triglycerides levels after a 12-months follow-up period in children and adolescents, and these changes were greater when serum Hcy and Cys levels were simultaneously elevated.

**Key words:** homocysteine, cysteine, lipid profile changes, children, adolescents, cohort

## Introdução

O Brasil e o mundo estão vivenciando alterações expressivas no perfil lipídico de crianças e adolescentes, com prevalências de dislipidemias que variam de 3% a 40% (Moura *et al.*, 2000; Al-Shehri *et al.*, 2004; Romaldini *et al.*, 2004; Giuliano *et al.*, 2005; Scherr, Magalhães e Malheiros, 2007). Nas últimas décadas, estudos têm identificado associação entre os distúrbios lipídicos e concentrações elevadas de homocisteína (Wald, Law e Morris, 2002; Refsum *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2008) e cisteína séricas (El-Khairi *et al.*, 2003a; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy *et al.*, 2012) em adultos.

Em crianças e adolescentes, estudos transversais e de caso-controle também têm identificado associação positiva entre alterações negativas do perfil lipídico e concentrações elevadas de homocisteína (Anand *et al.*, 2009; Gil-Prieto *et al.*, 2009) e cisteína séricas (Pereira Da Silva *et al.*, 2013).

Além disso, raros estudos têm se dedicado a avaliar a influência conjunta de valores elevados de homocisteína e cisteína séricas sobre a alteração do perfil lipídico em crianças e adolescentes. Estudo transversal envolvendo amostra de 2058 indivíduos adultos da China identificou mais baixos valores de HDL-c nos participantes com valores de homocisteína e cisteína séricas simultaneamente elevados (Xiao *et al.*, 2011). Não foram identificados estudos longitudinais, envolvendo alterações isoladas ou conjunto da Hcy e Cys, em nenhum grupo etário.

Assim, considerando a escassez de estudos sobre o tema, principalmente na faixa etária pediátrica, este estudo é oportuno por adotar desenho epidemiológico mais robusto que busque solidificar o conhecimento sobre estas relações,

podendo contribuir para a prevenção e controle de alterações precoces do perfil lipídico. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi identificar a influência de concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas, isoladas e conjuntamente, ao início do estudo, sobre mudanças do perfil lipídico de crianças e adolescentes no período de 12 meses de acompanhamento.

### **Considerações Teórico-metodológicas**

#### **- Amostra e desenho de estudo**

Trata-se de estudo de coorte com duração de 12 meses inserido em uma investigação maior intitulada “Alterações Metabólicas Associadas ao Sobrepeso/Obesidade em Escolares de Mutuípe – Bahia”. Neste estudo original, 540 crianças coletaram amostra de sangue e, destas, 37 não foram localizadas, 15 não tinham soro suficiente para a dosagem e em 05 não foi possível a realização das dosagens bioquímicas. Assim, a amostra deste estudo incluiu 483 crianças e adolescentes de 7 a 15 anos de idade, de ambos os sexos, selecionados aleatoriamente a partir da lista de matrícula de alunos do curso fundamental, fornecida pela Secretaria de Educação, do município de Mutuípe, Recôncavo da Bahia, no ano de 2006.

Com este número amostral, o estudo teve poder de 95% para detectar alteração de 10% na média do colesterol total dos participantes, considerando a média de 158.0mg/dL  $\pm$  30.4DP (Araki, Barros e Santos, 2010); poder de 94% para detectar 10% de alteração na média do LDL-c, considerando a média de 91.4mg/dl  $\pm$  25.9DP (Araki, Barros e Santos, 2010); poder de 99% para detectar 10% de mudança na média do HDL-c, considerando média de 47.5mg/dL  $\pm$  10.5DP (Araki, Barros e Santos, 2010); e 96% de poder para identificar 10% de mudança na

média dos triglicérides após 12 meses de seguimento, considerando média de 92.1mg/dL  $\pm$  48.8DP (Araki, Barros e Santos, 2010). Os cálculos do poder amostral ( $1-\beta$ ) foram baseados no nível de significância de 5% e testes bi-caudais, indicando que esse tamanho de amostra é suficiente para a realização de estimativas não viciadas dos parâmetros da população em estudo (Rosner, 2010).

#### **- Critérios de exclusão**

Foi proposta a exclusão de indivíduo que fazia uso de medicamentos que alterassem as concentrações de homocisteína e cisteína (anticonvulsivante, diuréticos, tiazídicos, corticóides) ou que fizesse uso de medicamentos para diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, doença hepática e hipotireoidismo, por influenciarem os valores séricos de homocisteína e cisteína (Taylor, Oudit e Evans, 2000). Estado de gestação, lactação e deficiências físicas que impedissem a avaliação antropométrica foram também adotados como critérios de exclusão. No entanto, estas condições não foram identificadas entre os escolares selecionados.

### **Métodos**

#### **- Coleta de dados e definição de variáveis**

A coleta de dados sócio-demográficos, de estilo de vida, clínicos, antropométricos e de consumo alimentar foi realizada por equipe de nutricionista devidamente treinada, e o sangue foi coletado por técnico de laboratório, com experiência na realização deste procedimento em crianças e adolescentes.

As variáveis de exposição principal (concentrações séricas de homocisteína e cisteína) foram coletadas no *baseline*, e as variáveis desfecho e as demais

covariáveis que variavam no tempo, foram coletadas no início, aos seis e aos 12 meses do seguimento. Na atualidade, estudos de coorte em que a exposição principal é coletada no início do seguimento e os desfechos são avaliados longitudinalmente (Narin *et al.*, 2005; Mai *et al.*, 2012) são frequentes e têm como principal vantagem a redução do custo, além de manter a robustez dos resultados.

#### **- Dados antropométricos**

O peso foi aferido utilizando balança digital portátil Filizola (São Paulo, Brasil), com capacidade para 150kg e precisão de 100g e a altura foi aferida por meio de estadiômetro marca Leicester Height Measure (SECA; Hamburgo, Alemanha), com precisão de 1mm. O indivíduo foi pesado e medido de acordo com as técnicas de Lohman, Roche e Martorell (1988). Todas as medidas foram realizadas em duplicata e a média entre os dois valores foi adotada como medida final.

O estado antropométrico foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) por idade, obtido pela divisão do peso (quilogramas) pela estatura (metros) elevada ao quadrado [ $IMC = P \text{ (kg)} / E^2 \text{ (m)}$ ], utilizando as recomendações da Organização Mundial da Saúde (Onis *et al.*, 2007), para indivíduos de 5 a 19 anos.

#### **- Consumo Alimentar**

O consumo alimentar foi avaliado utilizando-se o questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA foi adaptado de instrumento anterior previamente utilizado em crianças e adolescentes do município (Assis *et al.*, 2002). Este instrumento era composto por 96 itens alimentares e continha 8 possibilidades de

resposta de consumo: diário, 1 vez na semana, 2, 3, 4, 5 e 6 vezes na semana e raramente/nunca.

Estas informações foram tratadas de acordo com a metodologia proposta por (Monteiro, Riether e Burini, 2004). Assim, o cômputo geral da frequência do consumo de cada alimento foi convertido em escores, multiplicando a frequência semanal por 4 (número de semanas no mês) e dividindo-a por 30 (número de dias no mês), encontrando-se assim, o escore de consumo médio diário mensal para cada alimento. Os escores variaram de 1 (consumo diário) a zero (consumo “raro/nunca”), sendo, posteriormente, classificados em tercil (Monteiro, Riether e Burini, 2004).

Após o cálculo destes escores e baseado na composição dos alimentos, foram construídos dois grupos de consumo, com a seguinte caracterização:

a) Grupo de risco para dislipidemia e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína: formado por alimentos com elevado teor de gorduras saturadas, gorduras trans e de açúcares simples.

b) Grupo de proteção contra dislipidemias e concentrações elevadas de homocisteína e cisteína séricas: formado por alimentos fontes de fibras, vitaminas, minerais e com baixo teor de gorduras saturadas e baixa densidade calórica.

#### **- Coleta de dados sócio-demográficos, do estilo de vida e clínicos**

As informações deste quesito foram registradas em questionário estruturado. As informações demográficas dizem respeito ao sexo e idade do escolar.

As condições socioeconômicas foram avaliadas pelos índices socioeconômico e ambiental. O índice socioeconômico incluiu o número de cômodos e de pessoas que residem no domicílio, principal tipo de iluminação e ocupação do chefe da família. Para o índice ambiental, foi levada em consideração a forma de abastecimento de água do domicílio, a origem da água para beber, o destino dado ao lixo e aos dejetos. As variáveis que compõem estes índices tiveram suas respostas pontuadas de 0 a 4, variando de 0 (pior condição) a 4 (melhor classificação). Desta forma, os dois índices tiveram pontuação mínima de 0 e máxima de 16 e foram categorizados em tercil.

Apesar do conhecimento de que a escolaridade materna se associa às condições socioeconômicas, optou-se por não incluí-la no índice socioeconômico e avaliá-la separadamente, dado que esta variável expressa também os aspectos culturais e alimentares da sociedade onde está inserido o indivíduo.

O nível de atividade física foi avaliado a partir de questionário estruturado com questões referentes à frequência da prática de atividade física não incluída no conteúdo pedagógico escolar, a qual era realizada uma vez na semana. Assim, o escolar poderia ser classificado em ativo, pouco ativo e sedentário.

Também foi incluída no modelo teórico a variável prática de etilismo.

#### **- História de Doença Familiar**

O escolar e/ou seu responsável foram questionados quanto à ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis na família (obesidade, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e câncer) e, em caso positivo,

perguntou-se sobre o grau de parentesco do portador da doença com o participante da pesquisa.

