

Mellina Neyla de Lima Albuquerque

Dislipidemia e sua associação com estresse oxidativo em uma coorte
de escolares do Recife – PE.

Recife

2014

Mellina Neyla de Lima Albuquerque

Dislipidemia e sua associação com estresse oxidativo em uma coorte
de escolares do Recife – PE.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutora em Nutrição.

Orientador: Profº Alcides da Silva Diniz

Recife

2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

A345d Albuquerque, Mellina Neyla de Lima.
Dislipidemia e sua associação com estresse oxidativo em uma coorte de escolares do Recife– PE / Mellina Neyla de Lima Albuquerque. – Recife: O autor, 2014.
108 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Alcides da Silva Diniz.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2014.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Retinol. 2. Betacaroteno. 3. Alfa-tocoferol. 4. Apolipoproteína A-I. 5. Apolipoproteína B. I. Diniz, Alcides da Silva (Orientador). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2015-001)

Mellina Neyla de Lima Albuquerque

Dislipidemia e sua associação com estresse oxidativo em uma coorte de
escolares do Recife – PE.

Tese aprovada em: 17 de dezembro de 2014

Malaquias Batista Filho

Ana Célia Oliveira dos Santos

Taciana Fernanda dos Santos Fernandes

Maria da Conceição Chaves de Lemos

Alcides da Silva Diniz

Recife

2014

RESUMO

A tese foi construída a partir da hipótese de que escolares com dislipidemias tendem a apresentar alterações nas concentrações séricas de vitaminas antioxidantes lipossolúveis e exacerbação do risco cardiovascular quando comparados com escolares sem dislipidemias. Logo, os objetivos desse estudo foram investigar as concentrações séricas de retinol, beta-caroteno e alfa-tocoferol em adolescentes dislipidêmicos e a associação entre apolipoproteínas A-I e B e razão apolipoproteína B/apolipoproteína A-I com o risco cardiometabólico. A população estudada incluiu 104 adolescentes recrutados de escolas públicas do Recife, entre março/abril de 2013. Inicialmente foi realizado um estudo do tipo série de casos de dislipidemia, com grupo controle acoplado. Foram definidos como casos de dislipidemia adolescentes com concentrações de lipoproteínas de alta intensidade $< 1,2 \mu\text{Mol/L}$ e trigliceridemia $> 3,4 \mu\text{Mol/L}$. Foram avaliadas variáveis sociodemográficas, antropométricas, clínicas e bioquímicas. As concentrações séricas de retinol, beta-caroteno e alfa-tocoferol foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Adolescentes dislipidêmicos apresentaram concentrações séricas elevadas de retinol ($p = 0,007$) e da razão beta-caroteno/apolipoproteína A-I ($p = 0,034$) e baixas das razões beta-caroteno/colesterol total ($p = 0,000$) e beta-caroteno/apolipoproteína B ($p = 0,033$). O *status* sérico de alfa-tocoferol não mostrou associação com a dislipidemia. Excesso de peso, obesidade abdominal, marcadores do perfil lipídico e pressão arterial sistólica e diastólica foram mais prevalentes nos adolescentes dislipidêmicos. A associação entre as apolipoproteínas A-I e B e a razão apolipoproteína B/apolipoproteína A-I com o risco cardiometabólico foi investigada mediante corte transversal na população elegível, onde foram avaliadas variáveis clínicas, bioquímicas, antropométricas e sociodemográficas. As apolipoproteínas foram analisadas por Imunoturbidimetria. O aumento da escolaridade materna associou-se com concentrações séricas mais baixas de apolipoproteína A-I e mais elevadas da razão apolipoproteína B/apolipoproteína A-I. Índice de massa corporal, circunferência da cintura, circunferência da cintura/altura, triglicerídeos, colesterol/HDL e apolipoproteína B/apolipoproteína A-I mostraram redução com a progressão da distribuição percentilar das concentrações de apolipoproteína A-I, enquanto que HDL e apolipoproteína B aumentaram entre o primeiro e o último quartil das concentrações de apolipoproteína A-I. Pressão arterial sistólica, índice de massa corporal, circunferência da cintura, circunferência da cintura/altura, colesterol, LDL, triglicerídeos, colesterol/HDL e LDL/HDL apresentaram aumento progressivo na distribuição em quartis das concentrações de apolipoproteína B e da razão apolipoproteína B/apolipoproteína A-I. Os níveis séricos de alfa1-glicoproteína ácida aumentaram *pari passu* à progressão percentilar de apolipoproteína B. Gênero, idade, percentual de gordura corporal e glicemia não apresentaram diferenças entre os quartis das apolipoproteínas isoladas, bem como da razão apolipoproteína B/apolipoproteína A-I. Tomados em conjunto, os achados evidenciam associações da vitamina A com a dislipidemia e das apolipoproteínas A-I e B e da razão apolipoproteína B/apolipoproteína A-I com biomarcadores convencionais clínicos, bioquímicos e antropométricos de risco cardiometabólico. Investigações adicionais nesse grupo de risco são necessárias para elucidar os mecanismos de ação da vitamina A na patogênese da síndrome dislipidêmica, visando a redução de riscos cardiometabólicos desde idades precoces. De forma semelhante, estudos prospectivos são salutares para se avaliar a pertinência da implementação da análise das apolipoproteínas como marcadores laboratoriais de rotina na prática clínica.

Palavras-chaves: Retinol. Betacaroteno. Alfa-tocoferol. Apolipoproteína A-I. Apolipoproteínas B. Dislipidemias. Adolescente.

ABSTRACT

The thesis was constructed based on the hypothesis that schoolchildren with dyslipidemia tend to present changes in serum fat-soluble antioxidant vitamins and have higher cardiovascular risk than schoolchildren without dyslipidemia. Thus, the objectives of this study were to investigate the serum levels of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol in dyslipidemic adolescents and the association between apolipoproteins A-I and B and the apolipoprotein B-to-apolipoprotein A-I ratio with cardiometabolic risk. The study population consisted of 104 adolescents recruited at public schools from Recife between March and April 2013. Initially, we conducted a dyslipidemia case study with a control group. We defined as cases of dyslipidemia adolescents with high-density lipoprotein (HDL) cholesterol $< 1.2 \mu\text{Mol/L}$ and triglycerides $> 3.4 \mu\text{Mol/L}$. We assessed sociodemographic, anthropometric, clinical, and biochemical variables. The serum concentrations of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol were analyzed by high-performance liquid chromatography. Dyslipidemic adolescents presented high serum levels of retinol ($p=0.007$) and beta-carotene-to-apolipoprotein A-I ratio ($p=0.034$), and low beta-carotene-to-apolipoprotein B ratio ($p=0.033$). The serum status of alpha-tocopherol was not associated with dyslipidemia. Excess weight, abdominal obesity, lipid profile markers, and systolic and diastolic blood pressures were more prevalent in dyslipidemic adolescents. The association between apolipoproteins A-I and B and the apolipoprotein B-to-apolipoprotein A-I ratio with cardiometabolic risk was investigated by a cross-sectional cut in the eligible population, where we assessed clinical, biochemical, anthropometric, and sociodemographic variables. The apolipoproteins were analyzed by immunoturbidimetry. Mothers with higher education level was associated with lower serum levels of apolipoprotein A-I and higher apolipoprotein B-to-apolipoprotein A-I ratio. Body mass index, waist circumference-to-height ratio, triglycerides, HDL-cholesterol, and apolipoprotein B-to-apolipoprotein A-I ratio decreased as the percentile distribution of the apolipoprotein A-I level increased, while HDL-cholesterol and apolipoprotein B increased between the first and last quartile of apolipoprotein A-I level. Systolic blood pressure, BMI, waist circumference, waist circumference-to-height ratio, cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, and LDL-to-HDL-cholesterol ratio increased as the distribution quartiles of apolipoprotein B and apolipoprotein B-to-apolipoprotein AI ratio increased. The serum levels of acid alpha1-glycoprotein increased *pari passu* to the percentile increase of apolipoprotein B. Gender, age, percentage of body fat, and blood glucose did not differ between isolated apolipoprotein quartiles or between apolipoprotein B-to-apolipoprotein A-I ratio quartiles. When assessed together, the findings evidence that vitamin A is associated with dyslipidemia and that apolipoprotein A-I, apolipoprotein B, and apolipoprotein B-to-apolipoprotein A-I ratio are associated with conventional clinical, biochemical, and anthropometric biomarkers of cardiometabolic risk. Additional investigations in this risk group are necessary to elucidate the mechanisms of action of vitamin A in the pathogenesis of dyslipidemic syndrome to reduce cardiometabolic risk from early age. Likewise, prospective studies are salutary for assessing the pertinence of implementing apolipoprotein analyses as routine laboratory markers in clinical practice.

Keywords: Retinol. Beta-carotene. Alpha-tocopherol. Apolipoprotein A-I. Apolipoproteins B. Dyslipidemia. Adolescent.

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 Dislipidemias na adolescência	8
2.2 Estresse Oxidativo e Doença Cardiovascular.....	11
2.3 Sistema Antioxidante Celular.....	14
2.4 Dieta na modulação do estresse oxidativo	20
3 MÉTODOS	25
3.1 Desenho e população de estudo	25
3.2 Métodos e técnicas de avaliação	26
3.2.1 Variáveis clínicas e bioquímicas.....	26
3.2.2 Variáveis antropométricas	27
3.2.3 Variáveis sociodemográficas e de estilo de vida	28
3.3 Algoritmo de análise dos dados	29
3.4 Aspectos éticos	30
3.5 Desenho e população de estudo	31
3.6 Métodos e técnicas de Avaliação	31
3.6.1 Variáveis clínicas e bioquímicas	32
3.6.2 Variáveis antropométricas	33
3.6.3 Variáveis sociodemográficas e de estilo de vida	34
3.7 Algoritmo de análise dos dados	34
3.8 Aspectos Éticos	35
4 RESULTADOS.....	37
4.1 Elevated Serum Retinol and Low Beta-Carotene but not Alpha-Tocopherol Concentrations Are Associated with Dyslipidemia in Brazilian Adolescents.....	37
4.2 Apolipoproteins and their association with cardiometabolic risk biomarkers in Northeast Brazil's adolescents.....	63
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
REFERÊNCIAS	90
APÊNDICES	100
Apêndice A – Questionário de coleta de dados	101
Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	104
ANEXO	107
Anexo A – Certidão de Aprovação do Comitê de Ética	108

1 APRESENTAÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem um grave problema de saúde pública no Brasil e no mundo, uma vez que comprometem as condições de vida e saúde de elevado percentual da população, são responsáveis pelo maior número de óbitos e contribuem com a maior parcela de despesas hospitalares dos Sistemas de Saúde (CHRISTOFARO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2009). Dentre as DCV, a aterosclerose coronariana constitui uma forma frequente e potencialmente letal, cuja instalação anatomopatológica precede, em décadas, o surgimento das manifestações clínicas (BATISTA et al., 2009).

Há evidências de que a ocorrência de fatores de risco para a doença cardiovascular, destacando a dislipidemia, constitui uma realidade preocupante mesmo na faixa etária jovem, podendo influenciar na velocidade de formação de estrias gordurosas precursoras das placas ateroscleróticas. Estima-se que 40 a 55% das crianças e adolescentes com dislipidemia mantenham esse perfil lipídico alterado nas décadas seguintes (BONI et al., 2010; FELICIANO-ALFONSO, et al., 2010).

A associação entre dislipidemia na infância/adolescência e na idade adulta justifica o início precoce de sua detecção e da prevenção (CARVALHO et al., 2007), sendo de extrema importância a identificação oportuna de crianças e jovens que correm mais risco de desenvolver DCV e que podem se beneficiar de uma abordagem focada na prevenção e controle da doença (COBAYASHI et al., 2010; RODRIGUES et al., 2009).

Dentre os mecanismos propostos sobre o papel dos lipídios na gênese das DCV, destaca-se a sua associação com o estresse oxidativo, um estado em que o excesso de espécies reativas superpõe-se ao efeito dos sistemas antioxidantes, e que pode direta ou indiretamente estar relacionado à fisiopatologia de doenças crônicas como aterosclerose (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009; SHARGORODSKY et al., 2010).

A quantidade relativa de antioxidantes e pró-oxidantes na dieta pode influenciar a suscetibilidade de um indivíduo em desenvolver o estresse oxidativo (SILVA; NAVES, 2001). Nutrientes como o retinol (ALBUQUERQUE; DINIZ; ARRUDA, 2009; TESKE et al., 2014), o β -caroteno (HOZAWA et al., 2007) e o α -tocoferol (AEBERLI et al., 2006; MOHN et al., 2005), por suas propriedades antioxidantes, têm sido investigados quanto à capacidade de modular a atividade do sistema de defesa celular e, assim, proteger o organismo contra as reações oxidativas envolvidas em doenças associadas ao estresse oxidativo.

Diante desse contexto, considerando a relevância sanitária da dislipidemia e que a deficiência de nutrientes antioxidantes pode se associar com o aumento do risco cardiometabólico, essa investigação poderá ampliar a compreensão desses problemas em adolescentes escolares, fornecendo subsídios para a definição de políticas e programas focados nesse grupo de risco.

Nesse sentido, a tese foi construída a partir da hipótese de que escolares com dislipidemias tendem a apresentar alterações nas concentrações séricas de vitaminas antioxidantes lipossolúveis e exacerbação do risco cardiovascular quando comparados com escolares sem dislipidemias.

Logo, um dos objetivos desse estudo foi investigar o *status* das concentrações séricas de retinol, beta-caroteno e alfa-tocoferol em adolescentes com dislipidemia, sintetizado no artigo original “*Elevated Serum Retinol and Low β -Carotene but not α -Tocopherol Concentrations Are Associated with Dyslipidemia in Brazilian Adolescents*”, submetido à apreciação do corpo editorial para publicação no periódico *Nutrition Research*.

Com o objetivo de investigar a associação entre as apolipoproteínas A-I e B e a razão apoB/apoA-I com variáveis de risco cardiometabólico em adolescentes, foi elaborado o artigo original “*Apolipoproteins and their association with biomarkers of cardiometabolic risk among adolescents of Northeast Brazil*”, submetido à apreciação do corpo editorial para publicação no *British Journal of Nutrition*.

A tese apresenta, ainda, um ensaio bibliográfico, de base documental, a partir de artigos publicados em revistas científicas e sites governamentais, utilizando as bases de dados *SciELO*, *Lilacs* e *Medline*, no período de março de 2011 a outubro de 2014, bem como uma síntese conclusiva dos resultados, a partir da análise crítica do constructo teórico e dos achados da pesquisa empírica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dislipidemias na adolescência

A aterogênese é um processo que tem início na infância, com a formação de estrias gordurosas precursoras das placas ateroscleróticas, que evoluem de forma silenciosa e progridem significativamente nas outras fases do ciclo de vida (BONI et al., 2010; CARVALHO et al., 2007).

Há evidências de que a rapidez da progressão e a gravidade das lesões da aterosclerose, que surgem ainda na primeira década de vida, são proporcionais à presença e à agregação dos fatores de risco cardiovasculares, que incluem obesidade (MARANHÃO et al., 2011), sedentarismo (CHRISTOFARO et al., 2011), tipo de dieta (NEUTZLING et al., 2010), hipertensão arterial (HOSSEINI-ESFAHANI et al., 2011), *diabetes mellitus* (SHAMIR et al., 2008) dislipidemias (FRANCA; ALVES, 2006) e síndrome metabólica (FRIEND; CRAIG; TURNER, 2013), já verificados com prevalência importante em crianças e adolescentes. Tais condições exigem medidas preventivas e terapêuticas precoces, visto que tendem a ser potencializadas no decorrer dos anos.

Historicamente, o *Bogalusa Heart Study*, iniciado em 1972, constitui o estudo de maior impacto sobre os fatores de risco para aterogênese na infância e sua tendência de se perpetuarem durante o crescimento e desenvolvimento. Nesse estudo foram avaliados, numa periodicidade trianual, aspectos relacionados à dieta, tabagismo, atividade física, história familiar, dados antropométricos e lipídeos séricos. As principais conclusões foram que os fatores de risco para aterosclerose iniciam-se na infância; para cada idade há valores considerados normais para Índice de Massa Corporal (IMC), lipídemia e pressão arterial; dieta, sedentarismo e tabagismo podem influenciar os demais fatores de risco e a educação precoce pode modificar o risco de doença aterosclerótica coronariana ao longo da vida (BRANDÃO et al., 2005; CHEN et al., 2000; FREEDMAN et al., 2007; SRINIVASAN; MYERS; BERENSON, 2002; XIANGRONG et al., 2004).

A dislipidemia consiste num quadro clínico caracterizado por concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue, determinado por fatores genéticos e ambientais (PEREIRA et al., 2010). Níveis elevados de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos (TG), associados à diminuição nos valores de lipoproteína de

alta densidade (HDL) estão relacionados com uma maior ocorrência de doença aterosclerótica (FRANCA; ALVES, 2006). A literatura tem evidenciado a ascendência das dislipidemias em crianças e adolescentes ao longo dos anos. Embora não se tenha até o momento dados que retratem a ocorrência desse fenômeno em todo o território nacional, estudos realizados em diferentes regiões do país têm evidenciado prevalências importantes de dislipidemias nessa faixa etária (BECK et al., 2011; FRANCA; ALVES, 2006; GONÇALVES et al., 2012; KERBER; ANTUNES; CAVALETTI, 2010; NETO et al., 2012; PEREIRA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2009; ROMERO et al., 2014).

Em adolescentes de escolas públicas do Estado de São Paulo, importante prevalência de dislipidemia foi encontrada (71.4%), sendo a baixa concentração da lipoproteína de alta densidade (HDL) a de maior ocorrência (40.7%) (ROMERO et al., 2014).

Em crianças e adolescentes de escolas públicas do Estado da Bahia, Neto et al. (2012) identificaram uma prevalência de dislipidemia de 25,5% (IC_{95%}: 22,7; 28,3), que foi associada de forma positiva e estatisticamente significativa ao excesso de peso (OR = 3,40; IC_{95%}: 2,07-5,58).

Em estudo de base escolar, com adolescentes da região sul do Brasil, foram observadas prevalências de 25,9% de baixos níveis de HDL e 20,3% de hipercolesterolemia (BECK et al., 2011).

Carvalho et al. (2007), investigando adolescentes matriculados em uma escola pública e outra privada do Estado da Paraíba, também identificaram elevada prevalência de dislipidemia (66,7%), sendo registradas maiores frequências para a alteração de HDL (56,7%) e TG (11,1%).

No Estado de Pernambuco, estudo incluindo crianças e adolescentes atendidos na rotina de um hospital pediátrico, observou que cerca de 30% apresentaram um perfil lipídico aterogênico, caracterizado por altos níveis de TG, CT e LDL (FRANCA; ALVES, 2006).

A importância do monitoramento dos lipídeos sanguíneos em populações pediátricas vai além da saúde do próprio jovem, considerando a tendência desses fatores de risco à saúde cardiovascular permanecerem na vida adulta e se associarem com a mortalidade por doenças isquêmicas do coração (BECK et al., 2011).

A dislipidemia aterogênica, associada à Síndrome Metabólica, se associa a níveis elevados de triglicerídeos séricos combinados a baixas concentrações circulantes de HDL (PACIFICO, 2011). Contudo, parâmetros bioquímicos variados têm revelado alterações importantes na lipídemia de crianças e adolescentes.

Desde a década de 80, a partir do *Bougalusa Heart Study*, tem sido verificadas taxas sanguíneas maiores de apolipoproteína B (apo B) e da relação apoB/apoA-I e menores de apolipoproteína A-I (apo A-I) em crianças cujos pais foram acometidos por infarto do miocárdio, embora os níveis de LDL e HDL estivessem dentro dos limites da normalidade (FREEDMAN et al., 1986). Assim, o risco de doença aterosclerótica parece estar mais intimamente relacionado ao número de partículas aterogênicas circulantes que entram em contato e penetram na parede arterial do que apenas ao teor do colesterol contido naquelas frações lipoproteicas (FORTI; JAYME, 2007).

Postula-se que o risco da dislipidemia encontra-se associado, na maioria dos casos, ao excesso de ganho ponderal (NETO et al., 2012). Seguindo a tendência global, a prevalência de excesso de peso está aumentando de forma alarmante no Brasil. Dados nacionais apontam que o excesso de peso no país atinge cerca de metade dos brasileiros. Em adolescentes, a prevalência tem oscilado entre 16% a 19% nas Regiões Norte e Nordeste e entre 20% a 27% nas Regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste (IBGE, 2010).

A associação entre o excesso de peso e a dislipidemia é comum mesmo em faixas etárias jovens. Em adolescentes de escolas públicas do Estado de São Paulo, o IMC aumentado foi positivamente associado com concentrações séricas inadequadas de LDL, HDL e TG (ROMERO et al., 2014).

O tecido adiposo é um órgão secretório ativo que libera numerosos peptídeos e citocinas na circulação, tanto pró-inflamatórias, incluindo fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), quanto anti-inflamatórias, como a adiponectina (BAKKER et al., 2010). A obesidade altera a regulação da produção das adipocitocinas, favorecendo o padrão pró-inflamatório, que contribui no desenvolvimento das desordens metabólicas associadas ao excesso de gordura corporal (ZEMEL et al., 2010).

Nos organismos obesos, há um fluxo maior de ácidos graxos livres dietéticos e/ou endógenos na corrente sanguínea. Citocinas pró-inflamatórias secretadas pelo tecido adiposo podem produzir um efeito lipolítico nos depósitos periféricos, levando à mobilização da gordura em direção ao compartimento abdominal. Além disso, a enzima lipase, uma lipoproteína insulinodependente, pode sofrer uma redução na atividade sob uma condição resistente, o que pode contribuir para o fenótipo de hipertrigliceridemia (FERREIRA; NÓBREGA; FRANÇA, 2009).

As citocinas pró-inflamatórias secretadas pelos adipócitos na obesidade também agem no endotélio vascular e favorecem a gênese de espécies reativas de oxigênio (ROS),

resultantes da oxidação de moléculas biológicas, incluindo a LDL (AEBERLI et al., 2006; BRASIL et al., 2007; MARANHÃO et al., 2011; SIERRA-JOHNSON et al., 2009).

A associação entre lipídios séricos e enfermidades cardiovasculares destaca o papel da fração LDL que, por processos oxidativos iniciados por radicais livres, se converte em moléculas potencialmente aterogênicas (MEERTENS et al., 2008). Assim, a modificação oxidativa da LDL é considerada um evento chave no desenvolvimento e progressão da aterosclerose (BOTELHO et al., 2012; SILVA; VEIGA; RAMALHO, 2007). Valores elevados de IMC estão associados com partículas menores e densas de LDL, consideradas mais aterogênicas que outras lipoproteínas por serem mais suscetíveis à oxidação e possuírem menor afinidade com os receptores de LDL (SILVA; VEIGA; RAMALHO, 2007).

Convém salientar ainda que o caminho metabólico alterado da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), secundário ao tecido adiposo visceral em excesso, resulta num mais alto nível de partículas de LDL, que são mais agressivas ao endotélio. A LDL oxidada, por sua vez, ativa citocinas inflamatórias e moléculas de adesão que atraem mais células sanguíneas e plaquetas para a coagulação, iniciando o desenvolvimento da aterosclerose (BAO et al., 2010; MARANHÃO et al., 2011).

A HDL, por sua vez, constitui uma lipoproteína anti-aterogênica que exerce importante papel no transporte reverso do colesterol bem como possui efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, e tem sido considerada um relevante fator preditor de peroxidação lipídica, independente de sexo, idade, gênero, medidas antropométricas e fatores de risco inflamatórios ou metabólicos (BOTELHO et al., 2012; ZELZER et al., 2011).

Crianças e adolescentes obesos têm mais risco de se tornarem adultos obesos, estando a obesidade associada a aproximadamente o dobro de risco para DCV na idade adulta (SILVA; VEIGA; RAMALHO, 2007). Dessa forma, torna-se cada vez mais importante a prevenção da obesidade na infância, pois esse estado metabólico/inflamatório desfavorável pode persistir ao longo dos anos, trazendo graves consequências em curto e longo prazos (BRASIL et al., 2007).

2.2 Estresse Oxidativo e Doença Cardiovascular

A produção de espécies reativas resultantes do metabolismo do oxigênio, em proporções adequadas, exerce funções essenciais ao organismo, possibilitando a geração de

energia por meio da cadeia transportadora de elétrons, além da fertilização do óvulo, a ativação de genes e a participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção (BARBOSA et al., 2010).

As ROS são átomos, íons ou moléculas que contêm oxigênio (O_2) com um elétron não-pareado em sua órbita externa. São caracterizadas por grande instabilidade e elevada reatividade e tendem a ligar o elétron não-pareado com outros presentes em estruturas próximas de sua formação, comportando-se como receptores (oxidantes) ou doadores (redutores) de elétrons (ANDRADE et al., 2010; REIS et al., 2008).

Na mitocôndria, o O_2 sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de água. A enzima catalisadora dessa reação é a citocromo oxidase, que controla a geração de ROS, impedindo o excesso. No entanto, cerca de 2% a 5% do oxigênio metabolizado nas mitocôndrias são desviados para outra via metabólica, e reduzidos de forma univalente, dando origem aos radicais livres (BARBOSA et al., 2010).

As principais ROS que atuam como sinalizadores moleculares vasculares são o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxil ($\bullet OH$) e o peroxinitrito ($ONOO^-$). O $O_2^{\bullet-}$ exerce papel central na função vascular, pois é responsável pela geração de outras espécies reativas, levando à menor biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) por inativação progressiva deste, através da formação de peroxinitrito ($ONOO^-$), um potente e duradouro oxidante, que gera espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RONS) (SIGNORI et al., 2007).

Os radicais $O_2^{\bullet-}$ e o H_2O_2 se combinam na reação de *Haber-Weiss* para produzir o radical livre hidroxila ($OH^{\bullet}$), potencializando o dano oxidativo, uma vez que esse radical é cerca de 1 milhão de vezes mais reativo que seus precursores e possui extrema instabilidade (vida média de 9-10 segundos) (PERCÁRIO, 2010; BARBOSA et al., 2010). Os radicais $O_2^{\bullet-}$ e seus produtos de redução, o H_2O_2 e, principalmente, o radical $OH^{\bullet}$, promovem a peroxidação lipídica, com lesão das mitocôndrias, lisossomos e da própria membrana celular, levando à morte das células (PERCÁRIO, 2010).

O H_2O_2 , apesar de não ser um radical livre, por não ter um elétron desemparelhado na sua última camada eletrônica, é uma espécie com alto potencial reativo. Por participar da reação de geração de $OH^{\bullet}$ tem ação deletéria potencial, uma vez que esse se constitui no mais reativo dos radicais livres, capaz de alterar qualquer estrutura celular que se encontre próxima. Além disso, diferente dos radicais livres, o H_2O_2 tem vida longa e é capaz de atravessar as membranas celulares, sendo potencialmente tóxico para as células (BARBOSA et al., 2010).

