



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

NEIDIANE ROSA TRINDADE

**RETINOL SÉRICO, PROTEÍNA LIGANTE DE RETINOL (RBP-4) E FATORES
DE RISCO CARDIOMETABÓLICOS EM CRIANÇAS DE 4 A 11 ANOS DE
IDADE**

**Goiânia
2020**

Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações Eletrônicas (TDE) na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD)



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ Dissertação ☒ Tese
2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Neidiane Rosa Trindade

Título do trabalho: Retinol sérico, proteína ligante de retinol (rbp-4) e fatores de risco cardíaco metabólicos em crianças de 4 a 11 anos de idade

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 18 / 02 / 2020

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

NEIDIANE ROSA TRINDADE

**RETINOL SÉRICO, PROTEÍNA LIGANTE DE RETINOL (RBP-4) E
FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICOS EM CRIANÇAS DE 4 A 11
ANOS DE IDADE**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós- Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Goiás para obtenção do Título
Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Maria Sebastiana Silva

**Goiânia
2020**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
UFG**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Rosa Trindade , Neidiane
RETINOL SÉRICO, PROTEÍNA LIGANTE DE RETINOL (RBP-4) E
FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICOS EM CRIANÇAS DE 4 A
11 ANOS DE IDADE [manuscrito] / Neidiane Rosa Trindade . - 2020.
100 f.

Orientador: Profa. Dr^a Maria Sebastiana Silva.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de
Educação Física e Dança (FEFD), Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde, Goiânia, 2020.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de
tabelas.

1. Vitamina A . 2. Proteína ligante de retinol . 3.
Hipercolesterolemia. 4. Escolares. 5. Dislipidemia. I. Sebastiana Silva,
Dr^a Maria , orient. II. Título.

CDU 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS FACULDADE DE MEDICINA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº 02/2020 da sessão de Defesa de Tese de **Neidiane Rosa Trindade** que confere o título de Doutora em **Ciências da Saúde**, na área de concentração em **Dinâmica do Processo Saúde-Doença**.

Aos seis dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte, a partir das 08:30 horas, no Faculdade de Educação Física e Dança, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada "**RETINOL SÉRICO, PROTEÍNA LIGANTE DE RETINOL (RBP-4) E FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICOS EM CRIANÇAS DE 4 A 11 ANOS DE IDADE**". Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, Professora Doutora **Maria Sebastiana Silva (FEFD/UFG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora **Renata Carvalho dos Santos (ESEFEGO/UEG)**, membro titular externo; Professor Doutor **Gilberto Reis Agostinho da Silva (ICS/Universo)**, membro titular externo; Professora Doutora **Lídia Andreu Guillo (ICB/UFG)**, membro titular interno; Professora Doutora **Ana Cristina Silva Rebelo (ICB/UFG)**, membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do **trabalho**. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Professora Doutora **Maria Sebastiana Silva**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos seis dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Documento assinado eletronicamente por **Maria Sebastiana Silva, Professor do Magistério Superior**, em 06/02/2020, às 11:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **GILBERTO REIS AGOSTINHO SILVA, Usuário Externo**, em 06/02/2020, às 13:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Renata Carvalho dos Santos, Usuário Externo**, em 07/02/2020, às 08:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **NEIDIANE ROSA TRINDADE, Discente**, em 17/02/2020, às 07:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Ana Cristina Silva Rebelo, Professor do Magistério Superior**, em 06/03/2020, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Lidia Andreu Guillo, Professora do Magistério Superior**, em 06/03/2020, às 11:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1117937** e o código CRC **C6D5D633**.

Referência: Processo nº 23070.001260/2020-26

SEI nº 1117937

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno(a): Neidiane Rosa Trindade

Orientador(a): Maria Sebastiana Silva

Membros:

1. Maria Sebastiana Silva

2. Ana Cristina Silva Rebelo

3. Gilberto Reis Agostinho Silva

4. Lidia Andreu Guillo

5. Renata Carvalho dos Santos

Data:06/02/2020

Dedico este trabalho
Minha mãe e esposo

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, porque me permitiu concluir mais esta etapa em minha vida.

À minha mãe, por ser, além de mãe, pai, melhor amiga, companheira, a pessoa que não mede esforços para me ver feliz.

Ao meu esposo, que sempre apoiou em tudo, todas as vezes que pensei não conseguir.

Ao meu irmão Diego, minha sobrinha Ana Clara, a minha cunhada Geyza e a minha tia Neusa minha segunda mãe que sempre esteve presente em minha vida.

A toda a minha família, obrigada por toda a base que me foram proporcionado.

À minha orientadora Maria Sebastiana Silva, por todo carinho e atenção ao longo destes anos. Tenho imenso respeito e admiração pela grande profissional e quão humana és, agradeço a Deus ter colocado na minha vida, esta pessoa maravilhosa que me ensinou a ser uma pessoa melhor.

A todos meus amigos e colegas do Laboratório Lafins

À minha amiga Viviane Soares, muito obrigada por toda ajuda e prontidão nos momentos em que mais precisei.

E muito obrigada a todos que, de alguma forma, contribuíram de forma solícita em prol do meu crescimento.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
2	OBJETIVOS	08
2.1	OBJETIVO GERAL	08
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	08
3	MÉTODOS	09
3.1	TIPO E ESTUDO	09
3.2	PARTICIPANTES	09
3.3	DELINEAMENTO DO ESTUDO	10
3.4	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	11
3.5	AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL	11
3.6	AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR	12
3.7	AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	12
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	13
4	PUBLICAÇÕES	14
5	CONCLUSÃO	59
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
	REFERÊNCIAS	61
	ANEXOS E APÊNDICES	66

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

FIGURA 1	Mecanismo de absorção e transporte do retinol dos enterócitos para o sistema linfático.....	02
FIGURA 2	Formação de placas de ateroma.....	06
Artigo 1		
TABELA 1	Correlation of retinol concentration with anthropometric and metabolic variables in children.....	32
TABELA 2	Relationship of plasma cholesterol to retinol in children.....	33
TABELA 3	Relationship of serum retinol and total cholesterol in children with hypercholesterolemia and adequate cholesterol.....	34
TABELA 4	Comparison of groups with hypercholesterolemia and adequate cholesterol with anthropometric, metabolic variables and vitamin A levels.....	35
TABELA 5	Relationship between retinol and lipid profile in children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.....	36
FIGURA 1	Flow chart of the work execution.....	37
FIGURA 2	Binomial models adjusted for adequate cholesterol and hypercholesterolemia.....	38
Artigo 2		
TABELA 1	Anthropometric data, blood pressure and food intake of children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.....	53
TABELA 2	Results of the comparative analysis of the variables of the lipid profile, RBP-4 and retinol concentration among children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.....	54

TABELA 3	Comparison of the classification of parameters HDL, LDL, VLDL, triglycerides and serum retinol in children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.....	55
TABELA 4	Results of the analysis of the correlation of RBP-4 with anthropometric variables, blood pressure, nutrient intake, lipid profile and retinol concentration, in groups of children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.....	56
TABELA 5	Result of multiple linear regression analysis between the outcome variable (RBP-4 in $\mu\text{mol/L}$) and the predictors (lipid intake and blood retinol concentration), in children with hypercholesterolemia.....	57
FIGURA 1	Flow chart of the work execution.....	58

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

a.C= Antes de cristo
AGL= Ácidos graxos livres
AR= Ácido retinóico
BCMO1= -caroteno- 15,15' monooxygenase
CC= Circunferência de cintura
cm= Centímetros
CT= Colesterol total
dL= Decilitro
DM2= Diabetes mellitos tipo-2
DRI= Ingestão referência dietética
DVC= Doença cardiovascular
E= Estatura
EROS= Espécies reativas de oxigênio
G= Grama
GJ= Glicemia de Jejum
GLUT4= Transportador de glicose 4
H₂O₂= Peróxido de hidrogênio
HDL= Lipoproteína de baixa densidade
HOCl= ácido hipocloroso
HPLC= *High performance liquid chromatography*
IG= Ingesta
IL-6= Interleucina
IMC= Índice de massa corporal
INF- γ = Interferon Gama
kDa= Kilodalton
Kg= Quilogramas
LAFINS= Laboratório de Fisiologia Nutrição e Saúde
LDL= Lipoproteína de baixa densidade
LPL= Lipase lipoproteica
m= Metros

MC= Massa corporal
 mg= Miligramas
 min= Minuto
 mL= Mililitro
 mmHg= milímetros de mercúrio
 MPO= Mieloperoxidase
 mRNA= RNA mensageiro
 ox-LDL= Lipoproteína de baixa densidade Oxidada
 P= Plaquetárias
 PAD= Pressão arterial diastólica
 PAS= Pressão arterial sistólica
 PPAR- β/δ = Proliferador de peroxissomo do ácido retinóico beta e gama
 QFA= Questionário de frequência alimentar
 RARs = Receptores de ácido retinóico
 RBP-4= Proteína ligante de retinol
 ROO= Radical peroxil
 RXRs – Receptor X de retinóide
 SR-B1= Receptor Scavenger classe B tipo I
 TG= Triglicerídeos
 TNF- α = Fator de necrose tumoral
 TTR= Transtirretina
 VCAM-1= Moléculas de adesão vascular celular-1
 VLDL= Lipoproteína de muito baixa densidade
 WHO= World Health Organization
 β = Beta
 μ mol= Micromoles

RESUMO

Crianças com dislipidemias tendem a apresentar alterações como a diminuição nas concentrações séricas do retinol, conhecido como a vitamina lipossolúvel antioxidante, as quais estão associadas ao risco cardiovascular. Assim, os objetivos desse estudo foram investigar associações das concentrações séricas de retinol e da proteína de ligante de retinol (RBP-4) com fatores de risco cardiometabólico. A população estudada incluiu 212 crianças recrutadas em uma escola pública da cidade de Santo Antônio - Goiás para o estudo sobre o retinol sérico e, 36 foram sorteadas para o estudo da RBP-4. A pesquisa foi realizada nos anos de 2018 e 2019. Os parâmetros avaliados foram estatura, massa corporal, circunferência de cintura, pressão arterial, lipoproteínas e retinol sérico. A glicose, colesterol, LDL-c, HDL-c e triglicerídeos do sangue foram analisados pelo método colorimétrico; e as concentrações de retinol e RBP-4 séricos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), respectivamente. A normalidade de todos os dados foi testada por Shapiro Wilk. Realizou-se a correlação de Sperman para avaliar a associação do retinol com as variáveis antropométricas, bioquímicas; da pressão arterial, a regressão logística simples realizada para avaliar a influência das variáveis antropométricas, bioquímicas e da pressão arterial sobre os níveis séricos de retinol de todas as crianças; a regressão logística binominal para avaliar a influência das variáveis antropométricas, bioquímica e pressão arterial sobre os níveis séricos de retinol das crianças com colesterol adequado e hipercolesterolemia. Também foram utilizados os teste U-Mann-Whitney e t Student para comparar variáveis contínuas que não apresentavam distribuição normal e as com distribuição normal, respectivamente, entre os grupos com colesterol adequado e hipercolesterolemia. Ainda, aplicou-se os testes quiquadrado para comparar as classificações da antropometria, índices bioquímicos, pressão arterial e retinol sérico entre crianças com colesterol adequado e hipercolesterolemia; a correlação de Spearman para associar o RBP-4 sérico com os parâmetros antropométricos, bioquímicos e pressão arterial, nos grupos de criança com colesterol adequado e hipercolesterolemia, e regressão linear múltipla para avaliar a influência da ingestão de lipídio e do retinol sérico na concentração de RBP-4. Análise estatística foi realizada no programa R e nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Os resultados encontrados mostraram associação positiva do retinol com colesterol total ($r=0,25$ $p=0,001$) e LDL ($r=0,20$ $p=0,002$) em todas as crianças analisadas, mas quando as crianças foram divididas quanto classificação dos níveis de colesterol, foi encontrada

associação do retinol com o colesterol somente nas crianças hipercolesterolêmicas ($\beta = -0,02$) ($p=0,015$). Na análise comparativa foi observado nas crianças com hipercolesterolemia ($n=37$) maiores concentrações séricas de LDL-c ($p < 0,001$) colesterol total ($p < 0,001$), retinol ($p=0,020$) e HDL-c ($p=0,040$). Em um subgrupo de 36 crianças selecionada foi observado consumo alimentar semelhante entre as que tinham colesterol adequado e hipercolesterolemia e que nas com hipercolesterolemia encontrada associação positiva da RBP-4 com o consumo de lipídeos totais da dieta ($p=0,049$) e retinol sérico ($p=0,013$). Os resultados da regressão linear múltipla mostraram que para cada grama de lipídio ingerido por meio da alimentação foi observado aumento de $0,08 \mu\text{mol/L}$ de RBP-4 ($\beta = 0,088$ $p=0,041$) e para cada $1 \mu\text{mol/L}$ de retinol no sangue houve aumento de $55,50 \mu\text{mol/L}$ de RBP-4 circulante ($\beta = 55,50$ $p=0,0009$). Conclusão: As crianças com hipercolesterolemia apresentaram fatores de risco cardiometabólico associado à concentração de retinol sérico aumentado e à RBP-4 elevada. Ainda, nas crianças com hipercolesterolemia a RBP-4 foi associada com retinol e lipídios da dieta.

Palavra-chave: Vitamina A, proteína ligante de retinol, hipercolesterolemia, escolares.

ABSTRACT

Children with dyslipidemia have changes in lower levels of retinol, known as liposoluble in antioxidant vitamin, and which are associated with cardiovascular risk. Thus, the objectives of this study were to investigate associations of serum retinol concentrations and retinol-binding protein (RBP-4) with cardiometabolic risk factors. The studied population included 212 children recruited from a public school in the city of Santo Antônio- Goiás for the study on serum retinol and 36 were randomly selected for the study of RBP-4. The survey was conducted in the years 2018 and 2019. The parameters evaluated were height, body mass, waist circumference, blood pressure, lipoproteins and serum retinol. Glucose, cholesterol, LDL-c, HDL-c and blood triglycerides were analyzed by the colorimetric method; and serum retinol and RBP-4 concentrations by high performance liquid chromatography (HPLC) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. The normality of all data was tested by Shapiro Wilk. Spearman's correlation was performed to assess the association of retinol with anthropometric and biochemical variables; blood pressure, simple logistic regression performed to assess the influence of anthropometric, biochemical and blood pressure variables on the serum retinol levels of all children; binomial logistic regression to assess the influence of anthropometric, biochemical and blood pressure variables on serum retinol levels of children with adequate and hypercholesterolemia. The U-Mann-Whitney and Student t tests were also used to compare continuous variables that did not have normal distribution and those with normal distribution, respectively, between groups with adequate cholesterol and hypercholesterolemia. In addition, chi-square tests were applied to compare the classifications of anthropometry, biochemical indices, blood pressure and serum retinol among children with adequate and hypercholesterolemia; Spearman's correlation to associate serum RBP-4 with anthropometric, biochemical and blood pressure parameters in groups of children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia, and multiple linear regression to assess the influence of lipid intake and serum retinol on RBP-4 concentration. Statistical analysis was performed in the R program and the significance level adopted was $p < 0.05$. The results found showed a positive association of retinol with total cholesterol ($r = 0.25$ $p = 0.001$) and LDL ($r = 0.20$ $p = 0.002$) in all the children analyzed, but when the children were divided according to the classification of the levels of cholesterol, was found association of retinol with cholesterol only in hypercholesterolemic children ($\beta = -0.02$) ($p = 0.015$). In the comparative analysis, children

with hypercholesterolemia (n = 37) had higher serum concentrations of LDL-c (p <0.001) total cholesterol (p <0.001), retinol (p = 0.020) and HDL-c (p = 0.040). In a subgroup of 36 children selected, similar food consumption was observed among those who had adequate cholesterol and hypercholesterolemia and those with hypercholesterolemia found a positive association of RBP-4 with the consumption of total dietary lipids (p = 0.049) and serum retinol (p = 0.013). The results of the multiple linear regression showed that for each gram of lipid ingested through feeding, an increase of 0.08 $\mu\text{mol/L}$ of RBP-4 ($\beta = 0.088$ p = 0.041) was observed and for each 1 $\mu\text{mol/L}$ of retinol there was an increase of 55.50 $\mu\text{mol/L}$ of circulating RBP-4 ($\beta = 55.50$ p = 0.0009). Conclusion: Children with hypercholesterolemia had cardiometabolic risk factors associated with serum retinol concentration increased and elevated RBP-4. In children with hypercholesterolemia, RBP-4 was associated with retinol and dietary lipids.

Keyword: Vitamin A, retinol-binding protein, hypercholesterolemia, schoolchildren.

1 INTRODUÇÃO

O retinol é uma vitamina lipossolúvel necessária para a homeostase do organismo. Ela exerce função na modulação do sistema imune, diferenciação e apoptose celular, desenvolvimento embrionário, reprodução, e na formação da rodopsina, pigmento importante para visão noturna (THEODOSIOU; LAUDET; SCHUBERT, 2010).

A taxa de normalidade do retinol no plasma em adulto é de 30 a 70 µg/dl (1,04 µmol/L a 2,43 µmol/L). Porém, em indivíduos saudáveis, o retinol plasmático é mantido dentro de uma variação estreita de 1,39 a 1,73 µmol/L (40,1 a 49,9 µg/dL) em adultos. Os valores considerados adequados para crianças são metade do referente aos adultos. No que se refere aos valores adequados de ingestão dietética (DRI) da vitamina A, a recomendação é de 340 µg/dia para as idades de 1 a 3 anos e de 440 µg/dia para aqueles de 4 a 8 anos. Destaca-se que devido ao seu papel para a saúde das crianças é necessária alimentação contendo quantidades adequadas de vitamina A (RAMALHO et al., 2012).

Nos alimentos o retinol está presente sob a forma de palmitato de retinila, que sofre hidrólise no intestino pelas enzimas lipase triglicerídeo pancreática (PTL) e proteína 2 relacionada a lipase pancreática (PRLP2), os ésteres de retinil também são emulsificados e hidrolisados pela enzima hidrolase éster de retinil (REH), situada na superfície externa da membrana na mucosa intestinal e liberado na sua forma de retinol, o qual é absorvido ativamente pela mucosa do intestino (VAN et al., 2000).

Os alimentos fontes de palmitato de retinila são o leite, fígado e ovos. Também por meio dos alimentos são ingeridas as formas de pró-vitamina como, por exemplo, os carotenóides cenoura, folhagens escuras e frutas de cores avermelhadas. Dentre os carotenóides conhecidos, o β-caroteno é o mais abundante nos alimentos e apresenta maior atividade de pró-vitamina A, visto que estruturalmente corresponde a duas moléculas de retinol (BENDICH; OLSON, 1989; CONAWAY et al., 2013).

A outra forma de captação do alimento pró-retiíde (β-caroteno), do lúmen do intestino para o enterócito, é estabelecido pelo receptor sequestrador de classe B, tipo I (SR-B1) (VAN et al., 2005; LOBO et al., 2010), uma vez dentro do enterócitos estes serão clivados em retinaldeído pelas enzimas β-caroteno-15,15'-monooxigenase (BMCO1) (HERR et al., 1993; LIETZ; LANGE; RIMBACH, 2010), e se ligará com a proteína ligante celular de retinol (CRBP2) e posterior convertido em retinol, e esterificado em ester de retinil pelas enzimas lecitina retinol aciltransferase (LRAT) e diacilglicerol aciltransferase (DGAT1), o éster de

retinil resultante é então empacotado, juntamente com a gordura da dieta e o colesterol, nos quilomícrons nascentes, que são secretados no sistema linfático, como mostra a figura 1 (D'AMBROSIO; CLUGSTON; BLANER, 2011).