### **- Exames Bioquímicos**

A coleta de sangue foi realizada pela manhã observando-se o jejum de pelo menos 12 horas. Foram coletados, por punção venosa, 10 mL de sangue, e depositados em tubos vacutainer (BD®) estéreis e descartáveis, sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos para posterior separação do soro, que foi utilizado para as determinações bioquímicas. As alíquotas de soro foram acondicionadas em *ependorf* previamente desmineralizado e armazenadas a -20 °C. Os valores de colesterol total, HDL-C, triglicerídeos e glicemia foram determinados pelo método enzimático. Os valores de LDL colesterol (LDL-C) foram calculados pela equação de Friedewald, válida para valores de TG < 400 mg% (Brandão et al, 2004):  $LDL-C = CT - HDL-C - (TG/5)$ . A glicemia foi determinada pelo método enzimático e foi adotada a classificação proposta pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009). As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas por técnico treinado sob a supervisão e orientação de integrantes da equipe, no espaço do Laboratório de Referência do Município, cedido pela Secretaria da Saúde.

As determinações séricas da homocisteína e cisteína foram realizadas no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Universidade Federal de São Paulo, por Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) com eluição isocrática e detecção fluorimétrica, considerada metodologia padrão-ouro para este procedimento (Cruz *et al.*, 2000). Resumidamente, o processo de dosagem envolveu a etapa de redução (para a redução e a liberação dos tióis ligados às

proteínas), de precipitação das proteínas e a etapa de derivatização, seguindo metodologia de Pfeiffer, Huff e Gunter (1999).

#### **- Processamento dos dados**

Após as rotinas de controle dos dados coletadas, estes foram digitados, à medida que chegavam de campo, utilizando-se o programa EPI-INFO, que tem caráter simplificado e evita erros grosseiros na entrada de dados.

#### **- Identificação das Variáveis**

As variáveis desfecho foram representadas pelos valores séricos de colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicérides. Estas dosagens foram medidas ao início e a cada seis meses do seguimento, totalizando três medidas ao longo do tempo. Para a análise descritiva dos dados, estas variáveis foram utilizadas na forma categórica. Para integrarem os modelos estatísticos, elas foram inseridas na forma contínua e variante no tempo.

Embora as classificações para perfil lipídico na infância e adolescência mais utilizadas no Brasil não considerem as variações por idade e sexo (Lauer *et al.*, 1992; SBC, 2005), estudos têm identificado que valores médios do colesterol total (CT), LDL-colesterol (LDL-c), HDL-colesterol (HDL-c) e triglicérides variam significativamente com a idade e gênero (Labarthe, D. *et al.*, 1997; Labarthe, D. R. *et al.*, 1997; Labarthe, 2005). Assim, optou-se por adotar a classificação e os pontos de corte sugeridos por Jolliffe e Janssen (2006), por considerar nesta classificação a idade e o sexo.

Para os escolares com menos de 12 anos, para os quais ainda não existem pontos de corte padronizado pela idade, adotou-se a recomendação do *National*

*Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) para classificar o HDL-c e aqueles propostos pelo *National Cholesterol Education Program* (NCEP) para a classificação do colesterol total, LDL-c e triglicérides nesta faixa etária.

As variáveis independentes principais foram representadas pelas concentrações de homocisteína (Hcy) e cisteína (Cys) séricas. Como não há pontos de corte estabelecidos para valores de Hcy e Cys séricas em crianças e adolescentes, adotou-se a distribuição em quintil para estes parâmetros bioquímicos. Assim, valores abaixo do 5º quintil de distribuição foram adotados como categoria de referência (0) e, acima dele, categoria de risco (1).

Para avaliar a relação entre as variáveis desfecho e a presença simultânea de concentrações elevadas de Hcy e Cys séricas, criou-se uma nova variável a partir da distribuição em quintil destes parâmetros bioquímicos. Para esta variável derivada, consideraram-se como condição de proteção as concentrações de Hcy e Cys simultaneamente abaixo do 5º quintil de distribuição ou apenas um dos parâmetros acima deste quintil (0). E, valores de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do 5º quintil de distribuição caracterizou a categoria de risco (1).

As covariáveis incluídas no estudo foram: a idade [ $<12$  anos (0);  $\geq 12$  anos (1)], sexo [feminino (0) e masculino (1)], índice socioeconômico [3º tercil (0); 2º e 1º tercis (1)], índice ambiental [3º tercil (0); 2º e 1º tercis (1)], escolaridade materna [nível médio e/ou superior (0); fundamental, ensino básico ou analfabeto (1)], estado antropométrico [adequado/baixo peso (0); excesso de peso (1)], pressão arterial [adequada (0); elevada (1)], glicemia [ $<100$ mg/dL (0);  $\geq 100$ mg/dL (1)], prática de atividade física [moderadamente ativo (0); pouco ativo / sedentário (1)],

história familiar de DCNT [não (0); sim (1)], consumo de alimentos protetores contra dislipidemia, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia [3º tercil (0); 1º e 2º tercis (1)], consumo de alimentos de risco para dislipidemia, hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia [1º tercil (0); 2º e 3º tercis (1)] e etilismo [não (0); sim (1)].

#### **- Análise Estatística**

A prevalência foi usada para descrever a distribuição dos lipídios séricos na população de estudo. A comparação destes fatores segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas foi realizada utilizando-se o teste  $\chi^2$ -quadrado de Pearson (para variáveis categóricas).

Para avaliar a influência das concentrações séricas de Hcy e Cys, isoladas e conjuntamente, sobre mudanças do perfil lipídico no período de 12 meses, foram construídos modelos de Equação de Estimação Generalizada (*Generalized Estimating Equations - GEE*), apropriados para variáveis respostas contínuas e medidas repetidas, refletindo a relação entre as variáveis respostas e as independentes, considerando a correlação e interdependência entre as medidas em cada momento no tempo (Twisk, 2003). Além disso, nenhuma suposição é feita sobre a distribuição das observações da variável resposta (Cui, 2007).

Para estimar os coeficientes de regressão, a GEE utiliza a estatística da quasi-verossimilhança (Twisk, 2003), que tem como vantagem a necessidade apenas da especificação da relação entre a média e a variância das observações para obter os estimadores dos parâmetros nos modelos de regressão (McCullagh e Nelder, 1989). A GEE é capaz de produzir estimativas mais eficientes e menos viciadas de dados correlacionados (repetidos), pois considera a estrutura de correlação intra e inter indivíduos (Twisk, 2003). Para o presente estudo, a matriz

escolhida foi a autoregressiva, que considera que as medidas têm uma relação auto-regressiva de interdependência em função do tempo (Twisk, 2003).

Para avaliar o ajuste do modelo aos dados, utilizou-se o *critério de quasi-verossimilhança sob o modelo de independência corrigido* (QIC<sub>c</sub>), que é uma adaptação do método *Akaike's information criterion* (AIC) para análises de GEE. O QIC é calculado a partir da comparação da quasi-verossimilhança do modelo de independência com a do modelo completo. Quanto menor o QIC, melhor o ajuste do modelo (Cui, 2007; Agranonik, 2009).

Foi construído um modelo para cada variável desfecho (colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicérides) – inseridas na forma contínua e variante no tempo – em função de cada variável de exposição principal (concentrações aumentadas de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas) – categorizadas em quintil.

Foram testados possíveis termos de interação – construídos com base na referência da literatura e na própria estrutura de dados do estudo – para avaliar o potencial de modificação do efeito das variáveis de exposição sobre a variável desfecho, utilizando o teste da razão de máxima verossimilhança (*log likelihood ratio test*), avaliando a significância do termo de interação no modelo multivariado; e variáveis de confundimento – aquelas associadas tanto com a exposição quanto com o desfecho, que foram avaliadas pela mudança de 10% ou mais na RP, comparando com a RP do modelo reduzido (Rothman, Greenland e Lash, 2008).

Inicialmente, realizou-se a análise univariada, com o intuito de selecionar as variáveis candidatas ao modelo multivariado, sendo selecionadas aquelas com valor de p menor que 20%. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento, foram incluídas no modelo como

covariáveis. No modelo final, permaneceram as variáveis que apresentaram significância menor que 5%.

As análises foram realizadas no pacote estatístico *Stata/IC for Mac (StataCorp, College Station)*, versão 12.0.

### **- Aspectos Éticos**

O protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia quanto à pertinência ética (Brasil, 1996), sob número 03/06.

A participação do escolar no estudo foi dependente da autorização escrita dos pais e/ou responsáveis. Após conhecerem os objetivos do estudo e concordarem com a inserção do menor na investigação, os pais e/ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Atendendo aos pressupostos éticos, todos os escolares que apresentaram alterações expressivas nos indicadores avaliados foram encaminhados ao serviço de saúde local e mantidos no estudo.

### **Resultados**

A amostra do presente estudo, comparada ao estudo original, apresentou perda de 57 indivíduos (10.5%) que tinham apenas dados referentes às dosagens de Hcy e Cys séricas. No entanto, quando comparadas com a idade e o sexo (únicas variáveis disponíveis), não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes entre estas dosagens bioquímicas para os escolares perdidos e aqueles que permaneceram no estudo (dados não mostrados).