Prolongada exposição aos radicais livres, até mesmo em baixas concentrações, pode resultar em danos a moléculas biologicamente importantes e potencialmente conduzir a dano tecidual e doenças (FANG; YANG; WU, 2002). Os radicais livres têm como alvos celulares principais proteínas, lipídeos, ácido desorribonucléico (DNA) e ácido ribonucléico (RNA), e sua produção excessiva ocasiona lesões na célula, alterando sua integridade e, consequentemente, sua funcionalidade (OLIVEIRA; KOURY; DONANGELO, 2007).

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das ROS, porém as membranas celulares são as estruturas mais acometidas pela peroxidação lipídica, sofrendo alterações em sua estrutura e permeabilidade, o que acarreta perdas da seletividade na troca iônica, liberação de compostos citoplasmáticos e formação de produtos tóxicos (ANTUNES et al., 2008; BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007). Uma lesão da membrana, por sua vez, expõe mais estruturas intracelulares, deixando vulneráveis mitocôndrias, lisossomos e inclusive o DNA, contribuindo para a ocorrência de mutações genéticas que desfavorecem a regulação do ciclo celular e podem provocar morte celular (GOMES, 2007).

Os peróxidos lipídicos, derivados de ácidos graxos poli-insaturados, são instáveis e se decompõem para formar uma série de compostos complexos que incluem compostos carbonílicos reativos, como o malondialdeído (MDA), o qual resulta da oxidação da partícula de LDL e cujos níveis estão elevados em associação com fatores de risco cardiovascular como hipertensão, hiperlipidemia e diabetes (NASSER et al., 2011).

O organismo saudável, entretanto, possui mecanismos protetores que modulam a concentração dos compostos reativos (BARBOSA, 2008). Os mecanismos de defesa antioxidantes celulares têm por finalidade prevenir a formação de radicais livres, converter espécies oxidantes tóxicas em menos tóxicas, preservar a compartimentalização celular - que é vital para as estruturas celulares - ou promover o reparo do dano causado pelos radicais livres (PERCARIO, 2010).

Quando a concentração das espécies reativas supera a capacidade do organismo em removê-las, devido à maior produção intracelular e/ou à ineficiência dos mecanismos de proteção antioxidante, ocorre um desequilíbrio em favor da formação dos radicais, denominado estresse oxidativo. Tal processo, quando mantido por período de tempo relativamente prolongado, pode promover danos a biomoléculas importantes e comprometer a saúde e a viabilidade celular (BARBOSA, 2008; CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011; CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009).

Sabe-se que a formação da placa aterosclerótica inicia-se com a agressão do endotélio vascular por diversos fatores de risco, como a elevação da LDL (BONI et al., 2010). Assim,

em especial, a aterosclerose está intimamente relacionada ao estresse oxidativo, uma vez que, entre seus principais determinantes, estão a hiperlipidemia e a hiperglicemia, condições nas quais ocorrem modificações na LDL que ativam o endotélio vascular a um perfil pró-aterogênico (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009; SIGNORI et al., 2007).

A disfunção endotelial aumenta a permeabilidade da camada íntima às lipoproteínas plasmáticas, favorecendo sua retenção no espaço subendotelial e oxidação. Lipoproteínas oxidadas se ligam aos receptores de macrófagos, resultando em acúmulo de ésteres de colesterol e formação de células espumosas. Estas medem o recrutamento e a proliferação de células musculares lisas e potencializam a inflamação. A LDL modificada por oxidação está presente nas paredes das artérias na aterosclerose e conduz à desestabilização das placas ateroscleróticas (BONI et al., 2010; LI et al., 2010).

Essas modificações na LDL estão entre os eventos mais precoces na formação da placa aterosclerótica, constituindo o elemento chave para a geração das células espumosas e estrias gorduras (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009; MOHN et al., 2005; OLIVEIRA; SCHOFFEN, 2010). Além da oxidação da LDL, o estresse oxidativo conduz a liberação de citocinas inflamatórias e favorece um estado pró-trombótico, resultando em disfunção endotelial e lesões vasculares ateroscleróticas (SHARGORODSKY et al., 2010).

Condições de estresse oxidativo podem ser identificadas mesmo em estudos com crianças (MOHN et al., 2005; SILVA; VEIGA; RAMALHO, 2007) e adolescentes (ALKAZEMI et al., 2008; KELISHADI et al., 2007; PUCHAU et al., 2010a). Considerando a associação do estresse oxidativo com as DCV e as suas repercussões em faixas etárias tão precoces, deriva-se a importância de se conhecer melhor os determinantes implicados no processo etiológico de tais agravos.

2.3 Sistema Antioxidante Celular

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, presentes em menores concentrações que as do substrato oxidável, sejam capazes de retardar ou inibir a oxidação deste de maneira eficaz (BARBOSA et al., 2010). Tais substâncias podem agir diretamente, impedindo a formação ou neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não-radicais, inibindo o início da lipoperoxidação, sequestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas, ou ainda

indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com tal capacidade (BARBOSA et al., 2010; CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009; OLIVEIRA; SCHOFFEN, 2010).

A peroxidação lipídica é uma reação em cascata, que envolve complexas reações em cadeia auto-propagantes contínuas, resultantes das interações químicas entre os ácidos graxos insaturados e as moléculas altamente reativas resultantes do metabolismo do oxigênio (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011; OLIVEIRA; SCHOFFEN, 2010).

Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) nas membranas celulares fazem com que essas sejam potentes geradoras de radicais livres. O radical $\text{OH}\cdot$, pela retirada de um hidrogênio dos PUFAs da membrana celular, desempenha importante papel na lipoperoxidação, sendo considerado o principal iniciador de tal processo (BARBOSA et al., 2010).

A reação em cadeia promovida pelas ROS acontece em três momentos: “iniciação”, que é caracterizada pela formação das moléculas altamente reativas resultantes do metabolismo do oxigênio; “propagação”, que ocorre quando as ROS reagem com um substrato; e “cessação”, que é a interrupção da reação em cadeia. Assim, a oportunidade de combate aos radicais livres mais factível e efetiva e, conseqüentemente, a proteção contra lesões oxidativas celulares e genéticas que contribuem para o desenvolvimento das doenças crônicas não-transmissíveis, reside na intervenção da reação-cessação, visto que as ROS são metabólitos fisiológicos inevitáveis produzidos pelo organismo humano (GOMES, 2007).

Células, tecidos e fluídos corporais apresentam importantes sistemas endógenos de defesa, capazes de eliminar diversas espécies reativas e minimizando os danos oxidativos causados pelos radicais livres. Esses sistemas de defesa endógena incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e redutase (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011).

O papel funcional das enzimas antioxidantes é bem estabelecido, com a SOD agindo por dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um composto mais estável (CHIN et al., 2011). As enzimas CAT e GPx, por sua vez, agem de maneira integrada para impedir o acúmulo de H_2O_2 , uma vez que este, mediante a participação dos metais ferro e cobre, culmina na geração do radical $\text{OH}\cdot$, contra o qual não há sistema enzimático de defesa. Considerando a potencialidade do radical $\text{OH}\cdot$ e o fato da não existência de defesa enzimática especializada, é de extrema importância o perfeito equilíbrio entre as enzimas antioxidantes na manutenção da integralidade celular (BARBOSA et al., 2010).

A glutathione desempenha um papel fundamental na neutralização de peróxidos e na proteção celular contra o estresse oxidativo. Uma das atividades antioxidantes da glutathione

consiste em eliminar, indiretamente, o tocoferol oxidado, importante para a reciclagem e manutenção de níveis fisiológicos de vitamina E, que são essenciais para o combate ao estresse oxidativo (ANDRADE et al., 2010).

O sistema enzimático representa a primeira defesa antioxidante endógena contra as espécies reativas. No entanto, para impedir os danos celulares decorrentes do estresse oxidativo persistente, o aporte de substâncias da dieta com potencial antioxidante é de fundamental importância (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009).

O sistema de defesa não-enzimático inclui, especialmente, os compostos antioxidantes de origem dietética. O ácido ascórbico, o α -tocoferol e o β -caroteno são compostos vitamínicos potencialmente antioxidantes (BARBOSA et al., 2010).

É sabido que a maior produção de espécies reativas pode desencadear um maior consumo de antioxidantes não-enzimáticos e/ou alteração da expressão gênica e da atividade das principais enzimas antioxidantes, na tentativa de que sejam mantidos os níveis de espécies reativas dentro dos limites fisiológicos (ANDRADE et al., 2010). Além disso, as defesas antioxidantes agem como um sistema coordenado, no qual a deficiência de um componente pode afetar a eficiência dos outros (EVANS; HALLIWELL, 2001).

A vitamina E é a principal vitamina lipossolúvel presente no plasma e na partícula de LDL, podendo se apresentar em quatro isoformas: alfa, beta, gama e delta-tocoferol (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009). O α -tocoferol é o mais estudado dos tocoferóis, devido a sua elevada concentração no plasma humano, células e tecidos corporais, mas a literatura tem corroborado a influência do γ -tocoferol e do δ -tocoferol na atividade antioxidante em humanos (BOTELHO et al., 2012).

Os tocoferóis são considerados antioxidantes primários, pois fornecem átomos de hidrogênio para as membranas celulares, convertendo rapidamente os radicais livres em espécies mais estáveis e, assim, inibindo por competição a oxidação das cadeias de ácidos graxos insaturados dos fosfolípidos, componentes de membranas biológicas e das lipoproteínas plasmáticas. Dessa forma, os tocoferóis promovem a primeira linha de proteção contra a peroxidação lipídica, retardando especialmente a etapa de propagação (BONI et al., 2010; CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011).

Sabe-se que a primeira fase do estresse oxidativo é iniciada pela maior produção de espécies reativas, como identificado pelo aumento da produção de hidroperóxidos. A segunda fase envolve o início das reações dos radicais livres aos seus principais alvos e consumo de antioxidantes no sentido de prevenir a ocorrência de danos. Nessa fase, a vitamina E é

fundamental para prevenir ou interromper a propagação da peroxidação lipídica. Na terceira fase é que ocorre o dano oxidativo em virtude da progressão do estresse, com aumento da peroxidação de lipídios e outros alvos das ROS. Assim, a peroxidação lipídica seria um passo final de evolução do estresse oxidativo, sendo precedida por processos bioquímicos que levam à formação de diferentes moléculas, as quais poderiam ser importantes alvos de terapias antioxidantes (ANDRADE et al., 2010).

A capacidade da vitamina E de impedir a oxidação depende de sua concentração no tecido (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007). Além disso, dado o caráter lipossolúvel dessa vitamina, os níveis desse micronutriente são dependentes dos lipídeos séricos (MEERTENS et al., 2008).

Outros mecanismos envolvendo a vitamina E podem modular a arteriosclerose, incluindo inibição da adesão e redução do dano oxidativo de células imunes e endoteliais, além de inibição da proliferação de células musculares lisas (BONI et al., 2010).

A vitamina E ocorre naturalmente em alimentos de origem vegetal, principalmente nos vegetais verde-escuros, nas sementes oleaginosas, nos óleos vegetais e no germe de trigo, além de estar presente também em alimentos de origem animal, como gema de ovo e fígado (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007).

O estado nutricional de vitamina E parece estar relacionado ao desenvolvimento e à progressão das doenças crônicas não transmissíveis. Se indivíduos com risco para desenvolvimento de tais doenças apresentarem deficiência nutricional de vitamina E, esse risco pode tornar-se maior e, na doença já está instalada, poderia favorecer o aparecimento de um quadro mais grave (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007).

Conforme estudo realizado com mulheres adultas que receberam suplementação diária de vitamina E por seis meses (74% de tocotrienóis e 26% tocoferol), foi observado aumento nos níveis plasmáticos de HDL e, conseqüentemente, no índice HDL/CT, o qual reflete a proporção de lipídeos anti-aterogênicos e aterogênicos e que tem sido sugerido como um preditor importante de risco cardiovascular (CHIN et al., 2011).

O consumo adequado de alimentos fontes de vitamina E, deve ser estimulado, especialmente em jovens. Em estudo com adolescentes fisicamente ativos, a maioria dos indivíduos (52%) apresentaram concentração plasmática inferior àquela considerada adequada, resultado que pode estar relacionado à reduzida ingestão de vitamina E observada em todos os adolescentes (OLIVEIRA; KOURY; DONANGELO, 2007).

O ácido ascórbico é considerado o mais importante e potente antioxidante nutricional hidrossolúvel (NAZIROG˘LU et al., 2010; TARIQ, 2007). No plasma, a vitamina C atua

como agente redutor, doando elétrons para várias espécies reativas, eliminando-as antes que elas reajam com as membranas e as lipoproteínas e iniciem a peroxidação lipídica, dessa maneira, atenuando a progressão das enfermidades relacionadas com o estresse oxidativo (BONI et al., 2010; MEERTENS et al., 2008).

Além disso, a vitamina C regenera a forma ativa da vitamina E e de outros compostos como β -caroteno, flavonóides e glutathione para que recuperem seus papéis antioxidantes (BONI et al., 2010; FANG; YANG; WU, 2002; MEERTENS et al., 2008). Assim, as vitaminas C e E, demonstram interação cooperativa na inibição da peroxidação lipídica e na proteção contra danos oxidativos (BARBOSA et al., 2010).

Adicionalmente, o ácido ascórbico parece interferir sobre outros fatores relacionados ao risco cardiovascular, como a integridade e o tônus do tecido vascular, o metabolismo lipídico e a pressão arterial (BONI et al., 2010). Além disso, a vitamina C parece ter a habilidade de promover a vasodilatação sanguínea e prevenir a disfunção endotelial em condições patológicas, a exemplo da aterosclerose, hipercolesterolemia e hipertensão arterial (HAS) (FREDSTROM, 2002).

A suplementação de vitamina C realizada em adultos fumantes e não-fumantes do Estado de Oregon, Estados Unidos, reduziu em aproximadamente 20-30% a excreção urinária de metabólitos da peroxidação lipídica. É provável que os efeitos antioxidantes do ácido ascórbico tenham diminuído a produção dos metabólitos por neutralizar as ROS e prevenir a reação de iniciação com os radicais, bem como por promover a regeneração da vitamina E, que foi um achado também observado no estudo (KUIPER et al., 2011).

Adultos europeus com excesso de peso suplementados com componentes alimentares com evidentes propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (“*Antiinflammatory dietary mix*”), que incluíam α -tocoferol, ácido ascórbico, resveratrol, licopeno, extrato de chá verde, ácidos graxos eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), exibiram melhora no perfil lipídico e efeitos benéficos na função endotelial, na formação de plaquetas e em marcadores inflamatórios. Também houve redução potencial do estresse oxidativo e aumento das concentrações plasmáticas de vitamina E (BAKKER et al., 2010).

O termo vitamina A compreende uma família de compostos alimentares essenciais lipossolúveis que são estruturalmente relacionados ao retinol, incluindo também os carotenóides com atividade de vitamina A (α -caroteno, β -caroteno e criptoxantina) (CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009).

Os carotenóides, em especial o β -caroteno, podem inibir ou retardar a iniciação da lipoperoxidação, através da inativação de oxigênio *singlet*, de modo a interromper a geração de carotenóides reativos ao oxigênio ainda nas etapas iniciais de sua formação. Além disso, o β -caroteno pode agir como varredor de radicais do tipo peroxil, servindo como substrato para as espécies reativas, de modo que não sejam formados novos produtos desencadeantes que dariam continuidade à reação em cadeia, impedindo a propagação das lesões oxidativas (BONI et al., 2010; CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011; GOMES, 2007).

Assim, os carotenóides, devido à sua estrutura, que se trata de um sistema de duplas ligações conjugadas, seriam capazes de interceptar radicais livres oriundos da lipoperoxidação e eliminá-los do organismo. São também capazes de reagir múltiplas vezes com radicais peroxila (OLIVEIRA et al., 2007) e, de modo semelhante, uma única molécula de retinol ou β -caroteno é capaz de inativar vários radicais de oxigênio *singlet* (BONI et al., 2010).

A pressão de oxigênio nos tecidos é um dos interferentes da atuação antioxidante do β -caroteno, o qual em tecidos sob tensões de oxigênio muito elevadas pode estar sujeito a um decréscimo da ação antioxidante, pelo processo de auto-oxidação. A concentração de β -caroteno também influencia sua ação antioxidante, de modo que concentrações que superam os 4-5 μ M prejudicam sua habilidade protetora e/ou a reverterem em pró-oxidativa (GOMES, 2007). Estudos experimentais, contudo, não confirmam a possível atividade pró-oxidante do β -caroteno (AZEVEDO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2007).

As principais fontes de carotenóides são os legumes, as frutas vermelhas e amarelas e as verduras verdes escuras. O β -caroteno é encontrado em abundância em abóboras, cenoura, brócolis, almeirão e couve-manteiga. A vitamina A pré-formada, por sua vez, é apenas encontrada em alimentos de origem animal, como fígado, ovos, leite integral e seus derivados (BONI et al., 2010).

Conforme o *Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants Study*, níveis mais altos de carotenóides totais apresentaram uma relação inversa com o IMC e com o consumo energético total. Como os carotenoides são conhecidos por inativar os radicais livres, é possível que a geração excessiva dessas espécies oxidantes decorrentes da obesidade possa depletar os estoques de carotenóides. Além disso, o consumo de frutas e vegetais foi mais frequente no grupo com níveis séricos mais elevados de carotenóides. Assim, tais resultados sugerem que aqueles indivíduos com concentrações séricas maiores de carotenoides apresentavam também uma tendência a terem estilos de vida mais saudáveis (HOZAWA et al., 2007).

Grosjean et al. (2001) encontraram experimentalmente que o ácido retinóico, metabólito ativo da vitamina A, atenua a transcrição gênica da enzima óxido nítrico sintetase (iNOS) induzida por citocinas, em células endoteliais e cardíacas, reduzindo a formação excessiva de óxido nítrico (NO), que age como radical livre. Segundo Fang, Yang e Wu (2002), o ácido retinóico pode inibir a transcrição gênica da iNOS em células musculares lisas de vasos, células endoteliais, cardíacas e mesangiais, desempenhando, assim, importante função na prevenção da citotoxicidade induzida por espécies reativas.

Estudo experimental descreve ainda o papel do β -caroteno e do retinol na regulação da adipogênese, atuando como moléculas sinalizadoras. Tal função pode ser relevante considerando a relação entre o excesso de tecido adiposo e o desequilíbrio do estado oxidante no organismo (WAMKE et al., 2011).

A população jovem, contudo, pode estar exposta ao risco de deficiência de vitaminas lipossolúveis antioxidantes. Em adolescentes de uma escola particular do Estado de São Paulo foi identificada prevalência elevada de retinolemia inadequada ($<30\mu\text{g/dL}$) (16,5% do sexo feminino e 22,8% do sexo masculino). Considerando que a vitamina A é um nutriente de depósito, o estado nutricional relacionado com a vitamina reflete longos períodos de ingestão alimentar. Assim, a retinolemia não reflete os depósitos hepáticos desse nutriente, mas pode ser aceita como expressão da condição adequada do estado nutricional relacionado com a vitamina A ou como indicativo de risco para deficiência da vitamina (VITOLLO et al., 2004).

Estudo com crianças e adolescentes, entre 7 e 14 anos, de escolas públicas do Estado da Bahia, observou a um elevado percentual de estudantes com retinolemia baixa, sendo a prevalência de níveis de retinol sérico $<30\mu\text{g/dL}$ de 27,8%, e de aproximadamente 9,0% para níveis de retinol sérico $<20\mu\text{g/dL}$ (deficiência moderada), evidenciando a deficiência dessa vitamina como um importante problema de saúde e uma realidade que merece atenção nessa faixa etária (RIBEIRO-SILVA; NUNES; ASSIS, 2014).

2.4 Dieta na modulação do estresse oxidativo

Segundo a mais recente Pesquisa de Orçamentos Familiares (2008-2009), realizada no Brasil, apenas 2,8% das calorias totais disponíveis para consumo familiar no país correspondem ao grupo das frutas, legumes e vegetais, significando aproximadamente um

quarto das recomendações de consumo internacional desses alimentos para prevenção de doenças crônicas não-transmissíveis (pelo menos 400 gramas diárias ou cerca de 9 a 12% das calorias totais de uma dieta de 2.000 kcal diárias) (IBGE, 2010).

Segundo o *The Brazilian Osteoporosis Study*, uma pesquisa representativa da população adulta brasileira acima de 40 anos de idade, houve uma elevada proporção de indivíduos com baixo consumo de todos os nutrientes antioxidantes avaliados, com exceção do selênio. A vitamina E (99,7%), seguida da vitamina A (92,4%) e do ácido ascórbico (85,1%) foram os nutrientes com maior proporção de indivíduos com consumo diário inferior aos valores de referência, independente do gênero, idade, classe social, estado nutricional e região do país (PINHEIRO et al., 2011).

Em estudo envolvendo adultos jovens do Brasil e da Espanha foi observado que os indivíduos no tercil mais alto de consumo de frutas e vegetais tinham valores significativamente mais baixos de circunferência da cintura (CC), pressão arterial diastólica, glicose e triglicerídeos, e concentrações mais altas de HDL. Com relação aos marcadores de estresse oxidativo, tais indivíduos tinham níveis circulantes estatisticamente mais altos para os níveis plasmáticos da capacidade antioxidante total da dieta (TAC), bem como concentrações mais baixas de LDL oxidada (ox-LDL), mesmo após ajustes por possíveis variáveis de confusão como IMC, CC, consumo energético, uso de suplementos vitamínicos e tabagismo (HERMSDORFF et al., 2012).

Ainda conforme Hermsdorff et al. (2012), é interessante destacar que o consumo de vitamina C foi inversamente associado às concentrações de ox-LDL e positivamente associado com a TAC, independente do consumo de frutas e vegetais, sugerindo que a ingestão de vitamina C *per si* pode contribuir com a melhora do estado antioxidante plasmático.

Em crianças e adolescentes na Espanha, os níveis plasmáticos da capacidade antioxidante total da dieta, uma ferramenta útil para investigar o poder da ingestão de antioxidantes em dietas mistas, apresentaram correlação positiva e significativa com o consumo de alguns nutrientes antioxidantes, incluindo as vitaminas A, C e E. Adicionalmente, foi observada forte associação inversa entre a TAC com o IMC e a gordura corporal total nos indivíduos obesos, sugerindo um possível papel do consumo dietético de antioxidantes na homeostase do peso corporal, independente do consumo energético diário (PUCHAU et al., 2010a).

Em adultos jovens com síndrome metabólica foi observada correlação negativa e estatisticamente significativa entre os níveis plasmáticos da TAC com o IMC, a CC, a pressão

arterial sistólica e a glicemia. Ainda segundo esse estudo, os valores de TAC mostraram positivas e significantes associações com o consumo de fibras, vitaminas A, C, ácido fólico, magnésio, selênio e zinco, após ajustes por sexo e ingestão energética diária. Frutas, vegetais e nozes foram os grupos alimentares encontrados como os principais contribuintes da TAC (PUCHAU et al., 2010b).

Estudo experimental, por sua vez, observou diminuição dos níveis plasmáticos da TAC dos animais submetidos à isquemia e não suplementados com as vitaminas C e E, demonstrando o consumo das defesas antioxidantes sistêmicas para mitigar o dano oxidativo imposto pela síndrome de isquemia e reperfusão aos animais (PERCARIO, 2010).

Estudo com adolescentes jogadores profissionais de basquete observou que a suplementação com as vitaminas C e E reduziu os níveis plasmáticos de lipoperóxidos e melhorou as concentrações séricas das vitaminas C, A e E, além da atividade de enzimas antioxidantes, a exemplo da glutathione peroxidase (NAZIROĞLU et al., 2010).

A suplementação das vitaminas C e E em crianças e adolescentes espanhóis portadores de hipercolesterolemia familiar demonstrou que a terapia com as vitaminas antioxidantes não influenciou significativamente o perfil lipídico, os marcadores de inflamação ou as moléculas de adesão. Contudo, foram observadas modificações no perfil de ácidos graxos que foram independentes do grau de dislipidemia, podendo ser tais mudanças consideradas indicadores relevantes de um menor risco cardiovascular (ALDÁMIZ-ECHEVARRÍA et al., 2006).

Estudo randomizado, placebo-controlado, com adultos Israelenses que apresentavam no mínimo dois fatores de risco cardiovasculares, demonstrou que a suplementação com antioxidantes (vitaminas C e E, selênio e coenzima Q10) aumentou significativamente a elasticidade arterial e reduziu a pressão arterial, sendo tais resultados associados à melhora no metabolismo lipídico e glicídico (SHARGORODSKY et al., 2010).

Enquanto as evidências clínicas para um consenso ainda são insuficientes, a suplementação com antioxidantes na prevenção primária ou secundária de doenças crônicas não transmissíveis em pacientes pediátricos ou adultos não é recomendada, sendo prudente e desejável o estímulo ao consumo de uma dieta equilibrada, com frutas e vegetais diversificados, ricos em substâncias que, em princípio, combatem o estresse oxidativo (BATISTA; COSTA; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007; CATANIA; BARROS; FERREIRA).

Outros fatores dietéticos, além da ingestão de antioxidantes, também podem ser capazes de exercer efeitos sobre o estresse oxidativo. Dentre esses, o de maior expressão é a adequação da ingestão energética (BARBOSA et al., 2010).

O aumento da massa adiposa expõe crianças à produção excessiva de ROS, que podem configurar o mecanismo fundamental para o início e a progressão das doenças potencialmente relacionadas à obesidade. Estudo realizado com crianças e adolescentes obesos na Espanha, que seguiam uma dieta de baixa caloria, demonstrou que no grupo no qual houve a suplementação com suco de tangerina, foram observadas mudanças positivas nas defesas antioxidantes, com incremento dos níveis plasmáticos de ácido ascórbico e α -tocoferol e redução significativa de biomarcadores de estresse oxidativo. Portanto, prevenir o desenvolvimento de distúrbios secundários ao excesso de peso deve incluir estratégias que atenuem o estresse oxidativo (CODONER-FRANCH et al., 2010).

A manutenção de uma dieta saudável e balanceada associa-se a um menor risco de morbi-mortalidade por doenças crônicas e seus benefícios para a promoção da saúde já são bem estabelecidos. Porém, convém assinalar que essa dieta pode ser indicativa de um estilo de vida mais saudável de um modo geral, sendo inapropriado concluir que um nutriente possa isoladamente ser o único responsável pela alteração no estado antioxidante do organismo (AKBARALY et al., 2011; CATANIA; BARROS; FERREIRA, 2009; KRINSKY, 2001).