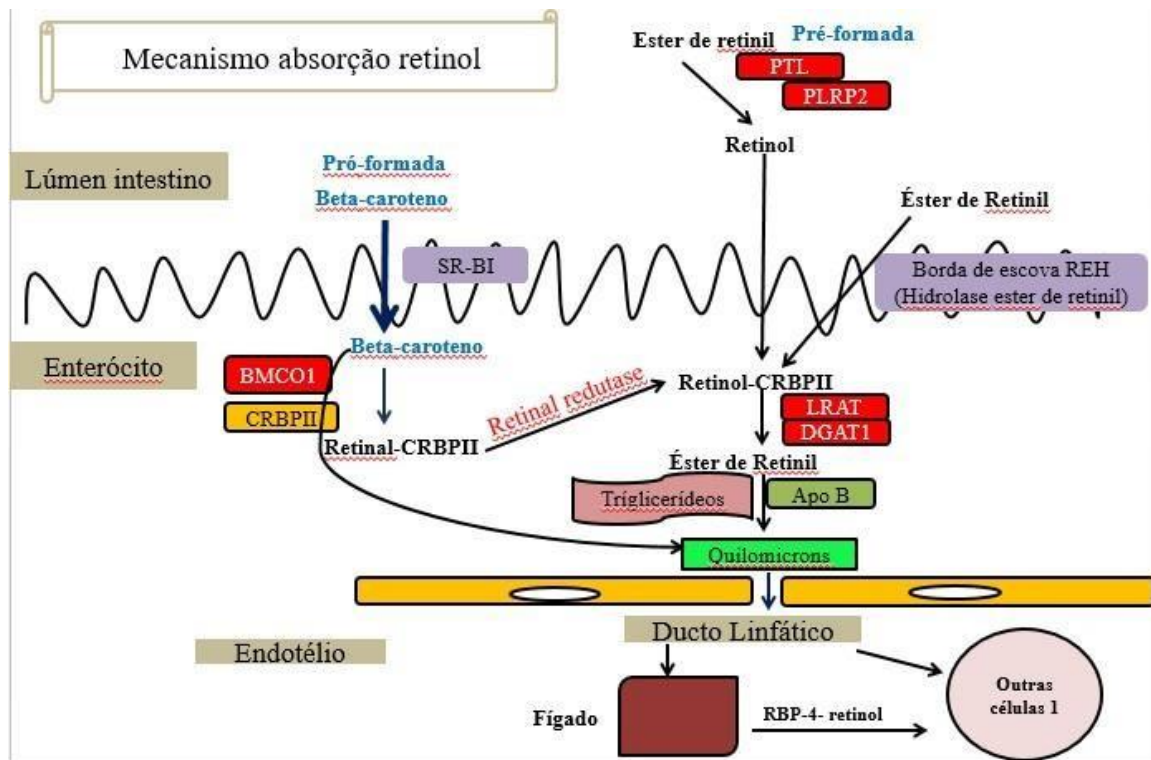


Figura 1: Mecanismo de absorção e transporte do retinol dos enterócitos para o sistema linfático: Adaptado de D' Ambrosio et al. (2011). (Lipase triglicérido pancreática: (PTL), proteína relacionada a lipase pancreática: (PLRP2), receptor sequestrador de classe B, tipo I: (SR-BI), β -caroteno-15,15'-monooxigenase: (BMCO1), lecitina retinol aciltransferase: (LRAT), Diacilglicerol aciltransferase: (DGTA1), Apolipoproteína B: (Apo B), Proteína ligante de retinol (RBP-4).

Os ésteres de retinil dos quilomícrons são transportados pelo sistema linfático, caem no sistema circulatório, são hidrolisados e entram no fígado por endocitose. O fígado então recebe o retinol e pode armazená-lo nas células estreladas em forma de éster de retinil, se não houver necessidade em outras células. Conforme ainda demonstrado na figura 1, caso outros tecidos necessitem, o éster de retinil é convertido em retinol e transferido para as células-alvo, associado à proteína ligante de retinol (RBP-4) e à transtiretina (TTR) (Figura 1) (WISSE et al., 1985; LAMBERT et al., 2001; CONAWAY et al., 2013).

Dentro das células alvos existem diversas vias pelas quais o retinol é convertido em retinal e, posteriormente em ácido retinóide (AR), que se liga a CRABPI e CRABPII, entram para o núcleo se ligam aos receptores nucleares: RARs – *retinoic acid receptors* e RXRs –

retinoid X receptors e promovem a transcrição nuclear como mostra a figura 1. Os receptores RXR regulam a transcrição de RAR e ativa o proliferador de peroxissoma (PPAR) e outros fatores que ajudam a manter a homeostase do metabolismo celular (YU et al., 1991; KLIOWER et al., 1992; BRUN et al., 2013).

O transporte no sangue do retinol mobilizado do fígado é feito pela RBP-4. Essa proteína da família das lipocalinas é o transportador específico de retinol (vitamina A) no sangue, tem peso molecular de 21 kDa, é sintetizado principalmente no fígado e fornece retinol das reservas hepáticas para os tecidos periféricos. Outra proteína importante no transporte de retinol é a TTR, que interage com o complexo RBP-retinol e impede sua perda pelos glomérulos renais (NAYLOR; NEWCOMER, 1999).

Devido ao transporte de retinol ser dependente da RBP-4, estudos tem mostrado que a deficiência dessa proteína pode causar doenças oculares e degeneração macular, com consequente perda de visão (RADU et al., 2005). Estudos em animais também têm descrito a RBP-4 como uma adipocina, quando secretada pelos hepatócitos, e relacionada com doenças metabólicas, como a resistência à insulina, diabetes, obesidade e doenças cardiovasculares (DVC) (PANDEY ET AL., 2015; CHO et al., 2006). Um dos mecanismos pelos quais a RBP-4 leva à DCV, em pessoas com *Diabetes Mellitus Tipo 2* (DM2), a RBP-4 circulante associa-se positivamente com molécula 1 de adesão celular vascular (VCAM-1) e molécula de superfície de células endoteliais (E-selectina), provavelmente a RBP-4 circulante, pode induzir complicações à nível vascular o que causa futura aterosclerose (GEORGIOS et al., 2012; PARK et al., 2009).

Yang e colaboradores (2005) encontraram em um grupo de camundongos com resistência à insulina (*knockout* para o transportador de glicose 4 – GLUT4), aumento na expressão de mRNA da RBP-4 em até 2 a 5 vezes quando comparado ao controle. No mesmo estudo administraram rosiglitazone (medicamento que melhora a sensibilidade à insulina) e perceberam diminuição das concentrações de RBP-4. Os autores sugerem que os adipócitos podem liberar RBP-4 na circulação como um sinal de intolerância à glicose.

Visto a importância da RBP-4 no carreamento da vitamina-A e suas consequências, sabe-se que deficiência do retinol é conhecida desde 1500 a.C., quando foi diagnosticada a cegueira noturna, contudo, ainda no século XXI as deficiências desse micronutriente continua sendo encontradas, com elevadas prevalências principalmente em países em desenvolvimento (WOLF, 1978; KANDRAIT et al., 2000).

Além de prejudicar a visão, a OMS afirma que 2,8 milhões de crianças pré-escolares são afetadas pela carênica do retinol. Aproximadamente 21,0% das crianças do mundo contêm

essa deficiência (BRUNDTLAND, 2002; SHERWIN et al., 2012; WHO., 1995). No Brasil o ministério da saúde adotou, desde 1983, a distribuição de megadoses da vitamina A para crianças de 6 a 59 meses de vida. Essas ações foram regulamentadas pelo programa nacional de suplementação de vitamina A (PNSVA), que ao longo dos anos as ações de controle da deficiência de vitamina A (DVA), foram expandidas e fortalecidas (SAÚDE., 2005).

Fisiologicamente a deficiência do retinol provoca diminuição da termogênese aumento precoce do pré adipócito em adipócito maduro e diminuição da apoptose, favorecendo assim adiposidade corporal (JEYAKUMAR et al., 2006).

A distribuição de gordura corporal é um fator relevante a ser considerado, visto que surgimentos das doenças cardiovasculares estão sempre associadas a ela (FRANCISCHI et al., 2000). Os maus hábitos alimentares na infância têm refletido no perfil sérico de colesterol, por isso uma maior atenção deve ser realizada na população, como intervenções em crianças para a prevenção de doenças cardiovasculares na fase adulta (EILAND et al., 2010; JUONALA et al., 2013; JUONALA et al., 2011).

O excesso de peso na maioria dos casos está associado com as patologias provindas dos distúrbios lipídicos (NETO et al., 2012). O tecido adiposo é um órgão secretório ativo, que libera inúmeros peptídeos e citoquinas na circulação, tanto pró-inflamatória como fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina (IL-6) como adiponectina anti-inflamatórias (CHISSINI et al., 2015; BAKKER et al., 2010). A ocorrência da obesidade secundária na infância geralmente é decorrente de maus hábitos alimentares, sedentarismo, consumo exagerado de nutrientes. Nesses casos, os ácidos graxos livres provenientes da dieta ou endógenos são mais mobilizados na corrente sanguínea, e citocinas pró-inflamatórias leva à mobilização da gordura em direção ao compartimento abdominal (LOPES; PRADO; COLOMBO, 2010).

Um dos distúrbios associados à obesidade, independente da idade, é a dislipidemia e sua prevalência mundial em crianças oscila de 2,9 % a 33% (SHEHRI et al., 2004; SBC; 2005). Estudo ressalta que o aumento ou variações nas concentrações de triglicérides e colesterol total são indicativos de dislipidemia (SAMPAIO et al., 2017).

Os lipídeos são incapazes de circular pelo corpo, devido sua insolubilidade em água, por isso são necessárias moléculas proteicas conhecidas por apoproteínas, para auxiliarem no transporte até os órgãos alvos e tecidos. A molécula originada da ligação de uma proteína às frações lipídicas é denominada como lipoproteínas (SBC 2017; GONDIM et. al., 2017) As lipoproteínas podem conter uma ou várias apolipoproteínas, que controlam seu próprio metabolismo fisiológico, essas auxiliam no transporte lipídico, manutenção e ativação de

algumas enzimas que desempenham papéis importantes no metabolismo lipídico (KARAM et al., 2017).

Os distúrbios no metabolismo das lipoproteínas são caracterizados e definidos com aumento das concentrações colesterol total (CT), *Low-density lipoprotein* – (LDL), *Very low density lipoprotein*– (VLDL) das triglicérides (TG), e diminuição da *High density lipoprotein*– (HDL) (SOUZA et al., 2019; PEREIRA et al., 2010).

Os processos patológicos como os distúrbios lipídicos acontecem também, devido a formação de as espécies reativas de oxigênio (ERO), que são moléculas ou íons, que contém oxigênio (O₂) com elétron não pareado em sua órbita externa, possuem grande instabilidade e tendem a ligar o elétron não pareado com outros presentes em estruturas próximas de sua formação, permitem ações redutoras ou oxidantes doadoras de elétrons (SIES. 2015; REIS et al., 2008).

Em condições de dislipidemia altos níveis de ácidos graxos poli-insaturados e ácidos graxos saturados, componentes dos triglicerídeos e LDL, estão sujeitos à oxidação e o início do estresse oxidativo (HURTUBISE et al., 2016; NASCER et al., 2011). Em casos de lesão e disfunção endotelial, reações de adesão e migração de leucócitos acontecem na camada íntima do vaso, aumentando a permeabilidade das lipoproteínas, e com isso LDL transportador de colesterol se adere na parede arterial, favorecendo a oxidação (BAO et al., 2010; KETELHUTH et al., 2017).

Uma vez modificada sua estrutura há expressão VCAM e E-selectinas, o que favorece a captação de leucócitos para o espaço endotelial, pela expressão de quimiocinas proteicas quimiotática de monócitos do tipo 1 (MCP-1), eotaxina e Interferon gama (INF- γ), então os monócitos se diferenciam em macrófagos e internalizam ox-LDL. Os macrófagos quando carregados de lipídeos passam a ser considerado como uma célula espumosa, que ficará aderido na camada íntima do vaso (MARCHIO et al., 2019; KATTOOR et al., 2017).

Secundário ao tecido adiposo visceral em excesso, a VLDL em estado metabólico alterado, também resulta no aumento de partículas de LDL, que por sua vez desenvolvem o processo aterosclerótico (Figura 2), pela captação de citocinas pro-inflamatórias, moléculas de adesão e plaquetárias, que se aderem à camada subendotelial (MARANHÃO et al., 2011; TAKAHASHI et al., 2017).

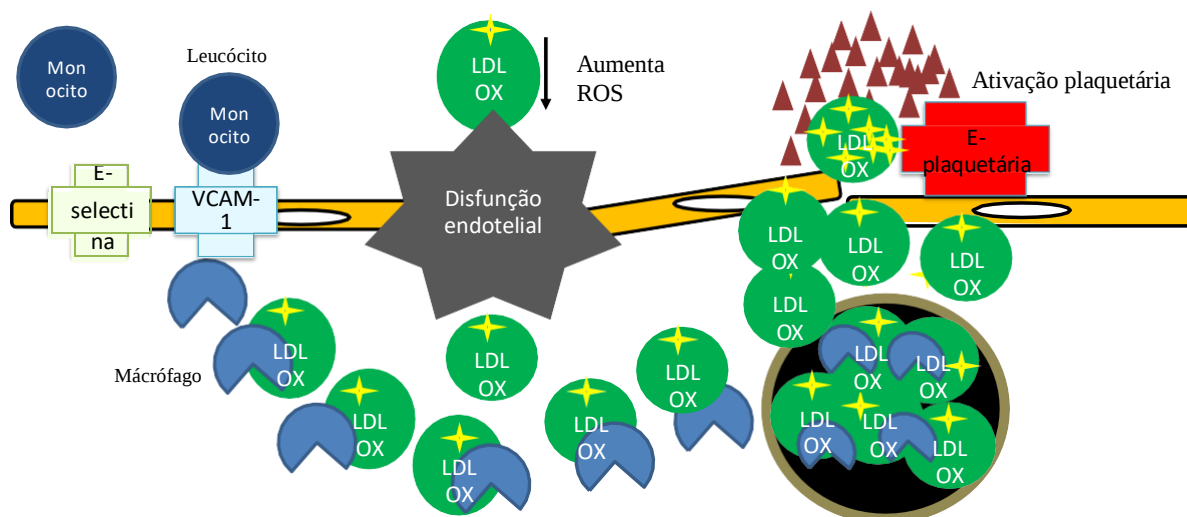


Figura 2. Formação de placas de ateroma. Adaptado de Kattoor et al., (2017)

A HDL contrário às outras lipoproteínas em condições fisiológicas desempenha papel contra o desenvolvimento de aterosclerose, com função de remoção do excesso de colesterol dos tecidos periféricos e os entrega para o fígado, excreção na biliar (BOTELHO et al., 2012; CAMON et al., 2011; ZELZER et al., 2011).

Estudos têm relacionado a vitamina A e a RBP-4 com resistência à insulina e aumento do risco de doenças cardiovasculares, apesar do mecanismo de ação dessa relação não estar completamente elucidado (LI et al., 2015). Os níveis séricos de RBP4 foram diretamente correlacionados com a resistência à insulina, circunferência da cintura, triglicérides e pressão arterial diastólica e sistólica, e inversamente correlacionado com HDL (*High-density lipoprotein*) (BOYRAZ et al., 2013).

A RBP4 também parece estar correlacionada à marcadores cardiometabólicos em doenças inflamatórias crônicas, incluindo a obesidade, a diabetes tipo 2, síndrome metabólica, e DCV. Recentemente, foi sugerido que a inflamação produzida pelos níveis elevados do RBP4 induzem a resistência à insulina e doenças cardiovasculares (ZABETIAN-TARGHI et al., 2015). Níveis séricos altos de RBP4 foram encontrados em pacientes com doenças cardiovasculares, infarto agudo do miocárdio e angina pectoris (LAMBADIARI et al., 2014). Um considerável aumento de RBP4 foi expressa pelo tecido adiposo em camundongo diabético, havendo desse modo no estudo grande relação com a hiperglicemia (GV et al., 2016). Em outro estudo realizado no Brasil foi observada relação significativa da deficiência do retinol com os valores de glicemia de jejum em crianças e adolescentes obesos (TESKE et al., 2014).

Existem especulações de que as vitaminas lipossolúveis, na presença de obesidade, podem apresentar níveis mais baixos na corrente sanguínea, devido a menor ingestão desses

nutrientes ou maiores deposições no tecido adiposo por ser solúveis em gordura, o que diminui sua biodisponibilidade em indivíduos com excesso de peso (WORTSMAN et., 2000). O aumento da adiposidade corporal pode contribuir para alterações no perfil lipídico, como o colesterol total, triglicerídeos, LDL e HDL em crianças e causa risco cardiovascular na vida adulta (BARROS et al., 2011; RIBAS. 2009; SILVA. 2009; FRANCA; ALVES. 2006).

Devido aos índices de crianças com colesterol elevado e de hipovitaminose A, postula-se que crianças com hipercolesterolemia apresentam alterações nas concentrações de retinol sérico e de RBP-4 e que estes possam influenciar a ocorrência de fatores de risco cardiovasculares neste grupo populacional.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a influência do retinol sérico e sua proteína ligante de retinol (RBP-4) sobre os fatores de risco cardiometabólicos em crianças de 4 a 11 anos de idade, da cidade de Santo Antônio de Goiás.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar associação do retinol sérico e os fatores de risco para doenças cardiometabólicas em crianças.
- Avaliar a influência antropométrica, pressão arterial, perfil lipídico, e retinol sérico na concentração de RBP-4, em crianças com colesterol elevado.

3 MÉTODO(S)

3.1 TIPO DE DE ESTUDO

O estudo realizado foi observacional, analítico e caso controle, é um braço do projeto matriz “Síndrome metabólica: respostas metabólicas, oxidativas e inflamatórias de programas de exercício físico e nutricional em escolares de 4 a 11 anos de Santo Antônio de Goiás”, e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (UFG) – parecer 1.970.935/2017 (Anexo I).