Na Tabela 1 apresenta-se a distribuição dos fatores bioquímicos que caracterizam a população estudada, segundo o sexo. Concentrações de colesterol total, LDL-c e triglicérides aumentados foram observados, respectivamente, em 22.1%, 19.3% e 25.7% da população. Concentrações séricas baixas de HDL-c foram identificadas em 18.4% dos escolares. A prevalência de hiperhomocisteinemia e hipercisteinemia foi, respectivamente, de 18.7% e 18.8%. Foram identificadas diferenças estatisticamente significantes, segundo sexo, entre as prevalências de colesterol total elevado ( $p < 0.01$ ), HDL-c baixo ( $p = 0.02$ ) e hiperhomocisteinemia ( $p = 0.01$ ).

**Tabela 1** – Prevalência total dos fatores bioquímicos alterados e distribuição segundo o sexo na população do estudo. Mutuípe-Ba, 2006.

	Total N(%)	Feminino N(%)	Masculino N(%)	Valor de p*
CT elevado	107 (22.1)	79 (73.8)	28 (26.2)	<b>&lt;0.01</b>
LDL-c elevado	93 (19.3)	59 (63.4)	34 (36.6)	0.33
HDL-c baixo	89 (18.4)	43 (48.3)	46 (51.7)	<b>0.02</b>
TGL elevados	124 (25.7)	82 (66.1)	42 (33.9)	0.05
HCY elevada ( $\geq 5^{\circ}$ quintil)	90 (18.7)	42 (14.8)	48 (24.2)	<b>0.01</b>
CYS elevada ( $\geq 5^{\circ}$ quintil)	91 (18.8)	53 (18.7)	38 (19.1)	0.78
HCY+CYS elevadas ( $\geq 5^{\circ}$ quintil)	40 (08.3)	19 (07.8)	21 (09.0)	0.61

Tamanho da amostra: 483

Legenda: CT=colesterol total; HDL=lipoproteína de alta densidade; LDL=lipoproteína de baixa densidade; TGL=triglicérides; HCY= homocisteína: 5° quintil  $\geq 8.5\mu\text{mol/L}$

CYS= cisteína: 5° quintil  $\geq 463.4\mu\text{mol/L}$

\*significância estatística para o teste Qui-quadrado de Pearson

A distribuição do perfil lipídico da população investigada, segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas, está apresentada na Tabela 2. Observou-se maior prevalência de hiperhomocisteinemia (20.1%) em crianças e adolescentes com concentrações elevadas de triglicérides ( $p = 0.02$ ). Para as demais associações, não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes.

**Tabela 2 -** Características sócio-demográficas, clínicas e de estilo de vida de crianças e adolescentes segundo valores de Hcy, Cys e Hcy+Cys séricas. Mutuípe-Ba, 2006.

Variável	HCY elevada* n(%)	Valor de p <sup>∞</sup>	CIS elevada** n(%)	Valor de p <sup>∞</sup>	HCY+CYS elevadas n(%)	Valor de p <sup>∞</sup>
<b><u>Colesterol total</u></b>						
Elevado	21 (19.6)	0.76	18 (16.8)	0.54	10 (8.0)	0.65
Adequado	69 (18.4)		73 (19.4)		30 (9.3)	
<b><u>LDL-colesterol</u></b>						
Elevado	19 (20.4)	0.62	18 (19.3)	0.88	08 (8.6)	0.90
Adequado	71 (18.2)		73 (18.7)		32 (8.2)	
<b><u>HDL-colesterol</u></b>						
Baixo	12 (13.5)	0.16	14 (15.7)	0.40	07 (5.5)	0.07
Adequado	78 (19.8)		77 (19.5)		33 (8.7)	
<b><u>Triglicérides</u></b>						
Elevado	25 (20.1)	<b>0.02</b>	21 (17.0)	0.52	08 (4.9)	0.14
Adequado	65 (15.2)		69 (19.5)		32 (9.4)	

Tamanho da amostra: 483

\* HCY elevada  $\geq$  5ºquartil (8.5 $\mu$ mol/L)

\*\* CYS elevada  $\geq$  5ºquartil (463.4 $\mu$ mol/L)

<sup>∞</sup> valor de p significante para o teste Qui-quadrado de Pearson

Na Tabela 3 são apresentados os resultados brutos e ajustados das análises de GEE para o perfil lipídico. No modelo bruto da relação entre concentrações de Hcy e valores séricos de HDL-c, observou-se que escolares que apresentavam valores iniciais de Hcy acima do 5º quintil de distribuição ( $>8.5 \mu\text{mol/L}$ ) tiveram redução de 2.31mg/dL ( $p<0.01$ ) na média do HDL-c, no período de 12 meses de seguimento, quando comparados àqueles cujas concentrações iniciais de Hcy encontravam-se abaixo do 5º quintil. Ao ajustar pelos blocos de variáveis sócio-demográficas, de consumo alimentar e antropométrica, a diminuição da média do HDL-c de escolares que apresentavam valores iniciais de Hcy acima do 5º quintil foi de 2.91mg/dL ( $p<0.01$ ), no período de 12 meses de acompanhamento, quando comparados aos escolares que apresentaram valores iniciais de Hcy abaixo deste percentil.

Identificou-se que valores de Cys acima do 5º quintil (463.4µmol/L) ao início do estudo reduziram em 1.32mg/dl a média do HDL-c em 12 meses de seguimento, quando comparada à redução promovida pelas concentrações de Cys abaixo deste quintil, no modelo bruto ( $p=0.02$ ). Ao ajustar por variáveis sócio-demográficas, de consumo alimentar e antropométrica, valores de Cys acima do 5º quintil ao início do estudo reduziram em 1.95mg/dL a média do HDL-c no período de 12 meses, ao comparar com a redução promovida pelos valores iniciais de Cys abaixo deste quintil ( $p<0.01$ ) (Tabela 3).

Escolares com concentrações de Hcy e Cys simultaneamente acima do 5º quintil de distribuição tiveram uma redução de 1.80mg/dL na média do HDL-c em 12 meses de acompanhamento, ao comparar com escolares que apresentavam concentrações de Hcy e Cys simultaneamente abaixo deste quintil ( $p=0.01$ ), no modelo bruto. E, ao ajustar por variáveis sócio-demográficas, de consumo alimentar e antropométrica, a redução na média do HDL-c foi de 3.65mg/dL no período de 12 meses, quando comparada à redução promovida por concentrações de ambos parâmetros bioquímicos abaixo do 5º quintil ( $p<0.01$ ) (Tabela 3).

Para as concentrações de triglicérides séricos, observou-se que, no modelo bruto, escolares que apresentaram valores iniciais de Hcy acima do 5º quintil aumentaram em 1.04mg/dL a média dos triglicérides, em 12 meses de acompanhamento, quando comparados àqueles que apresentaram valores iniciais deste parâmetro bioquímico abaixo do 5º quintil ( $p<0.01$ ). Ao incluir variáveis sócio-demográficas, de consumo alimentar e antropométrica, o incremento na média dos triglicérides foi de 1.58mg/dL em 12 meses de

seguimento, quando comparado ao aumento ocorrido em indivíduos com valores iniciais de Hcy abaixo do 5º quintil ( $p < 0.01$ ) (Tabela 3).

Valores de Cys acima do 5º quintil ao início do estudo, no modelo bruto, promoveram incremento de 1.62mg/dL na média dos triglicérides séricos, após 12 meses de acompanhamento, quando comparado ao incremento promovido por valores de Cys abaixo deste quintil ( $p < 0.01$ ). Ajustando-se por variáveis sócio-demográficas, de consumo alimentar e antropométrica, o aumento na média dos triglicérides foi de 1.76mg/dL no período de um ano de seguimento, quando comparado ao incremento promovido por valores de Cys abaixo do 5º quintil ( $p = 0.03$ ) (Tabela 3).

Por fim, escolares com concentrações de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do 5º quintil, ao início do seguimento, tiveram acréscimo de 2.09mg/dl ( $p < 0.01$ ) na média dos triglicérides séricos durante um ano de acompanhamento, no modelo bruto, quando comparado ao incremento promovido por concentrações destes parâmetros bioquímicos abaixo do 5º quintil, identificado ao início do estudo. Ao ajustar por variáveis sócio-demográficas, de consumo alimentar e antropométrica, concentrações de Hcy e Cys séricas simultaneamente acima do 5º quintil elevaram em 3.53mg/dL a média dos triglicérides em 12 meses de seguimento, quando comparada à elevação promovida por valores destes parâmetros bioquímicos abaixo do 5º quintil ao início do estudo ( $p < 0.01$ ) (Tabela 3).

Todos os modelos apresentados se ajustaram bem aos dados, avaliados por meio do critério de QIC, havendo redução deste indicador nos modelos finais em comparação aos modelos brutos (Tabela 3).

Não foram observadas mudanças estatisticamente significantes nos valores médios do colesterol total e LDL-c relacionadas às concentrações séricas de Hcy, Cys e Hcy+Cys.

**Tabela 3** - Modelos de Equação de Estimação Generalizada para a relação entre concentrações elevadas de homocisteína, cisteína e homocisteína + cisteína séricas e o perfil lipídico, durante 12 meses de seguimento. Mutuípe-Ba, 2006.