Frutas e vegetais contêm vitaminas, carotenóides, flavonóides, fibras e outras substâncias bioativas ainda desconhecidas, que agem de maneira aditiva e sinérgica, fornecendo a esse grupo de alimentos elevada capacidade antioxidante e múltiplas ações anti-inflamatórias, limitando ou prevenindo o estresse oxidativo (HERMSDORFF et al., 2012; PUCHAU et al., 2010b; RODRIGUES et al., 2003).

Contudo, estudo realizado com adolescentes em São Paulo (ARAKI et al., 2011) encontrou inadequação no consumo dos grupos alimentares em geral, incluindo as frutas e os vegetais, comportamento alimentar que, somado ao sedentarismo, favorece o excesso de peso e obesidade e seus fatores de risco cardiovasculares associados.

Estudo com adolescentes obesos portadores de síndrome metabólica enfatizou a importância de considerar a qualidade nutricional global da dieta e que o consumo diário de dietas ricas em antioxidantes naturais pode melhorar a função endotelial e alguns marcadores inflamatórios, mesmo na ausência de mudanças em fatores de risco convencionais, como o aumento do IMC e da CC (KELISHADI et al., 2011).

Convém destacar que o maior consumo de alimentos e calorias por indivíduos obesos não é necessariamente associado ao consumo de alimentos fontes de micronutrientes. Em geral, há um consumo insuficiente de fontes de vitaminas e minerais que, ao longo do tempo, pode aumentar o risco de desenvolver ou agravar desordens metabólicas (PINHEIRO et al., 2011).

Nos adolescentes de escolas públicas de Pelotas (RS), os resultados da avaliação de consumo alimentar chamam atenção em virtude da baixa frequência de hábitos alimentares saudáveis, em especial, quanto ao reduzido e preocupante percentual (5,3%) de indivíduos, de todos os níveis socioeconômicos, que consomem frutas e verduras cinco ou mais vezes por dia. Crianças e adolescentes tendem a se envolver mais rapidamente na cultura globalizada, comparados com os seus pais e, portanto, é preciso estar atento aos indivíduos mais jovens (NEUTZLING et al., 2010).

A partir dos resultados observados na literatura, estratégias desenvolvidas para incrementar o consumo de frutas e vegetais em adolescentes e, portanto, a ingestão de nutrientes antioxidantes, podem favorecer uma redução global de indicadores de risco cardiovascular (HOLT et al., 2009).

O papel de melhorar a alimentação dos adolescentes exige esforços governamentais com o reforço à implementação de políticas públicas de promoção da saúde direcionadas a esse público. Avanços no que diz respeito à parceria com a indústria na produção de alimentos mais saudáveis constitui uma estratégia urgente, pois modificar hábitos alimentares, principalmente entre os jovens, não tem se mostrado uma tarefa fácil. Além disso, o ambiente escolar, por sua vez, exige destaque, devendo ser um ambiente educativo e, nesse sentido, os alimentos oferecidos ou vendidos nas escolas devem ter o caráter de exemplo a ser seguido pelas crianças e adolescentes (NEUTZLING et al., 2010).

3 MÉTODOS

Referentes ao artigo 1:

3.1 Desenho e população de estudo

A investigação derivou de um projeto mais amplo intitulado “Dislipidemia e sua associação com o excesso de peso, sedentarismo e estresse oxidativo em uma coorte de escolares do Recife, PE”. Na linha de base desse projeto procedeu-se a avaliação antropométrica, do perfil lipídico e de estilo de vida, além de aspectos socioeconômico e demográficos.

O delineamento da pesquisa compreendeu um estudo do tipo série de casos de dislipidemia, com grupo controle acoplado, aninhado nessa coorte, cuja população elegível foi constituída por adolescentes de ambos os sexos, entre 12 a 19 anos, recrutados de escolas públicas do Recife, no período de março/abril de 2013. Os casos incidentes de dislipidemias e seus respectivos controles foram rastreados mediante corte transversal realizado na população elegível. Foram considerados como casos de dislipidemia os adolescentes que apresentaram concentrações séricas baixas de HDL ($<1,2 \mu\text{mol/L}$) e aumentadas de triglicerídeos ($\geq 1,5 \mu\text{mol/L}$). Esse tipo de dislipidemia combinada foi observada entre 12,7% dos adolescentes recrutados. Foram excluídos os adolescentes com história pessoal referida de patologias e/ou uso referido de medicamentos que pudessem alterar o perfil lipídico, bem como aqueles em uso regular de suplementos vitamínicos nos últimos três meses.

Para o dimensionamento da amostra, foram considerados um erro alfa de 5% (1,96) e um erro beta de 10% (1,28), com um desvio padrão (S) para distribuição das concentrações de retinol sérico de $0,252 \mu\text{Mol/L}$ (FERNANDES et al., 2005) e uma diferença (d) a ser detectada entre casos e controles de $0,175 \mu\text{Mol/L}$. Usando-se a fórmula $n = [(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta/2})^2 \cdot 2 \cdot S^2] / d^2$ (KIRKWOOD; STERNE, 2003) o tamanho amostral mínimo, foi de 44 casos. No sentido de corrigir eventuais perdas, foi feito um acréscimo de 15% [$100/(100-15)$], resultando em 52 casos de dislipidemia, pareados segundo o sexo e a idade a um número similar de controles.

3.2 Métodos e técnicas de avaliação

A supervisão do trabalho em campo foi realizada pelos pesquisadores e a coleta dos dados foi feita por uma equipe técnica previamente treinada e com experiência para a aferição de medidas antropométricas, clínicas e manuseio de material biológico, bem como na aplicação de questionário específico (APÊNDICE A).

3.2.1 Variáveis clínicas e bioquímicas

A pressão arterial sistólica (PAS) e a diastólica (PAD) foram aferidas pelo método auscultatório, sendo tomadas duas medidas por adolescente, no braço direito, com intervalo de 5 minutos. A PAS e a PAD foram assinaladas na primeira e na quarta fases de Korotkoff, respectivamente.

Para as análises bioquímicas, foram colhidos cerca de 5 mL de sangue de cada escolar, por punção venosa, após jejum de 10 a 12 horas, em frascos secos, em sala previamente preparada em cada escola. Todos os materiais utilizados nos procedimentos (coleta e processamento) foram descartáveis e estéreis. Os frascos foram acondicionados em caixas de isopor contendo gelo reciclável, vedadas e transportadas para o processamento e análise em laboratório de análises clínicas.

Foram analisadas as concentrações séricas de glicose, triglicerídeo (TG), colesterol total (CT), LDL e HDL, apolipoproteína A-I, apolipoproteína B e alfa-1-glicoproteína ácida (AGP). Os níveis séricos de glicose, TG, CT e HDL foram determinados por método enzimático. A fração LDL foi avaliada utilizando-se a fórmula de Friedewald [$LDL = CT - HDL - TG/5$], considerando que todos os valores de TG obtidos foram $< 4,5 \mu\text{Mol/L}$ (SBC, 2005).

Os valores de referência utilizados para o diagnóstico de dislipidemia foram os preconizados pela I Diretriz Brasileira de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência (SBC, 2005). Foram classificados como valores aumentados níveis séricos de $CT \geq 4,4 \mu\text{Mol/L}$, $LDL \geq 3,4 \mu\text{Mol/L}$ e de $TG \geq 1,5 \mu\text{Mol/L}$. Níveis séricos de $HDL < 1,2 \mu\text{Mol/L}$ são considerados abaixo dos valores desejáveis.

As apolipoproteínas B e A-I, assim como a alfa-1-glicoproteína ácida, foram analisadas utilizando kits baseados no método Imunoturbidimétrico (Randox, UK).

Para as análises séricas de retinol, α -tocoferol e betacaroteno, imediatamente após a coleta de sangue venoso, as amostras foram colocadas em tubos de ensaio previamente identificadas e protegidas da luz. Após completa coagulação, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm (rotação por minuto) durante 10 minutos, para a separação total do soro, o qual foi transferido para tubos *eppendorf*. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em freezer à temperatura de -20°C , e transportadas para processamento e análise no Centro de Investigação em Micronutrientes (CIMICRON - Universidade Federal da Paraíba), em caixas de isopor com gelo, mantendo-se a cadeia de frio. Após o descongelamento das amostras, foram transferidos 100 μL de soro para tubos cônicos de vidro, e foram adicionados 100 μL de etanol absoluto ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), para promover a precipitação de proteínas, agitando por 10 segundos e em seguida adicionando 200 μL de hexano (C_6H_{14}), responsável pela extração das vitaminas de interesse. Em seguida, as amostras foram agitadas por 30 segundos no agitador de tubos em velocidade contínua, e centrifugados à velocidade de 3.000 rpm por 5 minutos (ARAÚJO; FLORES, 1978; BESEY et al., 1946). Posteriormente, foram extraídos 100 μL do sobrenadante, colocados em tubos de vidro pequeno e evaporados com nitrogênio, por aproximadamente 1 minuto. O resíduo da amostra foi redissolvido com 50 μL de metanol e deste retirados 20 μL para análise das concentrações séricas de retinol, α -tocoferol e betacaroteno pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Considerando que a composição lipídica do plasma, principalmente a de colesterol, é um determinante importante das concentrações séricas de α -tocoferol e β -caroteno, visto que tais nutrientes são transportados fisiologicamente por lipoproteínas ricas em colesterol, procedeu-se o ajuste das concentrações desses nutrientes, fazendo-se o uso das razões entre essas vitaminas e as variáveis colesterol total, apolipoproteína B e apolipoproteína A-I (OLIVEIRA; KOURY; DONANGELO, 2007; NEUHOUSER et al., 2001).

3.2.2 Variáveis antropométricas

A avaliação antropométrica constou de dupla tomada do peso, altura e circunferência da cintura, sendo utilizada a média dos valores. Para consistência dos dados, foram

desprezadas as medidas que apresentaram diferenças superiores a 100g para o peso, 0,5 cm para a altura e 0,3 cm para a circunferência da cintura.

As medidas de peso e altura foram realizadas segundo técnica recomendada por Lohman et al. (1988). A massa corporal foi obtida em balança eletrônica digital, da marca Plenna-MEA-03140[®], com capacidade máxima de 150 Kg e precisão de 100g. A altura foi aferida com o uso de fita métrica Stanley[®] milimetrada, com precisão de 1,0 mm e exatidão de 0,5 cm. A circunferência da cintura (CC) foi obtida no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca com fita métrica flexível e inelástica sem comprimir os tecidos (TAYLOR et al., 2000).

O diagnóstico do excesso de peso foi realizado pelo índice de massa corporal (IMC/Idade) e o resultado interpretado de acordo com os valores indicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) – 2007, segundo sexo e idade (DE ONIS; ONYANHO; BORGHİ et al, 2007).

O diagnóstico da obesidade abdominal foi realizado pela avaliação da CC e da relação CC (cm) /Altura (cm) (WHtR). O ponto de corte para classificação da circunferência da cintura foi o recomendado por Taylor et al. (2000), que define obesidade abdominal como CC $\geq$ percentil 80, ajustado para idade e sexo. Em relação ao WHtR, foram adotados os preconizados por Li et al. (2006), sendo utilizado como ponto de corte para definição de obesidade abdominal o valor $\geq 0,5$.

3.2.3 Variáveis sociodemográficas e de estilo de vida

Foram coletadas informações sobre idade, sexo, escolaridade dos adolescentes, escolaridade dos pais e classificação socioeconômica da família.

A escolaridade dos adolescentes foi avaliada pelo número de anos completos de estudo, a partir da série na qual o adolescente estava matriculado. A escolaridade dos pais foi avaliada pelo número de anos completos de estudo e classificada de acordo com os critérios da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa – ABEP (ABEP, 2012) (analfabeto/até 3ª série fundamental, até 4ª série fundamental, fundamental completo, médio completo e superior completo). Para fins de análise estatística, agrupou-se a escolaridade dos pais em: até o ensino fundamental completo e em ensino médio ou superior completos.

Na determinação do nível socioeconômico foram empregados os “Critérios de Classificação Econômica do Brasil”, estabelecidos pela ABEP (2012). Esse instrumento utiliza uma escala de pontos, obtida pela soma dos pontos da posse de itens domésticos e pelo grau de instrução do chefe da família, classificando a população nas classes econômicas A1, A2, B1, B2, C1, C2, D e E, de ordem decrescente, respectivamente iniciada pela classe de melhor poder aquisitivo.

Foi classificado como tabagista o adolescente que referiu fumar uma quantidade maior ou igual a 5 cigarros por dia (PIEGAS, 2003). Os níveis de atividade física foram classificados conforme metodologia proposta por Pate et al. (2002) em: a) pouco ativos ou sedentários os indivíduos que acumularem <300 minutos/semana; b) suficientemente ativos aqueles com ≥ 300 minutos de atividade física semanal.

3.3 Algoritmo de análise dos dados

Para construção do banco de dados foi utilizado o programa Epi Info, versão 6,04b (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA), sendo os dados digitados em dupla entrada e a consistência testada pelo módulo *validate*. As análises estatísticas foram realizadas com o *Statistical Package for Social Sciences* – SPSS for Windows, versão 13.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição pelo teste de *Kolmogorov Smirnov*. O IMC, a CC e as concentrações de glicose, colesterol total, LDL-c, apoA-I, apoB, AGP e retinol, bem como as razões β -caroteno/CT e de β -caroteno/LDL apresentaram distribuição normal, sendo descritos sob a forma de média e desvio padrão.

As variáveis PAS, PAD, razão apoB/apoA-I, α -tocoferol, α -tocoferol/CT, α -tocoferol/LDL, α -tocoferol/ApoB, α -tocoferol/ApoA-I, β -caroteno, β -caroteno/ApoB e β -caroteno/ApoA-I não apresentaram distribuição normal e sofreram transformação logarítmica (Ln), sendo retestadas quanto à normalidade. Apenas a razão apoB/apoA-I, as concentrações de α -tocoferol, α -tocoferol/LDL, α -tocoferol/ApoB, α -tocoferol/ApoA-I e β -caroteno/ApoB assumiram distribuição normal, sendo expressas sob a forma de média geométrica e intervalo de confiança de 95%. As demais variáveis que permaneceram com distribuição não gaussiana foram apresentadas sob a forma de medianas e seus respectivos intervalos interquartílicos.

Na comparação entre as médias dos grupos avaliados foi utilizado o teste *t* de *student* para dados não pareados, quando os critérios de homocedasticidade e distribuição normal foram atingidos. O teste “U” *Mann Whitney* foi utilizado quando os critérios de normalidade e/ou homocedasticidade não foram atingidos.

Na descrição das proporções, a distribuição binomial foi aproximada à distribuição normal, pelo intervalo de confiança de 95%. Nos testes de inferência estatística, as proporções foram comparadas pelo teste do Qui quadrado de *Pearson*. Foi utilizado o nível de significância de 5,0% para rejeição de hipótese de nulidade.

3.4 Aspectos éticos

O estudo foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Lauro Wanderley – CEP/HULW da Universidade Federal da Paraíba, pautado pelas normas éticas para pesquisa envolvendo seres humanos, consoantes com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, sendo aprovado conforme Protocolo CEP/HULW nº 723/10 (ANEXO 1).

Os adolescentes e seus responsáveis foram previamente informados dos objetivos e métodos a serem adotados na pesquisa, contatados previamente ao dia da coleta pela equipe técnica, por intermédio das escolas. Mediante o seu consentimento, o responsável assinou um termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE B).

Além do sigilo dos dados, foi garantido aos adolescentes e seus responsáveis o retorno dos resultados das avaliações antropométricas e bioquímicas realizadas. Os pesquisadores se mantiveram à disposição para esclarecimentos a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outras dúvidas relacionadas com a pesquisa.

Referentes ao artigo 2:

3.5 Desenho e população de estudo

A investigação derivou de um projeto maior intitulado “Dislipidemia e sua associação com o excesso de peso, sedentarismo e estresse oxidativo em uma coorte de escolares do Recife, PE”. Na linha de base desse projeto procedeu-se a avaliação antropométrica, de perfil lipídico, estilo de vida, aspectos socioeconômico e demográficos.

O delineamento da pesquisa compreendeu um estudo de corte transversal, aninhado nessa coorte, cuja população elegível foi constituída por adolescentes de ambos os sexos, entre 12 a 19 anos, recrutados de escolas públicas da cidade do Recife, no período de março a abril de 2013. Foram excluídos os adolescentes com história pessoal referida de patologias e/ou em uso referido de medicamentos que pudessem alterar o perfil lipídico.

Para o dimensionamento da amostra, partiu-se de um estudo piloto, no qual foi observada uma prevalência de incremento das concentrações séricas de triglicerídeos de 50%, entre o primeiro e o último quartil da distribuição do índice apoB/apoA-I.

Na definição do tamanho amostral, foi utilizada a equação para o cálculo de amostra com população infinita [$n = z^2 \times pq/d^2$] (HENDERSON; SUNDERESAN, 1982), onde z = limite de confiança (1,96), p = prevalência estimada (50%) e d = margem de erro (14%). Uma vez que se trata de uma população “finita”, o “ n ” amostral foi ajustado de acordo com a equação [$n = n/1 + (n/N)$] (LWANGA; TYE, 1987), onde n = “ n ” amostral (49) e N = tamanho populacional (409). Em seguida foi realizada a correção pelo efeito do desenho amostral por conglomerado (fator 2,1), resultando em um número de unidades amostrais mínimas de 92 indivíduos. Para corrigir eventuais perdas, optou-se por corrigir o tamanho amostral em 10,0% [$100/(100-10)$], resultando numa amostra final de 103 adolescentes.

3.6 Métodos e técnicas de avaliação

A supervisão do trabalho em campo foi realizada pelos pesquisadores e a coleta dos dados foi feita por uma equipe técnica previamente treinada e com experiência para a aferição

de medidas antropométricas, clínicas e manuseio de material biológico, bem como na aplicação de questionário específico (APÊNDICE A).

3.6.1 Variáveis clínicas e bioquímicas

A pressão arterial sistólica (PAS) e a diastólica (PAD) foram aferidas pelo método auscultatório, sendo tomadas duas medidas por adolescente, no braço direito, com intervalo de 5 minutos. A PAS e a PAD foram assinaladas na primeira e na quarta fase de Korotkoff, respectivamente, sendo considerados os valores pressóricos obtidos na segunda aferição e classificados segundo a recomendação da I Diretriz Brasileira de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência (SBC, 2005).

Para as análises bioquímicas, foram colhidos cerca de 5 mL de sangue de cada escolar, por punção venosa, após jejum de 10 a 12 horas, em frascos secos, em sala previamente preparada em cada escola. Todos os materiais utilizados nos procedimentos (coleta e processamento) foram descartáveis e estéreis. Os frascos foram acondicionados em caixas de isopor contendo gelo reciclável, vedadas e transportadas para o processamento e análise em laboratório de análises clínicas.

Foram analisadas as concentrações séricas de glicose, triglicerídeo (TG), colesterol total (CT), LDL e HDL, apolipoproteína A-I, apolipoproteína B e alfa-1-glicoproteína ácida (AGP).

Os níveis séricos de glicose, TG, CT e HDL foram determinados por método enzimático. A fração LDL foi avaliada utilizando-se a fórmula de Friedewald [$LDL = CT - HDL - TG/5$], considerando que todos os valores de TG obtidos foram $< 4,5 \mu\text{Mol/L}$ (SBC, 2005).

Os critérios diagnósticos de Diabetes Mellitus foram aqueles preconizados pela Associação Americana de Diabetes – ADA (ADA, 2011), a qual considera DM quando há glicemia de jejum $\geq 7 \mu\text{Mol/L}$, após jejum de, no mínimo, 8 horas. É considerado risco aumentado para DM valores de glicemia de jejum entre $\geq 5,6$ e $< 7 \mu\text{Mol/L}$.

Os valores de referência utilizados para o diagnóstico de dislipidemia foram os preconizados pela I Diretriz Brasileira de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência (SBC, 2005). Foram classificados como valores aumentados níveis séricos de

CT $\geq 4,4$ $\mu\text{Mol/L}$, LDL $\geq 3,4$ $\mu\text{Mol/L}$ e de TG $\geq 1,5$ $\mu\text{Mol/L}$. Concentrações séricas de HDL $< 1,2$ $\mu\text{Mol/L}$ são consideradas abaixo dos valores desejáveis.

As apolipoproteínas B e A-I, assim como a alfa-1-glicoproteína ácida, foram analisadas utilizando kits baseados no método Imunoturbidimétrico (Randox, UK).

3.6.2 Variáveis antropométricas

A avaliação antropométrica constou de dupla tomada do peso, altura e circunferência da cintura, sendo utilizada a média dos valores. Para consistência dos dados, foram desprezadas as medidas que apresentaram diferenças superiores a 100g para o peso, 0,5 cm para a altura e 0,3 cm para a circunferência da cintura.

As medidas de peso e altura foram realizadas segundo técnica original recomendada por Lohman et al. (1988). A massa corporal foi obtida em balança eletrônica digital, da marca Plenna-MEA-03140[®], com capacidade máxima de 150 Kg e precisão de 100g. A altura foi aferida com o uso de fita métrica Stanley[®] milimetrada, com precisão de 1,0 mm e exatidão de 0,5 cm. A circunferência da cintura (CC) foi obtida no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca, aferida com fita métrica flexível e inelástica sem comprimir os tecidos (TAYLOR et al., 2000).

O diagnóstico do excesso de peso foi realizado pelo índice de massa corporal (IMC/Idade) e o resultado interpretado de acordo com os valores indicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) – 2007 (DE ONIS; ONYANHO; BORGHI et al, 2007).

O diagnóstico da obesidade abdominal foi realizado pela avaliação da CC e da relação CC (cm) /Altura (cm) (WHtR). O ponto de corte utilizado para classificação da circunferência da cintura foi o recomendado por Taylor et al. (2000), o qual define obesidade abdominal como CC $\geq$ percentil 80, ajustado para idade e sexo. Em relação ao WHtR, foram adotados os preconizados por Li et al. (2006), sendo utilizado como ponto de corte para definição de obesidade abdominal o valor $\geq 0,5$.

As medidas de bioimpedância foram realizadas com o aparelho Maltron BF-906[®] (Maltron Int'l Ltda, Essex, UK), com uma frequência de 50Hz em corrente alternada de quatro eletrodos. A avaliação consta de dupla realização da técnica (HEYWARD;

STOLARCZYK, 2000). O aparelho fornece o percentual de gordura diretamente através de equações já programadas pelos fabricantes no próprio instrumento.

3.6.3 Variáveis sociodemográficas e de estilo de vida

Foram coletadas informações sobre idade, sexo, escolaridade dos adolescentes e dos pais e classificação socioeconômica da família.

A escolaridade dos adolescentes foi avaliada pelo o número de anos completos de estudo, a partir da série na qual o adolescente estava matriculado. A escolaridade dos pais foi avaliada pelo número de anos completos de estudo e classificada de acordo com os critérios da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa - ABEP (ABEP, 2012) agrupados em ensino fundamental, médio e superior completos.

Na determinação do nível socioeconômico foram empregados os “Critérios de Classificação Econômica do Brasil”, estabelecidos pela ABEP (ABEP, 2012). Esse instrumento utiliza uma escala de pontos, obtida pela soma dos pontos da posse de itens domésticos e pelo grau de instrução do chefe da família, classificando a população nas classes econômicas A1, A2, B1, B2, C1, C2, D e E, de ordem decrescente, respectivamente iniciada pelo de melhor poder aquisitivo.

Foi classificado como tabagista o adolescente que referiu fumar uma quantidade maior ou igual a 5 cigarros por dia (PIEGAS, 2003). Os níveis de atividade física foram classificados conforme metodologia proposta por Pate et al. (2002), segundo a qual são classificados como: a) pouco ativos ou sedentários os indivíduos que acumularem < 300 minutos/semana; b) suficientemente ativos aqueles com $\geq$ 300 minutos/semana.

3.7 Algoritmo de análise dos dados

Foi utilizado o programa Epi Info, versão 6,04b (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA), sendo os dados digitados em dupla entrada e a consistência testada pelo módulo *validate*. As análises estatísticas foram realizadas com o *Statistical Package for Social Sciences* – SPSS for Windows, versão 13.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição pelo teste de *Kolmogorov Smirnov* (para avaliar a simetria da curva da distribuição das variáveis). As concentrações de apoB, apoA-I, índice apoB/apoA-I, AGP, HDL e glicose, bem como o percentual de gordura, apresentaram distribuição normal, sendo descritos sob a forma de média e desvio padrão.

As variáveis que não apresentaram distribuição normal sofreram transformação logarítmica (Ln), sendo retestadas quanto à normalidade. Apenas as concentrações da fração LDL assumiram distribuição normal, sendo expressas sob a forma de média geométrica e intervalo de confiança de 95%. As demais variáveis que permaneceram com distribuição não gaussiana foram apresentadas sob a forma de medianas e seus respectivos intervalos interquartílicos.

Os adolescentes foram classificados em quatro grupos de acordo com a distribuição percentilar das concentrações séricas das apolipoproteínas A-I e B e da relação apoB/apoA-I.

Na comparação entre as médias dos quartis avaliados foi utilizada a análise de variância (ANOVA uma via), quando os critérios de homocedasticidade e distribuição normal foram atingidos, e o teste de Bonferroni *a posteriori*. Os testes de Kruskal Wallis e “U” Mann Whitney foram utilizados quando os critérios de normalidade e/ou homocedasticidade não foram atingidos.

Na descrição das proporções, a distribuição binomial foi aproximada à distribuição normal, pelo intervalo de confiança de 95%. Nos testes de inferência estatística, as proporções foram comparadas pelo teste do Qui quadrado de *Pearson*. Foi utilizado o nível de significância de 5,0% para rejeição de hipótese de nulidade.

3.8 Aspectos éticos

O estudo foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Lauro Wanderley – CEP/HULW da Universidade Federal da Paraíba, pautado pelas normas éticas para pesquisa envolvendo seres humanos, consoantes com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, sendo aprovado conforme Protocolo CEP/HULW nº 723/10 (ANEXO 1).

Os adolescentes e seus responsáveis foram previamente informados dos objetivos e métodos a serem adotados na pesquisa, contatados previamente ao dia da coleta pela equipe

técnica, por intermédio das escolas. Mediante o seu consentimento, o responsável assinou um termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE B).

Além do sigilo dos dados, foi garantido aos adolescentes e seus responsáveis o retorno dos resultados das avaliações antropométricas e bioquímicas realizadas. Os pesquisadores se mantiveram à disposição para esclarecimentos a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outras dúvidas relacionadas com a pesquisa.