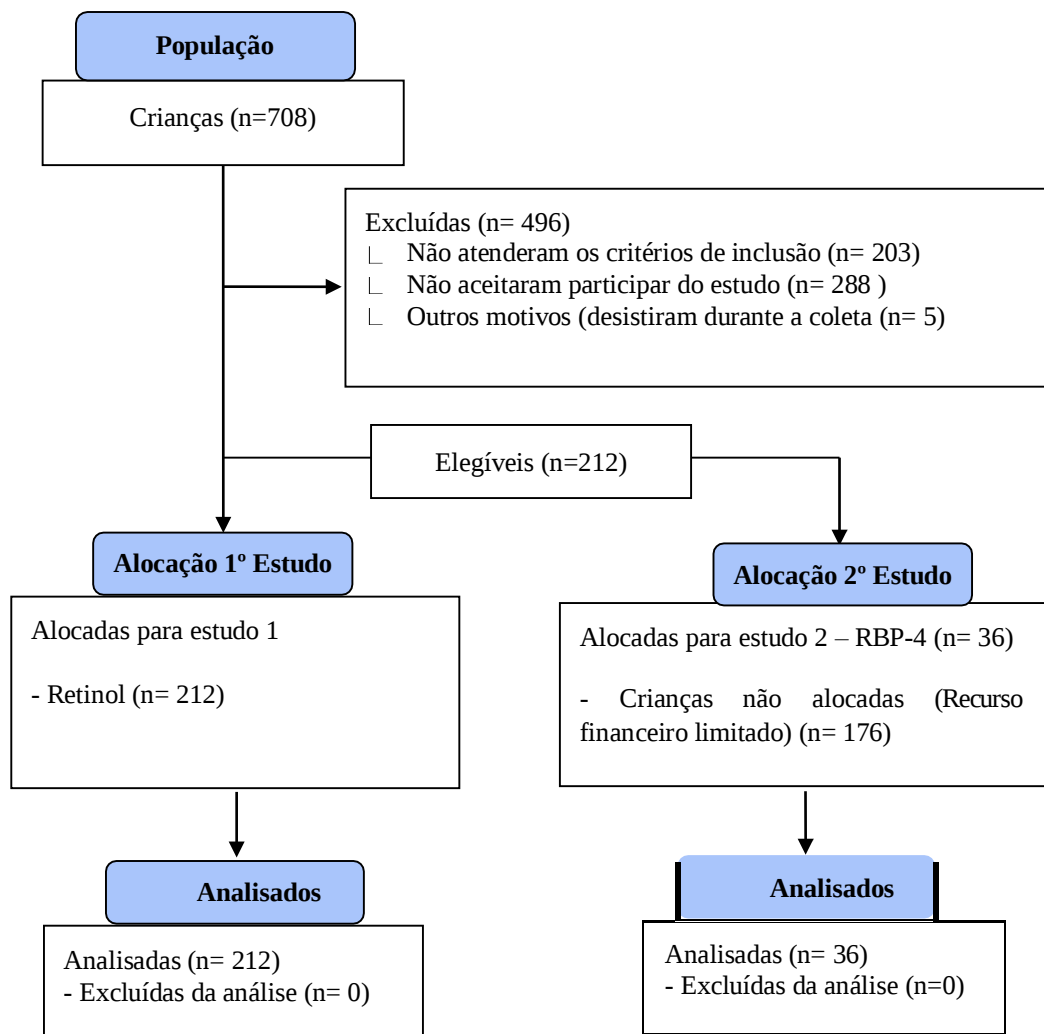
3.2 PARTICIPANTES

Participaram do estudo 212 crianças de 4 a 11 anos de idade, matriculadas na escola de ensino fundamental da cidade de Santo Antônio-GO.

Os critérios de inclusão foram idade entre 4 e 11 anos, de ambos os sexos, e frequentar regularmente as aulas na escola. Foram excluídas crianças com déficit neurológico e cognitivo, doença osteomuscular, cardiopatias graves, em tratamento de anemia ou carências nutricionais, e que faziam uso de medicamento contínuo de suplementos vitamínicos e foi realizado durante os anos de 2018 e 2019.

Das 212 crianças incluídas foram coletados dados para o estudo sobre o retinol sérico e, 36 foram sorteadas para o estudo da proteína transportadora de retinol (RBP-4), conforme descrito no fluxograma da Figura 3.

Figura 3. Desenho do estudo



3.3 DELINEAMENTO DO ESTUDO

A pesquisa foi realizada na escola de ensino fundamental da cidade de Santo Antônio-GO. O convite para participação do estudo foi feito em reunião com os pais, e crianças e funcionários, agenda pela direção da escola. Nesta reunião após esclarecimentos sobre os objetivos do estudo e os procedimentos a serem realizados foi solicitado aos pais e crianças que manifestassem sua concordância assinando ou assinando o Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido (TCLE) e de Assentimento Livres e Esclarecido (TALE), respectivamente (Apêndice I).

A coleta de dados aconteceu em três momentos, agendados previamente com os pais ou responsáveis pela criança. No primeiro, os pais preencheram uma ficha de identificação e contendo informações sociodemográficos de seus filhos e família. Os pais com dificuldades, foram auxiliados pela pesquisadora para preenchimento dos dados. Após o preenchimento foram agendados os outros encontros para realização das medidas antropométricas e pressão arterial para coleta de sangue.

No segundo encontro foram realizadas as medidas antropométricas: estatura (E), massa corporal (MC), índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC) e da pressão arterial (PA). Também foi aplicado questionário para identificação do consumo alimentar. No terceiro momento do estudo, foi realizada a coleta de sangue para as análises bioquímicas.

3.4 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

A E (m) foi medida em estadiômetro (Sanny, São Paulo, Brasil), a MC (kg) em balança digital (Filizola, modelo 2096 PP, São Paulo, Brasil) e a CC (cm), com fita métrica inextensível.

O IMC foi obtido dividindo-se a MC pelo quadrado da E e avaliado de acordo com os valores de escores z, conforme critérios das Organização mundial de saúde Organização mundial de saúde (WHO 2007; 2018). Crianças com escores de IMC ≥ -2 e $\leq +1$ foram consideradas eutróficas e $> +2$ e $\leq +3$ com sobrepeso e obesidade.

Para avaliação da CC utilizaram-se os pontos de corte estabelecidos Organização mundial de saúde (WHO, 2008) sendo considerados com adiposidade abdominal de risco meninas com CC acima de 71 cm e meninos 72 cm.

3.5 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

A avaliação da pressão arterial (PA) foi realizada por meio das medidas da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), obtidas em aparelho OROM (HEM 7200-E8). O sujeito permaneceu sentado por cinco minutos com pernas descruzadas, pés apoiados no chão, dorso recostado na cadeira, relaxado e foi instruído a não conversar durante a medida. O manguito foi posicionado 2-3 cm acima da fossa cubital e em seguida a artéria braquial foi detectada para posicionamento da campânula do estetoscópio. Tanto os procedimentos de

mensuração como os de classificação da PA seguiram os critérios estabelecidos pela VII Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (2016).

3.6 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

Para avaliação do consumo alimentar utilizou-se o questionário de frequência alimentar semi-quantitativo (QFAQ) desenvolvido e validado por (SLATER et al., 2003), o qual foi respondido pelos pais ou responsáveis, na presença da criança. O questionário foi adaptado com a inclusão de alimentos mais utilizados pela população da cidade (ANEXO II), com auxílio das nutricionistas da Secretaria de Educação e de Saúde do município.

As medidas caseiras dos alimentos consumidos foram convertidas em gramas (g) ou mililitros (mL) e inseridas no programa construído no software Excel ® 2013 para estimar ingestão média diária de energia em quilocalorias (kcal), carboidrato (mg), lipídeos (mg), colesterol (mg), fibra (mg) e retinol (µg).

3.7 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

A coleta de sangue para análise bioquímica foi realizada na Unidade Básica de Saúde (UBS) do município pela pesquisadora e técnicas em Enfermagem do local, com a criança em jejum de alimentos por 8 a 10 horas.

O sangue coletado foi distribuído em três tipos tubos, dois transparentes (com e gel e outro fluoreto) e outro escuro, apropriados para cada variável bioquímica, centrifugados, e colocados em gelo para serem transportados até o local de análise.

A glicose foi medida do sangue do tubo com fluoreto e o perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol total, HDL, LDL) do tubo com gel. Essas variáveis bioquímicas foram analisadas por métodos colorimétrico-enzimático em equipamento automatizado Abx Micros, com kits Doles. Para a classificação das frações lipídicas foi utilizada os valores de referência para crianças de 4 a 11 pelo Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, 2016.

Para dosagem de retinol, foi utilizado 5 mL de sangue do tubo escuro, que foi acondicionado em gelo, e enviado para análise pelo Laboratório Hermes e Pardini/MG.

A determinação de retinol foi realizada em duplicata em sistema HPLC, em coluna Shim-park C18 (25 cm) CLC-ODS e coluna de guarda Shim-park CLC G-ODS, tendo como fase móvel metanol: água (95:5) em fluxo de 1,0 mL/min. O pico correspondente retinol em

325 nm (Shimadzu UV-VIS SPD-10AV) foi identificado por comparação com o tempo de retenção do padrão de retinol da Sigma-Aldrich.

O retinol sérico foi classificado de acordo com o ponto de corte recomendado pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1996): deficiente/inadequado: $< 0,70 \mu\text{mol/L}$ e adequado $\geq 0,70 \mu\text{mol/L}$. As concentrações séricas de RBP-4 foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular e Bioquímica da UFG, e foi medida em duplicata com o uso do kit ELISA (Assaypro LLC, St. Charles, EUA).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. As variáveis contínuas foram expressas como média e desvio padrão (DP) ou como mediana com quartil superior inferior para dados paramétricos e não paramétricos, respectivamente. O teste U-Mann-Whitney foi utilizado para comparar variáveis contínuas sem distribuição normal e o teste t Student para as com distribuição normal.

A correlação de Spearman foi utilizada para avaliar associação do RBP-4 com os parâmetros antropométricos, bioquímicos e pressão arterial, nos grupos de criança com hipercolesterolemia e adequado. As classificações do HDL, LDL, triglicerídeos e retinol sérico foram comparadas entre crianças com colesterol adequado e hipercolesterolemia por meio do teste quiquadrado.

A regressão linear múltipla foi realizada para avaliar a influência da ingestão de lipídio e da concentração de retinol, que apresentaram correlação moderada e significativa na análise de correlação de Spearman. Análise estatística foi realizada no programa R® e nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

4 PUBLICAÇÕES

Artigo 1 – SERUM RETINOL IS ASSOCIATED WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA IN CHILDREN

Autores: Trindade NR MS, Assunção LP MS, Silva MS DR.

Revista (Submetido)- **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**

Artigo 2 – Mobilization of Retinol by RBP-4 in hypercholesterolemic children

Autores: Neidiane Rosa Trindade^a, Leandro do Prado Assunção^b, Maria Sebastiana Silva^c

Revista (Submetido)- **Biomarkes**

Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics
SERUM RETINOL IS ASSOCIATED WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA IN
CHILDREN
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Keywords:	Vitamin A; Dyslipidemia; Children; Oxidative stress; Hypercholesterolemia
Corresponding Author:	Neidiane Rosa Trindade, M.D goiania, GO BRAZIL
First Author:	Neidiane Trindade
Order of Authors:	Neidiane Trindade Leandro do Prado Assunção Maria Silva
Abstract:	Knowledge Retinol and its derivatives is an essential micronutrient for cells, it affects fat metabolism. Its deficiency can cause cardiovascular risk factors. Objective To evaluate the association of serum retinol and risk factors for cardiometabolic diseases in children. Design Cross-sectional study. Participants 212 children from 4 to 11 years old Main measures Anthropometry, blood pressure, lipoproteins and serum retinol Statistical analysis Shapiro-Wilk, teste de U-Mann-Whitney, teste de Student. A correlação de Spearmans regressão logística simples; regressão logística binomial, teste quiquadrado. Valor de significância (valor p) <0,05. Result Correlation of retinol concentration with anthropometric variables, blood pressure and lipid profile showed a positive association ($r = 0.15$ $p = 0.020$), cholesterol ($r = 0.25$ $p < 0.001$) and LDL ($r = 0.20$ $p = 0.002$). The logistic regression analysis showed an association of height ($\beta = -3.43$ $p = 0.003$) and cholesterol ($\beta = -0.02$ $p = 0.001$), with the serum retinol concentration. In logistic regression of height and cholesterol, the latter was the only variable with a significant association ($\beta = 1.38$ $p = 0.0001$) with retinol. Adjusted cholesterol logistic regression analysis, found an association of retinol only in the group with hypercholesterolemia ($\beta = -0.02$) ($p = 0.015$). When comparing the group with adequate cholesterol and hypercholesterolemia, the concentrations of HDL ($p = 0.04$), LDL ($p < 0.001$), CT ($p < 0.001$) and retinol ($p = 0.02$) were significant. Conclusion

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

TITLE: SERUM RETINOL IS ASSOCIATED WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA IN CHILDREN

Trindade NR MS¹, Assunção LP MS², Silva MS⁴.

1- Doctoral student in the Federal University of Goiás, Faculty of Physical Education and Dance, Laboratory of Physiology, Nutrition and Health, Brazil. Address: Chacaras de Recreio Califórnia, Goiânia-GO, 74045-155, phone: 62-982852018, email: neidianeenfer@gmail.com

2- Doctoral student in the Doctoral student in the Molecular Biology and Biochemistry at the Federal University of Goiás, Brazil. Address: Chácaras Califórnia, Goiânia - GO, 74045-155, phone:62- 98624-8449, e-mail: leandrodopradoassuncao@gmail.com

3- Teacher. Laboratory of Physiology, Nutrition and Health. Faculty of Physical Education and Dance. Strictu Sensu Graduate Program in Health Sciences. Laboratory of Nutrition, Physiology and Health.Address: Chacaras de Recreio Califórnia, Goiânia-GO, 74045-155, phone: 62-991346540, email: maria2593857@hotmail.com

RESEARCH SNAPSHOT

Research question: There is an association of ethical retinol and risk factors for cardiometabolic diseases in children?

Main conclusions: It is concluded that the main cardiometabolic risk factor was hypercholesterolemia, with low density lipoprotein being the major triggering factor of the pathological process. The association of increased serum retinol levels with hypercholesterolemia may be the result of oxidative processes caused by LDL.

ABSTRACT

Knowledge: Retinol and its derivatives is an essential micronutrient for cells, it affects fat metabolism. Its deficiency can cause cardiovascular risk factors.

Objective: To evaluate the association of serum retinol and risk factors for cardiometabolic diseases in children.

Design: Cross-sectional study.

Participants: 212 children from 4 to 11 years old

Main measures: Anthropometry, blood pressure, lipoproteins and serum retinol

Statistical analysis: The Shapiro-Wilk test verified normality, U-Mann-Whitney and Student t compared nonparametric and parametric variables, respectively, Spearman's correlation was used to assess an association of retinol with anthropometric; biochemical and blood pressure variables; simple logistic regression was used to analyze the influence of anthropometric, biochemical and blood pressure variables on the serum retinol levels of all children; a binomial logistic regression to assess the influence of anthropometric, biochemical and blood pressure variables on serum retinol levels in children with adequate and high cholesterol. Significance level was 5%.

Result: Correlation of retinol concentration with anthropometric variables, blood pressure and lipid profile showed a positive association ($r = 0.15$, $p = 0.020$), cholesterol ($r = 0.25$, $p < 0.001$) and LDL ($r = 0.20$, $p = 0.002$). The logistic regression analysis showed an association of height ($\beta = -3.43$, $p = 0.003$) and cholesterol ($\beta = -0.02$, $p = 0.001$), with the serum retinol concentration. In logistic regression of height and cholesterol, the latter was the only variable with a significant association ($\beta = 1.38$, $p = 0.0001$) with retinol. Adjusted cholesterol logistic regression analysis found an association of retinol only in the group with hypercholesterolemia ($\beta = -0.02$, $p = 0.015$). When comparing the group with adequate cholesterol and hypercholesterolemia, the concentrations of HDL ($p = 0.04$), LDL ($p < 0.001$), CT ($p < 0.001$) and retinol ($p = 0.02$) were significant.

Conclusion: Children with hypercholesterolemia have cardiometabolic risk factors associated with the concentration of serum retinol and that this association may be due to the oxidative pathological state induced by high cholesterol.

Keywords: Vitamin A, Dyslipidemia, School , High cholesterol.

INTRODUCTION

Retinol and carotenoids are important chemicals in human nutrition and health ¹⁻³. Food intake and lifestyle can influence serum concentrations of these nutrients ⁴⁻⁷. Recent studies have confirmed that overweight people present retinol deficiency and low serum levels of carotenoids ⁸⁻¹⁰.

Some studies indicate that vitamin A and β -carotene are important regulators of body fat reserves. Retinoic acid (AR) active form of retinol and β -carotene is involved in the expression of lipogenic transcription factors, ^{11,12} by the metabolite pathway of the peroxisome proliferator of beta and gamma retinoic acid (PPAR- β/δ) that regulates the energy balance of both lipid and homeostatic glucose metabolism. PPAR- β/δ signaling accelerates the lipid catabolism of adipose tissue and skeletal muscle, thus benefiting in preventing the development of obesity¹³.

Physiologically retinol affects thermogenesis, it causes an early increase in mature adipocytes and decreases apoptosis, which favors body adiposity ¹⁴. Obesity is a serious clinical condition, especially in children and adolescents, because it is associated with several cardiovascular risk factors, such as dyslipidemia, hypertension, endothelial inflammatory processes and diabetes ¹⁵. In addition, obesity and dyslipidemia are associated with excessive levels of reactive oxygen species (ROS), with consequent damage to the vascular system ¹⁶. Some of these factors may be related to the decrease in plasma retinol levels, as well as to the

reduction of antioxidant capacity ¹⁷. Therefore, the present study aims to evaluate the association of serum retinol and risk factors for cardiometabolic diseases in children.

METHODS

Study participants and design

A cross-sectional study was carried out with 212 children aged 4 to 11 years, in a primary school in a municipality in the state of Goiás. The flowchart in Figure 1 shows the sample selection and the conduct of the study. Children from 4 to 11 years old who lived in the city where the research was conducted were included. The exclusion criteria were considered to have cognitive disorders, severe physical and cardiorespiratory that prevented data collection.

Ethic

Parents and children were informed about the purpose and procedures of the study and signed the terms of consent to participate in the study. All steps followed the ethical principles of the study with humans and were approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Goiás nº 1.970.935/2017.

Anthropometric parameters

The anthropometric parameters obtained were height (E), body mass (BM), body mass index (BMI) and waist circumference (WC). E (m) was measured on a stadiometer (Sana, São Paulo, Brazil), BM (kg) on a digital scale (Filizola, model 2096 PP, São Paulo, Brazil) and WC (cm), with inextensible measuring tape.

BMI was obtained by dividing the BM by the square of the E and evaluated according to the values of z scores, according to the criteria of WHO ^{18,19}. Children with BMI scores ≥ -2

and $\leq +1$ were considered eutrophic and $> +2$ and $\leq +3$ overweight and or obesity. For the evaluation of WC, the cutoff points established by the WHO²⁰.

Blood pressure

Systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were obtained using an equipment (OROM HEM 7200-E8). According to the criteria of the VII Brazilian Guidelines for Arterial Hypertension²¹. The subject remained seated for five minutes with legs uncrossed, feet flat on the floor, back against the chair, relaxed and was instructed not to talk during the measurement. The cuff was positioned 2-3 cm above the cubital fossa and then the brachial artery was detected to position the stethoscope bell.

Biochemical variables

To assess fasting blood glucose (GJ), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), *High-density lipoprotein* (HDL), *Low-density lipoprotein* (LDL) and retinol were collected from each child, about 10 mL of blood, fasting for 12 hours, in the Basic Health Unit of the city.

Glycemia, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides were analyzed by the colorimetric-enzymatic method in the automated equipment Abx Micros. For the classification of lipid fractions, reference values for children aged 4 to 11 were used by the Brazilian Consensus on the Standardization of Laboratory Determination of the Lipid Profile²². For retinol measurement, 5 mL of blood was transferred, at the time of collection, to a dark tube, packaged in ice and sent for analysis. The determination of retinol was performed in duplicate in a HPLC, in column Shim-park C18 (25 cm) CLC-ODS and guard column Shim-park CLC G-ODS, having mobile phase methanol: water (95:5) flow rate 1.0 mL / min. The corresponding retinol peak at 325 nm (Shimadzu UV-VIS SPD-10AV) was identified by comparison with the retention time of the Sigma-Aldrich® retinol standard. Serum retinol was

classified according to the cutoff point recommended by the World Health Organization ²³: deficient/low $<0,70 \mu\text{mol/L}$ it is adequate $\geq 0,70 \mu\text{mol/L}$.