	HDL-colesterol	Triglicérides
<b>HCY*</b>		
Modelo Bruto	- 2.31 (-3.72;-0.90); <0.01	1.04 (0.63-1.45); <0.01
QIC	124.085	122.927
Modelo Final†	-2.91 (-4.54;-1.28); <0.01	1.58 (1.08-2.07); <0.01
QIC	94.336	111.400
<b>CYS**</b>		
Modelo Bruto	- 1.32 (-2.49;-0.16); 0.02	1.62 (0.95-2.30); <0.01
QIC	124.437	122.966
Modelo Final†	- 1.95 (-3.31;-0.60); <0.01	1.76 (1.07-2.46); <0.01
QIC	94.694	111.196
<b>HCY+CYS</b>		
Modelo Bruto	- 1.80 (-3.2;-0.39); 0.01	2.09 (1.26-2.93); <0.01
QIC	124.500	13.549
Modelo Final†	- 3.65 (-5.7;-1.59); <0.01	3.53 (2.45-4.41); <0.01
QIC	94.486	10.542

Tamanho da amostra: 483

\*HCY = homocisteína sérica → 5ºquartil: >8.5 µmol/L

\*\*CIS = cisteína sérica → 5ºquartil: >463.4 µmol/L

† Ajustado por variáveis sócio-demográficas, de consumo alimentar e antropométrica

## Discussão

As elevadas prevalências de alterações do perfil lipídico identificadas nas crianças e adolescentes do presente estudo são concordantes com aquelas identificadas em regiões de países desenvolvidos e em desenvolvimento e, fazem sobressair tanto a tendência de aumento do evento em várias partes do mundo quanto a precocidade da sua ocorrência (Romaldini *et al.*, 2004; Scherr, Magalhães e Malheiros, 2007). Neste contexto das DCNT, com destaque para as dislipidemias, estudos recentes têm identificado associação entre concentrações elevadas de Hcy e Cys e alterações negativas do perfil lipídico não só em adultos (Refsum *et*

*al.*, 2006; Chang *et al.*, 2008), como também em crianças e adolescentes (El-Khairi *et al.*, 2003b; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy *et al.*, 2012).

Prevalência elevada de hiperhomocisteinemia identificada entre as crianças e adolescentes deste estudo (18.7%) se assemelha à registrada para escolares de um município de São Paulo (19.2%) (Brasileiro *et al.*, 2005). Para a Cys sérica elevada, a prevalência encontrada (18.8%) foi maior que a única identificada em estudo com adolescentes do município brasileiro de Santo André (9.8%) (Pereira Da Silva *et al.*, 2013). Embora pequenas, estas diferenças podem refletir os diferentes diagnósticos adotados em cada estudo, uma vez que não há ponto de corte padronizado para classificação dos estados de adequação dos níveis de Hcy e Cys em crianças e adolescentes. Mas, independentemente desta questão, os resultados destes estudos sinalizam para o problema de saúde infantil no Brasil, podendo se configurar como importante, embora evitável, preditor de dislipidemia precoce.

O contexto deste cenário epidemiológico da relação entre Hcy, Cys e parâmetros lipídicos na infância tem sido pautado pelos resultados de estudos transversais (Anand *et al.*, 2009; Gil-Prieto *et al.*, 2009; Pereira Da Silva *et al.*, 2013) e na população adulta (El-Khairi *et al.*, 2001; Xiao *et al.*, 2011; Elshorbagy *et al.*, 2012). Não foram identificados estudos longitudinais que abordassem a relação entre Hcy, Cys e parâmetros lipídicos na infância.

No entanto, estudo de caso-coorte identificou maior risco de infarto isquêmico em crianças alemãs com altas concentrações de Hcy (Van Beynum *et al.*, 1999). E, dados da coorte de crianças do *Bogalusa Heart Study* mostraram valores mais

elevados de Hcy sérica em crianças com história familiar de doença cardiovascular (Greenlund *et al.*, 1999).

Assim, é possível supor que concentrações aumentadas de Hcy e Cys na infância possam contribuir para a ocorrência de eventos cardiovasculares em fases mais tardias da vida, em especial naqueles indivíduos com história familiar destas doenças.

Com base no estágio do conhecimento atual, é possível pensar que estas relações possam ter intensidade mais acentuada quando as concentrações séricas de Hcy e Cys estão simultaneamente aumentadas, indicando influência negativa mais impactante sobre o perfil lipídico do que valores isoladamente elevados de Hcy e Cys séricas.

Embora não tenha sido encontrado resultado de estudo com esta abordagem para crianças, as indicações a partir de estudo de caráter transversal realizado com população adulta registrou valores mais baixos de HDL-c em indivíduos com concentrações simultaneamente elevadas de Hcy e Cys, resultado que foi mantido mesmo após ajuste por variáveis demográficas, de estilo de vida e clínicas (Xiao *et al.*; 2011), se assemelhando aos achados deste estudo para crianças e adolescentes.

Embora os resultados dos estudos clínicos e epidemiológicos sejam considerados consistentes, aqueles oriundos dos estudos experimentais ainda não elucidaram totalmente os mecanismos pelos quais estas relações ocorrem. Atualmente, os resultados de alguns estudos destacam como mecanismo mais plausível para explicar a relação entre valores de Hcy e alterações do HDL-c a inibição do fator de transcrição da apolipoproteína A-1 (Apo-AI) – receptor ativado por

proliferadores de peroxissoma (PPAR), que atua na síntese de HDL-c. Assim, concentrações elevadas de Hcy inibem a conversão do fator de transcrição da Apo-AI, limitando a síntese de HDL-c nos hepatócitos, alterando o transporte reverso do colesterol total, induzindo a aterosclerose (Mikael, Genest e Rozen, 2006; Liao, Yang e Wang, 2007). Além disso, estudos experimentais têm demonstrado que a hiperhomocisteinemia aumenta a expressão da proteína de ligação a elemento regulador de esterol 1 (SREBP-1) – que atua na biossíntese do colesterol e triglicérides – favorecendo alterações nas concentrações séricas destas lipoproteínas (Werstuck *et al.*, 2001).

É postulado que os mecanismos envolvidos na ação negativa da hiperhomocisteinemia sobre o perfil lipídico estejam também presentes na relação entre concentrações aumentadas de Cys e alterações dos lipídios séricos, justificando as associações identificadas nesta e em outras investigações.

Entende-se que as evidências científicas registradas neste estudo são consistentes e robustas, oriundas de desenho de estudo de coorte com logística de acompanhamento bem estruturada e perdas inexpressivas, e com adoção de estratégias estatísticas apropriadas à estrutura dos dados. Além disto, estes resultados são consistentes com aqueles estabelecidos por outros investigadores.

Assim, o conjunto dos resultados deste estudo sugere que estes eventos não ocorreram por acaso. Desta forma, concentrações elevadas de Hcy e Cys podem se configurar como medidas de risco para a ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis, particularmente as dislipidemias, também na faixa etária pediátrica. Neste sentido os resultados deste estudo sustentam a indicação de

implantação de ações para a prevenção e controle das doenças crônicas não transmissíveis desde a infância.

## Referências

AGRANONIK, M. **Equações de Estimação Generalizada (GEE): aplicação em estudo sobre mortalidade neonatal em gemelares de Porto Alegre, RS (1995-2007)**. 2009. 110 (Dissertação (mestrado)). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

AL-SHEHRI, S. N. et al. Prevalence of hyperlipidemia among Saudi school children in Riyadh. **Annals of Saudi Medicine**, v. 24, n. 1, p. 6-8, Jan-Feb 2004. ISSN 0256-4947. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000188879200003 >.

ANAND, P. et al. Serum homoCysteine in Indian adolescents. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 76, n. 7, p. 705-709, Jul 2009. ISSN 0019-5456. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000269152700004 >.

ARAKI, M.; BARROS, C.; SANTOS, E. Análise do perfil lipídico de crianças e adolescentes do estado de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 6, n. 12, 2010.

ASSIS, A. et al. **Diagnóstico de saúde e nutrição da população de Mutuípe-Ba**. Salvador: Editora UFBA, 2002.

BRASILEIRO, R. S. et al. Plasma total homoCysteine in Brazilian overweight and non-overweight adolescents: a case-control study. **Nutr Hosp**, v. 20, n. 5, p. 313-9, Sep-Oct 2005. ISSN 0212-1611 (Print)

0212-1611 (Linking).

CHANG, P.-Y. et al. HomoCysteine inhibits arterial endothelial cell growth through transcriptional downregulation of fibroblast growth factor-2 involving G protein and DNA methylation. **Circulation Research**, v. 102, n. 8, p. 933-941, Apr 25 2008. ISSN 0009-7330. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000255296300012 >.

CRUZ, E. N. D. et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **J Bras Patol**, v. 36, n. 3, p. 166-73, 2000.

CUI, J. QIC program and model selection in GEE analyses. **Stata Journal**, v. 7, n. 2, p. 209-220, 2007 2007. ISSN 1536-867X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000248072200005 >.

EL-KHAIRY, L. et al. Plasma total Cysteine as a risk factor for vascular disease - The European Concerted Action project. **Circulation**, v. 103, n. 21, p. 2544-2549, May 29 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000169012800015 > .

\_\_\_\_\_. Plasma total Cysteine, mortality, and cardiovascular disease hospitalizations: The Hordaland HomoCysteine Study. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 895-900, Jun 2003a. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000183088100009 > .

\_\_\_\_\_. Predictors of change in plasma total Cysteine: Longitudinal findings from the hordaland homoCysteine study. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 113-120, Jan 2003b. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000180195700015 > .

ELSHORBAGY, A. K. et al. The association of fasting plasma sulfur-containing compounds with BMI, serum lipids and apolipoproteins. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 12, p. 1031-1038, Dec 2012. ISSN 0939-4753. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000311798500005 > .

GIL-PRIETO, R. et al. Plasma homoCysteine in adolescents depends on the interaction between methylenetetrahydrofolate reductase genotype, lipids and folate: a seroepidemiological study. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, Oct 5 2009. ISSN 1743-7075. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000270973700001 > .