4 RESULTADOS

4.1 Elevated Serum Retinol and Low Beta-Carotene but not Alpha-Tocopherol Concentrations Are Associated with Dyslipidemia in Brazilian Adolescents

Artigo submetido à publicação no periódico *Nutrition Research*

**Title: Elevated Serum Retinol and Low Beta-Carotene but not Alpha-Tocopherol
Concentrations Are Associated with Dyslipidemia in Brazilian Adolescents**

Department of Nutrition. Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil. Address: Av.

Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife-PE / Brasil – CEP: 50670-901 Phone

PBX: + 55 (81) 2126-8000

LIST OF ABBREVIATIONS

ApoA-I; apolipoprotein A-I

ApoB; apolipoprotein B

BMI; body mass index

CI_{95%}; confidence interval

CVD; cardiovascular disease

HDL; high-density lipoprotein

LDL; low-density lipoprotein

TAG; triacylglycerol

WHtR; waist-height ratio

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the *status* of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol serum concentrations in adolescents with dyslipidemia. A case series dyslipidemia study was conducted, with an attached control group, including 104 adolescents of public schools in Recife during the months of March/April 2013. Retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol serum concentrations were analysed by high efficiency liquid chromatography. Sociodemographic, anthropometric, clinical and biochemical variables were analysed. Dyslipidemic adolescents had high serum concentrations of both retinol ($p= 0.007$) and beta-carotene/apolipoprotein A-I ratio ($p= 0.034$); they also had low concentrations of beta-carotene/total cholesterol ($p= 0.000$) and beta-carotene/apolipoprotein B ratios ($p= 0.033$) when compared to the controls. The alpha-tocopherol serum *status* was not associated with dyslipidemia. Overweight, abdominal obesity, lipid profile markers, systolic and diastolic blood pressures were more prevalent in dyslipidemic adolescents. The findings show an association between vitamin A and dyslipidemia in adolescents. However, additional investigations in this risk group are necessary to clarify the mechanisms of action of this nutrient in the pathogenesis of this syndrome, aiming at reducing cardiometabolic risks as of earlier ages.

Keywords: Vitamin A; Carotenoids; Vitamin E; Dyslipidemia; Adolescent.

1. INTRODUCTION

The prevalence of dyslipidemia in childhood and adolescence has increased over the years [1]. Studies conducted in different Brazilian cities have shown the relevance of dyslipidemia in this age range, and its prevalence varies from 6.0 to 71.4%, depending on the parameter used as reference diagnosis [2-5]. The most usual type of dyslipidemia seen in young individuals consists of low serum levels of high-density lipoproteins (HDL), which, separately, are an indicator of a risk factor for the development of atherosclerosis [5,6].

Dyslipidemia in adolescents is associated with a poor diet including low consumption of *in natura* food, which is the source of nutrients that protect cardiovascular health, such as antioxidant vitamins [1].

The energy metabolism and the immunological system produce physiologically free radicals that play biologically relevant roles to the human organism [7,8]. Under normal circumstances, the deleterious effects of the free radicals are neutralized by a coordinated antioxidant cell defence system, preventing oxidative stress, in which excessive oxidative reactions might lead to irreversible systemic damages. The chronicity of oxidative stress seems to contribute to a higher cardiometabolic risk, and is associated with the pathogenesis of atherosclerosis [8,9].

Alpha-tocopherol and beta-carotene stand out as potentially antioxidant vitamin compounds [8]. The interest in studying dietary antioxidants is based on their relevance as one of the potential agents for the prevention of lipid peroxidation and atherosclerosis, as these nutrients determine the composition of low-density lipoprotein (LDL) and its susceptibility to oxidation. Diet, therefore, is a pivotal factor in the modulation of oxidative stress and cardiometabolic risk, and the intake of an antioxidant-rich diet is associated with the reduction of this risk [1].

In spite of its importance for health, investigations focusing on the role of antioxidant nutrients in the young population exposed to cardiovascular risks are scanty. Although conceptually it is plausible to suppose that antioxidant liposoluble vitamins have an intimate link with cardiometabolic risk markers, more empirical evidence is still needed for an appropriate understanding of this association. This is why this study aimed at investigating the *status* of retinol, beta-carotene, and alpha-tocopherol serum concentrations in adolescents with dyslipidemia.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Study design and population

This investigation derived from project “Dyslipidemia and its association with excessive weight, sedentary lifestyle and oxidative stress in a cohort of school students in Recife, PE”. The outline of the research comprised a case series dyslipidemia study with an attached control group, nested in this cohort, the eligible population of which consisted of adolescents of both genders, from 12 to 19 years of age, from public schools of Recife in March/April, 2013.

The incidental cases of dyslipidemia and their respective controls were tracked by means of a cross section of the eligible population. Adolescents with low serum concentrations of HDL ($<1,2 \mu\text{mol/L}$) and increased serum concentrations of triglycerides (TAG) ($\geq 1,5 \mu\text{mol/L}$) were considered cases of dyslipidemia - a combination dyslipidemia found in 12.7% of the recruited adolescents. The adolescents who reported a personal history of pathologies, or the use of medications that might change their lipid profile and/or the regular use of vitamin supplements in the previous three months were excluded.

In order to quantify the sample, an alpha error of 5% (1.96) and an error beta of 10% (1.28) were considered with one standard deviation (S) for the distribution of serum retinol concentrations of 0.252 $\mu\text{Mol/L}$ [10], and a difference (D) of 0.175 $\mu\text{Mol/L}$ to be detected between the cases and controls for serum retinol concentrations. After using formula $n = [(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta/2})^2 \cdot 2 \cdot S^2] / d^2$ [11], 44 cases was the minimum sample size. In order to fix occasional losses, 15% $[100/(100-15)]$ were added, resulting in 52 cases of dyslipidemia paired regarding gender and age to a similar number of controls.

2.2. Evaluation techniques and methods

The researchers conducted the fieldwork, and a trained technical team collected the data. The technical team is experienced in checking clinical and anthropometrical measures, handling biological materials and delivering the questionnaire.

Systolic blood pressures and diastolic blood pressures were checked by the auscultation method. Two right-arm measurements were made per adolescent in 5-minute intervals.

As to the biochemical analyses, 5 mL of blood were drawn from each student by venous puncture after a 10- to 12-hour fasting, and stored in dry vials. The vials were stored in Styrofoam boxes containing reusable ice packs, sealed and transported for processing and analysis in a clinical analysis laboratory. The materials used in the procedures were all disposable and sterile.

Glucose, TAG, total cholesterol and HDL serum levels were determined by means of an enzymatic method. The LDL fraction was calculated with Friedewald's formula $[\text{LDL} = \text{TC} - \text{HDL} - \text{TG}/5]$ [12]. The diagnosis of dyslipidemia was performed according to the 1st Brazilian Guideline for the Prevention of Atherosclerosis in Children and Adolescents [12].

Serum levels of total cholesterol $\geq 4,4$ $\mu\text{Mol/L}$, LDL $\geq 3,4$ $\mu\text{Mol/L}$ and TAG $\geq 1,5$ $\mu\text{Mol/L}$ were all classified as increased values. Serum levels of HDL $< 1,2$ $\mu\text{Mol/L}$ are deemed lower than the desirable values.

Apolipoproteins B and A-I as well as α -1-acid glycoprotein were analysed using kits based on the Immunospectrophotometric method (Randox, UK).

For the analysis of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene right after the drawing of the venous blood, the samples were put into tagged test tubes and protected from the incidence of light. After full coagulation, the samples were centrifuged at 3.000 rpm (revolutions per minute) during 10 minutes for the total separation of the serum, which was then transferred to *Eppendorf* tubes. Then, the samples were stored in a freezer at a temperature of -20°C , and transported for processing and analysis at the Micronutrient Investigation Centre [*Centro de Investiga  o em Micronutrientes*] / Federal University of Paraíba in Styrofoam boxes with ice, preserving the cold chain. After de-icing the samples, 100 μL of serum were transferred to tapered glass tubes, and 100 μL of absolute ethanol were added to enable the settling of the hexane and the extraction of the vitamins of interest. The samples were then agitated for 30 seconds in the tube agitator at continuous speed, and centrifuged at a speed of 3.000 rpm for 5 minutes [13,14]. Then, 100 μL of the supernatant were extracted, placed in small glass tubes and evaporated with nitrogen for 1 minute. The sample residue was redissolved with 50 μL of methanol, from which 20 μL were drawn for the high efficiency liquid chromatography analysis.

Considering that it is recognized that the lipid composition of plasma is a determining factor for the serum levels of alpha-carotene and beta-carotene, as these nutrients are physiologically transported by cholesterol-rich lipoproteins, the concentrations of these nutrients were adjusted by using the ratios between these vitamins and variables total cholesterol, apolipoprotein B (ApoB) and apolipoprotein A-I (Apo A-I) [15,16].

Two weight, height, and waist circumference measurements were made. The averages of the values were used, and differences in the measured values greater than 100 g for weight, 0.5 cm for height and 0.3 cm for waist circumference were not taken into account. Weight and height were measured according to the technique described by Lohman et al. [17]. The body mass was obtained from a digital electronic scale, brand Plenna-MEA-03140[®] (150 Kg maximum load and 100 g precision). The height was measured with a Stanley[®] metric measuring tape (1.0 mm precision and 0.5 cm accuracy). The waist circumference was obtained from the middle point between the last costal arch and the iliac crest using a flexible and short measuring tape, without compressing the tissues [18].

The overweight diagnosis was achieved by using the body mass index (BMI), and the result found was interpreted in accordance with the values indicated by WHO-2007 [19], considering gender and age. Abdominal obesity was assessed by the waist circumference, taking into account age and gender ($\geq$ percentile 80) [18] and by the waist-height ratio (WHtR) (value ≥ 0.5) [20].

The adolescents' education level was determined by the number of full years in school, based on the grade in which they were enrolled. The parents' education level was determined by their number of full years in school and classified, as well as the family socioeconomic level, according to the criteria of the Brazilian Association of Research Companies [21].

The adolescents who claimed to smoke a number of cigarettes ≥ 5 per day were classified as smoker [22]. The levels of physical activity were classified as follows: a) underactive or sedentary – individuals who accumulated < 300 minutes/week; b) sufficiently active – individuals who accumulated ≥ 300 minutes/week [23].

2.3. Data analysis algorithm

The Epi Info program, version 6.04b (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA) was used to build the database, and the data were typed in double data entry, and data consistency was verified by the *validate* module. The statistical analyses were done using the *Statistical Package for Social Sciences* – SPSS for Windows, version 13.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

The distribution normality of the continuous variables was tested using *Kolmogorov Smirnov's* test. BMI, waist circumference, glycemia, total cholesterol, LDL, ApoA-I, ApoB, α 1-acid glycoprotein, retinol, and the beta-carotene/total cholesterol and beta-carotene/LDL ratios were normally distributed, and were described as their averages and standard deviations. The variables that were not normally distributed underwent a logarithmic transformation, and their normality was retested. Variables ApoB/ApoA-I, alpha-tocopherol, alpha-tocopherol/LDL, alpha-tocopherol/ApoB, alpha-tocopherol/ApoA-I and beta-carotene/ApoB were normally distributed and were described in the form of geometric means and confidence intervals of 95% (CI_{95%}). The other variables still presenting a non-Gaussian distribution were described in the form medians and interquartile ranges.

Student's t-test for unpaired data was used to compare the averages of the studied groups when the homoscedasticity criteria and normal distribution were met; otherwise, *Mann Whitney's* “U” test was used.

In describing the proportions, the binomial distribution approximated the normal distribution by the CI_{95%}. In the statistical inference tests, proportions were compared by *Pearson's* Chi-square test. The significance level adopted for rejecting the null hypothesis was 5.0%.

2.4. Ethical Aspects

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects were approved by the Committee of Ethics in Research with Human Beings of Lauro Wanderley University Hospital at the Federal University of Paraíba [*Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba*] (Record CEP/HULW No. 723/10). Written informed consent was obtained from all subjects.

3. RESULTS

Variables gender, age, fathers' education level, and social class were similar in both groups (Table 1). The median age was 15 years (Interquartile Range=2.0) in both groups ($p=0.898$, *Mann Whitney's "U" test*). Approximately 67% ($CI_{95\%}$: 50.3-80.0) of the adolescents' mothers in the control group did not complete their secondary education.

Overweight and abdominal obesity were more prevalent in dyslipidemic adolescents. Obese individuals were found only in this group (28.8%, $CI_{95\%}$: 43.3-71.0).

Most adolescents were considered underactive (64.4%), and only three of them – all belonging to the case group – were smokers (2.9%, $CI_{95\%}$: 0.8-8.8).

It was found that among the dyslipidemic adolescents, concomitant to low HDL serum concentrations and increased concentrations of TAG, 61.5% ($CI_{95\%}$: 47.0-74.4) of the adolescents also had hypercholesterolemia, and 23.1% ($CI_{95\%}$: 13.0-37.2) had increased LDL serum levels.

The average BMI, waist circumference, total cholesterol, LDL, ApoB and ApoB/ApoA-I ratio, as well as the percentile distribution of systolic and diastolic blood

pressure figures were higher in adolescents with dyslipidemia, when compared to those seen in the control group. Only the average concentrations of ApoA-I were lower in adolescents with dyslipidemia, when compared to the control group (Table 2).

The average retinol and the median of the beta-carotene/ApoA-I ratio were higher in dyslipidemic adolescents. Beta-carotene/total cholesterol and beta-carotene/ApoB ratios were lower in dyslipidemic adolescents. However, alpha-tocopherol serum concentrations were not associated with dyslipidemia (Table 3).

4. DISCUSSION

The results found in our series of public school adolescents in the city of Recife build evidence showing dyslipidemia as an existing risk factor as of earlier ages. Romero et al. [2] also found in adolescents of public schools in the State of São Paulo, a high prevalence of dyslipidemia (71.4%). Low HDL concentrations represent the altered parameter of greatest order of magnitude (40.7%). Similar reports have been described by Pereira et al. [4], who found a prevalence of dyslipidemia of approximately 64% in adolescents in the city of Recife. Low HDL concentrations were the most frequent finding (56.0%).

Changes in the family diet patterns have become usual in the most recent decades. The “obesogenic” environment has had a comprehensive impact on the adolescent market, resulting in a more challenging choice of healthy diets. In the young population, obesity and its comorbidities are related to unhealthy lifestyles, including inappropriate consumption of fat, cholesterol, salt and fibres, as well as sedentary lifestyles [24].

In both groups, insufficient practice of regular physical exercise was found in our sample (64.4%), pointing at a risky lifestyle for cardiovascular disease (CVD). A similar

frequency of underactive young individuals (65.8%) was also found in adolescents of public schools in the State of São Paulo [2].

In our results, overweight and abdominal obesity were significantly more prevalent in dyslipidemic adolescents, showing an association between these morbidities. Among adolescents of the State of Bahia, dyslipidemia was also significantly associated with overweight (*odds ratio* = 3.14; $CI_{95\%}$: 1.93-5.12) [3].

The average BMI, waist circumference, total cholesterol, LDL, ApoB and ApoB/Apo A-I ratio, as well as the percentile distributions of the systolic and diastolic blood pressure figures were found significantly higher in the group of dyslipidemic adolescents in our study. Then, multiple cardiovascular risk factors were found in these individuals and, considering the adverse impact of this atherogenic profile over the years, a prompt intervention in this young risk group is highly needed.

Likewise in adults, excessive adiposity in the childhood [25] and adolescence [26] is associated with an inflammatory process and oxidative stress, and both are well-established cardiometabolic risk factors. In a cohort study of female adolescents, higher serum concentrations of lipoperoxidation markers were found *pari passu* to an increase in the obesity measures. There was still a positive correlation with variables total cholesterol, LDL, Apo B and non-HDL cholesterol. These results lay emphasis on the oxidative stress markers as an important link between dyslipidemia and metabolic damages resulting from the progression of vascular dysfunctions [27].

In our study, vitamin A serum concentrations behave differently, and may express the consumption or the metabolic mobilization of this nutrient. The average retinol, and the median beta-carotene/ApoA-I ratio were significantly higher in dyslipidemic adolescents, while beta-carotene/total cholesterol and beta-carotene/ApoB ratios were significantly lower in these individuals.

Regarding retinolemia, despite the differences between the age ranges, our results are similar to those found in the elderly population in the State of Pernambuco [28], where a significant increase of retinolemia was found in the elderly with stage 1 hypertension, when compared to those with optimal or normal blood pressure. It has been suggested that this association would be due to further mobilization of the hepatic reserves of vitamin A for the circulating plasma, thus greater availability for the target-tissues, as well as an antioxidant cell defence response to the oxidative stress generated by the hypertensive process. It is possible that a higher level of retinolemia, identified in the dyslipidemic adolescents of our study, are also an organic response against the oxidative damage promoted by an unfavourable lipid profile.

The association between the *status* of vitamin A and chronic diseases was also identified in a study with obese children and adolescents of the State of São Paulo, in which the values of retinol were directly associated with TAG and HDL serum concentrations, and inversely associated with postprandial glycemia. After a multivariate analysis, only postprandial glycemia became a predictive and independent variable of retinolemia [29].

A study with adolescents of Rio de Janeiro [25] underlines the significant and negative correlation between BMI and carotenoid serum levels, assigned to the metabolic consumption of antioxidant nutrients in individuals exposed to an increase in the oxidative processes due to overweight. Among Mexican children, an inverse association was found between the carotenoid serum concentrations and the alpha/tocopherol ratio with adiposity, suggesting that physiological alterations do justify this association, including the possibility that this result is a consequence of the antioxidant defence mechanisms [30].

A study on children and adolescents in the North of Switzerland found that the intake of vitamins C, E and beta-carotene is a significant negative predictor of leptin, the circulating concentrations of which were significantly higher as adiposity increased [31].

Regarding the *Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study* [32], total and individual concentrations of carotenoids, but lycopene, were inversely associated with endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation markers, even after the adjustments made to the multiple regression analysis, and this corroborates the relation between carotenoids and risk factors for CVD [33].

In our study with adolescents, no differences were found in the average serum concentrations of alpha-tocopherol as a function of dyslipidemia, even after the adjustments by means of the lipid profile. These findings are different from the study with Italian children, in which the significantly lower vitamin-E circulating concentrations were found in the obese individuals. Moreover, the concentrations of malonaldehyde – an important marker of lipoperoxidation – were directly related to BMI and waist circumference, and inversely related to serum vitamin E. Therefore, in obese children, an altered oxidant state produces higher intake of antioxidant vitamins. Detecting an oxidative imbalance during childhood is quite alarming, as hormonal changes, typical in puberty, may worsen this imbalance in adolescence [34].

It is worth noting that the small sample size of our study might not have favoured the finding of changes in the behaviour of alpha-tocopherol as it relates especially to dyslipidemia, considering the chronic development pattern of the lipid disorders that might have limited the possibility of comparing these variables more specifically, such as in the cross sectional approach of this investigation. It is also possible that the young age group of our sample also develops antioxidant compensation mechanisms to balance a greater need to use and/or mobilize nutrients in the presence of an initial oxidative stress, such as dyslipidemia, for example, so that the differences in the serum concentrations of the antioxidant vitamins could be detected only at later stages of life.

Because of the extremely low number of overweight adolescents without dyslipidemia in our sample, adjusting the concentrations of the vitamins studied based on their body mass was not feasible, as the statistical results could be masked by a random error, and this was a limitation to be considered in this investigation.

It is known that the risk of chronic diseases and oxidative stress may be related to socioeconomic variables. In the adults of *The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study*, higher levels of education, employment and income were associated with higher concentrations of carotenoids and ascorbic acid, and correlated negatively to oxidative stress markers [35]. In the children and adolescents of the State of Bahia, dyslipidemia was significantly related to low levels of maternal education (*odds ratio* = 1.72; *CI*_{95%}: 1.08-2.75). Usually, opportunities to improve education and access to information promote a more conscious dietary choice, therefore improving nutritional adequacy. In addition, it is possible that mothers that are more educated participate more actively in the care given to their children, which may lead to less cases of dyslipidemia [3].

Unusually, a higher prevalence of more educated mothers was seen in the group of dyslipidemic adolescents of our study. Considering that the etiological factors of chronic non-communicable diseases in young individuals still need to be thoroughly elucidated, it is suggested that this finding is due to a random error, reflecting the need for more investigation in future interventions of higher risk groups.

It is reasonable to underline that the action of the dietary antioxidants of biological importance *in vivo* depends on several factors, such as the level of oxidative stress to which the organism is exposed, the composition, the quantities and the bioavailability of antioxidants and pro-oxidants usually ingested, which may act in an additive and/or synergistic way [7].

In healthy adolescents, a varied diet of fruits and vegetables was associated with low levels of oxidative stress and inflammation markers, suggesting that such kind of food may act at an early stage on these markers, and that a similar pattern of consumption brings even stronger benefits with the evolution of age, resulting in lower cardiovascular risk [36]. A research conducted with female obese adolescents found that the consumption of nutrients and antioxidant substances had a positive impact on the lipid profile, although not having changed the anthropometric parameters [37].

Therefore, it is valid emphasizing an appropriate contribution of fruits and vegetables and, consequently, antioxidants in adolescence, favouring homeostasis influenced by the growth, and by hormonal alterations during this stage of life, which is more susceptible to lipid peroxidation [38].

Other limitations to be considered in this study should be described. First, as in any cross-sectional study, it is not possible to ensure causal relations between the variables, as residual confounding factors might have affected the reported associations. In this sense, prospective studies are highly recommended.

Attention should equally be paid to the fact that the definition of dyslipidemia implies the adoption of biomarkers (isolated or in combination) that may not be the most valid parameters for the identification of the dyslipidemic syndrome. On the other hand, the diagnostic discrimination points used to identify the states of normality/abnormality are, in the best case, consensual, thus subject to a classification bias.

In addition, it is important to reinforce that investigating the action of antioxidant compounds analysed from isolated nutrients, rather than considering dietary patterns, is a relevant methodological limitation, as the interaction of the nutrients is not considered, which may act synergistically in the protection against oxidative damages. Thereby, it is possible to

incur in interpretation errors about the results referring to the antioxidant potential of the studied compounds [8].

It is also important to highlight that, because of the characteristics of the current available methodology, only liposoluble antioxidant vitamins were studied. However, measuring the presence/intensity of oxidative stress requires investigating a whole set of other specific markers. Therefore, the mechanisms responsible for the association of the studied vitamins and dyslipidemia in adolescents, in this model, justify further investigation.

The findings show an association of vitamin A with the pathogenesis of dyslipidemia in young individuals. All in all, caution is necessary when analysing this association, as the mechanisms modulating the effects of this nutrient in the organism are not precisely clear.

Considering that the atherosclerotic plaque buildup starts early in life, and that appropriate antioxidant consumption is associated with less adverse effects in adulthood, this paper contributes to a better understanding about the behaviour of liposoluble vitamins in dyslipidemic adolescents. It is also worth mentioning that population diagnoses on the association of cardiometabolic risk factors and antioxidant nutrients are highly valid, as they foster the development of strategies for promoting healthy dietary habits – built since childhood and adolescence – that tend to remain over a lifetime, and this relates to a lower prevalence of chronic non-communicable diseases.

ACKNOWLEDGMENT

The authors acknowledge the financial support of the National Research Council (CNPq) (Process No 473387/2010-2) and the Ministry of Science and Technology (Contract IMIP/MCT Process No. 01.0265.00/2005). The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

- [1] Boni A, Pugliese C, Cláudio CC, Patin RV, Oliveira FLC. Vitaminas antioxidantes e prevenção da arteriosclerose na infância. *Rev Paul Pediatr* 2010;28(4):373-80.
- [2] Romero A, Rezende LFM, Romero SCS, Villar BS. Relationship between obesity and biochemical markers in Brazilian adolescents. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum* 2014(3);16:268-76.
- [3] Neto ODA, Silva RCR, Assis AMO, Pinto EJ. Fatores associados à dislipidemia em crianças e adolescentes de escolas públicas de Salvador, Bahia. *Rev Bras Epidemiol* 2012;15(2):335-45.
- [4] Pereira PB, Arruda IKG, Cavalcanti AMTS, Diniz AS. Perfil Lipídico em Escolares de Recife – PE. *Arq Bras Cardiol* 2010;95(5):606-13.
- [5] França E, Alves JGB. Dislipidemia entre Crianças e Adolescentes de Pernambuco. *Arq Bras Cardiol* 2006;87(6):722-7.
- [6] Kerber SL, Antunes AGV, Cavalett C. Avaliação do perfil lipídico em alunos de 10 a 18 anos em uma escola particular do município de Carazinho-RS. *RBAC* 2010;42(3):231-4.
- [7] Castelo-branco VN, Torres AG. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. *Rev Nutr* 2011;24(1):173-87.
- [8] Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Rissan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr* 2010;23(4):629-43.
- [9] Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr* 2001;85(Suppl 2):S67-S74.

- [10] Fernandes TFS, Diniz AS, Cabral PC, Oliveira RS, Freitas-Lola MM, Miranda-Silva SM et al. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. *Rev Nutr* 2005;18(4):471-8.
- [11] Kirkwood BR, Sterne JAL. *Essential Medical Statistics*. 2th ed. Oxford: Blackwell Science; 2003.
- [12] Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. *Arq Bras Cardiol* 2005;85(Suppl 6):S3-36.
- [13] Araújo C, Flores H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clin Chem* 1978;24:386.
- [14] Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ, Lopez JA. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *J Biol Chem*. 1946;166:177-88.
- [15] Oliveira KJF, Koury JC, Donangelo CM. Micronutrientes e capacidade antioxidante em adolescentes sedentários e corredores. *Rev Nutr* 2007;20(2):171-9.
- [16] Neuhouwer ML, Rock CL, Eldridge AL, Kristal AR, Patterson RE, Cooper DA et al. Serum concentrations of retinol, α -tocopherol and carotenoids are influenced by diet, race and obesity in a sample of healthy adolescents. *J Nutr* 2001;131:2184-91.
- [17] Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign: Human Kinetics Books; 1988.
- [18] Taylor RW, Jones IE, Williams SM, Goulding A. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19y. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2):490-5.
- [19] De Onis M, Onyiah AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* 2007; 85, 660-7.