Statistical analysis

The Shapiro-Wilk test was used to verify the normality of the data. Continuous variables were expressed as mean and standard deviation (SD) or as median with lower upper quartile for parametric and nonparametric data, respectively. Spearman's correlation was used to assess the association of retinol with anthropometric, biochemical and blood pressure variables. Simple logistic regression was performed to assess the influence of anthropometric variables, biochemistry and blood pressure on the serum levels of retinol in all children and binomial logistics to assess the influence of anthropometric variables, biochemistry and blood pressure on serum retinol levels. In children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia. The test U-Mann-Whitney was used to compare continuous variables that did not have a normal distribution and the Student t-test for variables with normal distribution, between groups of children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia. Statistical analysis was performed in the R[®] program and the significance level adopted was $p < 0.05$.

RESULTS

The anthropometric parameters, blood pressure, and lipid profile with blood retinol concentration, of 212 Brazilian children aged 4 to 11 years (table 1), showed a positive and significant association of the outcome variable with heights ($r=0.15$, $p=0.020$), cholesterol ($r=0.25$, $p=0.001$) and LDL ($r=0.20$, $p=0.002$).

The analysis of binomial logistic regression, of the data transformed by Box Cox and analysis of the residues, showed an association of height ($\beta = -3.43$, $p = 0.003$) and cholesterol ($\beta = -0.02$, $p = 0.001$), with the concentration serum retinol.

From the two predictor variables, logistic regression was performed, and it was observed that cholesterol was the only variable that showed a significant association ($\beta = 1.38$, $p = 0.0001$) with retinol, as shown in Table 2.

In a new logistic regression analysis, cholesterol was adjusted in two binomial models: high and adequate (Figure 2), and it was observed that the association of retinol was maintained only in the group with hypercholesterolemia ($\beta = -0.02$, $p = 0.015$), as shown in table 3.

The comparison of the absolute values of the anthropometric variables, blood pressure, lipid profile and serum retinol, between individuals with adequate cholesterol and hypercholesterolemia (Table 4), it was observed that in hypercholesterolemic the blood levels of HDL, LDL, VLDL, TC and retinol were significantly higher in hypercholesteremics ($p=0.04$; $p< 0.001$; $p< 0.001$; $p< 0.001$ and $p=0.02$, respectively).

When the comparative analysis of the parameter, anthropometric, metabolic and serum retinol classifications was performed between groups of children (Table 5), it was found that a higher percentage of children with hypercholesterolemia had LDL inadequacies ($p <0.001$), while a greater amount those with high cholesterol had inadequate retinol ($p <0.001$).

When the binomial regression analysis of all the analyzed variables was performed, it was found, only in the group with hypercholesterolemia, a significant association of LDL ($\beta = -0.023$, $p = 0.004$) and TC ($\beta = -0.02$, $p = 0.015$) with the serum retinol concentration, as shown in table 6.

DISCUSSION

The main finding of this study was the association of total cholesterol with the serum concentration of retinol, and of the higher amounts of this vitamin in children who presented hypercholesterolemia, although in the hypercholesterolemic group most children showed inadequacy of this vitamin.

In a total of 212 children, 92 (43.60%) had retinol deficiency. Data on vitamin A deficiency is a public health problem in Brazil ²⁴, being possible to identify the child population of the Northeast as the most vulnerable to the problem, since between 16% to 55% of the children presented serum levels of what characterizes an endemic deficiency ²⁵.

In our study, the direct correlation of retinol with the serum LDL concentration in the total number of children evaluated may be due to a physiological feedback caused by oxidative processes that trigger atherogenesis ²⁶.

When plasma concentrations of LDL increase, it triggers the formation of atherosclerotic plaque by an inflammatory process, which in the vessel membrane LDL is oxidized (ox-LDL) and trapped in the endothelium by vascular cell adhesion molecules I (VCAM-I), platelet proteins (P) and endothelial proteins (E), which has the capacity to facilitate the entry of monocytes in the subendothelial layer ²⁷.

Another pathway also observed in the oxidative stress caused in LDL, is that in a state of tissue damage, neutrophils have the role of performing endocytosis of foreign material and ends up secreting the intracellular enzyme such as myeloperoxidase (MPO), which promotes the oxidation of lipoproteins ²⁸. MPO has the function of catalyzing reactions with hydrogen peroxide (H_2O_2), to generate more cytotoxic and more potent oxidizing effects such as hypochlorous acid (HOCl) and tyrosyl radical, as well as its ability to oxidatively modify the tyrosine amino acid of apolipoprotein B- 100 (apo B-100) which are fundamental structures for LDL lipoproteins ²⁹.

MPO impairs the vessel's relaxation system by catalyzing and consuming nitric oxide (ON) under physiological conditions, limiting its bioavailability. In addition, they are also able to inhibit the activity of ON synthase and reduce its cofactors such as NADPH that serve as electron mediators ^{30,31}. However, hypertensive conditions can be influenced by this enzyme ³².

Membrane receptors *scavenger* and CD36 also work in the effort to transport monocytes and when inside the cell they change into macrophages, and form spongy cells ^{33,34}.

The structure of HDL can also be oxidized by nitration or halogenation of tyrosine amino acid residues in apolipoprotein AI (apo AI) ^{35,36}. As HDL has the function of transporting cholesterol back to the liver, this pathway is impaired ^{33,37-39}.

However, due to the difficulty in transporting cholesterol, to the cells and via the liver for its transformation into bile salts through HDL, which performs the reverse transport of cholesterol, these are circulating until they make their deposits in the inner layer of the endothelium, increasing the inflammatory process, a possible justification for cholesterol increase in the study ⁴⁰.

The *low-density lipoprotein (VLDL)*, presented a higher concentration in the group with hypercholesterolemia, believes that these children make an inadequate intake of foods that are sources of carbohydrates or fats which in excess can promote a circulating increase in chylomicrons or VLDL. Independent the origin of circulating lipids, that is, if they come from endogenous synthesis through excessive intake of calories or high content of dietary lipids, changes in eating habits are necessary, such as the reduction of carbohydrates and fats ⁴¹.

The elevated serum retinol concentration in the group of children with hypercholesterolemia in our study may be associated with an antioxidant response, as this micronutrient helps to protect against lipid peroxidation. ³².

An explanation for a higher serum retinol values in children with hypercholesterolemia is that both are esterified with long-chain fatty acid within the cells of the intestinal mucosa, and diets high in fat would assist in the absorption of this nutrient ⁴²⁻⁴³. Lebanese study found positive association between fat intake derived from animal sources and serum retinol concentration ⁴⁴. However, it is necessary to remember that the increased consumption of animal foods is rich in saturated fats and cholesterol, which configure cardiovascular risk

factors for increasing the concentration of LDL and total cholesterol ⁴⁴⁻⁴⁵. On the other hand, in another study carried out in two villages in the north of Cameroon, it found an inverse association between serum retinol concentration and consumption of animal foods, since the population was needy and was unable to buy food sources ⁴⁶.

Since cholesterol was identified as the best predictor of retinol concentration in the blood, it was decided to divide the group for children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia. The result found showed that only in children with hypercholesterolemia there was a relationship between retinol concentration and this type of blood fat. The possible mechanism for this finding is the mobilization of retinol stored in the liver (retinyl esters - REs), which, by a cellular defense mechanism to inflammatory processes, bind to the retinol binding protein (RBP-4), are transported to the plasma and used as antioxidants. Furthermore, the increase in availability of circulating retinols to target tissues, due to lipid disorders, aims to promote antioxidant effects against oxidative damage ^{47,48}.

The relationship between retinol and LDL was also found only in the group that had hypercholesterolemia. What suggests, the lipoprotein, because it is an unsaturated fatty acid, it can suffer lipid peroxidation and produce excess free radicals, and retinol, as a fat-soluble vitamin, acts in defense as an antioxidant of lipid sequestering free radicals ⁴⁹. It is important to highlight that, in addition to having high total cholesterol, LDL appears as the main lipoprotein suggestive of changes in the occurrence of cardiometabolic alterations in these children.

Cardiovascular risk factors were identified in the study population, which can cause atherogenic damage over the years. On the other hand, the high retinol concentration among children with hypercholesterolemia may be protective in relation to the possible oxidative and inflammatory process resulting from dyslipidemia.

We consider the study absence with the absence of oxidative and inflammatory parameters and the evaluation of food consumption, which would assist in a better

understanding of the results found. We consider it important to carry out further studies in children who have vascular risk factors and to introduce food consumption into the analysis variables to assess associations related to the atherosclerotic process and, consider it important that the similar study be carried out in children with retinol deficiency.

CONCLUSION

It is concluded that the main cardiometabolic risk factor was hypercholesterolemia, with low-density lipoprotein being the major triggering factor of the pathological process. The association of increased serum retinol levels with hypercholesterolemia may be the result of oxidative processes caused by LDL.

REFERÊNCIAS

1. Theodosiou M, Laudet V, Schubert M. From carrot to clinic: an overview of the retinoic acid signaling pathway. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(9):1423-1445.
2. Norsa L, Zazzeron L, Cuomo M, et al. Night Blindness in Cystic Fibrosis: The Key Role of Vitamin A in the Digestive System. *Nutrients.* 2019;11(8).
3. Harrison EH. Mechanisms of Transport and Delivery of Vitamin A and Carotenoids to the Retinal Pigment Epithelium. *Mol Nutr Food Res.* 2019;63(15):e1801046.
4. Yakoob MY, Lo CW. Nutrition (Micronutrients) in Child Growth and Development: A Systematic Review on Current Evidence, Recommendations and Opportunities for Further Research. *J Dev Behav Pediatr.* 2017;38(8):665-679.
5. de Hof KH, de Boer BC, Tijburg LB, et al. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from the carotenoid response in the

- triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after four days of consumption. *J Nutr.* 2000;130(5):1189-1196.
6. Malaquias BSS, Fonseca LRM, de Sousa MC, et al. Determinantes do comportamento sedentário ao longo da vida. *Arq de Ciênc do Esporte.* 2019;6(2).
 7. Faure H, Preziosi P, Roussel AM, et al. Factors influencing blood concentration of retinol, alpha-tocopherol, vitamin C, and beta-carotene in the French participants of the SU.VI.MAX trial. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(6):706-717.
 8. Roust LR, DiBaise JK. Nutrient deficiencies prior to bariatric surgery. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2017;20(2):138-144.
 9. Kabat GC, Heo M, Ochs-Balcom HM, et al. Longitudinal association of measures of adiposity with serum antioxidant concentrations in postmenopausal women. *Eur J Clin Nutr.* 2016;70(1):47-53.
 10. 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(4):489-495.
 11. Yasmeen R, Jeyakumar SM, Reichert B, Yang F, Ziouzenkova O. The contribution of vitamin A to autocrine regulation of fat depots. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1821(1):190-197.
 12. Lobo GP, Amengual J, Li HN, et al. Beta,beta-carotene decreases peroxisome proliferator receptor gamma activity and reduces lipid storage capacity of adipocytes in a beta,beta-carotene oxygenase 1-dependent manner. *J Biol Chem.* 2010;285(36):27891-27899.
 13. Barish GD, Narkar VA, Evans RM. PPAR delta: a dagger in the heart of the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2006;116(3):590-597.

14. Jeyakumar SM, Vajreswari A, Giridharan NV. Chronic dietary vitamin A supplementation regulates obesity in an obese mutant WNIN/Ob rat model. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(1):52-59.
15. Guerendiain M, Mayneris-Perxachs J, Montes R, et al. Relation between plasma antioxidant vitamin levels, adiposity and cardio-metabolic profile in adolescents: Effects of a multidisciplinary obesity programme. *Clinical Nutrition*. 2017;36(1):209-217.
16. Hurtubise J, McLellan K, Durr K, Onasanya O , Nwabuko D , Ndisang JF. The Different Facets of Dyslipidemia and Hypertension in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2016;18(12):82.
17. Molnar D, Decsi T, Koletzko B. Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28(10):1197-1202.
18. World health organization (WHO). Child growth standars. 2007; Avaliable from: <http://www.who.int/childgrowth/en/>.
19. World health organization (WHO). Obesity and overweighth. 2018; Avaliable from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
20. World health organization (WHO). Waist Circumference and Waist-Hip Ratio Report of a WHO Expert Consultation, Geneva December 2008. 2011:1-39.
21. Sociedade brasileira de cardiologia. VII Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial *Sociedade Brasileira de Cardiologia*. 2016;107:1-103.
22. Sociedade Brasileira de Análises clínicas, Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Cardiologia - Departamento de Aterosclerose, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, 2016. Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, 12: 1-5.

23. WHO. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. 1996: 1-60.
24. Souza WA, Vilas Boas OMGC. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. *Rev. Panam Salud Públ/ Pan Am J Public Health*. 2002; 12 (3):173-179.
25. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. *Política Nacional de Alimentação e Nutrição*. Brasília: Ministério da Saúde; 2000.
26. Meertens L, Naddaf G, Rodríguez A. Relación entre lípidos séricos y estado de las vitaminas C y E como antioxidantes en adultos mayores venezolanos. *ALAN, Caracas*. 2008; 58 (4): 363-370.
27. Gui T, Shimokado A, Sun Y, Akasaka T, Muragaki Y. Diverse roles of macrophages in atherosclerosis: from inflammatory biology to biomarker discovery. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:693083.
28. Jensen MK, Rimm EB, Furtado JD, Sacks FM. Apolipoprotein C-III as a Potential Modulator of the Association Between HDL-Cholesterol and Incident Coronary Heart Disease. *J Am Heart Assoc*. 2012;1(2): 1-10.
29. Roman RM, Wendland AE, Polanczyk CA. Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice. *Arq Bras Cardiol*. 2008;91(1):e11-19.
30. Baldus S, Eiserich J, Mani A, et al. Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration. *Journal of Clinical Investigation*. 2002;108.
31. Abu-Soud HM, Hazen SL. Nitric Oxide Is a Physiological Substrate for Mammalian Peroxidases. *The Journal of biological chemistry*. 2001;275:37524-37532.
32. Rocha-Penha L, Caldeira-Dias M, Tanus-Santos JE, et al. Myeloperoxidase in Hypertensive Disorders of Pregnancy and Its Relation With Nitric Oxide. *Hypertension*. 2017;69(6):1173-1180.

33. Zhang PY, Xu X, Li XC. Cardiovascular diseases: oxidative damage and antioxidant protection. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(20):3091-3096.
34. Lara-Guzman OJ, Gil-Izquierdo A, Medina S, et al. Oxidized LDL triggers changes in oxidative stress and inflammatory biomarkers in human macrophages. *Redox Biol*. 2018;15:1-11.
35. Shao B, Tang C, Sinha A, et al. Humans with Atherosclerosis have Impaired ABCA1 Cholesterol Efflux and Enhanced HDL Oxidation by Myeloperoxidase. *Circulation research*. 2014;114.
36. Bergt C, Pennathur S, Fu X, et al. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(35):13032-13037.
37. Rosenson RS, Brewer HB, Jr, Ansell BJ, et al. Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2016;13(1):48-60.
38. Huang Y, DiDonato JA, Levison BS, et al. An abundant dysfunctional apolipoprotein A1 in human atheroma. *Nat Med*. 2014;20(2):193-203.
39. Hewing B, Parathath S, Barrett T, et al. Effects of native and myeloperoxidase-modified apolipoprotein a-I on reverse cholesterol transport and atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(4):779-789.
40. DiDonato J, Aulak K, Huang Y, et al. Site-specific Nitration of Apolipoprotein A-I at Tyrosine 166 Is Both Abundant within Human Atherosclerotic Plaque and Dysfunctional. *The Journal of Biological chemistry*. 2014;289.
41. Filgueiras MDS, Vieira SA, Ribeiro AQ, et al. O histórico familiar está associado à presença de dislipidemia em crianças pré-escolares. *Revista Paulista de Pediatria*. 2019; 37: 41-48.

42. Talbot CPJ, Plat J, Ritsch A, et al. Determinants of cholesterol efflux capacity in humans. *Prog Lipid Res.* 2018;69:21-32.
43. Norum KR, Helgerud P, Petersen LB, et al. Influence of diets on acyl-CoA:cholesterol acyltransferase and on acyl-CoA:retinol acyltransferase in villous and crypt cells from rat small intestinal mucosa and in the liver. *Biochim Biophys Acta.* 1983;751(2):153-161.
44. Obeid O, Al-Ghali R, Khogali M, et al. Vitamins A and E Status in an Urban Lebanese Population: A Case Study at Dar Al-Fatwa Area, Beirut. *Int J Vitam Nutr Res.* 2006;76:3-8.
45. Marchio P, Guerra-Ojeda, S, Vila, JM, et al. Targeting Early Atherosclerosis: A Focus on Oxidative Stress and Inflammation. *Oxid Medic and Cell Long,* 2019: 1-32.
46. Gouado I, Ejoh RA, Kenne M, et al. Serum concentration of vitamins A and E and lipid in a rural population of north Cameroon. *Ann Nutr Metab.* 2005;49(1):26-32.
47. Diniz A, Kruze I, Arruda G. Retinolemia, consumo de vitamina A e pressão arterial em idosos. *Archivos Latino Americanos de Nutrición.* 2009; 59.
48. Albuquerque MNdL, Diniz AdS, Arruda IKGd. Elevated Serum Retinol and Low Beta-Carotene but not Alpha-Tocopherol Concentrations Are Associated with Dyslipidemia in Brazilian Adolescents. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology.* 2016;62(2):73-80.
49. Gajewska J, Ambroszkiewicz J, Weker H, et al. Relations between oxidized low density lipoproteins and fat-soluble vitamin concentrations in obese children- preliminary study. *Dev period Med.* 2017; 21 (3): 266-271.

Table 1. Correlation of retinol concentration with anthropometric and metabolic variables in children.

	Correlation Coefficient (r)	p
Height (m)	0.150	0.020
BM ^a (kg)	0.060	0.340
WC ^b (cm)	0.110	0.080
Score Z BMI ^c	0.090	0.150
SBP ^d (mmHg)	-0.040	0.520
DBP ^e (mmHg)	-0.120	0.060
FBG ^f (mg/dL)	-0.010	0.850
TG ^g (mg/dL)	0.110	0.090
HDL ^h (mg/dL)	0.060	0.310
VLDL ⁱ (mg/dL)	0.127	0.060
LDL ^j (mg/dL)	0.200	0.002
TC ^k (mg/dL)	0.250	<0.001

Notes:

^aBM– body mass;

^bWC– waist circumference;

^cBMI– body mass index;

^dSBP– systolic blood pressure;

^eDBP– diastolic blood pressure;

^fFBG– fasting blood glucose;

^gTG–triglycerides;

^hHDL – high density lipoprotein;

ⁱVLDL– Very low density lipoprotein;

^jLDL– low density lipoprotein;

^kTC– total cholesterol; obtained by Spearman's Correlation; significance level p <0.05.

Table 2: Relationship of plasma cholesterol to retinol in children^a.

	β	p^c
Intercept	-1.450	0.0005
^b TC (mg/dL)	1.380	0.0001

Notes:

^aLogistic regression,

^bTC– total cholesterol; significance level

^c p - <0.001

Table 3. Relationship of serum retinol and total cholesterol in children with hypercholesterolemia and adequate cholesterol^a.