GIULIANO, I. D. C. B. et al. Lípidos séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis, SC: Estudo Floripa saudável 2040. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, p. 85-91, 2005. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2005001500003&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2005001500003&nrm=iso) > .

GREENLUND, K. J. et al. Plasma homoCysteine distribution and its association with parental history of coronary artery disease in black and white children - The Bogalusa Heart Study. **Circulation**, v. 99, n. 16, p. 2144-2149, Apr 1999. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000079866500015 > .

JOLLIFFE, C. J.; JANSSEN, I. Distribution of lipoproteins by age and gender in adolescents. **Circulation**, v. 114, n. 10, p. 1056-1062, Sep 5 2006. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000240244700010 > .

LABARTHE, D. Emergency of risk factors in children. In: MARMOT, M. e ELLIOTT, P. (Ed.). **Coronary Heart Disease Epidemiology: from aetiology to public health**. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Oxford, 2005. cap. 34,

LABARTHE, D. et al. Change in blood lipid components during adolescence differs importantly by sex and is not consistently related to change in body fat: Project HeartBeat! **Canadian Journal of Cardiology**, v. 13, n. Suppl.B, 1997.

LABARTHE, D. R. et al. Development of cardiovascular risk factors from ages 8 to 18 in Project HeartBeat! Study design and patterns of change in plasma total cholesterol concentration. **Circulation**, v. 95, n. 12, p. 2636-2642, Jun 17 1997. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XD76100011 >.

LAUER, R. M. et al. NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION-PROGRAM (NCEP) - HIGHLIGHTS OF THE REPORT OF THE EXPERT PANEL ON BLOOD CHOLESTEROL LEVELS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS. **Pediatrics**, v. 89, n. 3, p. 495-501, Mar 1992. ISSN 0031-4005. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1992HG52900026 >.

LIAO, D.; YANG, X.; WANG, H. HyperhomoCysteinemia and high-density lipoprotein metabolism in cardiovascular disease. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 45, n. 12, p. 1652-1659, 2007 2007. ISSN 1434-6621. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000251964000011 >.

LOHMAN, T.; ROCHE, A.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Human Kinetics Books, 1988.

MAI, X.-M. et al. Cross-Sectional and Prospective Cohort Study of Serum 25-Hydroxyvitamin D Level and Obesity in Adults. **American Journal of Epidemiology**, v. 175, n. 10, p. 1029-1036, May 15 2012. ISSN 0002-9262. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304199000008 >.

MCCULLAGH, P.; NELDER, J. **Generalized Linear Models**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Chapman & Hall, 1989.

MIKAEL, L. G.; GENEST, J.; ROZEN, R. Elevated homoCysteine reduces apolipoprotein A-I expression in hyperhomoCysteinemic mice and in males with coronary artery disease. **Circulation Research**, v. 98, n. 4, p. 564-571, Mar 3 2006. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000235728300022 >.

MONTEIRO, R. D. C. D. A.; RIETHER, P. T. A.; BURINI, R. C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 479-489, 2004. ISSN 1415-5273. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso) >.

MOURA, E. C. et al. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 499-505, 2000. ISSN 0034-8910. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-8910200000500010&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-8910200000500010&nrm=iso) >.

NARIN, F. et al. The association of plasma homoCysteine levels with serum leptin and apolipoprotein B levels in childhood obesity. **Annals of Saudi Medicine**, v. 25, n. 3, p. 209-214, May-Jun 2005. ISSN 0256-4947. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000230606300004 >.

ONIS, M. et al. **Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents**. ORGANIZATION, W. W. H. 85 2007.

PEREIRA DA SILVA, N. et al. HomoCysteine and Cysteine levels in prepubertal children: Association with waist circumference and lipid profile. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 166-171, 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900712002675> >.

PFEIFFER, C. M.; HUFF, D. L.; GUNTER, E. W. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homoCysteine and Cysteine in a clinical laboratory setting. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 290-292, Feb 1999. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078496700022 >.

REFSUM, H. et al. The hordaland homoCysteine study: A community-based study of homoCysteine, its determinants, and associations with disease. **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1731S-1740S, Jun 2006. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237993400017 >.

ROMALDINI, C. C. et al. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. 135-140, 2004. ISSN 0021-7557. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-75572004000200011&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572004000200011&nrm=iso) >.

ROSNER, B. **Fundamentals of Biostatistics**. 7.ed. Brooks/Cole, Cengage Learning, 2010.

ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern Epidemiology**. 3<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

SBC. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, p. 3-36, 2005. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso) >.

SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes** 2009.

SCHERR, C.; MAGALHÃES, C. K.; MALHEIROS, W. Análise do perfil lipídico em escolares. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 89, p. 73-78, 2007. ISSN 0066-782X. Disponível em: <  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2007001400001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007001400001&nrm=iso) >.

TAYLOR, B. V.; OUDIT, G. Y.; EVANS, M. HomoCysteine, vitamins, and coronary artery disease - Comprehensive review of the literature. **Canadian Family Physician**, v. 46, p. 2236-2245, Nov 2000. ISSN 0008-350X. Disponível em: <  
<Go to ISI>://WOS:000165435700021 >.

TWISK, J. **Applied longitudinal data analysis for epidemiology: a practical guide**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.

VAN BEYNUM, I. M. et al. HyperhomoCysteinemia - A risk factor for ischemic stroke in children. **Circulation**, v. 99, n. 16, p. 2070-2072, Apr 27 1999. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000079866500003 >.

WALD, D. S.; LAW, M.; MORRIS, J. K. HomoCysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 325, n. 7374, p. 1202-1206K, Nov 23 2002. ISSN 0959-535X. Disponível em: <  
<Go to ISI>://WOS:000179506200018 >.

WERSTUCK, G. H. et al. HomoCysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 10, p. 1263-1273, May 2001. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000168867400011 >.

XIAO, Y. et al. Relationship between lipid profiles and plasma total homoCysteine, Cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, Aug 12 2011. ISSN 1476-511X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000294844400001 >.

## **6 Considerações Finais**

As evidências deste estudo são consistentes e robustas, oriundas de estudo de coorte com logística bem estruturada e com adoção de estratégias estatísticas apropriadas à estrutura dos dados, sustentadas pela plausibilidade biológica e por resultados prévios de estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos.

Neste sentido, identificou-se que concentrações elevadas de hcy e cys séricas estão associadas ao ganho de peso e a alterações negativas do perfil lipídico em crianças e adolescentes, relações que se intensificam quando ambos os parâmetros bioquímicos estão simultaneamente aumentados.

Estes resultados sugerem a importância clínica e epidemiológica das concentrações séricas de hcy e cys, que podem atuar como preditores precoces e independentes do ganho de peso e de alterações lipídicas em crianças e adolescentes, contribuindo para a prevenção e controle das DCNT na infância e na vida adulta precoce e tardia.

## Referências da Tese

- ABESO. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. Itapevi, São Paulo: Abeso - Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica 2009.
- AGRANONIK, M. **Equações de Estimação Generalizada (GEE): aplicação em estudo sobre mortalidade neonatal em gemelares de Porto Alegre, RS (1995-2007)**. 2009. 110 (Dissertação (mestrado)). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- AKAIKE, H. Information theory and an extension of the likelihood ratio principle. In: PETROV, B. e CSAKI, F. (Ed.). **Proceedings of the second international symposium of information theory**. Budapest: Akademiai Kiado, 1973.
- ANAND, P. et al. Serum homocysteine in Indian adolescents. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 76, n. 7, p. 705-709, Jul 2009. ISSN 0019-5456. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000269152700004 >.
- ARAKI, M.; BARROS, C.; SANTOS, E. Análise do perfil lipídico de crianças e adolescentes do estado de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 6, n. 12, 2010.
- ASSIS, A. et al. **Diagnóstico de saúde e nutrição da população de Mutuípe-Ba**. Salvador: Editora UFBA, 2002.
- AUSTIN, R. C.; LENTZ, S. R.; WERSTUCK, G. H. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. **Cell Death and Differentiation**, v. 11, p. S56-S64, Jul 2004. ISSN 1350-9047. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000222512900013 >.
- BARROS, A.; HIRAKATA, V. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. **BMC Med Res Methodol**, v. 3, n. 21, 2003.
- BATISTA FILHO, M. et al. Anemia and obesity: a paradox of the nutritional transition in Brazil. **Cadernos De Saude Publica**, v. 24, p. S247-S257, 2008 2008. ISSN 0102-311X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000258334600010 >.
- BIESHEUVEL, C. J. et al. Polytomous logistic regression analysis could be applied more often in diagnostic research. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 61, n. 2, p. 125-134, Feb 2008. ISSN 0895-4356. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000252333700005 >.

BITTENCOURT, H. Regressão Logística Polinômica: revisão teórica e aplicações. **Revista de Ciências Naturais e Exatas**, v. 5, n. 1, 2003.

BRANDÃO, A. et al. *Prevenção da Doença Cardiovascular: A Aterosclerose se Inicia na Infância?* **Revista da SOCERJ**, v. 17, n. 1, 2004.

BRASIL. **Resolução nº 196 de 1996. Aprova as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.** SAÚDE, M. D. S. C. N. D. Brasília: Ministério da Saúde 1996.

\_\_\_\_\_. **Cadernos de Atenção Básica - Obesidade.** SAÚDE, M. D. Brasília: Ministério da Saúde: 108 p. 2006a.

\_\_\_\_\_. **Prevenção clínica de doenças cardiovasculares, cerebrovasculares e renais.** BÁSICA., M. D. S. S. D. A. À. S. D. D. A. Brasília: Ministério da Saúde: 56 p. 2006b.