- [20] Li C, Ford ES, Mokdad AH, Cook S. Recent trends in waist circumference and waist-height ratio among US children and adolescents. *Pediatrics* 2006;118(5):1390-8.
- [21] Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa – ABEP. Critério Padrão de Classificação Econômica Brasil. [Acesso em 2013 ago 15. Disponível em: http://www.abep.org/codigosguias/Criterio_Brasil_2012.pdf];2012.
- [22] Piegas LS, Avezum A, Pereira JCR, Neto JMR, Hoepfner C, Farran JA et al. Risk factors for myocardial infarction in Brazil. *Am Heart J* 2003;46:331-8.
- [23] Pate RR, Freedson PS, Sallis JF, Taylor WC, Sirard J, Trost SG et al. Compliance with physical activity guidelines: prevalence in a population of children and youth. *Ann Epidemiol* 2002;12:303-8.
- [24] Neutzling MB, Assunção MCF, Malcon MC, Halla PC, Menezes AMB. Hábitos alimentares de escolares adolescentes de Pelotas, Brasil. *Rev Nutr* 2010;23(3):379-88.
- [25] Silva LSV, Veiga GV, Ramalho RA. Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. *Nutrition* 2007;23:392-7.
- [26] Puchau B, Ochoa MC, Zulet MA, Marti A, Martínez JA, Members G. Dietary total antioxidant capacity and obesity in children and adolescents. *Int J Food Sci Nutr* 2010;61(7):713-21.
- [27] Alkazemi D, Egeland G, Vaya J, Meltzer S, Kubow S. Oxysterol as a Marker of Atherogenic Dyslipidemia in Adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(11):4282-9.
- [28] Albuquerque MNL, Diniz AS, Arruda IKG. Retinolemia, consumo de vitamina A e pressão arterial em idosos. *Arch Latinoam Nutr* 2009(4);59:396-401.
- [29] Teske M, Melges APB, Souza FIS, Fonseca FLA, Sarni ROS. Plasma concentrations of retinol in obese children and adolescents: relationship to metabolic syndrome components. *Rev Paul Pediatr* 2014;32(1):50-4.

- [30] Gunanti IR, Marks GC, Al-Mamun A, Long KZ. Low serum concentrations of carotenoids and vitamin E are associated with high adiposity in Mexican-American children. *J Nutr* 2014;144:489-95.
- [31] Aeberli I, Molinari L, Spinass G, Lehmann R, l'Allemand D, Zimmermann MB. Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. *Am J Clin Nutr* 2006;84:748-55.
- [32] Hozawa A, Jacobs Jr DR, Steffes MW, Gross MD, Steffen LM, Lee D. Relationships of Circulating Carotenoid Concentrations with Several Markers of Inflammation, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *Clin Chem* 2007;53(3):447-55.
- [33] Sesso HD, Buring JE, Norkus EP, Gaziano JM. Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in men. *Am J Clin Nutr* 2005;81:990-7.
- [34] Mohn A, Catino M, Capanna R, Giannini C, Marcovecchio M, Chiarelli F. Increased Oxidative Stress in Prepubertal Severely Obese Children: Effect of a Dietary Restriction-Weight Loss Program. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2653-8.
- [35] Janicki-Deverts D, Cohen S, Matthews KA, Gross MD, Jacobs DR. Socioeconomic Status, Antioxidant Micronutrients, and Correlates of Oxidative Damage: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Psychosom Med* 2009;71:541-8.
- [36] Holt EM, Steffen LM, Moran A, Basu S, Steinberger J, Ross JA et al. Fruit and Vegetable Consumption and Its Relation to Markers of Inflammation and Oxidative Stress in Adolescents. *J Am Diet Assoc* 2009;109(3):414-21.
- [37] Maranhão PA, Kraemer-Aguiar LG, Oliveira CL, Kuschnir MCC, Vieira YR, Souza MGC et al. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular

function in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Nutr Metabol.* 2011;8(32)

[Acesso em 2011 jul 22. Disponível em:

<http://www.nutritionandmetabolism.com/content/pdf/1743-7075-8-32.pdf>].

[38] Oliveira KJF, Koury JC, Donangelo CM. Micronutrientes e capacidade antioxidante em adolescentes sedentários e corredores. *Rev Nutr* 2007;20(2):171-9.

Table 1. Sociodemographic, anthropometric and lifestyle characteristics of adolescents with and without dyslipidemia in public schools. Recife, 2013.

Variables	Categories	Cases ^a		Controls		<i>p</i> ^h
		n (%)	CI ^b	n (%)	CI ^b	
Gender	Male	30 (57.7)	43.3-71.0	21 (40.4)	27.3-54.9	0.078
	Female	22 (42.3)	29.0-56.7	31 (59.6)	45.1-72.7	
	Total	52 (100.0)		52 (100.0)		
Age	12 to 15 years	36 (69.2)	54.7-80.9	36 (69.2)	54.7-80.9	1.000
	16 to 19 years	16 (30.8)	19.1-45.3	16 (30.8)	19.1-45.3	
	Total	52 (100.0)		52 (100.0)		
Father's Schooling^c	Until Elementary School	17 (41.5)	26.7-57.8	20 (62.5)	43.7-78.3	0.074
	High School / Higher Education	24 (58.5)	42.2-73.3	12 (37.5)	21.7-56.2	
	Total	41 (100.0)		32 (100.0)		
Mother's Schooling^c	Until Elementary School	19 (43.2)	28.7-58.8	28 (66.7)	50.3-80.0	0.029
	High School / Higher Education	25 (56.8)	41.1-71.3	14 (33.3)	20.0-49.6	
	Total	44 (100.0)		42 (100.0)		
Social Class^c	B1 or B2 ($\geq$ 23 points)	12 (26.1)	14.7-41.4	9 (20.0)	10.0-35.0	0.491
	C1, C2 or D ($\leq$ 22 points)	34 (73.9)	58.6-85.2	36 (80.0)	65.0-90.0	
	Total	46 (100.0)		45 (100.0)		
Body Mass Index^d	Not overweight	22 (42.3)	29.0-56.7	45 (86.5)	73.6-94.0	0.000
	Overweight/Obesity	30 (57.7)	43.3-71.0	7 (13.5)	6.0-26.4	
	Total	52 (100.0)		52 (100.0)		
Waist Circumference^e	Without abdominal obesity	25 (48.1)	34.2-62.2	50 (96.2)	85.7-99.3	0.000 ⁱ
	With abdominal obesity	27 (51.9)	37.8-65.8	2 (3.8)	0.7-14.3	
	Total	52 (100.0)		52 (100.0)		
Waist Circumference/ Height^f	Without abdominal obesity	28 (53.8)	39.6-67.5	50 (96.2)	85.7-99.3	0.000 ⁱ
	With abdominal obesity	24 (46.2)	32.5-60.4	2 (3.8)	0.7-14.3	
	Total	52 (100.0)		52 (100.0)		
Physical Activity^g	Underactive	36 (69.2)	54.7-80.9	31 (59.6)	45.1-72.7	0.306
	Active	16 (30.8)	19.1-45.3	21 (40.4)	27.3-54.8	
	Total	52 (100.0)		52 (100.0)		

^aHigh-density lipoprotein < 1,2 $\mu\text{mol/L}$ and triglycerides $\geq$ 1,5 $\mu\text{mol/L}$ ^bConfidence Interval 95% ^cBrazilian Association of Research

Companies, 2012 ^dWHO (De Onis, Onyango, Borghi, Siyam, Nishida, Siekmann, 2007) ^eAbdominal obesity $\geq$ percentile 80 (Taylor, Jones, Williams, Goulding, 2000) ^fAbdominal obesity $\geq$ 0,5 (Li, Ford, Mokdad, Cook, 2006) ^gUnderactive < 300 minutes/week and Active $\geq$ 300

minutes/week (Pate, Freedson, Sallis, Taylor, Sirard, Trost et al., 2002) ^hPearson's Chi-square test ⁱFisher's exact test.

Table 2. Clinical and biochemical characteristics of adolescents with and without dyslipidemia in public schools. Recife, 2013.

Variables	Cases ^a (n=52)			Controls (n=52)			<i>p</i> ^g
	$\bar{X}$ (SD ^b)	Minimum	Maximum	$\bar{X}$ (SD ^b)	Minimum	Maximum	
Systolic blood pressure (mmHg)^{c(d)}	120.0 (20.0)	100.0	170.0	110.0 (10.0)	90.0	130.0	0.000 ^h
Diastolic blood pressure (mmHg)^{c(d)}	75.0 (10.0)	60.0	100.0	70.0 (10.0)	60.0	90.0	0.000 ^h
Glucose (μmol/L)	4.7 (0.5)	3.9	5.7	4.6 (0.5)	3.9	5.6	0.147
Total cholesterol (μmol/L)	4.7 (1.0)	2.7	7.0	3.9 (0.3)	2.9	4.4	0.000
Low-density lipoprotein (μmol/L)	2.7 (0.9)	1.0	4.8	2.2 (0.3)	1.3	2.7	0.000
Apolipoprotein A-1 (g/L)	2.3 (0.7)	0.9	4.1	2.6 (0.7)	0.9	4.1	0.022
Apolipoprotein B (g/L)	2.2 (0.6)	0.9	3.2	1.9 (0.3)	0.8	2.4	0.007
ApoB/A-I^{e(f)}	0.87 (0.71-0.93)	1.40	4.4	0.74 (0.71-1.42)	1.7	7.2	0.000
alfa₁-acid glycoprotein (g/L)	0.8 (0.2)	0.4	1.1	0.7 (0.2)	0.4	1.0	0.151

^aHigh-density lipoprotein < 1,2 μmol/L and triglycerides ≥ 1,5μmol/L ^bStandard Deviation ^cMedian ^dInterquartile Range ^eGeometric Mean

^fConfidence Interval 95% ^gStudent's *t*-test for unpaired data ^h*Mann Whitney's* "U" test.

Table 3. Serum levels of antioxidant liposoluble vitamins in adolescents with and without dyslipidemia in public schools. Recife, 2013.

Variables	Cases ^a				Controls				<i>p</i> ^g
	n	$\bar{X}_{(SD^b)}$	Minimum	Maximum	n	$\bar{X}_{(SD^b)}$	Minimum	Maximum	
Retinol (μmol/L)	52	1.09 (0.44)	0.18	2.58	51	0.89 (0.28)	0.38	1.80	0.007
Alpha-tocopherol (μmol/L)^{c(d)}	52	11.4 (8.6-15.0)	1.2	171.0	51	9.4 (7.4-11.9)	1.1	343.8	0.660
Alpha-tocopherol/total cholesterol^{e(f)}	52	0.588 (0.599)	0.01	0.91	51	0.574 (0.429)	0.01	3.05	0.879 ^h
Alpha-tocopherol/ Low-density lipoprotein^{c(d)}	52	0.067 (0.049-1.027)	0.009	1.584	51	0.112 (0.087-0.144)	0.123	6.554	0.920
Alpha-tocopherol / Apolipoprotein B^{c(d)}	52	0.055 (0.043-0.071)	0.004	0.771	51	0.05 (0.04-0.06)	0.005	2.138	0.610
Alpha-tocopherol/ Apolipoprotein A-I^{c(d)}	52	0.053 (0.04-0.07)	0.004	0.644	51	0.038 (0.03-0.05)	0.003	1.127	0.080
Beta-carotene (μmol/L)^{e(f)}	44	0.89 (0.005)	0.89	0.99	39	0.89 (0.018)	0.89	1.1	0.138 ^h
Beta-carotene/total cholesterol	44	0.005 (0.001)	0.00	0.01	39	0.006 (0.000)	0.01	0.01	0.000
Beta-carotene / Low-density lipoprotein	44	0.009 (0.004)	0.00	0.02	39	0.011 (0.002)	0.01	0.02	0.056
Beta-carotene / Apolipoprotein B^{e(d)}	44	0.004 (0.003-0.005)	0.003	0.01	39	0.005 (0.004-0.006)	0.004	-0.01	0.033
Beta-carotene / Apolipoprotein A-I^{e(f)}	44	0.004 (0.001)	0.00	0.01	39	0.003 (0.001)	0.00	0.01	0.034 ^h

^aHigh-density lipoprotein < 1,2 μmol/L and triglycerides ≥ 1,5μmol/L ^bStandard Deviation ^cGeometric Mean ^dConfidence Interval 95%

^eMedian ^fInterquartile Range ^gStudent's *t*-test for unpaired data ^h*Mann Whitney's* "U" test.

4.2 Apolipoproteins and their association with cardiometabolic risk biomarkers in Northeast Brazil's adolescents.

Artigo submetido à publicação no *British Journal of Nutrition*

Title: Apolipoproteins and their association with cardiometabolic risk biomarkers in Northeast Brazil's adolescents.

Short title: Apolipoproteins and cardiometabolic risk.

Keywords: Apolipoprotein A-I. Apolipoprotein B. Dyslipidemias. Adolescent.

This study was undertaken at the Department of Nutrition. Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil. Address: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife-PE / Brasil – CEP: 50670-901 Phone PABX: (81) 2126-8000

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the association between apolipoproteins A-I and B, and the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio and cardiometabolic risk variables in adolescents. This was a cross-sectional study including 104 adolescents of public schools in Recife during the months of March/April, 2013, and evaluated clinical, biochemical, anthropometric and sociodemographic variables. The apolipoproteins were analysed via Immunospectrophotometry. The increase in the mothers' education level was associated with lower serum concentrations of apolipoprotein A-I, and higher concentrations of the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio. Body mass index, waist circumference, waist circumference/height, triglycerides, cholesterol/HDL, and apolipoprotein B/apolipoprotein A-I declined with the progress of the percentile distribution of apolipoprotein A-I concentrations, while the HDL and apolipoprotein B increased between the first and last quartiles of the apolipoprotein A-I concentrations. Systolic blood pressure, body mass index, waist circumference, waist circumference/height, cholesterol, LDL, triglycerides, cholesterol/HDL, and LDL/HDL increased progressively in the quartile distribution of the concentrations of apolipoprotein B and apolipoprotein B/apolipoprotein A-I. Alfa-1-acid glycoprotein serum levels increased hand-in-hand with the percentile progression of apolipoprotein B. Gender, age, body fat percentage and glycaemia were not different between the quartiles of the isolated apolipoproteins, as well as the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio. The findings underline an important association of apolipoproteins A-I and B, and the apolipoprotein B/ apolipoprotein A-I ratio and their clinical, biochemical and anthropometric cardiometabolic risk. However, prospective studies are important to evaluate the pertinence of implementing these markers in the clinical practice.

Keywords: Apolipoprotein A-I. Apolipoprotein B. Dyslipidemias. Adolescent.

INTRODUCTION

Atherosclerosis is a progressive disease characterized by the accumulation of lipids and fibrotic elements in the great arteries, and it is the main contributor to the growing number of cases of CVD, nowadays⁽¹⁾. Although the atherosclerotic disease in general prevails in the adult age, cardiovascular risk markers and subclinical coronary atherosclerosis have been identified in children⁽²⁻⁴⁾ and adolescents⁽⁵⁻⁷⁾, and tend to persist in adulthood, indicating their need to be investigated in these age ranges⁽⁸⁾.

Among the traditional cardiovascular risk factors, some stand out, such as the increasing serum levels of cholesterol linked to LDL, and the decreasing levels of cholesterol linked to HDL^(9,10), arterial hypertension⁽¹¹⁾, Diabetes Mellitus⁽¹²⁾, sedentary lifestyle⁽¹³⁾, inappropriate diet⁽⁵⁾, obesity⁽¹⁴⁾, and metabolic syndrome (MS)⁽¹⁵⁾.

Regarding the lipid profile, it has been observed that the risk of atherosclerotic disease seems to be more closely related to the number of circulating atherogenic particles that contact and go through the arterial wall, than with the isolated concentrations of cholesterol contained in those lipoprotein fractions^(16,17). Therefore, focusing risk evaluation in only one classical parameter, such as the LDL or HDL fraction, for example, may result in therapeutic misconduct⁽¹⁸⁾. Consequently, measuring blood concentrations of apolipoproteins B and A-I has been considered for expressing more appropriately the balance of atherogenic and antiatherogenic particles⁽⁹⁾.

Apolipoproteins are structural and functional proteins of the lipoprotein particles⁽¹⁹⁾, which perform important functions for the lipoprotein metabolism as carriers of these hydrophobic molecules in the plasma aqueous medium, binding to the specific receptors on the cell surface to conduct the lipids correctly to the target organs and tissues of the organism. They also activate or inhibit the enzymes involved in the lipid metabolism^(20,16).

Apolipoprotein A-I (apo A-I) is HDL's largest structural protein component. It is responsible for stimulating the reverse cholesterol transport, removing the exceeding cholesterol from the tissues and redirecting it to the liver⁽²¹⁾, and it may also be responsible for the anti-inflammatory and anti-oxidant properties of the HDL^(16,22).

Apolipoprotein B (apo B) accounts for approximately 90% of the protein in the LDL, and it is the principal functional protein for carrying cholesterol to the peripheral cells. It is present in kilomicons (apo B-48), in the very low density and intermediary lipoproteins, and in the LDL such as apo B-100⁽²⁰⁾, correlating with the non-HDL cholesterol level⁽³⁾.

The apoB/apoA-I ratio, therefore, reflects the cholesterol balance of the potentially atherogenic and anti-atherogenic lipoprotein particles⁽²³⁾. Consequently, its high value would indicate an increased tendency to cholesterol deposition, endothelial dysfunction and, as a result, higher risk of atherogenesis^(21,19). This is why the apoB/apo A-I ratio has been reported as an important predictor of cardiovascular risk, being superior to lipids, lipoproteins⁽²⁴⁾ and conventional lipid ratios, such as total cholesterol/HDL⁽²⁵⁾ and LDL/HDL⁽²⁶⁾.

Considering the magnitude of the coronary arterial disease at earlier ages, all over the world, this study aimed at investigating the association of both apolipoproteins A-I and B and the apoB/apoA-I ratio with cardiometabolic risk variables in adolescents of public schools in Recife, Northeast Brazil.

METHODS

Study design and population

The investigation derived from a larger project titled “Dyslipidemia and its association with excessive weight, sedentary lifestyle and oxidative stress in a cohort of school students in Recife, PE”. An evaluation was made of the anthropometric, lipid profile and lifestyle parameters, in addition to socioeconomic and demographic aspects, in the baseline of this project.

The outline of the research comprised a cross-sectional study, nested in this cohort, the eligible population of which consisted of adolescents of both genders from 12 to 19 years of age, recruited in public schools of Recife, in the period from March to April 2013.

In order to size the sample, a pilot study was undertaken, and a prevalence was found showing a 50% increase in triglycerides (TAG) serum concentrations between the first and the last quartile of the apoB/apoA-I index distribution. In defining the sample size, an equation was used to calculate the sample with infinite population⁽²⁷⁾ [$n = z^2 \times pq/d^2$], where z = confidence interval (1.96), p = estimated prevalence (50%), and d = margin of error (14%). As this is a “finite” population, the sample “ n ” was adjusted according to the equation [$n = n/1 + (n/N)$]⁽²⁸⁾, where n = sample “ n ” (49), and N = population size (409). Then, a correction was made due to the effect of the sample design (factor 2.1) per cluster, resulting in a minimum number of sample units of 92 individuals. In order to repair any losses, a choice was made to correct the sample size by 10.0% [$100/(100-10)$], resulting in a final sample of 103 adolescents.

Evaluation techniques and methods

The researchers conducted the fieldwork supervision, and a previously trained technical team collected the data. The technical team is experienced in checking clinical and anthropometrical measures, handling biological materials and delivering the specific questionnaires.

Clinical and biochemical variables

Systolic blood pressures (SBP) and diastolic blood pressures (DBP) were checked by the auscultation method. Two right-arm measurements were made per adolescent in 5-minute intervals. SBP and DBP were registered in the first and fourth Korotkoff's phases, respectively. The values acquired in the second check were considered and classified according to the 1st Brazilian Guideline for the Prevention of Atherosclerosis in Children and Adolescents⁽²⁹⁾.

As to the biochemical analyses, approximately 5 mL of blood were drawn from each student by venous puncture after a 10- to 12-hour fasting. The blood was stored in dry vials in a room prepared in advance, in each school. The materials used for collecting and processing were all disposable and sterile. The vials were stored in Styrofoam boxes containing reusable ice packs, sealed and transported for processing and analysis in a clinical analysis laboratory.

An analysis was made of the serum concentrations of glucose, TAG, total cholesterol (TC), LDL and HDL, apolipoprotein A-I, apolipoprotein B and alfa-1-acid glycoprotein (AGP).

Glucose, TAG, TC and HDL serum levels were determined by means of an enzymatic method. The LDL fraction was calculated with Friedewald's formula [$LDL = TC - HDL - TAG/5$]. This formula is valid for plasma concentrations of TAG $< 4,5 \mu\text{Mol/L}$. Above this, the LDL values are underestimated⁽²⁹⁾. The reference values used to diagnose dyslipidemias were preconized by the 1st Brazilian Guideline for the Prevention of Atherosclerosis in Children and Adolescents⁽²⁹⁾. Serum levels of TC $\geq 4,4 \mu\text{Mol/L}$, LDL $\geq 3,4 \mu\text{Mol/L}$ and TAG $\geq 1,5 \mu\text{Mol/L}$ were all classified as increased values. Serum concentrations of HDL $< 1,2 \mu\text{Mol/L}$ are deemed to be below the desirable values.

The diagnostic criteria of *diabetes mellitus* were those preconized by the American Diabetes Association – ADA⁽³⁰⁾, which views *diabetes* whenever fasting glycaemia is $\geq 7 \mu\text{Mol/L}$, after a fasting period of at least 8 hours. Fasting glycaemia values between $\geq 5,6$ e $< 7 \mu\text{Mol/L}$ are deemed an increased risk for *diabetes*.

Apolipoproteins B and A-I, as well as alfa-1-acid glycoprotein were analysed using kits based on the Immunoturbidimetric method (Randox, UK).

Anthropometric variables

The anthropometric evaluation consisted of measuring two values of weight, height and waist circumference, and the averages of these two values were used. For data consistency purposes, differences greater than 100 g for weight, 0.5 cm for height and 0.3 cm for waist circumference in the measured values were not taken into account.

The measurements of weight and height were done according to the original technique recommended by Lohman et al.⁽³¹⁾. The body mass was obtained from a digital electronic scale, brand Plenna-MEA-03140[®], with maximum load of 150 Kg and precision of 100 g. The height was measured with a Stanley[®] metric measuring tape with 1.0 mm precision and 0.5 cm accuracy. The waist circumference (WC) was obtained from the middle point between the last costal arch and the iliac crest using a flexible and short measuring tape, without compressing the tissues⁽³²⁾.

The overweight diagnosis was achieved by using the body mass index (BMI), and the result found was interpreted in accordance with the values indicated by WHO-2007⁽³³⁾, considering gender and age. The abdominal obesity diagnosis was achieved by evaluating the WC and the WC (cm)/Height (cm) ratio. For the classification of waist circumference, the cutoff point recommended by Taylor et al.⁽³²⁾ was used. It defines abdominal obesity as $WC \geq$ percentile 80 adjusted for age and gender. Regarding WC/Height, the cutoff point used for the definition of abdominal obesity was value ≥ 0.5 , as preconized by Li et al.⁽³⁴⁾.

A Maltron BF-906[®] (Maltron Int'l Ltd, Essex, UK) was used to measure bioimpedance with four electrodes at a frequency of 50 Hz, alternating current (AC). The evaluation consists of performing the technique twice⁽³⁵⁾. The equipment provides the percentage of fat directly by means of equations previously programmed by the manufacturers of the instrument.

Sociodemographic and lifestyle variables

Age, gender, education level and socioeconomic classification data were collected. The education level of the adolescents was determined by the number of full years of study, based on the grade in which the adolescent was enrolled. The parents' education level was determined by the number of full years of study, and classified according to the criteria of the

Brazilian Association of Research Companies⁽³⁶⁾, grouped as completed elementary education, secondary education, and higher education.

In determining the family's socioeconomic level, the "Brazilian Economic Ranking Criteria" were used, as established by Brazilian Association of Research Companies⁽³⁶⁾. This system uses a scoring scale, obtained by adding the scores related to the household appliances owned by the head of the family, and by his or her level of education, consequently ranking the population in classes A1, A2, B1, B2, C1, C2, D and E, in descending order, starting at the highest purchasing power.

The adolescents who claimed to smoke a number of cigarettes ≥ 5 per day⁽³⁷⁾ was classified as smoker. The levels of physical activity were classified according to the methodology proposed by Pate et al.⁽³⁸⁾, as follows: a) underactive or sedentary – individuals who accumulated < 300 minutes of weekly physical activity; b) sufficiently active – individuals who accumulated ≥ 300 minutes/week.

Data analysis algorithm

The Epi Info program, version 6.04b (WHO/CDC, Atlanta, GE, USA) was used, and the data were typed in double data entry, and data consistency was verified by module *validate*. The statistical analyses were done using the *Statistical Package for Social Sciences* – SPSS for Windows, version 13.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

The distribution normality of the continuous variables was tested using Kolmogorov Smirnov's test. The concentrations of apoB, apoA-I, apoB/apoA-I rate, AGP, HDL and glucose, as well as the percentage of fat were normally distributed and were described in the form of averages and standard deviations. The variables that were not normally distributed underwent a logarithmic transformation (Ln), and their normality was retested. Only LDL fraction concentrations were normally distributed and were described in the form of geometrical averages and confidence intervals of 95%. The other variables still presenting a non-Gaussian distribution were described in the form of their medians and interquartile ranges.

The adolescents were classified into four groups according to the percentile distribution of apolipoproteins A-I and B serum concentrations, and the apoB/apoA-I ratio.

The analysis of variance (One-Way ANOVA) was used to compare the averages of the calculated quartiles when the homoscedasticity criteria and normal distribution were met, and Bonferroni's test was used later. Kruskal Wallis' and Mann Whitney's "U" tests were used when normality or homoscedasticity criteria were not met.

In describing the proportions, the binomial distribution approximated the normal distribution by the confidence interval of 95%. In the statistical inference tests, proportions were compared by Pearson's Chi-square test. The significance level adopted for rejecting the null hypothesis was 5.0%.

Ethical Aspects

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects were approved by the Committee of Ethics in Research with Human Beings of Lauro Wanderley University Hospital – CEP/HULW at the Federal University of Paraíba [*Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário Lauro Wanderley – CEP/HULW da Universidade Federal da Paraíba*], and was approved as per Record CEP/HULW No. 723/10.

The adolescents and their guardians were informed in advance about the objectives and methods to be adopted in the research, when contacted before the day of the collection by the technical team. Written informed consent was obtained from all subjects.

RESULTS

The sample consisted of 104 individuals. Both genders were proportionally distributed ($p=0.845$). The median age was 15 years (Interquartile Range=2.0). The minimum age was 12 years, and the maximum age was 19 years.

Regarding socioeconomic and lifestyle characteristics, 50.7% of the fathers (CI_{95%}: 38.8-62.5), and 54.7% (CI_{95%}: 43.6-65.3) of the mothers of the studied adolescents did not complete their secondary education, and 77.0% (CI_{95%}: 66.7-84.8) of the families were part of social classes C or D. Only three adolescents (2.9%, CI_{95%}: 0.8-8.8) were classified as smokers, and 64.4% were considered underactive or sedentary (CI_{95%}: 54.4-73.4).