	Adequate cholesterol		Hypercholesterolemia	
	(n=175)		(n=37)	
	β	p^b	β	p^b
Intercept	-1.920	0.650	2.790	0.019
Retinol ($\mu\text{mol/L}$)	0.002	0.910	-0.020	0.015

Notes:

^aLogistic regression,

^bsignificance level $p < 0.05$

Table 4. Comparison of groups with hypercholesterolemia and adequate cholesterol with anthropometric, metabolic variables and vitamin A levels.

	Adequate cholesterol (n=175)	Hypercholesterolemia (n=37)	P
Height (m)	1.25 (1.17 - 1.35)	1.25 (1.20 - 1.34)	0.720 ^m
BM ^a (kg)	29.30 (23.20 - 36.20)	27.50 (21.75 - 30.80)	0.110 ^m
WC ^b (cm)	58.00 (54.00 - 65.00)	61,00 (54.00 - 68.00)	0.330 ^m
Score Z BMI ^c	-2.31 (-0.59 - 0.31)	-0.00 (-0.58 - 0.33)	0.660 ^m
SBP ^d (mmHg)	93.00 (85.00 - 102.00)	93.00 (90.00 - 102)	0.330 ^m
DBP ^e (mmHg)	60.63 ± 12.67	61.92 ± 12.41	0.470 ^l
FBG ^f (mg/dL)	84.00 (78.00 - 90.00)	83.00 (80.00 - 92.00)	0.610 ^m
TG ^g (mg/dL)	68.00 ± 32.90	80.62 ± 26.82	0.090 ^l
HDL ^h (mg/dL)	49.00 (42.00 - 5.00)	56.00 (47.00 - 62.00)	0.040 ^m
LDL ⁱ (mg/dL)	73.57 ± 17.33	111.92 ± 20.95	<0.001 ^l
VLDL ^j (mg/dL)	15.01 ± 5.24	37.28 ± 19.37	<0.001 ^l
TC ^k (mg/dL)	138.32 ± 18.42	178.78 ± 17.74	<0.001 ^l
Retinol (μmol/L)	1.08 (0.29 - 0.39)	1.37 (0.35 - 0.42)	0.020 ^m

Notes:

^aBM– body mass;

^bWC– waist circumference;

^cBMI– body mass index;

^dSBP– systolic blood pressure;

^eDBP– diastolic blood pressure;

^fFBG– fasting blood glucose;

^gTG–triglycerides;

^hHDL – high density lipoprotein;

ⁱLDL– low density lipoprotein;

^jVLDL–very low density lipoprotein;

^kTC– total cholesterol.

^lp- value obtained by the Wann-Whitney;

^mp- value obtained by the Student t-test for independent samples; significance level

Table 5. Relationship between retinol and lipid profile in children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.

	Adequate cholesterol		Hypercholesterolemia	
	β	p	β	p
Intercept	0.37	0.390	1.49	0.690
VLDL ^a (mg/dL)	-0.04	0.110	-0.05	0.610
Intercept	-0.06	0.970	-0.98	0.430
HDL ^b (mg/dL)	0.004	0.920	0.008	0.700
Intercept	5.80	0.320	1.56	0.150
LDL ^c (mg/dL)	-0.052	0.270	-0.023	0.004
Intercept	1.92	0.650	2.79	0.190
TC ^d (mg/dL)	0.002	0.910	-0.02	0.015

Notes:

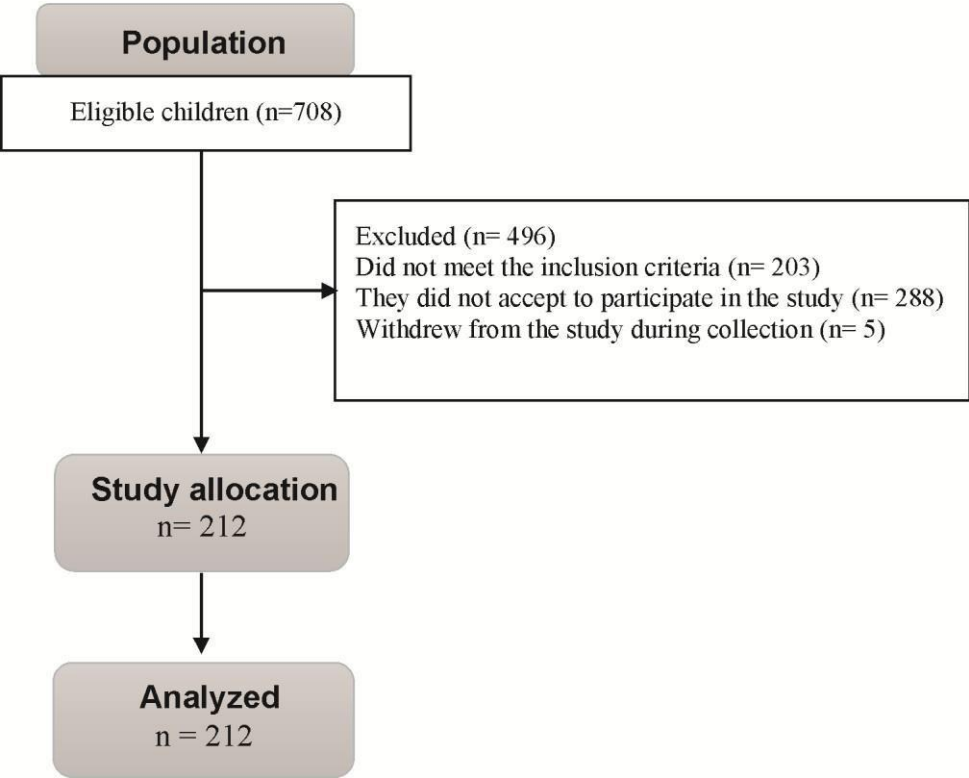
^aVLDL- very low-density lipoprotein,

^bHDL – high-density lipoprotein;

^cLDL– low- density lipoprotein,

^dTC– total cholesterol; Logistic regression.

Figure 1: Flow chart of the work execution



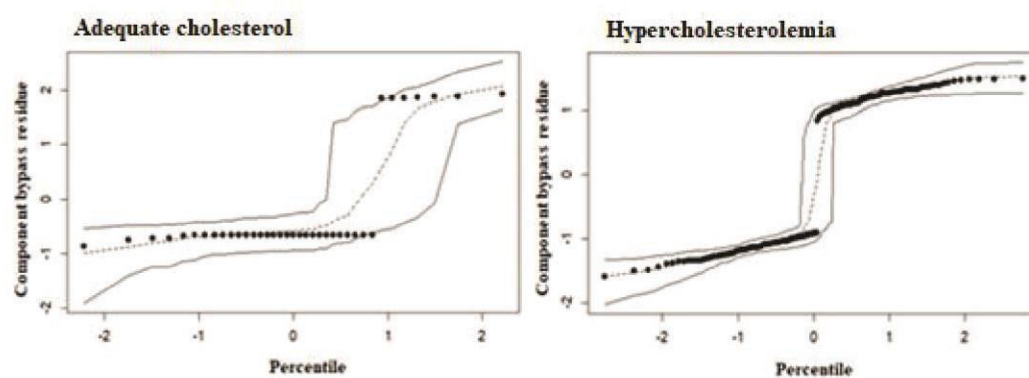


Figure 2: Binomial models adjusted for adequate cholesterol and hypercholesterolemia



Mobilization of Retinol by RBP-4 in hypercholesterolemic children

Journal:	<i>Biomarkers</i>
Manuscript ID:	TBMK-2020-OR-0036
Manuscript Type:	Original paper
Date Submitted by the Author:	22-Jan-2020
Complete List of Authors:	Trindade, Neidiane; Universidade Federal de Goiás - Campus Samambaia, Assunção, Leandro; Universidade Federal de Goiás - Campus Samambaia Silva Araujo, Danielle; Universidade Federal de Goiás - Campus Samambaia Silva, Maria; Universidade Federal de Goiás - Campus Samambaia
Keywords:	vitamin A, Retinol-binding protein, food consumption, children, dyslipidemia

SCHOLARONE™
Manuscripts

URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/tbmk> Email: IBMK-peerreview@journals.tandf.co.uk

Mobilization of Retinol by RBP-4 in hypercholesterolemic children

Neidiane Rosa Trindade^a, Leandro do Prado Assunção^b, Danielle Silva Araújo^c,
Maria Sebastiana Silva^{a*}.

Doctoral student in the Federal University of Goiás, , Laboratory of Physiology, Nutrition and Health, Brazil^a; Doctoral student in the Molecular Biology and Biochemistry at the Federal University of Goiás, Brazil^b; Doctoral student in the Doctor United College of Campinas, FacUnicamps- GO, Brazil^c;

Teacher in the Laboratory of Physiology, Nutrition and Health, Faculty of Physical Education and Dance, Federal University of Goiás, Brazil^{a}.*

* Corresponding author: Maria Sebastiana Silva (D)- Federal University of Goiás, Faculty of Physical Education, Laboratory of Physiology, Nutrition and Health. Mailbox 131, Campus Samambaia, Goiânia, GO, Brazil; Phone: (62) 3521-1256; Fax: 62 3521 1141; cell phone: + 55 (62) 9134-6540. E-mail address corresponding author: maria2593857@hotmail.com

Mobilization of Retinol by RBP-4 in hypercholesterolemic children

Abstract

Objective: To evaluate the influence of the anthropometric and lipid profile, blood pressure; serum retinol and diet on the concentration of RBP-4 in children with high and adequate cholesterol. **Materials and methods:** The study included 36 children 4-11 years of age of a Brazilian public school. Body mass, height, body mass index and blood pressure were checked. Total cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, retinol and retinol binding protein (RBP-4) were analyzed. In addition, macronutrient and vitamin A intake of the diet were measured. **Results:** The serum concentrations of LDL, triglycerides and retinol were higher ($p = 0.005$, $p = 0.003$; $p = 0.012$, respectively) in children with hypercholesterolemia. Children with hypercholesterolemia showed inadequacy in the concentration of triglycerides ($p = 0.003$) and retinol ($p = 0.002$). There was a positive association of RBP-4 with lipids ($p = 0.049$) and retinol ($p = 0.013$). It was also found that for each 1 gram of lipid ingested, there is an increase of 0.08 $\mu\text{mol/L}$ of RBP-4 ($\beta = 0.088$, $p = 0.041$) and for each 1 $\mu\text{mol/L}$ of retinol in the blood, there was an increase of 55.50 $\mu\text{mol/L}$ of circulating RBP-4 ($\beta = 55.50$, $p = 0.0009$). **Conclusion:** Higher concentrations of RBP4 were found in children with hypercholesterolemia, and this protein was associated with serum retinol and lipid intake. .

Keywords: Retinol-binding protein, vitamin A, food consumption, children, dyslipidemia.

Introduction

Retinol-binding protein 4 (RBP-4) is synthesized in the liver and, to a lesser extent in adipose tissue, in the form of apo RBP-4. In circulation it is found in the form of holo RBP-4 linked to retinol and transthyretin (TTR) (Blaner 1989, Tsutsumi *et al.* 1992, Ong *et al.* 2000).

Some studies show that RBP-4 secreted by adipocytes is related to obesity and insulin resistance (Cho *et al.* 2006, Klöting *et al.* 2007, Pandey *et al.* 2015). Although some studies have not found changes and associations of RBP-4 with diabetes (Erikstrup *et al.* 2009, Eynatten *et al.* 2007), trials in rats showed that exacerbated expression of RBP-4 promotes increased insulin and impairs insulin signaling in muscle via hepatic gluconeogenesis (Yang *et al.* 2005).

As for the action of RBP-4 as an adipokine and its relationship with insulin resistance, is that the translocator of glucose 4 (GLUT-4) in adipose tissue acts as a glucose sensor in response to the decrease in carbohydrate within the cells, these secrete adipokines such as RBP-

4, to abolish the entry of carbohydrate into skeletal muscle and increase output through the liver, which increases glucose in the circulation. It is certainly not known whether the extent of glucose influx or the expression of GLUT-4 that causes RBP-4 synthesis, but the blood concentration of the protein is different in several models (Yang *et al.* 2005).

The studies that link dyslipidemia with RBP-4 are controversial. Proteomic analysis showed suppression of RBP-4 when blood cholesterol in humans was elevated (Jugnam-ang *et al.* 2015). Other studies have observed a positive association of RBP-4 with a dyslipidemia profile and with cardiovascular diseases (Broch *et al.* 2010, Jugnam-ang *et al.* 2015, Wessel H 2019). In individuals with elevated triglycerides (TG) the concentration of circulating RBP-4 and TTR was higher and hypertriglyceridemia was approximately 4 times higher in individuals with increased concentration of RBP4 and TTR (Kwanbunjan *et al.* 2018) and there was also a positive relationship between RBP4 and very low density (VLDL) and low density (LDL) lipoproteins (Wessel H 2019).

In a previous study by our laboratory, an association of cholesterol with serum retinol concentration and higher levels of this nutrient deficiency were found in those with adequate cholesterol (unpublished data). Based on this finding, and because RBP-4 is an important retinol transport protein and its association with dyslipidemia, the hypothesis of the study is that cardiovascular risk markers influence the concentration of RBP-4.

Inadequate changes in children's eating patterns can cause disturbances in lipoprotein metabolism, such as increased concentration of triglycerides, total cholesterol and LDL-c and decreased high-density lipoprotein (HDL), which may cause a clinical picture of atherosclerosis in the future (Souza 2019). Even considering the importance of food, studies evaluating the relationship between RBP-4 and dyslipidemia and food consumption have not been found so far.

Most studies do not concurrently address the relationship between retinol and RBP-4 concentration with dyslipidemia or factors related to cardiovascular diseases, especially in children, therefore the influence of retinol on the status of RBP-4 in conditions of cardiometabolic risk. Thus, the aim of the study was to evaluate the influence of anthropometric parameters, lipid profile, blood pressure, serum retinol and nutrient intake on the concentration of RBP-4 in children with high cholesterol.

Materials and Methods

Study population

The study included 36 children 4-11 years old, selected from a Brazilian public school. Sixteen of them had hypercholesterolemia and twenty adequate cholesterol. . Figure 1 is the flowchart that shows how to select children for the study. The inclusion criteria for the study were: being 04 -11 years old. The exclusion criteria were considered to have cognitive disorders, severe physical and cardiorespiratory, which would impair data collection. The study was conducted in accordance with the ethics committee of the Federal University of Goiás, nº 1.970.935/2017. The consent form signed by parents or legal guardians and children before data collection.

Food consumption

Food consumption was assessed using a semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ), developed and validated by (Slater *et al.* 2003), adapted to the foods commonly used in the region, the parents were responsible for answering the questionnaire. For nutrient intake, all homemade measures were converted to grams (g) and entered into the Excel software program R[®] 2013. From these data, the average daily energy intake was obtained in kilocalories (Kcal), carbohydrate (mg), lipids (mg), cholesterol (mg), and fiber (mg).

Evaluation of anthropometric variables

The anthropometric parameters obtained were height (E), body mass (BM), body mass index (BMI) and waist circumference (WC). The E (m) was measured on a stadiometer (Sanny, São Paulo, Brazil), BM (kg) on a digital scale (Filizola, model 2096 PP, São Paulo, Brazil) and WC (cm), with an inextensible measuring tape.

BMI was obtained by dividing the BM by the square of the E and evaluated according to the values of z scores, according to the criteria of the World health organization (WHO 2007 and WHO 2018), Children with BMI scores ≥ -2 and $\leq +1$ were considered eutrophic $> +2$ and $\leq +3$ overweight and or obesity. For the evaluation of WC, the cutoff points established by the World health organization (WHO 2008).

Blood pressure

Blood pressure and heart rate were measured according to the criteria of the VI Brazilian Guidelines on Hypertension (SBC, 2016). The subject remained seated for five minutes with legs uncrossed, feet flat on the floor, back against the chair, relaxed and was instructed not to talk during the measurement. The cuff was positioned 2-3 cm above the cubital fossa and then

the brachial artery was detected to position the stethoscope bell. A semi automatic device model HEM 7200-E8 (OMROM, São Paulo, Brazil).

Laboratory analysis

For the evaluation of fasting glucose levels, triglycerides, total cholesterol, HDL, LDL and retinol, about 10 mL of blood was collected from each child, during a 12-hour fast, at the Basic Health Unit of the municipality.

The fasting blood glucose, cholesterol, LDL, HDL and triglycerides were analyzed by the colorimetric-enzymatic method in the automated equipment Abx Micros. For the classification of lipid fractions, reference values for children aged 4 to 11 years from the were used by the Brazilian Consensus on the Standardization of Laboratory Determination of the Lipid Profile (SBAC 2016). For retinol measurement, 5 mL of blood was transferred, at the time of collection, to a dark tube, packaged in ice and sent for analysis. The determination of retinol was performed in duplicate in a HPLC, in column Shim-park C18 (25 cm) CLC-ODS and column Shim-park CLC G-ODS, with methanol: water as the mobile phase (95:5) flow rate of 1.0 mL / min. The peak corresponding to vitamin A (retinol) at 325 nm (Shimadzu UV-VIS SPD-10AV) was identified by comparison with the retention time of the Sigma-Aldrich retinol standard. Serum retinol was classified according to the cutoff point recommended by the (WHO, 1996), deficient/low $<0.70 \mu\text{mol/L}$ and adequate $\geq 0.70 \mu\text{mol/L}$. Serum RBP4 concentrations were measured in duplicate using the kit ELISA (Assay pro LLC, St. Charles, EUA).

Statistical analysis

The test U-Mann-Whitney was used to compare continuous variables without normal distribution and the Student t test for those with normal distribution. The HDL, LDL, VLDL triglyceride and serum retinol classifications were compared between children with adequate and high cholesterol using the chi-square test. Spearman's correlation was used to assess the association of RBP-4 with anthropometric and biochemical parameters and blood pressure in the groups of children with hypercholesterolemia and cholesterol adequate. Multiple linear regression was performed to assess the influence of lipid intake and retinol concentration, which showed a moderate and significant correlation in Spearman's correlation analysis. Statistical analysis was performed in the R[®] program and the significance level adopted was $p < 0.05$.

Results

Table 1 shows the comparative results of the parameters, anthropometric, blood pressure and food consumption between individuals with adequate cholesterol and hypercholesterolemia, and no significant differences were observed between them.

However, the results of the comparative analysis of biochemical parameters, between children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia, showed that the serum concentrations of LDL, triglycerides and retinol were significantly higher ($p = 0.005$; $p = 0.003$; $p = 0.012$, respectively) in the group with hypercholesterolemia (Table 2).

Qualitative assessments of HDL, LDL, VLDL, triglyceride, FGB and retinol concentrations are shown in table 3. The results showed that children with hypercholesterolemia had inadequate triglyceride and serum retinol concentrations.

The association of anthropometric parameters, blood pressure, nutrient intake, lipid profile and blood retinol concentration, with RBP-4 levels was performed in the group of children with hypercholesterolemia and adequate, through Spearman's correlation (Table 4). Only in children with hypercholesterolemia it was observed that the higher the intake of lipids, the greater the content of RBP-4 ($r = 0.389$, $p = 0.049$) and that higher levels of retinol were also correlated with higher concentrations of RBP-4 ($r = 0.541$, $p = 0.013$).