BRASILEIRO, R. S. et al. Plasma total homocysteine in Brazilian overweight and non-overweight adolescents: a case-control study. **Nutr Hosp**, v. 20, n. 5, p. 313-9, Sep-Oct 2005. ISSN 0212-1611 (Print)

0212-1611 (Linking).

CASANUEVA E, V. et al. Homocisteína en niños y adolescentes. Relación con historia familiar de enfermedad cardiovascular. **Revista médica de Chile**, v. 131, p. 997-1002, 2003. ISSN 0034-9887. Disponível em: < [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872003000900005&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872003000900005&nrm=iso) >.

CHANG, P.-Y. et al. Homocysteine inhibits arterial endothelial cell growth through transcriptional downregulation of fibroblast growth factor-2 involving G protein and DNA methylation. **Circulation Research**, v. 102, n. 8, p. 933-941, Apr 25 2008. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000255296300012 >.

CODONER-FRANCH, P. et al. New factors of cardiometabolic risk in severely obese children: influence of pubertal status. **Nutricion Hospitalaria**, v. 25, n. 5, p. 845-851, Sep-Oct 2010. ISSN 0212-1611. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000282562800025 >.

CRUZ, E. N. D. et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **J Bras Patol**, v. 36, n. 3, p. 166-73, 2000.

CUI, J. QIC program and model selection in GEE analyses. **Stata Journal**, v. 7, n. 2, p. 209-220, 2007. ISSN 1536-867X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000248072200005 >.

DAI, S. et al. Blood Lipids in Children: Age-Related Patterns and Association with Body-Fat Indices Project HeartBeat! **American Journal of Preventive Medicine**, v. 37, n. 1, p. S56-S64, Jul 2009. ISSN 0749-3797. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267343900009 >.

DELISLE, H.; STRYCHAR, I. Obesity at adolescence: prevention is timely even in low income countries. **SCN News**, v. 32, p. 51-7, 2006.

DWYER, T. et al. Cohort Profile: The International Childhood Cardiovascular Cohort (i3C) Consortium. **International Journal of Epidemiology**, v. 42, n. 1, p. 86-96, Feb 2013. ISSN 0300-5771. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000316699300010 >.

EL-KHAIRY, L. et al. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total cysteine in plasma: the Hordaland Homocysteine Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1016-1024, Dec 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000089688800011 >.

\_\_\_\_\_. Plasma total cysteine as a risk factor for vascular disease - The European Concerted Action project. **Circulation**, v. 103, n. 21, p. 2544-2549, May 29 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000169012800015 >.

\_\_\_\_\_. Predictors of change in plasma total cysteine: Longitudinal findings from the hordaland homocysteine study. **Clinical Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 113-120, Jan 2003. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000180195700015 >.

ELSHORBAGY, A. K. et al. Cysteine and obesity: consistency of the evidence across epidemiologic, animal and cellular studies. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 15, n. 1, p. 49-57, Jan 2012. ISSN 1363-1950. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000298154800008 >.

\_\_\_\_\_. Homocysteine, cysteine, and body composition in the Hordaland Homocysteine Study: does cysteine link amino acid and lipid metabolism? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 738-746, Sep 1 2008. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000259057700021 >.

\_\_\_\_\_. The Association of Plasma Cysteine and gamma-Glutamyltransferase With BMI and Obesity. **Obesity**, v. 17, n. 7, p. 1435-1440, Jul 2009. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267483800023 >.

\_\_\_\_\_. Cysteine and Obesity. **Obesity**, v. 20, n. 3, p. 473-481, Mar 2012. ISSN 1930-7381. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000300843500001 > .

\_\_\_\_\_. The association of fasting plasma sulfur-containing compounds with BMI, serum lipids and apolipoproteins. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 12, p. 1031-1038, Dec 2012. ISSN 0939-4753. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000311798500005 > .

\_\_\_\_\_. The Association of Cysteine with Obesity, Inflammatory Cytokines and Insulin Resistance in Hispanic Children and Adolescents. **Plos One**, v. 7, n. 9, Sep 11 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000308638700047 > .

FRANCISCO, P. M. S. B. et al. Medidas de associação em estudo transversal com delineamento complexo: razão de chances e razão de prevalência. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, p. 347-355, 2008. ISSN 1415-790X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-790X2008000300002&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2008000300002&nrm=iso) > .

FREEDMAN, D. S. et al. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 308-317, Feb 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078198000022 > .

FUKAGAWA, N. K. et al. Sex-related differences in methionine metabolism and plasma homocysteine concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 1, p. 22-29, Jul 2000. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000087871100005 > .

GANJI, V.; KAFI, M. R. Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 4, p. 826-833, Apr 2003. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000181747600013 > .

GIL-PRIETO, R. et al. Plasma homocysteine in adolescents depends on the interaction between methylenetetrahydrofolate reductase genotype, lipids and folate: a seroepidemiological study. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, Oct 5 2009. ISSN 1743-7075. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000270973700001 > .

GREENLUND, K. J. et al. Plasma homocysteine distribution and its association with parental history of coronary artery disease in black and white children - The Bogalusa

Heart Study. **Circulation**, v. 99, n. 16, p. 2144-2149, Apr 1999. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000079866500015 >.

HEINZL, H.; WALDHOR, T.; MITTLBOCK, M. Careful use of pseudo R-squared measures in epidemiological studies. **Statistics in Medicine**, v. 24, n. 18, p. 2867-2872, Sep 30 2005. ISSN 0277-6715. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232118700009 >.

HOEG, J. M. Evaluating coronary heart disease risk - Tiles in the mosaic. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 277, n. 17, p. 1387-1390, May 7 1997. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997WW26100029 >.

HOSMER, D.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: John Wiley, 2000.

HUMPHREY, L. L. et al. Homocysteine Level and Coronary Heart Disease Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 11, p. 1203-1212, Nov 2008. ISSN 0025-6196. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000260743900003 >.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. ESTATÍSTICA, I. B. D. G. E. Rio de Janeiro: IBGE: 150 p. 2011.

JACQUES, P. F. et al. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 3, p. 613-621, Mar 2001. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000167111900020 >.

\_\_\_\_\_. Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third national health and nutrition examination survey. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 482-489, Mar 1999. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000078832700021 >.

JOLLIFFE, C. J.; JANSSEN, I. Distribution of lipoproteins by age and gender in adolescents. **Circulation**, v. 114, n. 10, p. 1056-1062, Sep 5 2006. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000240244700010 >.

KANG, S. S. Treatment of hyperhomocyst(e)inemia: Physiological basis. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 4, p. S1273-S1275, Apr 1996. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UD16700049 >.

KLEINBAUM, D. G.; KLEIN, M. **Logistic Regression A Self-Learning Text**. 5.ed. Springer, 2010.

LABARTHE, D. Emergency of risk factors in children. In: MARMOT, M. e ELLIOTT, P. (Ed.). **Coronary Heart Disease Epidemiology: from aetiology to public health**. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Oxford, 2005. cap. 34,

LABARTHE, D. et al. Change in blood lipid components during adolescence differs importantly by sex and is not consistently related to change in body fat: Project HeartBeat! **Canadian Journal of Cardiology**, v. 13, n. Suppl.B, 1997.

LABARTHE, D. R. et al. Development of cardiovascular risk factors from ages 8 to 18 in Project HeartBeat! Study design and patterns of change in plasma total cholesterol concentration. **Circulation**, v. 95, n. 12, p. 2636-2642, Jun 17 1997. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XD76100011 >.

LASKAWSKA-KLITA, T.; SZYMCZAK, E.; RADOMYSKA, B. Serum homocysteine and lipoprotein (a) concentrations in hypercholesterolemic and normocholesterolemic children. **Clinical Pediatrics**, v. 40, n. 3, p. 149-154, Mar 2001. ISSN 0009-9228. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000167625900004 >.

LAUER, R. M. et al. NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION-PROGRAM (NCEP) - HIGHLIGHTS OF THE REPORT OF THE EXPERT PANEL ON BLOOD CHOLESTEROL LEVELS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS. **Pediatrics**, v. 89, n. 3, p. 495-501, Mar 1992. ISSN 0031-4005. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1992HG52900026 >.

LEHNINGER, A. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier: 2000.

LIANG, K. Y.; ZEGER, S. L. LONGITUDINAL DATA-ANALYSIS USING GENERALIZED LINEAR-MODELS. **Biometrika**, v. 73, n. 1, p. 13-22, Apr 1986. ISSN 0006-3444. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1986A734100002 >.

LIAO, D.; YANG, X.; WANG, H. Hyperhomocysteinemia and high-density lipoprotein metabolism in cardiovascular disease. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 45, n. 12, p. 1652-1659, 2007 2007. ISSN 1434-6621. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000251964000011 >.

LOHMAN, T.; ROCHE, A.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Human Kinetics Books, 1988.

MAGNUSSEN, C. G. et al. Utility of currently recommended pediatric dyslipidemia classifications in predicting dyslipidemia in adulthood - Evidence from the childhood

determinants of adult health (CDAH) study, Cardiovascular Risk in Young Finns Study, and Bogalusa Heart Study. **Circulation**, v. 117, n. 1, p. 32-42, Jan 1 2008. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000252094100008 >.

MAI, X.-M. et al. Cross-Sectional and Prospective Cohort Study of Serum 25-Hydroxyvitamin D Level and Obesity in Adults. **American Journal of Epidemiology**, v. 175, n. 10, p. 1029-1036, May 15 2012. ISSN 0002-9262. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304199000008 >.

MALINOW, M. R. HOMOCYST(E)INE AND ARTERIAL OCCLUSIVE DISEASES. **Journal of Internal Medicine**, v. 236, n. 6, p. 603-617, Dec 1994. ISSN 0954-6820. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994PW35500002 >.

MALTA, D. C. et al. A construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do Sistema Único de Saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 15, p. 47-65, 2006. ISSN 1679-4974. Disponível em: < [http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742006000300006&nrm=iso](http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742006000300006&nrm=iso) >.

MCCULLAGH, P.; NELDER, J. **Generalized Linear Models**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Chapman & Hall, 1989.

MCCULLY, K. S. VASCULAR PATHOLOGY OF HOMOCYSTEINEMIA - IMPLICATIONS FOR PATHOGENESIS OF ARTERIOSCLEROSIS. **American Journal of Pathology**, v. 56, n. 1, p. 111-&, 1969 1969. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1969D724400007 >.

MCGILL, H. C. et al. Effects of nonlipid risk factors on atherosclerosis in youth with a favorable lipoprotein profile. **Circulation**, v. 103, n. 11, p. 1546-1550, Mar 20 2001. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000167636800012 >.

MONTEIRO, R. D. C. D. A.; RIETHER, P. T. A.; BURINI, R. C. Efeito de um programa misto de intervenção nutricional e exercício físico sobre a composição corporal e os hábitos alimentares de mulheres obesas em climatério. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 479-489, 2004. ISSN 1415-5273. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400008&nrm=iso) >.

MUDD, S. H.; POOLE, J. R. LABILE METHYL BALANCES FOR NORMAL HUMANS ON VARIOUS DIETARY REGIMENS. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 24, n. 6, p. 721-735, 1975 1975. ISSN 0026-0495. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1975AE60400006 >.

MUELLER, T.; KUHN, W. Cysteine Elevation in Levodopa-Treated Patients with Parkinson's Disease. **Movement Disorders**, v. 24, n. 6, p. 929-932, Apr 30 2009. ISSN 0885-3185. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000265587900021 >.

NANRI, A. et al. Serum Folate and Depressive Symptoms Among Japanese Men and Women: A Cross-Sectional and Prospective Study. **Psychiatry Research**, v. 200, n. 2-3, p. 349-353, Dec 30 2012. ISSN 0165-1781. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000313764700045 >.

NELDER, J.; WEDDERBURN, R. Generalized Linear Models. **Journal of the Royal Statistical Society A**, v. 135, p. 370-384, 1972.

NYGARD, O. et al. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland homocysteine study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 263-270, Feb 1998. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000071708100015 >.

\_\_\_\_\_. TOTAL PLASMA HOMOCYSTEINE AND CARDIOVASCULAR RISK PROFILE - THE HORDALAND HOMOCYSTEINE STUDY. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 274, n. 19, p. 1526-1533, Nov 15 1995. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995TD57100029 >.

OMS; FAO. **Dieta, nutrição y prevención de enfermedades crónicas: informe de una Consulta Mixta de Expertos OMS/FAO**. OMS/FAO. Ginebra. 2003

ONIS, M. D. et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, p. 660-667, 2007. ISSN 0042-9686. Disponível em: < [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0042-96862007000900010&nrm=iso) >.

OPAS; OMS. **Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde**. Organização Pan-Americana da Saúde. Brasília. 2003

OSGANIAN, S. K. et al. Distribution of and factors associated with serum homocysteine levels in children - Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 281, n. 13, p. 1189-1196, Apr 7 1999. ISSN 0098-7484. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000079464400033 >.

PAPANDREOU, D. et al. Association of blood pressure, obesity and serum homocysteine levels in healthy children. **Acta Paediatrica**, v. 96, n. 12, p. 1819-

1823, Dec 2007. ISSN 0803-5253. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000250915700020 >.

PEREIRA DA SILVA, N. et al. Homocysteine and cysteine levels in prepubertal children: Association with waist circumference and lipid profile. **Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 166-171, 2013. ISSN 0899-9007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900712002675> >.

PEREIRA, P. et al. CircunferênCia da cintura como indicador de gordura corporal e alterações metabólicas em adolescentes: comparação entre quatro referências **Rev Assoc Med Bra**, v. 56, n. 6, p. 665-9, 2010.

PFEIFFER, C. M.; HUFF, D. L.; GUNTER, E. W. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory setting. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 290-292, Feb 1999. ISSN 0009-9147. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000078496700022 >.

RAUH, M. et al. Homocysteine concentrations in a German cohort of 500 individuals: Reference ranges and determinants of plasma levels in healthy children and their parents. **Amino Acids**, v. 20, n. 4, p. 409-418, 2001 2001. ISSN 0939-4451. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000169314700007 >.

REFSUM, H. et al. The hordaland homocysteine study: A community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1731S-1740S, Jun 2006. ISSN 0022-3166. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000237993400017 >.

RIDKER, P. M. et al. Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 281, n. 19, p. 1817-1821, May 19 1999. ISSN 0098-7484. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000080288800035 >.

ROMALDINI, C. C. et al. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. 135-140, 2004. ISSN 0021-7557. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-75572004000200011&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572004000200011&nrm=iso) >.

ROSNER, B. **Fundamentals of Biostatistics**. 7.ed. Brooks/Cole, Cengage Learning, 2010.

ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern Epidemiology**. 3<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

SALDIVA, S. R. D. M. et al. Prevalence of obesity in preschool children from five towns in São Paulo State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, p. 1627-1632, 2004. ISSN 0102-311X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2004000600021&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2004000600021&nrm=iso) >.

SBC. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, p. 3-36, 2005. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2005002500001&nrm=iso) >.

SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes** 2009.

SCHERR, C.; MAGALHÃES, C. K.; MALHEIROS, W. Análise do perfil lipídico em escolares. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 89, p. 73-78, 2007. ISSN 0066-782X. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2007001400001&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007001400001&nrm=iso) >.

SCHMIDT, M. I. et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. **Lancet**, v. 11, p. 61-74, 2011.

SELHUB, J. Homocysteine metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 19, p. 217-246, 1999. ISSN 0199-9885. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000082007300012 >.

SHEN, M. H. et al. Plasma homocyst(e)ine, folate and vitamin B-12 levels among school children in Taiwan: The Taipei Children Heart Study. **Clinical Biochemistry**, v. 35, n. 6, p. 495-498, Sep 2002. ISSN 0009-9120. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000179191300009 >.

SMITH, D. A. Clinics in Laboratory Medicine - Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Lipoprotein Risk Factors - Preface. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 26, n. 4, p. IX-X, Dec 2006. ISSN 0272-2712. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000242766000001 >.

STANGER, O. et al. Clinical use and rational management of homocysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. **Zeitschrift Fur Kardiologie**, v. 93, n. 6, p. 439-453, Jun 2004. ISSN 0300-5860. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000222576600002 >.

TAYLOR, B. V.; OUDIT, G. Y.; EVANS, M. Homocysteine, vitamins, and coronary artery disease - Comprehensive review of the literature. **Canadian Family Physician**, v. 46, p. 2236-2245, Nov 2000. ISSN 0008-350X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000165435700021 >.

TWISK, J. **Applied longitudinal data analysis for epidemiology: a practical guide**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.

UELAND, P. M.; REFSUM, H. PLASMA HOMOCYSTEINE, A RISK FACTOR FOR VASCULAR-DISEASE - PLASMA-LEVELS IN HEALTH, DISEASE, AND DRUG-THERAPY. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 114, n. 5, p. 473-501, Nov 1989. ISSN 0022-2143. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1989AZ99600003 >.

VEERANNA, V. et al. Homocysteine and Reclassification of Cardiovascular Disease Risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 58, n. 10, p. 1025-1033, Aug 30 2011. ISSN 0735-1097. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000294205900007 >.

VENÂNCIO, L. **Indicadores nutricionais e níveis de homocisteína em pacientes com doença arterial periférica**. 2002. 161 (Dissertação (mestrado)). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

VENÂNCIO, L. D. S.; BURINI, R. C.; YOSHIDA, W. B. Tratamento dietético da hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 9, p. 28-41, 2010. ISSN 1677-5449. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1677-54492010000100006&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-54492010000100006&nrm=iso) >.

VERHOEF, P. et al. A high-protein diet increases postprandial but not fasting plasma total homocysteine concentrations: a dietary controlled, crossover trial in healthy volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 3, p. 553-558, Sep 2005. ISSN 0002-9165. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000231809900011 >.

WALD, D. S.; LAW, M.; MORRIS, J. K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 325, n. 7374, p. 1202-1206K, Nov 23 2002. ISSN 0959-535X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000179506200018 >.

WANG, Z. et al. Homocysteine suppresses lipolysis in adipocytes by activating the AMPK pathway. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 301, n. 4, p. E703-E712, Oct 2011. ISSN 0193-1849. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000295576300014 >.

WERSTUCK, G. H. et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 10, p. 1263-1273, May 2001. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000168867400011 >.

WHO. **Preventing chronic disease: a vital investment**. Geneva: World Health Organization 2005.

\_\_\_\_\_. **World health statistics 2012**. Geneva. 2012

WILCKEN, D.; WILCKEN, B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. **J Clin Invest**, v. 57, p. 1079-82, 1976.

XIAO, Y. et al. Relationship between lipid profiles and plasma total homocysteine, cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, Aug 12 2011. ISSN 1476-511X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000294844400001 >.

**APÊNDICES**

---

## Apêndice 1 - Termo de consentimento

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

ESCOLA DE NUTRIÇÃO

### TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, ....., fui informada que a Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, em parceria com a prefeitura Municipal de Mutuípe, está desenvolvendo um estudo intitulado: “Alterações Metabólicas Associadas ao Sobrepeso/Obesidade em Escolares de Mutuípe – Bahia”. Que tem como objetivo avaliar o efeito da intervenção dietética na mudança do hábito alimentar, estilo de vida e nas condições de saúde de crianças e adolescentes do ensino fundamental, tomando como referência o espaço do ambiente escolar e do domicílio. Fui informado também que se uma criança/adolescente possui hábitos alimentares e de vida inadequados podem desenvolver algumas doenças crônicas não transmissíveis, como: obesidade, diabetes, níveis elevados de gordura no sangue, doenças do coração e outras. Desta forma, para saber se a criança ou adolescente está com peso adequado para sua altura e idade, e se apresenta alguma alteração dentre aquelas acima mencionadas, os alunos do município de Mutuípe serão avaliados por uma equipe de professores e alunos da Universidade Federal da Bahia, em dois momentos (março e outubro de 2007). Para saber algumas informações referentes à alimentação da criança/adolescente, ao estilo de vida e ao ambiente em que vive, serão aplicados questionários com as mães e/ou responsáveis nas escolas ou domicílios. Para investigar a ocorrência de alterações relacionadas à gordura e ao açúcar da criança ou do adolescente, serão colhidos o equivalente a 2 colheres de sopa (8ml) de sangue, por uma pessoa habilitada (técnico) do laboratório da Secretaria de Saúde do município, com todo o material descartável. Este procedimento pode causar alguma dor ou incômodo em pessoas sensíveis, mas não é esperado que ocorra nenhum outro efeito que coloque em risco a saúde da criança ou adolescente. Será aferida também a pressão arterial na própria escola, sendo este um procedimento simples. Caso essas crianças apresentem alterações no sangue relacionadas a gordura e açúcares ou anormalidades na pressão arterial, serão encaminhadas para o serviço de saúde para receber atendimento clínico e orientações nutricionais.

Após a explicação destes procedimentos, a equipe de trabalho deste projeto deixou claro que a minha participação é voluntária, que todas as informações sobre meu filho e minha família serão mantidas em sigilo, e não poderei ser identificado como participante do estudo. Foi dito também que poderei sair e retirar meu filho deste estudo a qualquer momento que desejar sem prejuízo para ele ou para minha família.

Fui informada ainda, que este trabalho está sendo desenvolvido por alguns professores e alunos, mas que a responsabilidade é da professora doutora Ana Marlúcia Oliveira Assis (Professora Titular da Escola de Nutrição da UFBA – tel: (71) 3283-7726). Após este esclarecimento e de conhecer os objetivos e efeitos de que serão dispensados neste estudo, concordo em participar e o meu filho tem também a minha concordância para participar e assim coloco abaixo a minha assinatura (ou impressão digital).

Mutuípe,.....de.....de 2006.

Responsável pelo menos.....

Nome.....

Assinatura.....

## Apêndice 2 – Questionários aplicados

### Questionário Sócio-econômico

#### IDENTIFICAÇÃO DA CRIANÇA

Nome \_\_\_\_\_

Escola \_\_\_\_\_

Série \_\_\_\_\_ Turma \_\_\_\_\_

Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo ( ) Feminino ( ) Masculino

Respondente ( 1 ) Pai ( 2 ) Mãe ( 3 ) Responsável ( 4 ) Outros

<b>QUESTIONÁRIO SÓCIO ECONÔMICO</b>
<p>1. O pai da criança/ adolescente freqüentou a escola?            ( 1 ) Sim ( 2 ) Não ( 3 ) Não sabe</p> <p>1.1. Se sim, até que série? _____</p>
<p>2. A mãe da criança/ adolescente freqüentou a escola?            ( 1 ) Sim ( 2 ) Não ( 3 ) Não sabe</p> <p>2.1. Se sim, até que série? _____</p>
<p>3. De onde vem a água para beber?</p> <p>(1) Rede pública            (2) Poço privado            (3) Poço comunitário            (4) Córrego/rio/regio (água corrente)            (5) Açude            (6) Carro pipa            (7) Outras _____</p>
<p>4. Qual a principal forma de abastecimento de água no domicílio?</p> <p>(1) Rede pública            (2) Poço privado            (3) Poço comunitário            (4) Córrego/rio/regio (água corrente)            (5) Açude            (6) Carro pipa            (7) Outras _____</p>
<p>5. Onde os dejetos do(s) banheiro(s) são jogados?</p> <p>(1) Rede pública</p>

<p>(2) Fossa séptica (3) Fossa rudimentar (4) Vala/ barra/ céu aberto (5) Rio/ riacho (6) Outros _____ (7) Não sabe</p>
<p>6. Qual o principal tipo de iluminação da sua casa?</p> <p>(1) Pública (2) Gerador (diesel/gasolina) (3) Energia Solar (4) Lampião (5) Vela (6) Outros _____</p>
<p>7. Qual o destino do lixo do domicílio?</p> <p>(1) Coletado (2) Queimado (3) Enterrado (4) Céu aberto (5) Outros _____</p>
<p>8. Quantas pessoas moram na casa? _____</p>
<p>9. Quantos cômodos tem na casa? _____</p>
<p>10. Qual a ocupação do chefe da família?</p> <p>(1) Biscateiro (2) Empresário (3) Aposentado (4) Dona de Casa (5) Empregado se carteira assinada (6) Empregado com carteira assinada (7) Trabalhador rural (8) Desempregado</p>

## Questionário de estilo de vida

### IDENTIFICAÇÃO DA CRIANÇA

Nome \_\_\_\_\_ Identificação \_\_\_\_\_

Escola \_\_\_\_\_

Série \_\_\_\_\_ Turma \_\_\_\_\_

Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Respondente ( 1 ) Pai ( 2 ) Mãe ( 3 ) Responsável ( 4 ) Outros

História Familiar da Doença
<p>11. Se alguém na Família tem alguma dessas doenças, assinale o número correspondente ao parentesco            ( 1 ) Irmãos ( 2 ) Pai ou mãe ( 3 ) Pai e Mãe ( 4 ) Irmãos e pais ( ) Avós</p> <p>1. Obesidade ( ) 2. Pressão alta ( ) 3. Colesterol ou outras gorduras elevadas no sangue ( )</p> <p>4. Diabetes ( ) 5. Doenças do coração ( ) 6. Câncer ( ) 7. Não sabe ( )</p>
Estilo de Vida – Atividade Física
<p>12. A Criança/adolescente pratica regularmente algum esporte fora das aulas de educação física</p> <p>(8) Sim            (9) Não            (10) Não sabe</p> <p>a. - Se sim, qual esporte e quantas vezes por semana ele(a) pratica?            Esporte _____</p> <p>(1) mais de 3X/sem (2) 3x/sem (3) 2x/sem (4) 1X/sem</p>
<p>13. O que ele faz com mais frequência nos momentos de lazer:</p> <p>(1) pega-pega            (2) bicicleta ou patins            (3) desenhar            (4) brincar de casinha            (5) bola (esporte)            (6) carrinho            (7) assistir TV ou jogar videogame            (8) brincar de boneca            (9) Outras _____</p>
<p>14. Em geral como a criança vai a escola à casa de amigos ou a outros locais?</p> <p>(1) a pé – tempo _____            (2) bicicleta – tempo _____</p>

<p>15. Quantas horas por dia a criança/adolescente assiste TV?</p> <p>(1) Não assiste ou até 1 hora (2) 1 a 2 horas (3) 2 a 4 horas (4) 4 a 6 horas (5) mais de 6 horas (6) Não sabe</p>
<p>16. Ao assistir costuma comer algum tipo de alimento?</p> <p>(1) Sim (2) Não</p>
<p>17. A criança/ adolescente realiza habitualmente alguma dessas atividades?</p> <p>(1) Arrumar a casa (2) Ajudar pai e mãe no trabalho rural (3) Lavar roupa (4) outras</p>
<p>18. A criança faz uso de bebida alcoólica?</p> <p>(1) Sim (2) Não</p>
<p>19. A criança faz uso de cigarros?</p> <p>(1) Sim (2) Não</p>
<p>Nome do Agente comunitário _____ Data da entrevista _____</p>





Goiaba									GOIAB__ __
Acerola									ACR__ __
Laranja									LAR__ __
Outras frutas A									FRUTAA__ __
Outras frutas B									FRUTAB__ __
Quiabo									QUIA__ __
Beterraba									BETER__ __
Couve (folha)									COUV__ __
Cenoura									CEN__ __
Abóbora									ABOB__ __
Espinafre									ESP__ __
ALIMENTO / PREPARAÇÃO	DIAR.	SEMANA			QUINZ	MENSAL	RARO / NUNCA	VEZES / DIA	CÓDIGO
		1V	2-3V	4-6V					
Beldroega									BELD__ __
Bredo									BRED__ __
Língua de vaca									LINVAC__ __
Repolho									REP__ __
Outros vegetais A									VEJA__ __
Outros vegetais B									VEGB__ __
Outros vegetais C									VEGC__ __
SANDUÍCHES									
Cachorro quente									CACQ__ __
Hambúrguer simples									HAMB__ __
Misto									MIST__ __
Cheesseburger									CHEES__ __
Sanduíches c/ pastas									SAND__ __
Outros tipos de sanduíches									OTS__ __

OBS: Você costuma comer algum alimento que não foi mencionados.1- |\_\_| SIM 2- |\_\_| NÃO

Quais? Com que frequência?

---



---



---



---