As shown in Table 1, the percentile distribution of apolipoproteins A-I and B, as well as the apoB/ApoA-I ratio did not vary as a function of variables gender, age, parental level of education, social class and physical activity. An observation regarding the mothers' education level, however, was that a higher education level was associated with lower serum concentrations of ApoA-I and higher concentrations of the apoB/apoA-I ratio.

Regarding the anthropometric variables, overweight was found in 35.6% (CI_{95%}: 26.6-45.6) of the sample, of which 14.4% (CI_{95%}: 8.6-23.0) were classified as obese, according to the BMI for age and gender. Abdominal obesity was found in 27.9% (CI_{95%}: 19.7-37.7) of the

individuals, according to their waist circumference, and in 25.0% (CI_{95%}: 17.3-34.6) of the adolescents, according to their waist circumference/height ratio.

High systolic and/or diastolic blood pressure levels were found in 15.4% (CI_{95%}: 9.3-24.1) of the sample. There were no cases of fasting glycaemia suggesting *diabetes mellitus* (≥ 7 $\mu\text{Mol/L}$), but 4.8% (CI_{95%}: 1.8-11.4) of the individuals were found glucose intolerant ($\geq 5,6$ e < 7 $\mu\text{Mol/L}$).

The demographic, anthropometric, clinical and biochemical characteristics of the participants, according to the percentile distribution of apoA-I, apoB and apoB/apoA-I ratio concentrations, are given in Tables 2, 3 and 4, respectively.

BMI, WC, WC/Height and TAG values and TC/HDL and apoB/apoA-I ratios expressed a statistically significant reduction with the progress of the percentile distribution of apoA-I concentrations. However, the averages of HDL and apoB, on their turn, increased significantly from the first to the last quartile of the apoA-I concentrations.

Both the BMI, WC and WC/Height anthropometric variables, and the SBP, TC, LDL, TAG, as well as the CT/HDL and LDL/HDL indices increased significantly over the distribution in the quartiles of apoB and apoB/apoA-I ratio.

AGP serum levels varied only within the quartiles of apoB, increasing *pari passu* with the progress of the percentile distribution.

Gender, age, fat percentage and glycaemia in the adolescents did not show any significant differences within the evaluated quartiles of the isolated apolipoproteins and apoB/apoA-I ratio.

DISCUSSION

In the studied population of adolescents, apolipoproteins B and A-I, as well as the apoB/apoA-I ratio, were significantly and simultaneously associated with the traditional variables of cardiometabolic risk, such as BMI, WC and WC/Height, in addition to HDL and TAG serum levels.

Of the analysed distributions, apolipoprotein B was associated with the largest number of variables that, in addition to anthropometric, BMI, WC and WC/Height variables, also included all evaluated lipidemia and lipid ratios, as well as systolic blood pressure levels, and the AGP inflammatory marker. Likewise, the concentrations of the apoB/apoA-I ratio also

were associated with the lipid profile, except the serum levels of apoB itself, in addition to being associated with the systolic and diastolic blood pressure levels.

The results found in the studied population of adolescents matched previous clinical and epidemiological studies determining that the metabolism of apolipoprotein is closely related to CVD risk factors⁽³⁹⁻⁴⁵⁾. In the study *Effect of Potentially Modifiable Risk Factors Associated with Myocardial Infarction in 52 Countries* (INTERHEART)^(46,43), which studied approximately 30 thousand individuals of 52 countries, a high apoB/apoA-I ratio was the strongest risk factor for acute myocardial infarction (AMI). This predictor contributed to approximately 50% of the risk for cardiovascular events, in addition to being the most prevalent risk factor of all the remaining investigated conventional factors (smoking, hypertension, diabetes, stress and abdominal obesity), irrespective of age, gender, ethnicity and other lipids or lipid indices.

Similar results were observed by the *European Prospective Investigation of Cancer, Norfolk* (EPIC-Norfolk)⁽⁴²⁾, where the apoB/apo A-I ratio was associated with coronary artery disease, irrespective of the conventional lipid profile markers.

At different moments of the *Apolipoprotein-related Mortality Risk Study* (AMORIS)^(47,48), which investigated approximately 170 thousand Swedish individuals, it was found that apo B was a cardiovascular risk factor superior to LDL, irrespective of the gender. On its turn, the apoB/apoA-I ratio was the strongest risk factor for AMI, when compared to the TC/HDL and LDL/HDL ratios, especially when the lipid levels were within the range of desirable values.

A prospective study representative of the North American population found that the apoB/apoA-I ratio was significantly associated with mortality due to coronary artery disease, irrespective of other traditional risk factors, and that it is a better predictor for CVD mortality, when compared to the TC/HDL ratio⁽²⁵⁾.

On the other hand, results of a prospective study based on cohort *Prevention of renal and vascular end-stage disease* (PREVEND)⁽⁴⁵⁾ suggest that the risk for the incidence of CVD might be determined by both apoB/apoA-I ratio and TC/HDL ratio, and that these associations are just superficially affected by other classical risk factors, such as circulating concentrations of TAG and C-reactive protein, in addition to hypertension, diabetes, obesity and smoking.

Exposure to an unfavourable lipid profile from an early age might induce arterial effects in the long run⁽⁴⁹⁾. According to *The Cardiovascular Risk in Young Finns Study*⁽⁵⁰⁾, the levels of apo B and apo A-I and the apoB/apoA-I ratio in adolescence were predictive for

changes in the arterial health in adulthood, such as thicker intimal carotid layer and endothelial dysfunction. These relations did not depend on the concentrations of apolipoproteins in the adult life. It was also found that a high apoB/apoA-I ratio was superior to the conventional lipid measures (LDL, HDL, LDL/HDL, non-HDL/HDL) in predicting the abnormal thickness of the carotid intimal layer. This study, therefore, underlines adolescence as a critical period in life, as being exposed to risk factors may produce long-lasting adverse effects on the arterial health, which corroborates the relevance of studies for this age group, such as the results observed in our population of adolescents in Recife.

The *Bogalusa Heart Study*⁽³⁾ also demonstrated that the thickness of the carotid intimal layer in adults increases significantly over the quartiles of apo B levels and apoB/apoA-I index in childhood and adolescence, which, along with the non-HDL, LDL levels, and the TC/HDL ratio, emerged as significant predictors of this harm to someone's adult life.

Rodríguez-Moran et al.⁽²⁾, when studying children from 6 to 12 years of age with MS, determined that the best apoB/apoA-I index cutoff point enabling the recognition of dislipidemia was 0.60, which was found in approximately one third of the studied children. ApoB levels and the apoB/apoA-I ratio were significantly higher according to the increase in the number of MS components. Although our investigation has been done with adolescents, it is worth highlight that the averages of the apoB/apoA-I ratio in all assessed quartiles in the distributions of apoB and apoA-I were superior to the 0.60 cutoff point suggested by Rodríguez-Moran et al.⁽²⁾.

Despite methodological and age range differences, similar associations of the lipid variables and both systolic and diastolic blood pressure levels and the apoB/apoA-I ratio, found in the adolescents studied in Recife, were described by Zhong et al.⁽¹⁹⁾ in a study involving the adult Chinese population. This study revealed that the average of the apoB/apoA-I ratio increased according to the number of MS components and that, even after the exclusion of the TAG and HDL variables, this correlation remained significant, indicating that the association of the apoB/apoA-I ratio and MS did not depend on the lipid components. In addition, there was a positive and significant correlation between the apoB/apoA-I ratio and variables WC, TAG, SBP and DBP, and a negative and significant correlation between the apoB/apoA-I ratio and HDL.

Results that also presented similar tendencies to those seen in the population of adolescents studied in Recife were cited by Lima et al.⁽⁵¹⁾ who found significantly lower plasma levels of apoA-I and a high apoB/apoA-I ratio in adults and in the elderly with coronary artery disease when compared to the control group. As far as the remaining analysed

variables are concerned, the apoB/apoA-I ratio correlated positively with the levels of apoB, TC, TAG and LDL, and negatively with the apoA-I plasma levels.

Still corroborating the association between the analysed variables of the adolescents in our investigation and the apoB/apoA-I ratio, it is important to highlight the results of a study conducted as a representative sample of the US adult population, in which the individuals with the highest levels of the apoB/apoA-I ratio had the highest averages of WC, TAG, arterial blood pressure, LDL and CT⁽²⁴⁾.

According to the results obtained from adult individuals in the *INTERGENE cohort study*⁽⁵²⁾, obesity – according to the BMI – presented a strong positive association with the apoB/apoA-I ratio, which was not explained by any other studied variable, corroborating the very well established fact in the literature that obesity is an independent risk factor for atherosclerosis. Furthermore, in the same study the apoB/apoA-I ratio was also strongly correlated with the TC/HDL ratio.

Overweight is increasing all over the world and has become a serious public health problem. The prevalence of obesity in childhood more than doubled in the past 15 years in many regions of the world^(53,54), and has been described in the literature as the influence of the early nutritional status as the determining factor for the nutritional status in adulthood⁽⁵⁵⁾. According to the Family Income Survey⁽⁵⁶⁾ [*Pesquisa de Orçamento Familiar*] in Brazil, the prevalence of overweight among adolescents varied from 16% to 19% in the North and Northeast, and from 20% to 27% in the Southeast, South and Midwest regions. A representative study of the population from 5 to 19 years of age in the State of Pernambuco found a prevalence of overweight and obesity of 9.0% and 3.6%, respectively⁽⁵⁷⁾. A study conducted in the City of Recife including adolescents of public and private schools had already identified high prevalence rates of overweight (15.9%) and obesity (4.5%)⁽⁵⁸⁾.

It is known that overweight in younger ages may lead to the early development of CVD risk factors. The results of our investigation indicate that, in adolescence, the BMI, WC and the WC/Height ratio tend to increase according to the distribution of the apoB/apoA-I index, underlining again that overweight is consistently associated with cardiometabolic risk.

A large number of risk factors for CVD, such as dyslipidemia, diabetes and arterial hypertension are acquired during childhood and adolescence, and tend to persist throughout life. The initial alterations of these factors, even if they are minor, associated with the distribution of body fat, determine an unfavourable cardiovascular profile for these young individuals⁽⁵⁵⁾.

Additionally, it is worth to note that 64.4% of the studied adolescents of our sample in Recife were underactive or sedentary, thus characterizing an important percentage of young individuals taking an additional risk behaviour in terms of cardiovascular prognosis.

The literature has described physical activity as a cardioprotective variable, also in adolescence. A study with professional football players between 17 and 20 years of age found higher HDL averages, and lower TC and LDL averages in this group of players when compared to sedentary individuals, corroborating the impact of physical exercise on the lipid profile⁽¹³⁾.

The distribution of apolipoproteins in our study was not associated with variables gender and age. As our median age (15 years) was higher than that in which major hormone fluctuations related to sexual maturation generally occur, it is possible that such association has not been found. According to a study with Colombian students⁽⁵⁹⁾, apoA-I and apoB did not show statistically significant differences in the different age groups, but their concentrations tended to be lower between 13 and 15 years of age, maybe due to the biological and metabolic alterations typical in this stage of life.

An unexpected association between the mothers' level of education and the serum concentrations of apoA-I and the apoB/apoA-I ratio was found in the adolescents studied in Recife. The literature has shown that the prevalence of chronic non-communicable diseases regularly increases with the degree of precariousness of the socioeconomic conditions, including the educational level, employment and income, as these factors are associated with the environmental behavioural and psychological conditions that contribute to a higher disease risk⁽⁶⁰⁾. In this sense, it is quite probable that the highest risk of lower circulating levels of apoA-I, and higher circulating levels of the apoB/apoA-I ratio found in the adolescents whose mothers had a higher education level, is due to a random error. However, further prospective investigation is needed in order to help clarify the possible association of such variables in this age group.

The study of apolipoproteins has methodological advantages to identify other variables of the lipid profile and to estimate the LDL fraction using Friedewald's equation⁽¹⁶⁾. It is possible to accurately measure apolipoproteins directly in the plasma using internationally standardized methods^(61,62), which do not require previous fasting^(25,16), and the relevant results show little biological variation and reduced fluctuation in response to the effect of metabolic control. However, the absence of common sense regarding the reference values and the therapeutic objectives, on their turn, may limit the regular use of the apoB/apo A-I ratio⁽²³⁾.

The role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis and its complications also deserves to be highlighted^(1,53). A chronic inflammatory state, developed because of the summation of metabolic disorders and environmental stimuli, induces an acute phase response favouring abnormalities that include alterations in the metabolism of lipids and lipoproteins, frequently mediated by cytokines^(63,64). The inflammatory state, as a last resort, would produce structural and functional alterations on the walls of the blood vessels and would favour endothelial dysfunction, culminating in the development and progression of atherosclerotic lesions⁽⁶⁵⁾.

Onat and Hergenç⁽⁶⁶⁾ found both in the adult and in the elderly population in Turkey that the prevalence of a pro-inflammatory and pre-oxidative state relates to a high prevalence of obesity and MS. In these circumstances, HDL and apoA-I particles lose their anti-inflammatory and atheroprotective properties, and the balance between lipoproteins containing apoB and the reverse cholesterol transport slants towards the development of CVD and/or diabetes.

In the studied population, there was a tendency to a significant increase in alpha-1-acid glycoprotein, along with the evolution of the apoB quartiles, emphasizing the association between the largest number of pro-atherogenic particles in the plasma and a growing inflammatory state favouring arterial lesions. This is why the evaluation of inflammatory markers, such as the AGP, might be considered a relevant tool to add useful information to traditional cardiovascular risk markers, such as the lipid profile⁽¹⁾.

As a limitation to this study, it is possible to mention that the cross-sectional design does not allow inferring possible causal relations between apolipoproteins and the cardiometabolic profile – only allowing associations. Prospective studies in this line, then, are extremely recommended. Moreover, it was not possible to assess the role of regular diet in the studied population, as this variable would exert, in theory, important impact on the individuals' lipid profile.

In short, the apolipoproteins A-I and B, and the apoB/apoA-I ratio serum concentrations were importantly associated with conventional anthropometric and biochemical variables of cardiovascular risk in the analysed adolescent population. It is suggested that additional investigations be conducted, especially with a prospective outline, in order to enrich the existing knowledge about the behaviour and contribution of these variables to other young populations that might be exposed to future adverse events, subject to the appropriate control.

In the assessment of the cardiometabolic risk, it is necessary to understand the summation of factors predisposing the population to this harm, depicting a global profile of higher predictive value. In this sense, such findings emphasize that measuring serum apolipoproteins during adolescence may constitute a useful clinical strategy for the identification and prompt intervention on individuals vulnerable to lifelong unfavourable cardiometabolic effects, providing benefits by offering measures to prevent atherosclerosis and CVD.

FINANCIAL SUPPORT

National Research Council (CNPq) (Process No. 473387/2010-7) and Ministry of Science and Technology (Contract IMIP/MCT Process No. 01.0265.00/2005).

CONFLICTS OF INTEREST

None

AUTHORSHIP

The authors' contributions were as follows: M. N. L. A. contributed to the design, fieldwork, data collection, analysis and writing of the manuscript; A. S. D contributed to the design, interpretation of the data, performed the analyses and wrote the manuscript; I. G. K. A., project leader, was responsible for the design, financial management and editing of the manuscript. All authors actively participated in the manuscript preparation, as well as read and approved the final version of the manuscript.

REFERENCES

1. Goswami B, Rajappa M, Singh B *et al.* (2010) Inflammation and dyslipidaemia: a possible interplay between established risk factors in North Indian males with coronary artery disease. *Cardiovasc J Afr* **21**,103-108.
2. Rodríguez-Moran M, Aradillas-García C, Guerrero-Romero F. (2013) The ApoB/A-I Ratio and Metabolic Syndrome in Prepubertal Children. *Metab Syndr Relat Disord* **11**, 115-120.
3. Frontini MG, Srinivasan SR, Xu J *et al.* (2008) Usefulness of Childhood Non-High Density Lipoprotein Cholesterol Levels Versus Other Lipoprotein Measures in Predicting Adult Subclinical Atherosclerosis: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics* **121**, 924-929.
4. França E, Alves JGB. (2006) Dislipidemia entre Crianças e Adolescentes de Pernambuco. *Arq Bras Cardiol* **87**, 722-727.
5. Beck CC, Lopes AS, Giuliano ICB *et al.* (2011) Fatores de risco cardiovascular em adolescentes de município do sul do Brasil: prevalência e associações com variáveis sociodemográficas. *Rev Bras Epidemiol* **14**, 36-49.
6. Hosseini-Esfahani F, Khameneh AMN, Mirmiran P *et al.* (2011) Trends in Risk Factors for Cardiovascular Disease Among Iranian Adolescents: The Tehran Lipid and Glucose Study, 1999–2008. *J Epidemiol* **21**,319-328.
7. Alkazemi D, Egeland G, Vaya J *et al.* (2008) Oxysterol as a Marker of Atherogenic Dyslipidemia in Adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* **93**. 4282–4289.
8. Kwiterovich PO. (2008) Recognition and Management of Dyslipidemia in Children and Adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* **93**, 4200-4209.
9. Forti N, Diamant J. (2007) Apolipoproteínas B e A-I: Fatores de risco cardiovascular? *Rev Assoc Med Bras* **53**, 276-282.
10. Pereira PB, Arruda IKG, Cavalcanti AMTS *et al.* (2010) Perfil Lipídico em Escolares de Recife – PE. *Arq Bras Cardiol* **95**, 606-613.
11. Feliciano-Alfonso JE, Mendivil CO, Ariza IDS *et al.* (2010) Cardiovascular risk factors and metabolic syndrome e in a population of young students from the National University of Colombia. *Rev Assoc Med Bras* **56**, 293-298.
12. Shamir R, Kassis H, Kaplan M *et al.* (2008) Glycemic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus improves lipid serum levels and oxidative stress. *Pediatr Diabetes* **9**,104–109.

13. Zanella AM, Nakazone MA, Pinhel MAS *et al.* (2011) Lipid profile, apolipoprotein A-I and oxidative stress in professional footballers, sedentary individuals, and their relatives. *Arq Bras Endocrinol Metab* **55**, 121-126.
14. Griz LHM, Viégas M, Barros M *et al.* (2010) Prevalence of central obesity in a large sample of adolescents from public schools in Recife, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metab* **54**, 607-611.
15. Friend A, Craig L, Turner, S. (2013) The Prevalence of Metabolic Syndrome in Children: A Systematic Review of the Literature. *Metab Syndr Relat Disord* **11**, 71-80.
16. Marcovina S, Packard J. (2006) Measurement and meaning of apolipoprotein AI and apolipoprotein B plasma levels. *J Intern Med* **259**, 437-446.
17. Barter PJ, Ballantyne CM, Carmena R *et al.* (2006) Apo B versus cholesterol in estimating cardiovascular risk and in guiding therapy: report of the thirty-person/ten country panel. *J Intern Med* **259**, 247-258.
18. Rosini N, Rosini AD, Rosini GD *et al.* (2009) Variabilidade interensaios de dislipidemias em pacientes hipertensos. *J Bras Patol Med Lab* **45**, 285-294.
19. Zhong L, Li Q, Jiang Y *et al.* (2010) The ApoB/ApoA1 Ratio is Associated with Metabolic Syndrome and its Components in a Chinese Population. *Inflammation* **33**, 353-358.
20. Lima LM, Carvalho MG, Sousa MO. (2007) Índice Apo B/Apo A-I e Predição de Risco Cardiovascular. *Arq Bras Cardiol* **88**, 187-190.
21. Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Somers VK *et al.* (2007) ApoB/apoA-I ratio: an independent predictor of insulin resistance in US non-diabetic subjects. *Eur Heart J* **28**, 2637-2643.
22. Lima ES, Couto RD. (2006) Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *J Bras Patol Med Lab* **42**, 169-178.
23. Millán J, Pintó X, Muñoz A *et al.* (2009) Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health and Risk Manag* **5**, 757-765.
24. Sierra-Johnson J, Somers VK, Kuniyoshi FHS *et al.* (2006) Comparison of Apolipoprotein B/Apolipoprotein A-I in subjects with versus without the Metabolic Syndrome. *Am J Cardiol* **98**, 1369-1373.
25. Sierra-Johnson J, Fisher RM, Romero-Corral A *et al.* (2009) Concentration of apolipoprotein B is comparable with the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio and better than routine clinical lipid measurements in predicting coronary heart disease mortality: findings from a multi-ethnic US population. *Eur Heart J* **30**, 710-717.

26. Sung K-C, Rhee E-J, Kim H *et al.* (2011) An elevated apolipoprotein B/AI ratio is independently associated with microalbuminuria in male subjects with impaired fasting glucose. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **21**, 610-616.
27. Henderson RH, Sunderesan T. (1982) Clustersampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *WHO Bull OMS* **60**, 230-260.
28. Lwanga SK & Tye CY (1987) Planificación de uma encuesta sanitária. In *La ensañ de la estadística sanitária: Veinte esbozos para lecciones y seminários*, pp. 151-152. Ginebra: OMS.
29. Sociedade Brasileira de Cardiologia. (2005) I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. *Arq Bras Cardiol* **85**, Suppl 6, S3-36.
30. American Diabetes Association – ADA. (2001) Diabetes Care in the School and Day Care Setting. *Diabetes care* **34**, Suppl 1, S70-S74.
31. Lohman TG, Roche AF, Martorell R (1988) *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign: Human Kinetics Books.
32. Taylor RW, Jones IE, Williams SM *et al.* (2000) Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y. *Am J Clin Nutr* **72**, 490-495.
33. De Onis M, Onyango AW, Borghi E *et al.* (2007) Development of a WHO growth reference for scholl aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* **85**, 660-7.
34. Li C, Ford ES, Mokdad AH *et al.* (2006) Recent trends in waist circumference and waist-height ratio among US children and adolescents. *Pediatrics* **118**, 1390-1398.
35. Heyward VH & Stolarczyk L (2000) Método de impedância bioelétrica. In *Avaliação da Composição Corporal Aplicada* pp.48-59. São Paulo: Manole.
36. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa – ABEP (2012) Critério Padrão de Classificação Econômica Brasil. http://www.abep.org/codigosguias/Criterio_Brasil_2012.pdf. (Acesso em agosto 2013).
37. Piegas LS, Avezum A, Pereira JCR *et al.* (2003) Risk factors for myocardial infarction in Brazil. *Am Heart J* **46**, 331-338.
38. Pate RR, Freedson PS, Sallis JF *et al.* (2002) Compliance with physical activity guidelines: prevalence in a population of children and youth. *Ann Epidemiol* **12**, 303-308.
39. Meisinger C, Loewel H, Mraz W *et al.* (2005) Prognostic value of apolipoprotein B and A-I in the prediction of myocardial infarction in middle-aged men and women: results from the MONICA/KORA Augsburg cohort study. *Eur Heart J* **26**, 27 1-278.

40. Thompson A, Danesh J. (2006) Associations between apolipoprotein B, apolipoprotein AI, the apolipoprotein B/AI ratio and coronary heart disease: a literature-based meta-analysis of prospective studies. *J Intern Med* **259**, 481-492.
41. Walldius G, Jungner I. (2006) The apo B/apo A-I ratio: a strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy - a review of the evidence. *J Intern Med* **259**, 493-519.
42. van der Steeg WA, Bockholdt SM, Stein EA *et al.* (2007) Role of the apolipoprotein B-apolipoprotein A-I ratio in cardiovascular risk assessment: a case-control analysis in EPIC-Norfolk. *Ann Intern Med* **146**, 640-648.
43. McQueen MJ, Hawken S, Wang X *et al.* (2008) Lipids, lipoproteins and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART Study): case-control study. *Lancet* **372**, 224-233.
44. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L *et al.* (2010) Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet* **376**, 112-123.
45. Kappelle PJ, Gansevoort RT, Hillege JL *et al.* (2011) Apolipoprotein B/A-I and total cholesterol/high-density lipoprotein cholesterol ratios both predict cardiovascular events in the general population independently of nonlipid risk factors, albuminuria and C-reactive protein. *J Intern Med* **269**, 232-242.
46. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S *et al.* (2004) INTERHEART Study Investigations. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART Study): case-control study. *Lancet* **364**, 937-952.
47. Walldius G, Jungner I, Holme I *et al.* (2001) High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet* **358**, 2026-2033.
48. Holme I, Aastveit AH, Jungner I *et al.* (2008) Relationships between lipoprotein components and risk of myocardial infarction: age, gender and short versus longer follow-up periods in the Apolipoprotein Mortality Risk study (AMORIS). *J Intern Med* **264**, 30-38.
49. Li S, Chen W, Srinivasan SR *et al.* (2003) Childhood cardiovascular risk factors and carotid vascular changes in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *JAMA* **290**, 2271-2276.
50. Juonala M, Viikari JSA, Kähönen M *et al.* (2008) Childhood Levels of Serum Apolipoproteins B and A-I Predict Carotid Intima-Media Thickness and Brachial Endothelial Function in Adulthood. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *J Am Coll Cardiol* **52**, 293-299.

51. Lima LM, Carvalho MG, Sabino AP *et al.* (2007) Apo B/Apo A-I Ratio in Central and Peripheral Arterial Diseases. *Arq Bras Endocrinol Metab* **51**, 1160-1165.
52. Tognon G, Berg C, Mehlig K *et al.* (2012) Comparison of apolipoprotein (apoB/apoA-I) and lipoprotein (Total Cholesterol/HDL) ratio determinants. Focus on Obesity, Diet and Alcohol Intake. *PlosONE* **7**, issue 1, e40878. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0040878>
53. Bakker GCM, Erk MJV, Pellis L *et al.* (2010) We report the effects on markers of inflammation, oxidation, and metabolism by integrating the results from a multiplatform approach. *Am J Clin Nutr* **91**, 1044-1059.
54. Ferreira AP, Nóbrega OT, França NM. (2009) Associação do Índice de Massa Corporal e da Resistência à Insulina com Síndrome Metabólica em Crianças Brasileiras. *Arq Bras Cardiol* **93**, 147-153.
55. Oliveira RMS, Franceschini SCC, Rosado GP *et al.* (2009) Influência do Estado Nutricional Pgresso sobre o Desenvolvimento da SM em Adultos. *Arq Bras Cardiol* **92**, 107-112.
56. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Ministério da Saúde, Ministério do Orçamento, Planejamento e Gestão. (2010) *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil*. Rio de Janeiro:IBGE.
57. Departamento de Nutrição UFPE, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira IMIP, Secretaria Estadual de Saúde SES/PE. (2012) *III Pesquisa Estadual de Saúde e Nutrição: Saúde, Nutrição, Alimentação, Condições Socioeconômicas e Atenção a Saúde no Estado de Pernambuco*. Recife: UFPE/IMIP/SES-PE.
58. Pinto ICS, Arruda IKG, Diniz AS *et al.* (2010) Prevalência de excesso de peso e obesidade abdominal, segundo parâmetros antropométricos, e associação com maturação sexual em adolescentes escolares. *Cad Saude Publica* **26**, 1727-1737.
59. Poveda E, Callas N, Baracaldo C *et al.* (2007) Evaluación de las concentraciones de lípidos y apoproteínas A-I y B-100 en un grupo de escolares de cinco departamentos del centro-oriente de Colombia. *Biomedica* **27**, 385-399.
60. Janicki-Deverts D, Cohen S, Matthews KA *et al.* (2009) Socioeconomic Status, Antioxidant Micronutrients, and Correlates of Oxidative Damage: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Psychosom Med* **71**, 541-548.
61. Marcovina SM, Albers JJ, Henderson LO *et al.* (1993) International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. III

Comparability of apolipoprotein A-I values by use of international reference material. *Clin Chem* **39**,773-781.

62. Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H *et al.* (1994) International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins AI and B. IV Comparability of apolipoprotein B values by use of international reference material. *Clin Chem* **40**, 586-592.

63. Khovindhunkit W, Kim MS, Memon RA. (2004) Effects of infection and inflammation on lipid and *lipoprotein* metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res* **45**:1169-1196.

64. Harb TS, Zareba W, Moss AJ *et al.* (2003) Association between inflammatory markers, hemostatic and lipid factors in post infarction patients. *Am J Cardiol* **91**, 1120-1123.

65. Signori LU, Della R, Plentz M *et al.* (2007) O papel da lipemia pós-prandial na gênese da aterosclerose: particularidades do Diabetes Mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab* **51**, 222-231.

66. Onat A, Hergenç G. (2011) Low-grade inflammation, and dysfunction of high-density lipoprotein and its apolipoproteins as a major driver of cardiometabolic risk. *Metabolism* **60**,499–512.

Table 1. Sociodemographic and lifestyle characteristics of the adolescents according to apo A-I, apo B and apoB/apoA-I ratio serum concentrations. Recife, 2013.

Variables	Categories	n	%	ApoA-I			ApoB			ApoB/ApoA-I		
				$\bar{X}$	SD	$p^{\ddagger}$	$\bar{X}$	SD	$p^{\ddagger}$	$\bar{X}$	SD	$p^{\ddagger}$
Gender	Male	51	49.0	243.5	64.4	0.902	208.8	47.9	0.270	0.89	0.21	0.422
	Female	53	51.0	241.8	78.2		197.4	55.9		0.86	0.24	
	Total	104										
Age (years)	12 to 15	72	69.2	247.9	68.0	0.261	206.8	51.3	0.268	0.87	0.21	0.675
	16 to 19	32	30.8	230.8	78.4		194.5	54.0		0.89	0.26	
	Total	104										
Father's Schooling*	Until Elementary School	37	50.7	247.1	74.8	0.888	204.6	43.5	0.664	0.87	0.20	0.667
	High School / Higher Education	36	49.3	244.7	67.6		209.8	58.4		0.90	0.28	
	Total	73										
Mother's Schooling*	Until Elementary School	47	54.7	268.3	60.3	0.006	207.4	42.7	0.631	0.80	0.18	0.001
	High School / Higher Education	39	45.3	230.3	64.3		212.2	55.6		0.96	0.26	
	Total	86										
Social Class*	B 1 or B2 (≥ 23 points)	21	23.1	229.5	67.8	0.232	189.2	51.1	0.104	0.86	0.18	0.735
	C1, C2 or D (≤ 22 points)	70	76.9	250.2	69.8		209.2	48.3		0.88	0.24	
	Total	91										
Physical Activity†	Underactive (<300 min / week)	67	64.4	246.1	72.7	0.514	205.3	56.1	0.550	0.87	0.21	0.604
	Active (≥ 300 min / week)	37	35.6	236.5	69.6		198.9	44.7		0.89	0.26	
	Total	104	104									

*Brazilian Association of Research Companies⁽³⁶⁾. †Pate, Freedson, Sallis *et al.*⁽³⁸⁾. ‡Student's "t"-test for unpaired data

Table 2. Demographic, anthropometric, clinical and biochemical characteristics of the adolescents, according to their apo A-I serum concentrations. Recife, 2013.

Variables	Apo A-I quartiles								p
	I (n=26)		II (n=27)		III (n=26)		IV (n=25)		
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
Girls (%)	57.7	-	48.1	-	34.6	-	64.0	-	0.169
Age	15.0*	2.0 [†]	15.0*	2.0 [†]	14.5*	1.5 [†]	15.0*	2.0 [†]	0.341 [¶]
(years)									
BMI	24.1 ^{*a}	7.3 [†]	22.4 ^{*a}	8.0 [†]	23.5 ^{*a}	10.3 [†]	19.6 ^{*b}	3.0 [†]	0.007 [¶]
(kg/m ²)									
WC	72.7 ^{*a}	15.1 [†]	74.0 ^{*a}	23.7 [†]	70.7 ^{*a}	25.4 [†]	64.1 ^{*b}	7.1 [†]	0.002 [¶]
(cm)									
WC/	0.5 ^{*a}	0.1 [†]	0.4 ^{*a}	0.1 [†]	0.5 ^{*a}	0.2 [†]	0.4 ^{*b}	0.1 [†]	0.005 [¶]
Height									
Fat	28.7	12.9	30.7	14.2	28.6	13.6	26.2	9.3	0.719 ^{**}
(%)									
SBP	110.0*	10.0 [†]	120.0*	10.0 [†]	120.0*	20.0 [†]	110.0*	10.0 [†]	0.073 [¶]
(mmHg)									
DBP	70.0*	20.0 [†]	70.0*	10.0 [†]	70.0*	10.0 [†]	70.0*	15.0 [†]	0.343 [¶]
(mmHg)									
Glucose	4.6	0.5	4.7	0.5	4.8	0.5	4.5	0.5	0.205 ^{**}
(μmol/L)									
TC	4.3	0.7	4.4	1.1	4.4	0.7	4.1	0.8	0.588 ^{**}
(μmol/L)									
HDL	1.1 ^d	0.2	1.1 ^d	0.2	1.1 ^d	0.1	1.3 ^e	0.12	0.000 ^{**}
(μmol/L)									
LDL	2.4 [‡]	2.2-2.6 [§]	2.4 [‡]	2.0-2.7 [§]	2.5 [‡]	2.3-2.8 [§]	2.3 [‡]	2.0-2.5 [§]	0.744 ^{**}
(μmol/L)									
TAG	1.5 ^{*a}	1.1 [†]	1.6 ^{*a}	1.3 [†]	1.6 ^{*a}	1.2 [†]	0.9 ^{*b}	0.3 [†]	0.006 [¶]
(μmol/L)									
TC/	3.5 ^{*a}	1.6 [†]	3.7 ^{*a}	1.7 [†]	3.6 ^{*a}	1.8 [†]	3.1 ^{*b}	0.7 [†]	0.011 [¶]
HDL									
LDL/	2.0*	0.9 [†]	1.9*	1.1 [†]	2.1*	1.1 [†]	1.7*	0.7 [†]	0.670 [¶]
HDL									
Apo B	1.5 ^d	0.5	2.1 ^e	0.4	2.3 ^e	0.3	2.2 ^e	0.4	0.000 ^{**}
(g/L)									
ApoB/A-I	1.0 ^a	0.2	0.9 ^a	0.2	0.8 ^b	0.1	0.7 ^c	0.1	0.000 ^{**}
AGP	0.7	0.2	0.8	0.2	0.8	0.1	0.8	0.2	0.133 ^{**}
(g/L)									

BMI, Body Mass Index. WC, Waist Circumference. WC/Height, Waist Circumference/Height. SBP, Systolic Blood Pressure. DBP, Diastolic Blood Pressure. TC, Total Cholesterol. TAG, Triglycerides. ApoB, Apolipoprotein B. ApoA-I, Apolipoprotein A-I. AGP, α_1 -acid glycoprotein. ^{a,b,c} letters $\neq$ mean averages $\neq$ at significance level 5.0% (Mann-Whitney's "U" test). ^{d,e} letters $\neq$ mean averages $\neq$ at significance level 5.0% (Bonferroni's test). *Median. [†]Interquartile Range. [‡]Geometric Mean. [§]95% Confidence Interval. ^{||}Pearson's Chi-square test. [¶]Kruskal-Wallis' test. ^{**}One-Way ANOVA.

Table 3. Demographic, anthropometric, clinical and biochemical characteristics of the adolescents, according to their apo B serum concentrations. Recife, 2013.

Variables	Apo B Quartiles								p
	I (n=26)		II (n=26)		III (n=26)		IV (n=26)		
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
Girls (%)	57.7	-	42.3	-	57.7	-	46.2	-	0.580
Age (years)	15.0*	2.0 [†]	15.0*	2.0 [†]	15.0*	2.0 [†]	15.0*	1.2 [†]	0.651 [¶]
BMI (kg/m²)	21.8 ^a	4.3	21.0 ^a	5.3	22.3 ^a	5.0	27.2 ^b	6.7	0.000 ^{**}
WC (cm)	68.1 ^{*c}	11.7 [†]	66.7 ^{*c}	12.7 [†]	66.5 ^{*c}	16.0 [†]	87.0 ^{*d}	30.9 [†]	0.002 [¶]
WC/Height	0.4 ^{*c}	0.1 [†]	0.4 ^{*c}	0.1 [†]	0.4 ^{*c}	0.1 [†]	0.5 ^{*d}	0.2 [†]	0.000 [¶]
Fat (%)	27.2	13.6	25.6	17.6	28.1	9.6	33.2	7.9	0.177 ^{**}
SBP (mmHg)	110.0 ^{*c}	10.0 [†]	110.0 ^{*c}	10.0 [†]	120.0 ^{*c}	10.0 [†]	120.0 ^{*d}	22.5 [†]	0.001 [¶]
DBP (mmHg)	70.0*	20.0 [†]	70.0*	12.5 [†]	70.0*	12.5 [†]	80.0*	20.0 [†]	0.052 [¶]
Glucose (μmol/L)	4.6	0.5	4.7	0.5	4.5	0.5	4.7	0.5	0.377 ^{**}
TC (μmol/L)	3.8 ^{*c}	0.7 [†]	4.0 ^{*c}	0.6 [†]	4.1 ^{*c}	0.3 [†]	4.9 ^{*d}	1.3 [†]	0.000 [¶]
HDL (μmol/L)	1.2 ^{*c}	0.3 [†]	1.2 ^{*c}	0.1 [†]	1.2 ^{*c}	0.3 [†]	1.1 ^{*d}	0.1 [†]	0.001 [¶]
LDL (μmol/L)	2.1 ^{‡a}	1.8-2.4 [§]	2.1 ^{‡a}	1.9-2.3 [§]	2.3 ^{‡a}	2.1-2.5 [§]	3.0 ^{‡b}	2.7-3.3 [§]	0.000 ^{**}
TAG (μmol/L)	1.4 ^a	0.7	1.1 ^a	0.4	1.3 ^a	0.7	2.0 ^b	0.7	0.000 ^{**}
TC/HDL	3.3 ^{*c}	1.3 [†]	3.1 ^{*c}	0.4 [†]	3.3 ^{*d}	1.2 [†]	4.8 ^{*e}	1.4 [†]	0.000 [¶]
LDL/HDL	1.8 ^{*c}	0.8 [†]	1.8 ^{*c}	0.4 [†]	1.9 ^{*c}	0.6 [†]	2.8 ^{*d}	1.2 [†]	0.000 [¶]
Apo A-I (g/L)	1.7 ^a	0.7	2.5 ^b	0.5	2.8 ^b	0.5	2.7 ^b	0.5	0.000 ^{**}
ApoB/A-I	0.9 ^{a,b}	0.2	0.8 ^a	0.3	0.8 ^a	0.2	1.0 ^b	0.2	0.004 ^{**}
AGP (g/L)	0.7 ^a	0.2	0.7 ^{a,b}	0.2	0.8 ^{a,b}	0.2	0.8 ^b	0.2	0.038 ^{**}

BMI, Body Mass Index. WC, Waist Circumference. WC/Height, Waist Circumference/Height. SBP, Systolic Blood Pressure. DBP, Diastolic Blood Pressure. TC, Total Cholesterol. TAG, Triglycerides. ApoB, Apolipoprotein B. ApoA-I, Apolipoprotein A-I. AGP, α_1 -acid glycoprotein. ^{a,b}, letters $\neq$ mean averages $\neq$ at significance level 5.0% (Bonferroni's test). ^{c,d,e}, letters $\neq$ mean averages $\neq$ at significance level 5.0% (Mann-Whitney's "U" test). ^{*}Median. [†]Interquartile Range. [‡]Geometric Mean. [§]95% Confidence Interval. ^{||}Pearson's Chi-square test. [¶]Kruskal-Wallis' test. ^{**}One-Way ANOVA.

Table 4. Demographic, anthropometric, clinical and biochemical characteristics of the adolescents, according to their apoB/apoA-I serum concentrations. Recife, 2013.

Variables	Apo B/A-I Quartiles								p
	I (n=26)		II (n=26)		III (n=26)		IV (n=26)		
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
Girls (%)	53.8	-	65.4	-	53.8	-	38.5	-	0.249
Age (years)	15.0 [*]	2.0 [†]	15.0 [*]	2.0 [†]	15.0 [*]	2.0 [†]	15.0 [*]	2.0 [†]	0.823 [¶]
BMI (kg/m ²)	19.3 ^{*a}	3.4 [†]	20.5 ^{*a}	5.2 [†]	24.1 ^{*b}	8.1 [†]	25.4 ^{*b}	9.3 [†]	0.000 [¶]
WC (cm)	64.0 ^{*a}	7.3 [†]	66.0 ^{*a}	8.3 [†]	74.7 ^{*b}	23.2 [†]	84.0 ^{*b}	27.0 [†]	0.000 [¶]
WC/Height	0.4 ^{*a}	0.1 [†]	0.5 ^{*a}	0.1 [†]	0.5 ^{*b}	0.1 [†]	0.5 ^{*b}	0.2 [†]	0.000 [¶]
Fat (%)	24.9	10.6	25.8	13.6	33.9	13.4	29.4	11.3	0.064 ^{**}
SBP (mmHg)	110.0 ^{*a}	10.0 [†]	110.0 ^{*a}	10.0 [†]	120.0 ^{*b}	22.5 [†]	120.0 ^{*b}	10.0 [†]	0.001 [¶]
DBP (mmHg)	70.0 ^{*a}	10.0 [†]	70.0 ^{*a,c}	12.5 [†]	80.0 ^{*b}	12.5 [†]	70.0 ^{*c}	10.0 [†]	0.008 [¶]
Glucose (μmol/L)	4.6	0.2	4.7	0.5	4.5	0.4	4.7	0.5	0.314 ^{**}
TC (μmol/L)	3.9 ^{*a}	0.4 [†]	3.9 ^{*a}	0.6 [†]	4.4 ^{*b}	1.0 [†]	4.5 ^{*b}	1.7 [†]	0.000 [¶]
HDL (μmol/L)	1.3 ^d	0.1	1.2 ^d	0.1	1.1 ^e	0.1	1.1 ^e	0.2	0.000 ^{**}
LDL (μmol/L)	2.1 ^{‡d}	2.0-2.3 [§]	2.1 ^{‡d}	1.8-2.3 [§]	2.6 ^{‡c}	2.4-2.9 [§]	2.7 ^{‡c}	2.4-3.1 [§]	0.000 ^{**}
TAG (μmol/L)	0.9 ^{*a}	0.12 [†]	0.9 ^{*a}	0.7 [†]	1.6 ^{*b}	0.6 [†]	2.0 ^{*b}	0.8 [†]	0.000 [¶]
TC/HDL	3.0 ^{*a}	0.6 [†]	3.1 ^{*a}	0.5 [†]	4.4 ^{*b}	1.5 [†]	4.8 ^{*b}	2.1 [†]	0.000 [¶]
LDL/HDL	1.7 ^{*a}	0.6 [†]	1.8 ^{*a}	0.3 [†]	2.5 ^{*b}	1.1 [†]	2.7 ^{*b}	1.6 [†]	0.000 [¶]
Apo A-I (g/L)	3.2 ^{*a}	0.3 [†]	2.5 ^{*b}	0.6 [†]	2.5 ^{*b}	0.9 [†]	1.9 ^{*c}	1.3 [†]	0.000 [¶]
ApoB (g/L)	2.1 [*]	0.3 [†]	1.9 [*]	0.4 [†]	2.3 [*]	0.9 [†]	2.1 [*]	1.4 [†]	0.051 [¶]
AGP (g/L)	0.8	0.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.742 ^{**}

BMI, Body Mass Index. WC, Waist Circumference. WC/Height, Waist Circumference/Height. SBP, Systolic Blood Pressure. DBP, Diastolic Blood Pressure. TC, Total Cholesterol. TG, Triglycerides. ApoB, Apolipoprotein B. ApoA-I, Apolipoprotein A-I. AGP, α_1 -acid glycoprotein. ^{a,b,c}, letters $\neq$ mean averages $\neq$ at significance level 5.0% (Mann-Whitney's "U" test). ^{d,e}, letters $\neq$ mean averages $\neq$ at significance level 5.0% (Bonferroni's test). *Median. [†]Interquartile Range. [‡]Geometric Mean. [§]95% Confidence Interval. ^{||}Pearson's Chi-square test. [¶]Kruskal-Wallis' test. **One-Way ANOVA.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O impacto dos distúrbios associados à má alimentação no sistema de saúde é sentido pelo alto custo econômico e social de suas co-morbidades, a exemplo das alterações lipídicas, tornando a nutrição dos jovens um grande desafio. A prevalência importante de dislipidemia em adolescentes de escolas públicas do Recife confirma sua relevância nessa faixa etária e reflete a necessidade de prevenção, identificação e tratamento oportunos de fatores de risco cardiovasculares nesse segmento populacional.

A associação da vitamina A na patogênese da dislipidemia observada nos adolescentes avaliados merece atenção, considerando a maior suscetibilidade desse grupo biológico em sofrer carência de vitamina A em função das exigências aumentadas desse nutriente para o seu crescimento e desenvolvimento. Contudo, é preciso cautela na análise dessa associação, uma vez que os mecanismos pelos quais os nutrientes antioxidantes podem modular o perfil lipídico são provavelmente múltiplos, complexos e ainda não são precisamente claros.

Muitas lacunas existem quanto ao papel do estresse oxidativo na gênese, manutenção e agravamento da dislipidemia na adolescência. Portanto, investigações adicionais em populações jovens são extremamente válidas para uma melhor compreensão dos mecanismos de ação das vitaminas lipossolúveis, com destaque para a vitamina A, na modulação da lipidemia desde idades precoces.

Na avaliação do risco cardiometabólico é preciso compreender o somatório de fatores que predis põem a população a esse agravo. As importantes associações observadas entre as apolipoproteínas A-I e B e da razão apoB/apoA-I com variáveis antropométricas e bioquímicas convencionais de risco para DCV nos adolescentes adicionam evidências sobre a pluralidade dessa síndrome. Além disso, tais achados enfatizam que a mensuração das apolipoproteínas séricas, já na adolescência, pode constituir estratégia clínica útil na identificação e intervenção oportuna de indivíduos vulneráveis aos efeitos cardiometabólicos desfavoráveis ao longo da vida.

Sugere-se, contudo, que estudos de delineamento prospectivo sejam conduzidos, possibilitando uma compreensão mais integral sobre o comportamento e a contribuição dessas variáveis em outras populações jovens, as quais podem estar expostas a eventos adversos futuros, passíveis de prevenção e controle, mediante o desenho de estratégias apropriadas, que são essenciais para o efetivo enfrentamento dos distúrbios cardiometabólicos.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION – ADA. Diabetes Care in the School and Day Care Setting. **Diabetes care**, v. 34, supl. 1, p.S70-74, 2011.

AEBERLI, I. et al. Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. **Am J Clin Nutr**, v. 84, p. 748 –755, 2006.

AKBARALY, T.N. et al. Alternative Healthy Eating Index and mortality over 18 y of follow-up: results from the Whitehall II cohort. **Am J Clin Nutr**, v. 94, p. 247–53, 2011.

ALBUQUERQUE, M.N.L.; DINIZ, A.S.; ARRUDA, I.K.G. Retinolemia, consumo de vitamina A e pressão arterial em idosos. **Arch Latinoam Nutr**, v.59, n.4, p.396-401, 2009.

ALDÁMIZ-ECHEVARRÍA, L. et al. Ensayo aleatorizado ciego-sencillo sobre los efectos de las vit C y E en la hipercolesterolemia familiar. **An Pediatr (Barc)**, v. 65, n. 2, p. 101-107, 2006.

ALKAZEMI, D. et al. Oxysterol as a Marker of Atherogenic Dyslipidemia in Adolescence. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 93, n. 11, p. 4282–4289, 2008.

ANDRADE, A.Z. et al. Marcadores séricos de estresse oxidativo em mulheres inférteis com endometriose. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 32, n. 6, p. 279-285, 2010.

ANTUNES, M.V. et al. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. **Rev Bras Cien Farm**, v. 44, n.2, p. 279-287, 2008.

ARAKI, E.L. et al. Padrão de refeições realizadas por adolescentes que frequentam escolas técnicas de São Paulo. **Rev Paul Pediatr**, v. 29, n. 2, p. 164-170, 2011.

ARAÚJO, C.; FLORES, H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. **Clin Chem**, v. 24, p. 386, 1978.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA – ABEP. **Critério Padrão de Classificação Econômica do Brasil**. Disponível em: <http://www.abep.org/codigosguias/Criterio_Brasil_2012.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2013.

AZEVEDO, P.S. et al. Papel da lipoperoxidação na intensificação da remodelação causada pelo Betacaroteno após o infarto. **Arq Bras Cardiol**, v. 9, n. 1, p. 34-38, 2009.

BAKKER, G.C.M. et al. An antiinflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach. **Am J Clin Nutr**, v. 91, p. 1044-1059, 2010.

BAO, B. et al. Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. **Am J Clin Nutr**, v. 91, p. 1634-41, 2010.

BARBOSA, K. B. F. Estresse oxidativo: avaliação de marcadores. **Nutrire: Rev Soc Bras Alim Nutr**, v. 33, n. 2, p. 111-128, 2008.

BARBOSA, K.B.F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr**, v. 23, n.4, p.629-643, 2010.

BATISTA, E.S. et al. Hábito alimentar, níveis de lipídios sanguíneos e o *status* antioxidante de adultos jovens fumantes e não fumantes. **Rev Nutr**, v. 22, n. 3, p. 377-388, 2009.

BATISTA, E.S.; COSTA, A.G.V.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Adição da vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. **Rev Nutr**, v. 20, n. 5, p. 525-535, 2007.

BECK, C.C. et al. Fatores de risco cardiovascular em adolescentes de município do sul do Brasil: prevalência e associações com variáveis sociodemográficas. **Rev Bras Epidemiol**, v. 14, n. 1, p. 36-49, 2011.

BESSEY, O. et al. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. **J Biol Chem**, v. 166, p. 177-188, 1946.

BONI, A. et al. Vitaminas antioxidantes e prevenção da arteriosclerose na infância. **Rev Paul Pediatr**, v. 28, n. 4, p.373-80, 2010.

BOTELHO, P.B. et al. Association between diet and polymorphisms in individuals with statin-controlled dyslipidaemia grouped according to oxidative stress biomarkers. **Braz J Pharm Sci**, v. 48, n. 1, p. 39-49, 2012.

BRANDÃO, A. P. et al. Síndrome Metabólica em Crianças e Adolescentes. **Arq Bras Cardiol**, v. 85, n. 2, p.79-81, 2005.

BRASIL, A.R. et al. C-reactive protein as an indicator of low intensity inflammation in children and adolescents with and without obesity. **J Pediatr**, v. 83, n. 5, p. 477-480, 2007.

CARVALHO, D.F. et al. Perfil lipídico e estado nutricional de adolescentes. **Rev Bras Epidemiol**, v. 10, n. 4, p. 491-498, 2007.

CASTELO-BRANCO, V.N.; TORRES, A.G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Rev Nutr**, v. 24, n. 1, p.173-187, 2011.

CATANIA, A.S.; BARROS, C.R.; FERREIRA, S.R. Vitaminas e minerais antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, p. 550-559, 2009.

CHEN, W. et al. Age-Related Patterns of the Clustering of Cardiovascular Risk Variables of Syndrome X From Childhood to Young Adulthood in a Population Made up of Black and White Subjects. **Diabetes**, v. 49, p. 1042-1048, 2000.

CHIN, S.F. et al. Tocotrienol rich fraction supplementation improved lipid profile and oxidative status in healthy older adults: A randomized controlled study. **Nutr Metab**, v. 8, n. 42, 2011.

CHRISTOFARO, D. G. D. et al. Prevalência de fatores de risco para doenças cardiovasculares entre escolares em Londrina – PR: diferenças entre classes econômicas. **Rev Bras Epidemiol**, v.14, n. 1, p. 27-35, 2011.

COBAYASHI, F. et al. Obesidade e Fatores de Risco Cardiovascular em Adolescentes de Escolas Públicas. **Arq Bras Cardiol**, v. 95, n.2, p. 200-206, 2010.

CODOÑER-FRANCH, P. et al. Oxidative markers in children with severe obesity following low-calorie diets supplemented with mandarin juice. **Acta Paediatr**, v. 99, p. 1841–1846, 2010.

DE ONIS M et al. Development of a WHO growth reference for school aged children and adolescents. **Bull World Health Organ**, v. 85, p. 660-667, 2007.

EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **Br J Nutr**, v. 85, Suppl. 2, v. S67-S74, 2001.

FANG, Y.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, n. 10, p. 872–879, 2002.

FELICIANO-ALFONSO, J.E. et al. Cardiovascular risk factors and metabolic syndrome in a population of young students from the national university of Colombia. **Rev Assoc Med Bras**, v. 56, n. 3, p. 293-298, 2010.

FERNANDES, T.F.S.; DINIZ, A.S; CABRAL, P.C. et al. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. **Rev Nutr**, v. 18, n. 4, p. 471-8, 2005.

FERREIRA, A.P.; NÓBREGA, O.T.; FRANÇA, N.M. Associação do Índice de Massa Corporal e da Resistência à Insulina com Síndrome Metabólica em Crianças Brasileiras. **Arq Bras Cardiol**, v. 93, n. 2, p. 147-153, 2009.

FORTI, N.; DIAMENT, J. Apolipoproteínas B e A-I: fatores de risco cardiovascular? **Rev Assoc Med Bras**, v. 53, n. 3, p. 276-82, 2007.