Considering the significant results of the correlation analysis, the influence of lipid intake and serum retinol on the concentration of RBP-4 in children with hypercholesterolemia was analyzed using multiple linear regression (Table 5). The results showed that for each 1g of lipid ingested there was an increase of 0.08 $\mu\text{mol/L}$ of RBP-4 ($\beta = 0.088$, $p = 0.041$) and for each 1 $\mu\text{mol/L}$ of retinol in the blood there is an increase of 55.50 $\mu\text{mol/L}$ of circulating RBP-4 ($\beta = 55.50$, $p = 0.0009$).

Discussion

In this study, only in children with hypercholesterolemia it was observed that the amount of lipids ingested through the diet and serum retinol levels influenced the serum concentration of RBP-4, the latter being its greatest predictor.

Despite the high percentage of children with adequate serum retinol concentration in both the group with adequate cholesterol and hypercholesterolemia, the mean retinol values were higher in those with hypercholesterolemia. It is assumed that the higher retinol concentration is due to its effect on inactivating oxygen *singlet* and peroxy radicals (ROO) from lipid peroxidation, acting as an antioxidant (Gomes *et al.* 2005, Boni *et al.* 2010).

In children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia, the anthropometric parameters, blood pressure and nutrient intake were similar. However, blood concentrations of the lipid profile triglycerides and LDL were higher in children who were classified with hypercholesterolemia. Studies have shown inadequacies in the lipid profile of children at increasingly early ages (França and Alves 2006, Honorato *et al.* 2010, Souza 2019).

Even with adequate body mass, the children in this study had hypertriglyceridemia (53.00%), it is important to note that children with adequate cholesterol also had increased triglycerides, which justifies high percentile. Despite the scarcity in the literature of data on hypertriglyceridemia only in children, a study conducted in Brazil with children and adolescents showed results less frequently (56.00%) (Gomes *et al.* 2019).

Another study conducted in 31 public schools offering elementary education, also carried out with children and adolescents, observed simultaneous dyslipidemia between increased TG and reduced HDL in 12.1% of the population (Pereira *et al.* 2010).

A study carried out in Mexico also found an increase in (França and Alves 2006) serum triglyceride concentration in children aged 2 to 10 years (Bibiloni *et al.* 2015), and the justification for this dyslipidemia alteration is related to the intake of sugary drinks with a considerable increase in fat intake in the diet (Stern *et al.* 2014). Much attention should be directed to screening for dyslipidemia in childhood, because lipid levels in childhood are associated with the extent of atherosclerosis in adulthood, so despite the verification of macronutrients in our study, a qualitative assessment of the types of foods consumed is still needed in our children, in order to justify the source causing this increase in TGs.

Another possible explanation for the increase in the concentration of triglycerides (TG) in the groups with adequate cholesterol (17.00%) and hypercholesterolemia (36.00%) is the inadequate intake of food sources of carbohydrates or fats, which, in excess, can promote increase in circulating chylomicrons or very low-density lipoprotein (VLDL), as was also observed higher concentrations in children with hypercholesterolemia. Regardless of the origin of circulating lipids, that is, if they come from endogenous synthesis through excessive intake of calories or high content of dietary lipids, changes in eating habits are necessary, such as the reduction of carbohydrates and fat (Filgueiras *et al.* 2019).

Some dysfunctions can happen when there is an increase in the storage of TG and fatty acids. For example, with increased energy consumption, recruitment of fat into adipocytes becomes limited, and overloads the liver, visceral fat and muscle (Jung and Yoo 2018).

The relationship between the accumulation of lipids and insulin resistance is due to the increase in the oxidation of this nutrient, which generates an increase in the ratio of acetyl-

coenzyme A and NADH/NAD⁺, within the mitochondria, and consequently induces the inactivation of pyruvate, citrate saturation and inhibition of phosphofructokinase, with a consequent increase in intracellular glucose concentrations, which in response blocks the use of glucose by glycolytic enzymes and causes insulin resistance (Samuel *et al.* 2010).

In addition, the excess of free fatty acids (FFA) in plasma provides an abundant substrate for the synthesis of hepatic triglycerides and for gluconeogenesis, which exacerbates the secretion of VLDL, rich in TG, and the increase of these in the blood. (Ruan and Lodish 2003).

As for the LDL concentration, this lipoprotein may be related to the intake of saturated fat sources, such as milk, cheese, which is mainly responsible for the increase in the concentration of cholesterol in the blood, when consumed in excessive amounts (Rinaldi *et al.* 2012, Veiga *et al.* 2013).

A double-blind clinical trial study, conducted in a different age group than our study, carried out in men and women, showed the influence of diet on inflammatory processes. And it was shown that moderately high LDL concentration was associated with the stimulation of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6 in the circulation, in addition to being directly related to the increase in the consumption of margarine (Han *et al.* 2002).

When LDL particles are accumulated, they cause inflammatory diseases that occur in response to endothelial aggression, both in medium and large caliber arteries. LDL undergoes changes in its structure due to oxidative processes, stimulates leukocyte adhesion molecules and attracts lymphocytes and monocytes that will undergo maturation in macrophages, which become rigid transforming the true foam cells (Kattoor *et al.* 2017, Marchio *et al.* 2019).

The intake of lipids consumed in the diet was also evaluated in children from Maranhão, with hypercholesterolemia, and showed that the percentage of total fat was in accordance with the recommendations, but showed an inadequacy in the quality of this nutrient, with 57.90% of them consuming amounts high levels of saturated fats, considered unhealthy (Conceição *et al.* 2018). It is important to note that qualifying the type of fat ingested by children would help us to identify possible sources of food causing increased levels of circulating LDL.

In our study, serum retinol concentrations were significantly higher in children with hypercholesterolemia, who also had inadequacies in other lipid fractions such as triglycerides and LDL. This increase in retinol may be related to the greater hepatic mobilization of this nutrient, due to its role in oxidative processes (Albuquerque *et al.* 2016). Another study also found similar results, but in a different age group, with the justification that the greater availability of retinol in the circulation occurred due to the mobilization of this micronutrient

to the target tissues must be to promote a defense response against oxidative stress in hypertensive conditions and inflammatory (Diniz *et al.* 2009).

The type of dietary fat ingested, especially those rich in unsaturated fatty acids, can have a protective effect against cardiovascular diseases. Results obtained from patients with peripheral arterial disease showed that supplementation of two grams of alpha-linolenic polyunsaturated fatty acid (omega-3) promoted an improvement in the endothelial function of the group that received the supplement. The beneficial effects of omega-3 include lowering triglyceride concentrations, inhibiting the production of chemo-attractants and, consequently, reducing the inflammatory process (Schiano *et al.* 2008).

Through regression analysis, a positive association of RBP-4 with the amount of fat ingested through the diet was identified in children with hypercholesterolemia. A possible explanation for these results is that food sources of animal fats are also sources of retinol esters (Hombali *et al.* 2019), because it is a fat-soluble molecule, it needs retinol-binding protein (RBP-4) to be transported in the circulation and perform its physiological function. RBP4 is an enzyme synthesized in the liver in the form (apo-RBP-4) and when associated with retinol, especially in the liver cell, it is transformed into holo-RBP-4, which allows retinol to remain in circulation with the protein transthyretin or complex (thyroxine and retinol transporter, TTR) until they reach the target cell (Berry and Noy2011).

To date, there are no studies relating the concentration of RBP-4 and food consumption, the result found in children with hypercholesterolemia is interesting, because they suggest that the serum concentrations of retinol and RPB-4 were dependent on food intake. On the other hand, they did not observe the same associations in children with adequate cholesterol, which may indicate that the association of RBP-4 with serum retinol in children with hypercholesterolemia may be due to greater mobilization of hepatic retinyl esters, due to possible oxidative stress and inflammatory process in this group (Paes-Silva *et al.* 2019).

Several studies have evaluated RBP-4 separately in order to consider it as an adipokine alone (Comerford *et al.* 2014, Wessel H 2019). Differently from the evaluation of our study, there was no association of RBP-4 with lipid profile and blood pressure, to the point of identifying them only as an adipokine.

Conclusions

The RBP-4 serum was associated with retinol and dietary lipid intake in children just as hypercholesterolemia. This finding is relevant because it showed the behavior of retinol binding protein in this group of children. However, the study has limitations, one of which is the small

number of children evaluated and the absence of some biochemical markers that would help to better understand the role of RBP-4 and retinol in children with dyslipidemia. Thus, studies are needed to assess the association of retinol and RBP-4 with insulin and some inflammatory and oxidative markers with TNF-alpha, interferon gamma, interleukin 6, catalase, peroxide dismutase and glutathione peroxidase, in addition to quantitative and qualitative parameters of diet.

Acknowledgments

This work was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Disclosure statement

The authors report no conflicts of interest.

References

- Albuquerque M.N.D.L, Diniz A.D.S, Arruda I.K.G.D., 2016. Elevated Serum Retinol and Low Beta-Carotene but not Alpha-Tocopherol Concentrations Are Associated with Dyslipidemia in Brazilian Adolescents. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*,62: 73-80.
- Berry D., Noy N., 2011. Signaling by vitamin A and retinol-binding protein in regulation of insulin responses and lipid homeostasis. *Biochimica et biophysica acta*, 1821: 168-176.
- Bibiloni M.D.M., et al., 2015. Serum Lipid Levels and Dyslipidaemia Prevalence among 2–10 Year-Old Northern Mexican Children. *PloS one*, 10: e0119877.
- Blaner W.S (1989). Retinol-binding protein: the serum transport protein for vitamin A. *Journal Endocrine*, 10: 308-316.
- Boni A., et al., 2010. Vitaminas antioxidantes e prevenção da arteriosclerose na infância. *Revista Paulista de Pediatria*, 28: 373-380.
- Broch M., et al., 2010. Association of retinol-binding protein-4 (RBP4) with lipid parameters in obese women. *Obesity Surger*, 20: 1258-1264.
- Cho Y.M., et al., 2006. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 29: 2457-2461.

Comerford K., Buchan W., Karakas S., 2014. The Effects of Weight Loss on FABP4 and RBP4 in Obese Women with Metabolic Syndrome. *Hormone and metabolic research*, 46(3):224-31.

Conceição S.I.O.D., *et al.*, 2018. Índice de Alimentação Saudável: adaptação para crianças de 1 a 2 anos. *Ciência & Saúde Coletiva* 23: 4095-4106.

Diniz A., Kruze I., Arruda G., 2009. Retinolemia, consumo de vitamina A e pressão arterial em idosos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59 (4).

Erikstrup C., *et al.*, 2009. RBP-to-retinol ratio, but not total RBP, is elevated in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, obesity & metabolism*, 11: 204-212.

Eynatten M., *et al.*, 2007. Retinol-binding protein 4 is associated with components of the metabolic syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease. *Diabetologia*, 50: 1930-1937.

Filgueiras M.D.S., *et al.*, 2019. O histórico familiar está associado à presença de dislipidemia em crianças pré-escolares. *Revista paulista de pediatria*, 37: 41-48.

França E., Alves J., 2006. Dislipidemia entre crianças e adolescentes de Pernambuco. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, 87 (6): 722-727.

Gomes É.I.L., *et al.*, 2019. Evaluation of Lipid Profiles of Children and Youth from Basic Health Units in Campinas, SP, Brazil: A Cross-Sectional Laboratory Study. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*.

Gomes M.M., *et al.*, 2005. Papel da vitamina A na prevenção do estresse oxidativo em recém-nascidos. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, 5: 275-282.

Han S., *et al.*, 2002. Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia. *Journal of lipid research*, 43: 445-452.

Hombali A., *et al.*, 2019. Fortification of staple foods with vitamin A for vitamin A deficiency. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 5, 1-109.

Honorato A.D.S., *et al.*, 2010. Perfis antropométrico, lipídico e glicêmico em adolescentes de uma instituição filantrópica no noroeste do Paraná. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 46: 07-15.

Jugnam-ang W., *et al.* 2015. Retinol-binding protein 4 and its potential roles in hypercholesterolemia revealed by proteomics. *EXCLI Journal*, 14: 999-1013.

Jung M., Yoo E-G., 2018. Hypertriglyceridemia in Obese Children and Adolescents. *J Obes Metab Syndr*, 27:143-149.

Kattoor A.J., *et al.*, 2017. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 19: 42.

Klötting N., *et al.*, 2007. Serum Retinol-Binding Protein Is More Highly Expressed in Visceral than in Subcutaneous Adipose Tissue and Is a Marker of Intra-abdominal Fat Mass. *Cell metabolism*, 6: 79-87.

Kwanbunjan K., *et al.*, 2018. Association of retinol binding protein 4 and transthyretin with triglyceride levels and insulin resistance in rural thais with high type 2 diabetes risk. *BMC Endocr Disord*, 18: 26.

Marchio P., *et al.*, 2019. Targeting Early Atherosclerosis: A Focus on Oxidative Stress and Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019: 1-32.

Ong D.E., *et al.*, 2000. Epididymal retinoic acid-binding protein. *Biochim Biophys Acta* 1482: 209-217.

Paes-Silva R.P., *et al.*, 2019. Adiposity, inflammation and fat-soluble vitamins in adolescents. *Jornal de Pediatria*, 95: 575-583.

Pandey G.K., *et al.*, 2015. Altered Circulating Levels of Retinol Binding Protein 4 and Transthyretin in Relation to Insulin Resistance, Obesity, and Glucose Intolerance in Asian Indians. *Endocr Pract*, 21: 861-869.

Pereira P.B., *et al.*, 2010. Perfil lipídico em escolares de Recife - PE. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 95: 606-613.

Rinaldi A.E.M., *et al.*, 2012. Dietary intake and blood lipid profile in overweight and obese schoolchildren. *BMC Research Notes*, 5: 598.

Ruan H., Lodish H., 2003. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor-[alpha]. *Cytokine & growth factor reviews*, 14: 447-455.

Samuel V., *et al.*, 2010. Lipid-Induced insulin resistance: Unravelling the mechanism. *Lancet* 375: 2267-2277.

Sociedade Brasileira de Análises clínicas, Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Cardiologia-Departamento de Aterosclerose, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, 2016. Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, 12: 1-5.

Sociedade Brasileira de Cardiologia., 2016. VII Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial *Sociedade Brasileira de Cardiologia*, 107: 1-103.

Schiano V., *et al.*, 2008. Omega-3 polyunsaturated fatty acid in peripheral arterial disease: Effect on lipid pattern, disease severity, inflammation profile, and endothelial function. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 27: 241-247.

Souza N.A.D.V, *et al.*, 2019. Dislipidemia familiar e fatores associados a alterações no perfil lipídico em crianças. *Ciência & Saúde Coletiva*, 24: 323-332.

Popa D , *et al.*, 2014 . Caloric Beverages Were Major Sources of Energy among Children and Adults in Mexico, 1999-2012. *The Journal of nutrition*, 144 (6): 949-56.

Tsutsumi C., *et al.*, 1992. Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. *J Biol Chem*, 267: 1805-1810.

Veiga G, *et al.*, 2013. Inadequação do consumo de nutrientes entre adolescentes brasileiros. *Revista de Saúde Pública*, 47; 212-221.

Wessel H S.A, *et al.*, 2019. Plasma Levels of Retinol Binding Protein 4 Relate to Large VLDL and Small LDL Particles in Subjects with and without Type 2 Diabetes. *Journal Clinic Medic*, 8 (11).

World health organization (WHO) 2007. Child growth standars; Avaliable from: <http://www.who.int/childgrowth/en/>.

World health organization (WHO) 2018. Obesity and overweighth.; Avaliable from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

World health organization (WHO), 1996. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes.

World health organization (WHO), 2008. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio Report of a WHO Expert Consultation.

Yang Q., *et al.*, 2005. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*, 436: 356-362.

Table 1. Anthropometric data, blood pressure and food intake of children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.

Variables	Adequate cholesterol (n=20)	Hypercholesterolemia (n=16)	p
Age	6.50 ± 2.32	7.35 ± 1.83	0.888 ¹
Height (m)	1.20 ± 0.13	1.21 ± 0.12	0.718 ²
BM (Kg)	35.83 ± 11.71	30.89 ± 7.94	0.290 ¹
WC (cm)	63.27 ± 11.01	67.37 ± 10.10	0.262 ²
Score Z/BMI	24.98 ± 8.03	21.13 ± 5.62	0.262 ¹
SBP (mmHg)	100.80 ± 16.71	93.63 ± 14.50	0.178 ₁
DBP (mmHg)	64.30 ± 17.25	56.31 ± 12.94	0.149 ¹
IG carbohydrate (mg/Kg)	282.13 ± 168.33	277.16 ± 141.79	0.888 ¹
IG lipids (mg/Kg)	62.51 ± 38.96	64.56 ± 43.74	0.912 ¹
IG cholesterol (mg/Kg)	263.19 ± 194.10	379.30 ± 520.62	0.694 ¹
IG fiber (mg/Kg)	31.46 ± 17.00	30.55 ± 16.37	0.863 ²

Notes: BM– body mass; WC– waist circumference; BMI– body mass index; SBP– systolic blood pressure; DBP– diastolic blood pressure; IG - ingested; ¹p- obtained by the Wann-Whitney; ²p- obtained by test t Student for independent samples. Significance level p <0.05.

Table 2. Results of the comparative analysis of the variables of the lipid profile, RBP-4 and retinol concentration among children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.

Variables	Adequate cholesterol (n=20)	Hypercholesterolemia (n=16)	p
FBG (mg/dL)	84,21 ± 11,28	87,85 ± 8,85	0,310 ¹
TG (mg/dL)	70,25 ± 36,00	100,68 ± 54,89	0,003 ¹
HDL (mg/dL)	50,55 ± 12,98	50,00 ± 8,00	0,863 ²
LDL (mg/dL)	70,95 ± 21,16	91,20 ± 28,77	0,005 ²
VLDL (mg/dL)	19,34 ± 11,34	26,59 ± 12,58	0,021 ¹
Retinol (µmol/L)	0,90 ± 0,40	1,43 ± 0,34	0,012 ¹
RBP-4 (µg/mL)	19,53 ± 9,28	23,36 ± 3,50	0,077 ²

Notes: FBG– fasting blood glucose, TG- triglycerides, HDL- high density lipoprotein, LDL- low density lipoprotein, VLDL- low density lipoprotein, RPB-4- retinol binding protein; ¹p- obtained by Wann-Whitney; ²p- obtained by test Student for independent samples. Significance level p <0.05.

Table 3. Comparison of the classification of parameters HDL, LDL, VLDL, triglycerides and serum retinol in children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.

Variables	Classification	Adequate Cholesterol n (%)	Hypercholesterolemia n (%)	P¹	OR
HDL (mg/dL)	Adequate	11 (30.50)	11 (30.50)	0.311	-
	Inadequate	9 (25.00)	5 (14.00)		-
LDL (mg/dL)	Adequate	20 (56.00)	14 (39.00)	0.190	-
	Inadequate	0 (0.00)	2 (5.00)		
VLDL (mg/dL)	Adequate	2 (5.50)	14 (39.00)	0.980	-
	Inadequate	2 (5.50)	18 (50.00)		
TG (mg/dL)	Adequate	14 (39.00)	3 (8.00)	0.003	10.11
	Inadequate	6 (17.00)	13 (36.00)		
FBG	Adequate	1 (3.00%)	2 (6.00%)	0.98	-
	Inadequate	15 (41.00%)	18 (50.00%)		
Retinol	Adequate	9 (25.00)	11 (30.50)	0.002	12.77
	Inadequate	1 (2.50)	15 (42.00)		

Notes: HDL- high-density lipoprotein; LDL- low density lipoprotein; VLDL- low-density lipoprotein; TG- triglycerides, FBG- fasting blood glucose; ¹p- obtained by the chi-square test. Significance level p <0.05.

Table 4. Results of the analysis of the correlation of RBP-4 with anthropometric variables, blood pressure, nutrient intake, lipid profile and retinol concentration, in groups of children with adequate cholesterol and hypercholesterolemia.

Variables	Adequate cholesterol (n=20)		Hypercholesterolemia (n=16)	
	r	Value-p	r	Value-p
Height (m)	-0.063	0.815	0.248	0.290
BM (Kg)	-0.144	0.593	0.072	0.076
WC (cm)	0.125	0.644	-0.004	0.984
Score Z/BMI	-0.038	0.891	-0.083	0.072
SBP (mmHg)	-0.343	0.188	0.151	0.524
DBP (mmHg)	-0.420	0.104	0.121	0.609
IG carbohydrate (mg/ Kg)	0.314	0.234	0.208	0.378
IG lipids (mg/ Kg)	0.470	0.057	0.389	0.049*
IG cholesterol (mg/ Kg)	0.208	0.436	0.346	0.134
IG fiber (mg/ Kg)	-0.141	0.601	0.287	0.219
FBG (mg/dL)	-0.115	0.670	0.150	0.530
TG (mg/dL)	0.308	0.891	0.006	0.977
HDL (mg/dL)	-0.354	0.177	-0.224	0.341
LDL (mg/dL)	-0.108	0.688	0.215	0.360
VLDL (mg/dL)	0.070	0.757	-0.100	0.713
TC (mg/dL)	0.300	0.258	0.015	0.626
Retinol (µmol/L)	0.222	0.407	0.541	0.013*

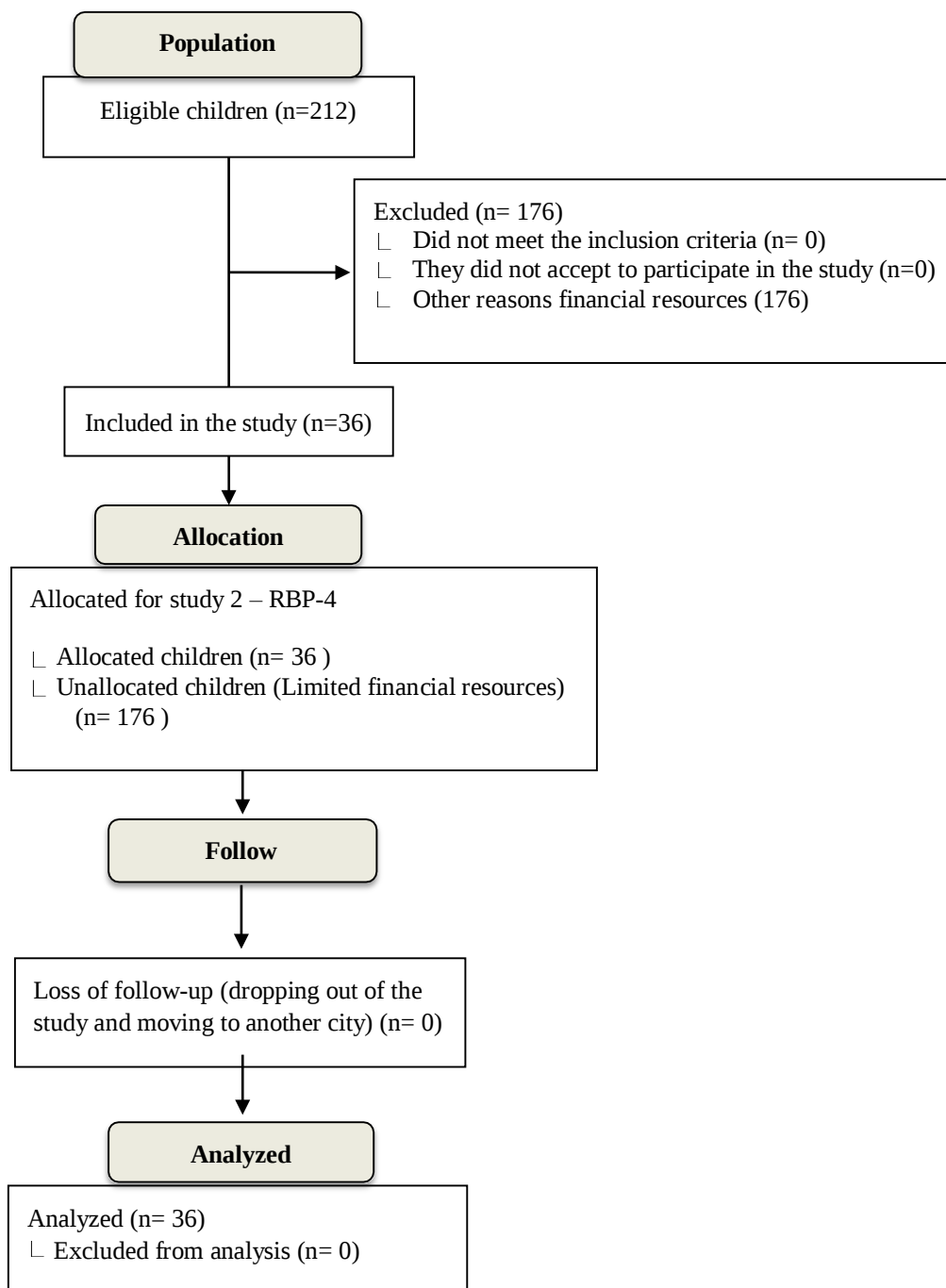
Notes: BM– body mass; WC– waist circumference; BMI– body mass index; SBP– systolic blood pressure; DBP– diastolic blood pressure; IG – ingested; FBG- fasting blood glucose; TG- triglycerides; HDL- high density lipoprotein; LDL- low density lipoprotein; VLDL- low density lipoprotein; TC– total cholesterol. * *p*- value obtained by Spearman’s Correlation. Significance level < 0.05.

Table 5. Result of multiple linear regression analysis between the outcome variable (RBP-4 in $\mu\text{mol/L}$) and the predictors (lipid intake and blood retinol concentration), in children with hypercholesterolemia.

Variables	β	Value-p
Intercept	1.63	0.831
IG lipids (g/dia)	0.088	0.041
Retinol ($\mu\text{mol/L}$)	55.50	0.0009

Notes: IG – ingested. p - obtained by the Multiple Linear Regression. Significance level < 0.05.

Figure 1: Flow chart of the work execution. The work was carried out in two distinct groups: the group with hypercholesterolemia and with adequate cholesterol. Children were recruited from a school. The flowchart below shows the study steps.



5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a hipercolesterolemia foi o principal fator de risco cardiometabólico associado à concentração de retinol sérico, e que esta associação pode ser devido ao estado patológico oxidativo induzido pela aumento do colesterol total e LDL. Foram encontradas maiores concentrações séricas de RBP-4 e sua associação com retinol e lipídios da dieta em crianças com colesterol elevado. Estas informações são importantes, pois mostraram o comportamento da proteína ligante de retinol frente à dislipidemia, em crianças, e sua relação com a dieta.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo proporcionou um maior conhecimento sobre o papel do retinol e RBP-4, sobre o perfil hipercolesterolêmico. As crianças do estudo apresentaram fatores de risco cardiovascular, como o colesterol total elevado e uma associação positiva com o retinol. O grupo de crianças com colesterol elevado, apresentou associação positiva com a RBP-4, retinol e lipídeo da dieta.

REFERÊNCIAS

ABESO. **Diretrizes brasileiras de obesidade 2016**. Vol 4º 2016.

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.

BARROS, V. O. et al. Perfil alimentar de crianças com excesso de peso atendidas em Unidades Básicas de Saúde da Família em Campina Grande-PB. **Alim Nutri**, v. 22, n. 2, p. 239-245, 2011.

BENDICH, A.; OLSON, J. A. Biological actions of carotenoids. **Journal FASEB**, v. 3, n. 8, p. 1927-1932, June 1, 1989.

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.

BOYRAZ, M. et al. Relationship of adipokines (adiponectin, resistin and RBP4) with metabolic syndrome components in pubertal obese children. **Biomarkers in Medicine**, v. 7, n. 3, p. 423-428, 2013.

BRUN, P. J. et al. Retinoids: Potent regulators of metabolism. **Biofactors**, v. 39, n. 2, p. 151-63, Mar-Apr, 2013.

BRUNDTLAND, G. H. Reducing risks to health, promoting healthy life. **JAMA**, v. 288, n. 16, p. 1974-1974, 2002.

CAMONT, L.; CHAPMAN, M. J.; KONTUSH, A. Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. **Trend mol Med**. v. 17, n. 10, p. 594-603.

CHISSINI, R. B. C. et al. Obesidade na infância e adolescência: associação da inflamação e resistência à insulina com alterações metabólicas. **revista.hupe.uerj.br**. v. 14, n. 3, jul-set, 2015.

CONAWAY, H. H.; HENNING, P.; LERNER, U. H. Vitamin A Metabolism, Action, and Role in Skeletal Homeostasis. **Endocrine Reviews**, v. 34, n. 6, p. 766-797, 2013.

D'AMBROSIO, D. N.; CLUGSTON, R. D.; BLANER, W. S. Vitamin A metabolism: an update. **Nutrients**, v. 3, n. 1, p. 63-103, Jan 2011.

- EILAND, L. S. et al. Use of statins for dyslipidemia in the pediatric population. **The journal of pediatric pharmacology and therapeutics: JPPT**, v. 15, p. 160-172, 2010.
- EZZATI, M. et al. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. **The Lancet**, v. 360, n. 9343, p. 1347-1360, 2002.
- FRANCA, E.; ALVES, J. G. B. Dislipidemia entre Crianças e Adolescentes de Pernambuco. **Arq Bras Cardiol**, v. 87, n.6, p. 722-727, 2006.
- FRANCISCHI, R. P. P. D. et al. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, v. 13, p. 17-28, 2000.
- GONDIM, T. M. et al. Aspectos fisiopatológicos da dislipidemia aterogênica e impactos na homeostasia. **RBAC**, v. 49, n.2, p. 120-6, 2017.
- GV, A. et al. Male mice are susceptible to high fat diet-induced hyperglycaemia and display increased circulatory retinol binding protein 4 (RBP4) levels and its expression in visceral adipose depots. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 122, n. 1, p. 19-26, 2016.
- HERR, F. M. et al. Intestinal vitamin A metabolism: coordinate distribution of enzymes and CRBP(II). **J Lipid Res**, v. 34, n. 9, p. 1545-54, 1993.
- REIS, J. S. et al. Estresse Oxidativo: Revisão da Sinalização Metabólica no Diabetes Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab**. V. 52, n. 7, 2008.
- HURTUBISE, J. et al. The Different Facets of Dyslipidemia and Hypertension in Atherosclerosis. **Curr Atheroscler Rep**, v 18, n. 12, 2016.
- JEYAKUMAR, S. M.; VAJRESWARI, A.; GIRIDHARAN, N. V. Chronic dietary vitamin A supplementation regulates obesity in an obese mutant WNIN/Ob rat model. **Obesity (Silver Spring)**, v. 14, n. 1, p. 52-9, Jan 2006.
- JOSÉ ROCHA FARIA-NETO, J. R. et al. ERICA: prevalência de dislipidemia em adolescentes brasileiros. **Rev Saúde Pública**, v. 50, p. 1-10, 2016.
- JUONALA, M. et al. Childhood adiposity, adult adiposity and cardiovascular risk factors. **The New England Journal of Medicine**, v. 365, p. 1876-1885, 2011.
- JUONALA, M. et al. Main findings from the prospective cardiovascular risk in young finns study. **Current Opinion in Lipidology**, v. 24, n. 1, p. 57-64, 2013.
- KATTOOR, A.J. et al. Oxidative Stress in Atherosclerosis. **Curr Atheroscler Rep**, v. 18, 19-42, 2017.
- KETELHUTH, D. F. J, HANSSON, G. K. Cellular immunity, low-density lipoprotein and atherosclerosis: break of tolerance in the artery wall. **Thromb Haemost.** n. 106, v. 5, p. 779-786, 2011.
- KLIEWER, S. A. et al. Retinoid X receptor interacts with nuclear receptors in retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D3 signalling. **Nature**, v. 355, n. 6359, p. 446-449, 1992.

- LAMBADIARI, V. et al. Serum levels of retinol-binding protein-4 are associated with the presence and severity of coronary artery disease. **Cardiovasc Diabetol.** v.13, n.121, p. 1-8, 2014.
- LAMBERT, M. S. et al. The differential hepatic uptake of chylomicron remnants of different fatty acid composition is not mediated by hepatic lipase. **Br J Nutr**, v. 85, n. 5, p. 575-82, May 2001.
- LI, F. et al. Involvement of RBP4 in hyperinsulinism-induced vascular smooth muscle cell proliferation. **Endocrine**, v. 48, n. 2, p. 472-82, Mar 2015.
- LIETZ, G. LANGE, J.; RIMBACH, G. Molecular and dietary regulation of beta,beta-carotene 15,15'-monooxygenase 1 (BCMO1). **Biophys Arch Biochem**, v. 502, n. 1, p. 8-16, Oct 1 2010.
- LOBO, G. P., et al. ISX is a retinoic acid-sensitive gatekeeper that controls intestinal β,β -carotene absorption and vitamin A production. **FASEB J.** v. 24, p. 1656–1666, 2010.
- LOPES, P. C. S.; PRADO, S. R. L. D. A.; COLOMBO, P. Fatores de risco associados à obesidade e sobrepeso em crianças em idade escolar. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 63, p. 73-78, 2010.
- 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.
- 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.
- DE SOUZA, N. A., et al. Dislipidemia familiar e fatores associados a alterações no perfil lipídico em crianças. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, n. 1, p. 323-332, 2019.
- NAYLOR, H. M, NEWCOMER, M. E. "The structure of human retinol-binding protein (RBP) with its carrier protein transthyretin reveals an interaction with the carboxy terminus of RBP". **Biochemistry**. v. 38, n.9, p. 2647-2653, 1999.
- 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.
- PANDEY, G. K., et al. Altered Circulating Levels of Retinol Binding Protein 4 and Transthyretin in Relation to Insulin Resistance, Obesity, and Glucose Intolerance in Asian Indians. **Endocr Pract**, v. 21, n. 8, p. 861-9, Aug 2015.
- PEREIRA, P. B., et al. Perfil Lipídico em Escolares de Recife – PE. **Arq Bras Cardiol**, v.95, n.5, p. 606-613, 2010.
- MACHIO, P., et al. Targeting Early Atherosclerosis: A Focus on Oxidative Stress and Inflammation. **Oxid Med Cell Longev**. p.1-32, 2019.
- Ministério da Saúde. PORTARIA Nº 729/GM Em 13 de maio de 2005: Institui o Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A e dá outras providências. Brasília: **Ministério da Saúde**; 2005.

RADU, R. A., et al. "Reductions in serum vitamin A arrest accumulation of toxic retinal fluorophores: a potential therapy for treatment of lipofuscin-based retinal diseases". **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. v.46, n.12, p. 4393–401, 2005.

RAMALHO, H. M. M., et al. Concentração de retinol em ovos de codorna e de galinha e sua relação com a recomendação nutricional para vitamina A. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, p. 488-494, 2012.

RIBAS, A.S.; SILVA, L. C. S. Dislipidemia em Escolares na rede Privada de Belém. **Arq Bras Cardiol**. v.92, n.6, p. 446-451, 2009.

TAKAHASHI, S. Triglyceride Rich Lipoprotein -LPL-VLDL Receptor and Lp(a)-VLDL Receptor Pathways for Macrophage Foam Cell Formation. **Atheroscler Thromb**, v. 24, p. 552-559, 2017.

SAMPAIO, S. C. et al. Perfil lipídico de jovens escolares entre 2 e 19 anos no interior da Bahia. **Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, v. 11, p. 290-300, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial, **Sociedade Brasileira de Cardiologia**. 2016; 107:1-103.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIA. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, **SBC**, v. 109, N. 1, p. 1-92, 2017.

SHEHRI, S. N. et al. Prevalence of hyperlipidemia among Saudi school children in Riyadh. **Ann Saudi Med**. v. 24, n. 1, p. 6-8, 2004.

SHERWIN, J. C. et al. Epidemiology of vitamin A deficiency and xerophthalmia in at-risk populations. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 4, p. 205-214, 2012.

SIES H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**. vol. 4, p. 180– 183, 2015

SLATER, BETZABETH. et al. Validação de Questionários de Frequência Alimentar - QFA: considerações metodológicas. **Rev. Bras. Epidemiol**, v. 6, n. 3, p.201-209, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. I Diretriz de prevenção da aterosclerose na infância e na adolescência. **Arq Bras Cardiol**. v. 85, n 6, p. 4-36, 2010.

TESKE, M. et al. Plasma concentrations of retinol in obese children and adolescents: relationship to metabolic syndrome components. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 32, p. 50-54, 2014.

THEODOSIOU, M.; LAUDET, V.; SCHUBERT, M. From carrot to clinic: an overview of the retinoic acid signaling pathway. **Cell Mol Life Sci**, v. 67, n. 9, p. 1423-45, May 2010.

VAN, BENNEKUM., et al. Hydrolysis of retinyl esters by pancreatic triglyceride lipase. **Biochemistry**. v.39, p. 4900–4906, 2000.

VAN, BENNEKUM A., ET AL. Class B scavenger receptor-mediated intestinal absorption of dietary β -carotene and cholesterol. **Biochemistry**. v.44, p. 4517–4525, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The Global Prevalence of Vitamin A Deficiency. Micronutrient Deficiency Information System (MDIS) Working Paper 2**. Geneva: WHO; 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2007. **Child growth standars; Avaliable from:** <http://www.who.int/childgrowth/en/>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity and overweighth.**; Avaliable from. 2018. **from:**<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes**. 1996

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Waist Circumference and Waist-Hip Ratio Report of a WHO Expert Consultation**. 2008

WHO. **Waist Circumference and Waist-Hip Ratio. Report of a WHO expert consultation, Geneva, 8-11 December 2008**, p.1-32, 2011.

WHO. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. **Micronutrient Series**, v. 10, 1996.

WISSE, E. et al. The liver sieve: considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and the space of Disse. **Hepatology**, v. 5, n. 4, p. 683-92, Jul-Aug 1985.

WORTSMAN, J. et al. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 72, n. 3, p. 690-693, 2000.

YU, V. C. et al. RXR β : A coregulator that enhances binding of retinoic acid, thyroid hormone, and vitamin D receptors to their cognate response elements. **Cell**, v. 67, n. 6, p. 1251-1266, 1991.

ZABETIAN-TARGHI, F. et al. Retinol Binding Protein 4 in Relation to Diet, Inflammation, Immunity, and Cardiovascular Diseases. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 6, n. 6, p. 748-762, November 1, 2015 2015.

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.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Síndrome metabólica: respostas metabólicas, oxidativas e inflamatórias de programas de exercício físico e nutricional em escolares de 4 a 11 anos de Santo Antônio de Goiás

Pesquisador: Maria Sebastiana Silva

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 62297616.7.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.970.935

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto guarda-chuva (com cinco subprojetos aninhados) que avaliará aspectos relacionados à síndrome metabólica em crianças. Para avaliar o efeito de programas de exercício físico e nutricional sobre as respostas metabólicas, oxidativas e inflamatórias em escolares de 4 a 11 anos de idade na cidade de Santo Antônio de Goiás, serão recrutadas crianças a partir da população de escolares na faixa etária descrita, do referido município (duas escolas de ensino básico que no ano de 2015 tinham matriculadas 780 crianças com idade entre 4 a 11 anos). As variáveis a serem analisadas serão: bioquímicas (glicemia de jejum e perfil lipídico), antropométricas (circunferência da cintura) e sinais clínicos (aferição da pressão arterial) para diagnóstico da síndrome metabólica. Também serão avaliados o índice de massa corporal, a composição corporal por bioimpedância elétrica e por radiologia por densitometria por dupla emissão de raios-X, bem como concentrações séricas de proteína C-reativa (PCR), homocisteína e glutatona peroxidase, além da capacidade física (PROESP-BR) e cardiopulmonar (teste de esforço cardiopulmonar – TECP). O protocolo é dividido em: 1) estudo transversal, que avaliará a prevalência da síndrome metabólica, a composição corporal e o processo inflamatório das crianças; 2) estudos caso-controle que estimarão a concentração de enzimas envolvidas no processo oxidativo e determinarão a aptidão física e cardiopulmonar das crianças com e sem

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambá **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIÂNIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpl.ufg@gmail.com



UFG - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE GOIÁS



Continuação do Projeto: 1.870.935

síndrome metabólica e que avaliarão a relação da obesidade e da resistência à insulina com a deficiência de vitamina A e seu ligante RBP-4; 3) ensaio clínico que avaliará os efeitos da suplementação de vitamina D e vitamina A e de outros nutrientes e não nutrientes da alimentação, além dos efeitos de protocolos de exercícios físicos, sobre os fatores antropométricos e bioquímicos de crianças com e sem síndrome metabólica ou com e sem excesso de peso corporal. Os critérios de inclusão no estudo serão: ter idade entre 4 e 11 anos, residir em Santo Antônio de Goiás, estar matriculado em escolas do ensino básico e fundamental do município e não ter doenças como alergias, deficiências cognitivas e físicas, além de doenças respiratórias crônicas e cardiológicas graves, que impeçam a coleta de dados e a participação nos estudos de intervenção.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito de programas de exercício físico e nutricional sobre as respostas metabólicas, oxidativas e inflamatórias em escolares de 4 a 11 anos de idade.

Objetivos Secundários:

- Caracterizar o nível sócio-demográfico e nível de atividade física de crianças de Santo Antônio de Goiás;
- Estimar a composição corporal e aptidão cardiorrespiratória das crianças antes e após aplicação dos programas de intervenção;
- Diagnosticar crianças com e sem síndrome metabólica;
- Calcular a prevalência da síndrome metabólica entre as crianças;
- Medir níveis séricos de enzimas relacionadas ao processo oxidativo e inflamatório e analisar a sua relação com a aptidão cardiorrespiratória e os componentes da síndrome metabólica, antes e após aplicação dos programas de intervenção;
- Avaliar os aspectos relacionados a qualidade de vida dos escolares, antes e após aplicação dos programas de intervenção;
- Medir níveis séricos de vitamina A e da proteína RBP-4 e associá-los com o consumo alimentar, em crianças obesas, não-obesas e com resistência à insulina;
- Medir níveis séricos de vitamina D em crianças e associá-lo com o consumo alimentar e com a síndrome metabólica e seus componentes;
- Investigar os efeitos da suplementação de vitamina D e de programas de educação nutricional e de

Endereço: Prédio da Rectoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-670

UF: GO

Município: GOIÂNIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com

Página 32 de 38



Continuação do Parecer: 1.970.935

exercícios físicos na síndrome metabólica e seus componentes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Esse trabalho poderá acarretar em desconforto (dor, ardência, edema, eritema, cansaço e fadiga) no momento da coleta de sangue e durante os testes de campo e de esteira. Contudo serão tomadas medidas para minimizar e tratar qualquer desconforto.

Benefícios:

Os participantes, juntamente com os pais ou responsáveis, terão acesso aos resultados da avaliação física, pressão arterial, consumo alimentar e exames bioquímicos, os quais servirão para diagnosticar problemas de saúde. Neste caso, os pais ou responsáveis receberão orientações para prevenção e tratamento das alterações diagnosticadas. Ainda, o estudo propõe a identificação de alterações metabólicas e moleculares, associadas à síndrome metabólica, que podem nortear políticas de prevenção, principalmente da obesidade, desde a idade escolar, inculcando nestes escolares hábitos de vida saudáveis.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Cronograma apresenta-se adequado, com indicação de recrutamento dos voluntários a partir de 08 de maio de 2017 e início de coleta de dados a partir de 05 de junho de 2017 (no documento Informações Básicas da Pesquisa). No arquivo do projeto, indicam-se início de recrutamento e coleta de dados a partir do mês de maio de 2017.
- Em parecer anterior foi recomendado: "Retirar o item CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO DA PESQUISA do questionário sociodemográfico. O consentimento é obtido por meio da assinatura do TCLE". Entretanto, essa recomendação NÃO foi atendida.
- Nesta nova submissão, dois subprojetos foram adicionados ao protocolo: 1) Efeitos de um programa de exercícios físicos em crianças de 4 a 11 anos de idade, com sobrepeso e obesidade, de Santo Antônio de Goiás-GO; e 2) Educação alimentar e nutricional e fatores de risco para a síndrome metabólica em crianças dos 4 aos 11 anos de idade. TCLEs e TALEs referentes a esses subprojetos foram também adicionados.
- As atividades de educação nutricional que serão realizadas foram descritas no TCLE referente ao subprojeto "Educação alimentar e nutricional e fatores de risco para a síndrome metabólica em crianças dos 4 aos 11 anos de idade", conforme solicitado no parecer anterior.
- Foram apresentados Termos de Compromisso assinados por todos os pesquisadores da equipe.

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIÂNIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



UFG - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE GOIÁS



Continuação do Parecer: 1.670.635

- O pesquisador Felizardo Baltazar foi incluído na equipe de pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nesta nova submissão, o protocolo foi instruído com os seguintes documentos: Informações Básicas da Pesquisa, Carta de Anuência da Secretaria Municipal de Educação de Santo Antônio de Goiás, Termos de Compromisso dos Pesquisadores, Questionários, Projeto de Pesquisa, Folha de Rosto da CONEP, Declaração da Pesquisadora comprometendo-se em entregar carta de anuência da escola em que será realizada a pesquisa, Carta Resposta às Pendências, TCLEs e TALEs referentes à cada subprojeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências indicadas no parecer anterior foram atendidas. Considera-se o projeto aprovado, smj deste Comitê.

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para dezembro de 2019.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_812089.pdf	16/03/2017 15:56:28		Aceito
Outros	atendimentopedencia.pdf	16/03/2017 15:55:19	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termoscompromisso.pdf	16/03/2017 15:53:04	Maria Sebastiana Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Anuência	TCLETALEAnaGabrielaa.pdf	16/03/2017 15:52:37	Maria Sebastiana Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLETALEAcaciaa.pdf	16/03/2017 15:52:23	Maria Sebastiana Silva	Aceito

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Ca. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIÂNIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.970.935

Ausência	TCLETALEAcaciaa.pdf	16/03/2017 15:52:23	Maria Sebastiana Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLETALEwendell.pdf	16/03/2017 15:52:09	Maria Sebastiana Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLETALEdiegoa.pdf	16/03/2017 15:51:50	Maria Sebastiana Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLETALEfelizardo.pdf	16/03/2017 15:51:31	Maria Sebastiana Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLETALEneidiane.pdf	16/03/2017 15:51:14	Maria Sebastiana Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLETALEfagnerr.pdf	16/03/2017 15:50:54	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaraçãosecretariamunicipaleducacao.pdf	04/03/2017 09:19:47	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termosdecompromisso.pdf	04/03/2017 09:07:27	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Outros	cartadeatendimentodependencia.pdf	04/03/2017 09:06:31	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Outros	Questionariosociodemografico.pdf	04/03/2017 08:51:40	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Outros	Questionariodequalidadevidaversaopais.pdf	04/03/2017 08:50:48	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Outros	Questionariodequalidadevidaversaocriancas.pdf	04/03/2017 08:49:49	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Outros	Questionariodeatividadefisica7a11anos.pdf	04/03/2017 08:49:14	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Outros	Questionariodeatividadefisica3a8anos.pdf	04/03/2017 08:48:41	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoSantoAntonioCrian.pdf	04/03/2017 08:41:20	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaraçãodopesquisadomesponsavel.pdf	04/03/2017 08:35:07	Maria Sebastiana Silva	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	21/11/2016 16:36:01	Maria Sebastiana Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIÂNIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cex.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Processo: 1.970.935

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 18 de Março de 2017

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Ca. Postal 131
Bairro: Campos Samambas **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3524-1215 **Fax:** (62)3521-1183 **E-mail:** cep.prgf.ufg@gmail.com

Página 26 de 28

Anexo II- Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar

Nome do entrevistador: _____

Nome do entrevistado: _____

Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar (QQFA)

Leite e derivados	Quantas vezes você come	Unidade	Medida caseira (acrescentar valor em g ou mL, se possível)
Leite integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Leite desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Leite com café	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Iogurte convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Iogurte light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Queijo branco (fresco)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Queijo amarelo (mussarela, prato, requeijão de pedaço)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Ricota	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Requeijão cremoso convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Requeijão cremoso light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pães e substitutos			
Pão francês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pão mandi	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pão de forma convencional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pão de forma integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pão sovado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pão doce	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Biscoito (água e sal)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Biscoito de maisena	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Biscoito recheado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Biscoito Waffer	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Bolo convencional (sem cobertura)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Bolo com cobertura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Torrada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Gorduras			
Margarina tradicional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Margarina light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Manteiga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Maionese tradicional	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Maionese light	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Cereais			
Arroz branco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Arroz integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Aveia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Granola	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Batata frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Batata doce	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Batata	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Mandioca cozida	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Mandioca frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Macarrão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	

Lasanha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Macarrão instantâneo (“miojo”)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pizza	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Farinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Farofa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Frutas			
Laranja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Banana	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Maçã	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Mamão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Manga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Melancia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Melão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Abacate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Uva	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Suco de laranja natural	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Suco de outras frutas ou polpa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Sucos artificiais (saquinho e caixinha)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Outras frutas:	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Leguminosas			
Feijão de caldo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Feijoada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Verduras/ legumes			
Alface	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Agrião	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Acelga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Repolho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Couve	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Couve flor	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Brócolis	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Cenoura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Berinjela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Abóbora	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Abobrinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Tomate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Beterraba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Chuchu	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Vagem	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Jiló	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Quiabo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pepino	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Vegetais mistos (2 ou mais vegetais misturados)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Sopas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	

Carnes			
Carne bovina	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Carne de porco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Carne de frango	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Peixes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Atum	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Sardinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Ovo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Presunto	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Mortadela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Miúdos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Bebidas			
Refrigerante diet ou zero	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Refrigerante normal	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Café	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Cerveja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Chá de ervas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Chá preto	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pinga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Uísque	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Vodca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Vinho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Doces, miscelâneas			
Chocolate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Geléia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Doce de leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Doce de fruta	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Doce de abóbora	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Sorvete	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Torta doce	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Flan	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pavê	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pudim	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Outros Alimentos com medida caseira no artigo:			
Amendoim	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Alimentos sem medida caseira no artigo:			
Queijo ralado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Leite com achocolatado →	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
E chocolate em pó	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Rosca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Rosca frita	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Broa	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Biscoito de queijo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pão de queijo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Biscoito de polvilho frito	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Biscoito de polvilho assado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Couscous	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Tapioca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Azeite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Angu	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Milho verde	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Pamonha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Salgado assado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Salgado frito	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	

Sanduíche de pit dog	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Soja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Linguiça	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Salsicha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Outros alimentos:			
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	

D (diária), S (semanal), M (mensal), N (nunca).

Anexo 4 – Normas de publicação dos respectivos periódicos

Apêndice 1 – TCLE e TALE



FA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



O(A) seu(sua) filho(a) está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) de uma pesquisa chamada “Diagnóstico da resistência à insulina, avaliação sérica da vitamina A e seu ligante RBP-4”. Meu nome é Neidiane Rosa Trindade, sou a pesquisadora responsável e minha área de atuação é a Enfermagem. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, se você aceitar que seu(sua) filho(a) faça parte do estudo, assine ao final deste documento, que está impresso em duas vias, sendo que uma delas é sua, e a outra pertence à pesquisadora responsável. Esclareço que em caso de recusa na participação você não será penalizado(a) de forma alguma. Mas se aceitar participar, as dúvidas sobre a pesquisa poderão ser esclarecidas pelo pesquisador responsável, via e-mail (neidianeenfer@gmail.com) e, inclusive, sob forma de LIGAÇÃO A COBRAR, através do(s) seguinte(s) contato(s) telefônico(s): (62)3521-1141/(62)982852018. Ao persistirem as dúvidas sobre os seus direitos como participante desta pesquisa, você também poderá fazer contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade Federal de Goiás, pelo telefone (62)3521-1215.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES SOBRE A PESQUISA

O consumo de vitamina A é muito importante para criança pois ela diminuiu a ocorrência da cegueira e as chances da criança ter acúmulo de gordura no corpo, ou seja, ela previne o excesso de peso corporal. Assim é muito importante os estudos que avaliem a quantidade dessa vitamina no sangue das crianças e quanto elas estão comendo desse nutriente por meio da dieta.

Serão avaliados escolares de 4 a 11 anos que aceitarem a participar da pesquisa, em data que será agendada conforme disponibilidade da escola, da criança e dos pais. Todas as avaliações acontecerão uma sua vez, em dias diferentes, exceto a avaliação do consumo de alimentos que deverá feita 3 vezes, durante uma semana, em dias intercalados.

1 – No primeiro dia agendado, a criança acompanhada de um responsável responderá perguntas sobre a idade, condições de moradia, número de pessoas que moram na casa, hábitos da família, renda familiar, estado civil e escolaridade dos responsáveis, que ano a criança está cursando na escola, informações sobre a saúde da família, qualidade de vida, consumo alimentar e o nível de atividade física da criança. Em seguida, serão realizadas medidas de peso (com o mínimo de roupa possível), altura (descalço), circunferência da cintura (passando a fita por baixo da camiseta ou blusa), quantidade de gordura do corpo e medida da pressão arterial.

2 - No dia seguinte (segundo dia de agendamento) você deverá levar o seu (sua) filho (filha) ao posto de saúde, pela manhã. Ele (a) deverá estar em jejum de pelo menos 12 horas para a coleta de sangue que ocorrerá. Após a coleta de sangue, será oferecido um lanche.

3 – No terceiro encontro agendado será aplicado o questionário para avaliação do consumo de alimentos.

4 – No quarto encontro agendado será aplicado novamente o questionário para avaliação de alimentos.

Todas as avaliações serão realizadas apenas uma vez. Ainda, serão realizadas filmagem e fotografias das crianças durante os encontros, e, portanto, precisamos de sua autorização também para isto.

As crianças terão que ser avaliadas com o mínimo de roupa, o que pode trazer algum constrangimento. Para evitar constrangimentos as medidas serão feitas em local adequado e seguro para criança. Outro procedimento que pode causar algum dano é durante a coleta de sangue, o local da picada da agulha, durante a coleta de sangue, pode ficar roxo ou dolorido. Neste caso também serão tomadas todas as medidas para minimizar os transtornos e garantir a

segurança da criança. Serão respeitadas a vontade da criança caso ela não queira realizar qualquer uma das avaliações.

Todas as avaliações serão feitas por profissionais capacitados para evitar qualquer incômodo para criança. Todos os equipamentos estarão limpos e funcionando corretamente para minimizar qualquer risco a sua saúde. Caso ocorra qualquer dano, a criança será encaminhada para a Unidade de Saúde mais próxima para tratamento. Além disso, a criança poderá desistir de participar em qualquer etapa da pesquisa, sem que isto lhe traga qualquer prejuízo.

Os dados coletados serão utilizados somente nesta pesquisa e serão divulgados na forma de trabalhos a serem publicados em revistas e eventos científicos. Todas as informações coletadas serão mantidas em segredo. Este estudo trará informações importantes sobre a deficiência de vitamina A e sua relação com o acúmulo de gordura corporal, em crianças residentes em Santo Antônio de Goiás.

A participação na pesquisa é livre e não envolve nenhum custo, e não fornecerá nenhum tipo de pagamento ou gratificação financeira pela participação. A participação da criança **NÃO É OBRIGATÓRIA**, e o senhor(a) terá total liberdade de, a qualquer momento, desistir da coleta de dados, sem que isto lhe traga, ou à criança, qualquer penalidade ou prejuízo.

() Permito a divulgação da minha imagem do meu (minha) filho (a) os resultados que serão apresentados, por meio de palestras e recursos áudio visuais, aos responsáveis e demais moradores do município, bem como demais meios de comunicação, como forma de divulgação dos programas executados e seus resultados;

() Não permito a publicação da minha imagem do meu (minha) filho (a) nos resultados publicados da pesquisa.

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO DA PESQUISA

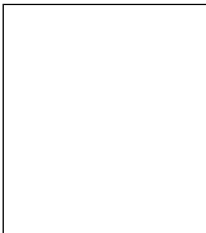
Eu, , RG/CPF/n.º de prontuário/n.º de matrícula, abaixo assinado, autorizo a participação de meu (minha) filho (a) no estudo “Diagnóstico da resistência à insulina, avaliação sérica da vitamina A e seu ligante RBP-4”. Informo que sua participação nesta pesquisa é de caráter voluntário. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pela pesquisadora Nediane Rosa Trindade, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência).

Goiânia, de de

Nome da criança: _____

Assinatura por extenso do (a) pai (mãe) ou responsável

Assinatura por extenso do(a) pesquisador(a) responsável

 _____
Testemunhas em caso de uso da assinatura datiloscópica



Universidade Federal de Goiás
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina - FM

Termo de Assentimento Livre e Esclarecido - TALE

Olá criança, você é muito importante para nós e por isso estamos te convidando para fazer parte da nossa pesquisa chamada “Diagnóstico da resistência à insulina, avaliação sérica da vitamina A e seu ligante RBP-4”. A pesquisa será realizada pela equipe formada pela professora e estudantes da Universidade Federal de Goiás. A professora Maria Sebastiana é a responsável pela pesquisa.



Procedimentos: Está é uma pesquisa com objetivo de identificar uma doença chamada síndrome metabólica, causada pelo peso elevado. Além disso, vamos avaliar os fatores que podem influenciar a deficiência da Vitamina A, aumento da proteína ligante de retinol (RBP-4) e resistência à inulina em crianças pré escolares. Para isso, precisaremos fazer algumas avaliações, como:

Medidas corporal:

Entrevista sobre como está a sua alimentação:



Coleta de sangue: Medir a pressão do sangue:



Esse trabalho não oferece risco à sua saúde, somente um pequeno desconforto no momento da coleta de sangue, que será realizada por profissionais capacitados.



Você não precisará gastar nenhum dinheiro para participar da pesquisa.



A pesquisa será importante para saber como está sua saúde e para prevenir a doença chamada síndrome metabólica, que tem relação com o peso elevado. A pesquisa não é obrigatória, você pode desistir da participação a qualquer momento sem ser prejudicado. Seus dados não serão divulgados para ninguém, sendo utilizados somente para fins dessa pesquisa e publicados, junto com imagens que serão fotografadas durante os encontros, em revistas, trabalhos e eventos.



Pintar o dedo que corresponde à sua resposta:



Aceito participar da pesquisa



Não aceito participar da pesquisa

Nome do (a) pai (mãe) ou responsável: _____