FRANCA, E.; ALVES, J.G.B. Dislipidemia entre Crianças e Adolescentes de Pernambuco. **Arq Bras Cardiol**, v. 87, n. 6, p. 722-727, 2006.

FREDSTROM, M.S. Nitric oxide, oxidative stress, and dietary antioxidants. **Nutrition**, v.18, n.6, p.537-539, 2002.

FREEDMAN, D.S. et al. The relation of apolipoproteins A-I and B in children to parental myocardial infarction . **N Engl J Med**, v. 315, n. 12, p. 721 –6, 1986.

FREEDMAN, D.S. et al. Cardiovascular risk factors and excess adiposity among overweight children and adolescents: The Bogalusa Heart Study. **J Pediatr** (Estados Unidos), v.150, p.12-7, 2007.

FRIEND, A.; CRAIG, L.; TURNER, S. The Prevalence of Metabolic Syndrome in Children: A Systematic Review of the Literature. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 11, n. 2, p. 71–80, 2013.

GOMES, F.S. Carotenóides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. **Rev Nutr**, Campinas, v.20, n.5, p.537-548, 2007.

GONÇALVES, V.S.S. et al. Disponibilidade domiciliar de lipídeos para consumo e sua relação com os lipídeos séricos de adolescentes. **Rev Paul Pediatr**, v. 30, n. 2, p. 229-36, 2012.

GROSJEAN, S. et al. Retinoic Acid Attenuates Inducible Nitric Oxide Synthase (NOS2) Activation in Cultured Rat Cardiac Myocytes and Microvascular Endothelial Cells. **J Mol Cell Cardiol**, v. 33, p. 933-45, 2001.

HENDERSON, R.H.; SUNDERESAN, T. Clustersampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. **WHO Bull OMS**, v. 60, p. 230-60, 1982.

HERMSDORFF, H.H.M. et al. Vitamin C and fibre consumption from fruits and vegetables improves oxidative stress markers in healthy young adults. **Br J Nutr**, v. 107, p. 1119-1127, 2012.

HEYWARD, V.H.; STOLARCZYK, L. Método de impedância bioelétrica. In: **Avaliação da Composição Corporal Aplicada**. São Paulo: Manole, 2000. p. 48-59.

HOLT, E.M. et al. Fruit and Vegetable Consumption and Its Relation to Markers of Inflammation and Oxidative Stress in Adolescents. **J Am Dietet Assoc**, v. 109, n. 3, p. 414-421, 2009.

HOSSEINI-ESFAHANI, F. et al. Trends in Risk Factors for Cardiovascular Disease Among Iranian Adolescents: The Tehran Lipid and Glucose Study, 1999-2008. **J Epidemiol**, v. 21, n. 5, p. 319-328, 2011.

HOZAWA, A. et al. Relationships of Circulating Carotenoid Concentrations with Several Markers of Inflammation, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. **Clin Chem**, v. 53, n. 3, p. 447-455, 2007.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; BRASIL, Ministério da Saúde; BRASIL, Ministério do Orçamento, Planejamento e Gestão. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil**. Rio de Janeiro: 2010.

KELISHADI, R. et al. Relationship Between C-Reactive Protein and Atherosclerotic Risk Factors and Oxidative Stress Markers Among Young Persons 10–18 Years Old. **Clin Chem**, v. 53, n. 3, p. 456-464, 2007.

KELISHADI, R. et al. Acute and long term effects of grape and pomegranate juice consumption on endothelial dysfunction in pediatric metabolic syndrome. **JRMS**, v.16, n.3, p.245-255, 2011.

KERBER, S.L.; ANTUNES, A.G.V.; CAVALETT, C. Avaliação do perfil lipídico em alunos de 10 a 18 anos em uma escola particular do município de Carazinho-RS. **RBAC**, v. 42, n. 3, p. 231-234, 2010.

KIRKWOOD, B.R.; STERNE, J.A.L. Essential Medical Statistics. 2ed. Oxford: Blackwell Science, 2003.

KRINSKY, N. I. Carotenoids as Antioxidants. **Nutrition**, v. 17, p. 815–817. 2001.

KUIPER, H.C. et al. Vitamin C supplementation lowers urinary levels of 4-hydroperoxy-2-nonenal metabolites in humans. **Free Radic Biol Med**, v. 50, p. 848-853, 2011.

LI, C. et al. Recent Trends in Waist Circumference and Wais-Height Ratio Among US Children and Adolescents. **Pediatrics**, v.118, n. 5, p. 1390-1398, 2006.

LI, Z. et al. Antioxidant-rich spice added to hamburger meat during cooking results in reduced meat, plasma, and urine MDA concentrations. **Am J Clin Nutr**, v. 91, p. 1180-1184, 2010.

LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign: HUMAN KINETICS BOOKS, 1988.

LWANGA, S.K.; TYE, C.Y. Planificación de uma encuesta sanitária.In: **La ensañã de la estadística sanitária: Veinte esbozos para lecciones y seminários**. OMS: Ginebra, 1987, p. 151-152.

MARANHÃO, P. A. et al. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. **Nutr Metab**, v. 8, n. 32, p. 1-8, 2011.

MEERTENS, L. et al. Relación entre lípidos séricos y estado de las vitaminas C y E como antioxidantes en adultos mayores venezolanos. **Arch Latinoam Nutr**, v. 58, n.4, p. 363-370, 2008.

MOHN, A. et al. Increased Oxidative Stress in Prepubertal Severely Obese Children: Effect of a Dietary Restriction-Weight Loss Program. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, p. 2653–2658, 2005.

NASSER, A.L.M. et al. Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 32, n. 2, p. 275-279, 2011.

NAZIROG˘LU, M. et al. Oral vitamin C and E combination modulates blood lipid peroxidation and antioxidant vitamin levels in maximal exercising basketball players. **Cell Biochem Funct**, v. 28, p. 300–305, 2010.

NETO, O.D.A. et al. Fatores associados à dislipidemia em crianças e adolescentes de escolas públicas de Salvador, Bahia. **Rev Bras Epidemiol**, v. 15, n. 2, p. 335-345, 2012.

NEUHOUSER, M. L. et al. Serum concentrations of retinol, α -tocopherol and carotenoids are influenced by diet, race and obesity in a sample of healthy adolescents. **J Nutr**, v. 131, p. 2184-2191, 2001.

NEUTZLING, M.B. et al. Hábitos alimentares de escolares adolescentes de Pelotas, Brasil. **Rev Nutr**, v. 23, n. 3, p. 379-388, 2010.

OLIVEIRA, G.S. et al. Efeito da suplementação de beta-caroteno na pressão arterial de ratos. **Rev Nutr**, v. 20, n.1, p. 39-45, 2007.

OLIVEIRA, R.M.S. et al. Influência do Estado Nutricional Pregoresso sobre o Desenvolvimento da SM em Adultos. **Arq Bras Cardiol**, v. 92, n. 2, p. 107-112, 2009.

OLIVEIRA, K. J. F.; KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Micronutrientes e capacidade antioxidante em adolescentes sedentários e corredores. **Rev Nutr**, v. 20, n. 2, p. 171-179, 2007.

OLIVEIRA, M. C.; SCHOFFEN, J. P. F. Oxidative Stress Action in Cellular Aging. **Braz Arch Biol Technol**, v.53, n. 6, p. 1333-1342, 2010.

PACIFICO, L. Management of metabolic syndrome in children and adolescents. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 21, p. 455-466, 2011.

PATE, R.R. et al. Compliance with physical activity guidelines: prevalence in a population of children and youth. **Ann Epidemiol**, v.12, p. 303-308, 2002.

PERCARIO, S. Prevenção do estresse oxidativo na síndrome de isquemia e reperfusão renal em ratos com suplementação nutricional com antioxidantes. **Rev Nutr**, v. 23, n. 2, p. 259-267, 2010.

PEREIRA, P.B. et al. Perfil Lipídico em Escolares de Recife – PE. **Arq Bras Cardiol**, v. 95, n. 5, p. 606-613, 2010.

PIEGAS, L.S. et al. Risk factors for myocardial infarction in Brazil. **Am Heart J**, v.46, p.331-338, 2003.

PINHEIRO, M.M. et al. Antioxidant intake among Brazilian adults - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS): a cross-sectional study. **Nutr J**, v. 10, n. 39, 2011.

PUCHAU, B. et al. Dietary total antioxidant capacity and obesity in children and adolescents. **Int J Food Sci and Nutrition**, v. 61, n. 7, p. 713-721, 2010a.

PUCHAU, B. et al. Dietary total antioxidant capacity is negatively associated with some metabolic syndrome features in healthy young adults. **Nutrition**, v. 26, p. 534–541, 2010b.

REIS, J. C. et al. Estresse Oxidativo: Revisao da **Sinalizacao** Metabolica no Diabetes Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, n. 7, p. 1096-1105, 2008.

RIBEIRO-SILVA, R.C.; NUNES, I.L.; ASSIS, A.M.O. Prevalence and factors associated with vitamin A deficiency in children and adolescents. **J Pediatr (Rio J)**, v. 90, n.5, p. 486-492, 2014.

RODRIGUES, A. N. et al. Fatores de risco cardiovasculares, suas associações e presença de síndrome metabólica em adolescentes. **J Pediatr (Rio J)**, v. 85, n.1, p.55-60, 2009.

RODRIGUES, H.G. et al. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rotina na concentração de HDL. **Rev Nutr**, v. 16, n. 3, p. 315-320, jul./set., 2003.

ROMERO, A. et al. Relationship between obesity and biochemical markers in Brazilian adolescents. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, v.16, n. 3, p. 268-276, 2014.

SHAMIR, R. et al. Glycemic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus improves lipid serum levels and oxidative stress. **Pediatr Diabetes**, v. 9, p. 104–109, 2008.

SHARGORODSKY, M. et al. Effect of long-term treatment with antioxidants (vitamin C, vitamin E, coenzyme Q10 and selenium) on arterial compliance, humoral factors and inflammatory markers in patients with multiple cardiovascular risk factors. **Nutr Metab**, v.7, n. 55, 2010.

SIERRA-JOHNSON, J. et al. Concentration of apolipoprotein B is comparable with the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio and better than routine clinical lipid measurements in predicting coronary heart disease mortality: findings from a multi-ethnic US population. **Eur Heart J**, v. 30, p. 710-717, 2009.

SIGNORI, L.U. et al. O papel da lipemia pós-prandial na gênese da aterosclerose: particularidades do Diabetes Mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.51, n.2, p.222-231, 2007.

SILVA, C. R. M.; NAVES, M. M. V. Suplementação de Vitaminas na Prevenção de Câncer. **Rev Nutr**, v. 14, n. 2, p. 135-143, 2001.

SILVA, L.S.V.; VEIGA, G.V.; RAMALHO, R.A. Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. **Nutrition**, v. 23, p. 392-397, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. **Arq Bras Cardiol**, v. 85, supl. 6, p. S3-36, 2005.

SRINIVASAN, S.R; MYERS, L; BERENSON, G.S. Predictability of childhood adiposity and insulin for developing insulin resistance syndrome (Syndrome X) in young adulthood: The Bogalusa Heart Study. **Diabetes**, v.51, p.204-209, 2002

TARIQ, S.A. Role of Ascorbic Acid in Scavenging Free Radicals and Lead Toxicity from Biosystems. **Mol Biotechnol**, v. 37, p. 62-65, 2007.

TAYLOR, R.W. et al. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3-19 y. **Am J Clin Nutr**, v.72, p. 490-495, 2000.

TESKE, M. et al. Plasma concentrations of retinol in obese children and adolescents: relationship to metabolic syndrome components. **Rev Paul Pediatr**, v.32, n. 1, p.50-4, 2014.

VITOLO, M. R. et al. Retinol sérico de adolescentes de uma escola da cidade de São Paulo. **Rev Nutr**, v. 17, n. 3, p. 291-299, 2004.

WAMKE, I. et al. Dietary constituents reduce lipid accumulation in murine C3H10 T1/2 adipocytes: A novel fluorescent method to quantify fat droplets. **Nutr Metab**, v. 8, n. 30, 2011.

XIANGRONG L. et al. Childhood Adiposity as a Predictor of Cardiac Mass in Adulthood. **Circulation**, v. 110, p. 3488-3492, 2004.

ZELZER, S. et al. High density lipoprotein cholesterol level is a robust predictor of lipid peroxidation irrespective of gender, age, obesity, and inflammatory or metabolic biomarkers. **Clin Chima Acta**, v. 412, p. 1345-1349, 2011.

ZEMEL, M.B. et al. Effects of dairy compared with soy on oxidative and inflammatory stress in overweight and obese subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 91, p. 16–22, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A- Questionário de coleta de dados

Data: __/__/__

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO			
ESCOLA:			
SÉRIE:	TURNO:	TURMA:	
TIPO ESCOLA: 1. Estadual 2. Municipal 3. Privada		TIPOESC	
NOME ALUNO:			
SEXO: 1. M 2. F		SEXOA	
DATA DE NASCIMENTO / /		IDADE	
MUNICÍPIO:	ESTADO:		
IDADE (ano e meses):			
ENDEREÇO COM PONTO DE REFERÊNCIA E CEP:			
TELEFONE PARA CONTATO:			
RESPONSÁVEL PELA CRIANÇA: 1. Pai 2. Mãe 3. Outro		PAREN	
PARENTESCO: SEXO: 1. M 2. F		SEXOP	
NOME DA MÃE OU RESPONSÁVEL:			
GRUPO DO ADOLESCENTE (uso posterior do pesquisador): 1. Caso 2. Controle		GRUPO	
DADOS PESSOAIS E FAMILIARES			
1. A sua casa é: 1. alugada 2. própria 3. outras		CASA	
2. Escolaridade de seu pai:		ESCOMP	
1- Analfabeto 2- 1º grau incompleto 3- 1º grau completo 4- 2º grau incompleto 5- 2º grau completo 6- 3º grau incompleto 7- 3º grau completo 8- pós-graduação 9- não sabe			
3. Escolaridade de sua mãe:		ESCOM	
1- Analfabeto 2- 1º grau incompleto 3- 1º grau completo 4- 2º grau incompleto 5- 2º grau completo 6- 3º grau incompleto 7- 3º grau completo 8- pós-graduação 9- não sabe			
4. Chefe da família 1. pai 2. mãe 3. outros		CHEFAM	
5. Profissão do seu pai? 1. Qual? 2. Não sabe		PROFP	
6. Profissão da sua mãe? 1. Qual? 2. Não sabe		PROFM	
7. Você toma bebidas alcoólicas? 1. Sim 2. Não (Se a resposta for NÃO, pular para a QUESTÃO 12)		VOCBE	
8. Se SIM, quantas vezes por semana?		QTBE	
9. Qual o tipo de bebida?		TIPBE	
10. Qual a quantidade desta bebida você toma cada vez que bebe?		QUANBEB	
11. Idade que começou a beber:		IDBEB	
12. Você fuma? 1. Sim 2. Não 3. Ex-fumante (Se a resposta for NÃO ou EX-Fumante, pular para a QUESTÃO 15)		FUMA	
13. Se SIM, quantos cigarros você fuma por dia?		CIGARD	
14. Idade que começou a fumar?		IDADF	
15. Você se considerava uma criança: (se for do sexo masculino não responda as questões 16 e 17) 1. magra 2. normal 3. gorda		CONS	
16. Com que idade foi sua primeira menstruação?		MENST	
17. Qual a data da sua ultima menstruação? ____/____/____ Obs: quando não souber, colocar: +/- início do mês: datar 05; meio do mês: datar 15 e no final: datar 25		DATMENS	
17. Na época de sua 1ª menstruação, você se considerava? 1. magra 2. normal 3. gorda		PRIMENS	
18. Você já repetiu o ano alguma vez? 1. Sim 2. Não		REPET	
19. SE sim, qual série?			

AVALIAÇÃO DO NÍVEL SÓCIO-ECONÔMICO								
Marque com um X os itens que você possui em sua casa e a quantidade								
	0	01	02	03	04 ou +			
Televisor em cores						TV		
Vídeo cassete/DVD:						VCDVD		
Rádio:						RADIO		
Banheiro (vaso sanitário)						BANH		
Automóvel:						AUTOM		
Máquina de lavar						MAQLV		
Geladeira:						GELAD		
Freezer:						FREZZ		
Empregada mensalista						DOMES		
ANTROPOMETRIA								
1. Peso 1:								
2. Peso 2:								
4. Altura 1:								
5. Altura 2:								
7. Circunferência abdominal 1 (medida da cintura):								
8. Circunferência abdominal 2 (medida da cintura):								
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA								
1. Você pratica esporte ou exercício físico em clubes, academias, escolas de esportes, parques, ruas ou em casa nos últimos 12 meses? 1.Sim 2.Não (Se não praticou nenhum esporte pular para a QUESTÃO 16)								
2. Qual esporte ou exercício físico você praticou mais freqüentemente?						QUAL		
3. Quantas horas por dia você praticou?						QTDHS		
4. Quantas vezes por semana você praticou?						QTDSE		
5. Quantos meses por ano você praticou?						QTDAN		
6. Você praticou um segundo esporte ou exercício físico? 1.Sim 2.Não (Se não praticou pular para a QUESTÃO 16)								
7. Qual esporte ou exercício físico você praticou?						QUAL		
8. Quantas horas por dia você praticou?						QTDHS		
9. Quantas vezes por semana você praticou?						QTDSE		
10. Quantos meses por ano você praticou?						QTDAN		
11. Você praticou um terceiro esporte ou exercício físico? 1.Sim 2.Não (Se não praticou pular para a QUESTÃO 16)								
12. Qual esporte ou exercício físico você praticou?						QUAL		
13. Quantas horas por dia você praticou?						QTDHS		
14. Quantas vezes por semana você praticou?						QTDSE		
15. Quantos meses por ano você praticou?						QTDAN		
16. Você costuma ir para a escola? 1. de bicicleta 2. a pé 3. outros						IDAESC		
17. Quantas horas por dia você gasta nessas atividades?						QTDHS		

AVALIAÇÃO DE COMPORTAMENTOS SEDENTÁRIOS			
1. Você joga videogame? 1.Sim 2.Não (Se a resposta for NÃO, pular para a QUESTÃO 4)	VIDEO		
2. Se SIM, quantas horas por dia você passa jogando videogame no final de semana?	QTVDS		
3. Se SIM, quantas horas por dia você passa jogando videogame durante a semana?	VDSEM		
4. Você usa computador? 1.Sim 2.Não (Se a resposta for NÃO, pular para QUESTÃO 7)	USAPC		
5. Se SIM, quantas horas por dia você passa no computador no final de semana?	PCHSF		
6. Se SIM, quantas horas por dia você passa no computador durante a semana?	PCSEM		
7. Você assiste televisão? 1.Sim 2.Não (Se a resposta for NÃO, não responder a QUESTÃO 8 e 9)	ASSTV		
8. Se SIM, quantas horas por dia você passa assistindo televisão no final de semana?	QTSHS		
9. Se SIM, quantas horas por dia você passa assistindo televisão durante a semana?	TVSEM		
DADOS EXTRAS – ESCOLARES E SAÚDE			
1. Além da atividade escolar, você faz algum curso? 1. sim 2. Não (Se a resposta for NÃO, pular para questão 6)	ATESC		
2. Qual?			
3. Está fazendo uso de algum polivitamínico? 1.Sim 2.Não (Se a resposta for NÃO, pular para QUESTÃO 8)	POLIV		
4. Se sim, há quanto tempo?	TEMPOLIV		
5. Está fazendo tratamento de anemia? 1. Sim 2.Não (Se a resposta for NÃO, pular para QUESTÃO 10)	ANEM		
6. Se sim, há quanto tempo? (mais de 2 meses não pode fazer a avaliação auditiva)	TEMANE		
7. Faz uso de alguma medicação? 1. Sim 2. Não (Se a resposta for NÃO, pular para QUESTÃO 12)	MEDI		
8. Se sim, qual? E para que serve?	QUALMED		

AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA		
1. TG	TG	
2. HDL	HDL	
3. Alfa 1-glicoproteína Ácida	AGP	
4. Retinol	RET	
5. Betacaroteno	CARO	
6. Tocoferol	TOCOF	
7. Apolipoproteína A1	APOA	
8 Apolipoproteína B	APOB	
9. Colesterol Total	COL	

APÊNDICE B -Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e Pós-Informado

Estudo: DISLIPIDEMIA SUA ASSOCIAÇÃO COM O EXCESSO DE PESO, SEDENTARISMO E ESTRESSE OXIDATIVO UMA COORTE DE ESCOLARES DE RECIFE-PE.

Coordenador: Prof. Dr^a. Ilma Kruze Grande de Arruda

Contato: Departamento de Nutrição da UFPE, fone: 81 – 2126-8470

Pesquisadores: Elisângela Barros Soares Mendonça, Maria Lucia Diniz Araujo, Mellina Neyla de Lima Albuquerque, Patrícia Brazil Pereira, Patrícia Calado Ferreira Pinheiro Gadelha. Pós-Graduação em Nutrição/UFPE

Pelo presente documento, Eu _____
concordo que meu filho(a) participe da pesquisa “**DISLIPIDEMIA SUA ASSOCIAÇÃO COM O EXCESSO DE PESO, SEDENTARISMO E ESTRESSE OXIDATIVO UMA COORTE DE ESCOLARES DE RECIFE-PE,** que será realizada na escola _____.

O estudo tem como objetivo avaliar o peso, a altura e a circunferência abdominal de escolares na faixa etária de 12 a 19 anos, visando identificar distúrbios a saúde e o desenvolvimento do adolescente. A finalidade deste trabalho é contribuir para a mudança dos hábitos alimentares das crianças e diminuir o sedentarismo, que são medidas capazes de prevenir e controlar a ocorrência das dislipidemia (gordura no sangue) na adolescência, bem como na idade adulta.

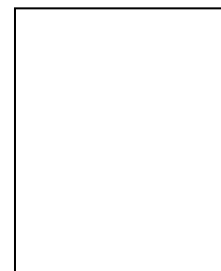
Estou ciente que:

1. Serão coletadas amostras de sangue para realização de exames laboratoriais
2. Os escolares que apresentarem gordura no sangue vão ser tratados ou com orientação geral sobre a alimentação, ou irão receber orientação alimentar específica (dieta) além do estímulo à prática de atividade física.
3. Os escolares com os resultados laboratoriais alterados receberão orientação nutricional e/ou encaminhamento para procurar um médico.
4. Os escolares serão informados que terão o peso, a altura e a circunferência da cintura avaliados para saber se estão com o estado nutricional adequado.
5. Terão ainda a Pressão Arterial aferida e no caso de anormalidade serão encaminhadas a um serviço médico especializado.
6. Os escolares serão encaminhados para avaliação da audição que é importante para o aprendizado dos mesmos.
7. Não existem riscos à saúde dos examinados. Caso ocorra algum dano, desconforto, sensação de dor na picada da agulha ou possível formação de hematoma, decorrente do procedimento de coleta de sangue, os pesquisadores se responsabilizarão pela assistência adequada.
8. Receberei respostas a perguntas ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outras dúvidas relacionadas com a pesquisa.
9. Será aplicado um questionário, com questões sobre saúde e desenvolvimento do adolescente.
10. O pai ou responsável poderá acompanhar o menor em todas as fases da coleta dos dados.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano.

Declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa
ou Responsável Legal



Espaço para impressão
dactiloscópica

Assinatura da Testemunha

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:
Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o (a) pesquisador (a) a professora Ilma Kruze Grande de Arruda no Departamento de Nutrição – fone: 2126-8470/ 8475 (Ramal 8)

Endereço (Setor de Trabalho): Departamento da Nutrição da Universidade federal de Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego s/n . Campus Universitário, Cidade Universitária Recife-PE
CEP 50670-901

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Participante

CONEP

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - HULW - 4º andar. Campus I - Cidade Universitária - Bairro Castelo Branco CEP: 58059-900 - João Pessoa-PB

FAX (083) 32167522 CNPJ: 24098477/007-05 - Telefone: (083) 32167302

Horário do Expediente: 7:00 às 13:00h Atendimento ao público: 8:00 às 12:00h E-mail: cephulw@hotmail.com

ATENÇÃO

(Documento anexado ao TCLE para assinatura do escolar e/ou responsável)

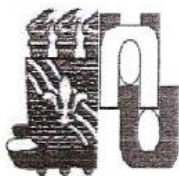
Por favor, caso concorde que seu filho faça parte do estudo, **não deixe de assinar o termo de consentimento**. Lembre-se que, para o exame de sangue, **o aluno deverá estar em jejum**. Após o exame, **será oferecido um lanche** (Suco+ Biscoito).

Como o(a) adolescente não deve saber desse dado, solicitamos que as mães respondam o questionamento abaixo.

1. Seu filho apresenta alguma doença? 1. Sim 2. Não	DOEN		
2. Seu filho(a) toma alguma remédio? 1.Sim 2. Não	REMEDIO		
2.1 Se sim, qual é?	QUALREM		
2.2 Esse remédio altera o sistema nervoso? 1.Sim 2. Não	SISTNER		
5. Se sim, qual?	QUALDO		
6. Pai ou mãe tem alteração de colesterol e triglicerideo no sangue? 1.Sim 2. Não 3. Não sabe	HISTDISL		
7. Se SIM, quem?			
8. Pai ou mãe tem diabetes? 1.Sim 2. Não 3. Não sabe	HISTDM		
9. Se SIM, quem?			
10. Pai ou mãe tem pressão alta? 1.Sim 2. Não 3. Não sabe	HISTHAS		
11. Se SIM, quem?			
12. Pai ou mãe ou avós tem problemas cardíacos? 1.Sim 2. Não 3. Não sabe	HISTDCV		
13. Se SIM, quem?			
14. Pai ou mãe ou avós morreram por problemas cardíacos? 1.Sim 2. Não	MORTDCV		
15. Se SIM, quem?			

ANEXO

ANEXO A – Certidão de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



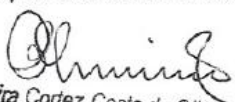
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - UFPB
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY - HULW
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES
HUMANOS - CEP**

CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley - CEP/HULW, da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada no dia 30/11/2010, após análise do parecer do relator, resolveu considerar APROVADO o projeto de pesquisa intitulado DISLIPIDEMIA E SUA ASSOCIAÇÃO COM O EXCESSO DE PESO EM UMA COORTE DE ESCOLARES DO RECIFE-PE. Protocolo CEP/HULW nº. 723/10, Folha de Rosto nº 286034, CAAE Nº 6527.0.000.126-10, da pesquisadora *ILMA KRUZE GRANDE DE ARRUDA*.

Ao final da pesquisa, solicitamos enviar ao CEP/HULW, uma cópia desta certidão e da pesquisa, em CD, para emissão da certidão para publicação científica.

João Pessoa, 30 de novembro de 2010.


Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa - CEP/HULW

Profª Drª Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW