

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Faculdade de Medicina**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas:**

**Endocrinologia**

**Área de Concentração: Metabolismo e Nutrição**

**Ácidos graxos em lipídeos totais séricos como marcadores  
biológicos da ingestão lipídica em pacientes com Diabetes Melito  
tipo 2**

Miriam Bittencourt

**Porto Alegre, dezembro de 2007.**

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas:**  
**Endocrinologia**  
**Área de Concentração: Metabolismo e Nutrição**

**Ácidos graxos em lipídeos totais séricos como marcadores  
biológicos da ingestão lipídica em pacientes com Diabetes Melito  
tipo 2**

Miriam Bittencourt

Dissertação apresentada à UFRGS, Faculdade de Medicina - Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia - Área de Concentração: Metabolismo e Nutrição, para a obtenção do título de Mestre.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Themis Zelmanovitz**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mirela Jobim de Azevedo**

**Porto Alegre, dezembro de 2007.**

*Dedico a conclusão desta etapa de minha vida à toda minha família e aos meus amigos, por tudo o que me proporcionaram nestes últimos anos, por tudo o que estão sendo e por tudo que ainda serão para mim.*

## *Agradecimentos*

Agradeço imensamente às pessoas que me orientaram em todos os estágios deste trabalho.

Agradeço também àqueles que me solicitaram orientação me proporcionando a possibilidade de exercitar minha capacidade de doação e generosidade.

Agradeço aos alunos de iniciação científica pela colaboração, sem a qual este projeto não poderia se concluir.

Aos colegas, agradeço pelas trocas de conhecimento e apoio.

Aos funcionários e secretárias por estarem sempre disponíveis e por me ajudarem sempre que necessitei.

E por fim, meus agradecimentos especiais aos pacientes, que foram o objeto, são o objetivo e serão os beneficiados de todos os trabalhos na área da saúde. Agradeço por serem seres humanos que merecem respeito e admiração, por terem cooperado para meu crescimento e por terem sido compreensivos com os atrasos que eventualmente possam ter ocorrido em seus atendimentos.

Não citei nomes porque seriam necessárias mais páginas do que foram necessárias para o manuscrito. Além disso, certamente estaria correndo o risco de não citar algum nome, por esquecimento momentâneo, e não poderia me perdoar por isso.

***Conteúdo***

Agradecimentos.....	4
Lista de Abreviaturas e siglas.....	6
Lista de quadros, tabelas e figuras.....	7
Introdução.....	8
Referências Bibliográficas.....	19
Artigo: “Ácidos graxos em lipídeos totais séricos como marcadores biológicos da ingestão lipídica em pacientes com diabete melito tipo 2”.....	26
Resumo.....	27
Abstract.....	29
Introdução.....	31
Pacientes e métodos.....	33
Logística do estudo.....	34
Avaliação Nutricional.....	34
Avaliação Clínica.....	36
Análise Laboratorial.....	37
Análise Estatística.....	39
Resultados.....	40
Discussão.....	44
Conclusão.....	51
Referências Bibliográficas.....	52
Anexos.....	66

**Lista de Abreviaturas e Siglas**

**AG** – Ácidos graxos

**AGS** - Ácidos graxos saturados

**AGMI** - Ácidos graxos monoinsaturados

**AGPI** - Ácidos graxos poliinsaturados

**CVi** – Coeficiente de variação intra-individual

**DHA** - Ácido Docosahexaenóico

**DM** - Diabete Melito

**EPA** - Ácido Eicosapentaenóico

**EUA** – Excreção urinária de albumina

**HDL** - High Density Lipoprotein

**IMC** - Índice de Massa Corporal

**IP** – Ingestão protéica

**LDL** - Low Density Lipoprotein

**P/S** – Razão poliinsaturado/saturado

**QFA** – Questionário de frequência alimentar

**RA** - Registro(s) Alimentar(es)

## **Lista de quadros, tabelas e figuras**

### **Introdução:**

<b>Quadro 1.</b> Estudos de correlação entre ácidos graxos da dieta e sua correlação em diferentes tecidos corporais.....	25
---	----

### **Artigo:**

<b>Tabela 1.</b> Valores de AG séricos e da dieta e suas correlações em pacientes com DM tipo 2 (n=118).....	59
--	----

<b>Tabela 2.</b> Correlações entre a composição dos AG séricos e da dieta em pacientes com DM tipo 2 divididos de acordo com o sexo.....	60
--	----

<b>Tabela 3.</b> Variabilidade intra-individual dos ácidos graxos da dieta de pacientes com Diabetes Melito tipo 2 (n = 23): valores mensais e coeficientes de variação (CV).....	61
---	----

<b>Tabela 4.</b> Variabilidade intra-individual dos ácidos graxos séricos de pacientes com Diabetes Melito tipo 2 (n = 23): valores mensais e coeficientes de variação (CV).....	62
--	----

<b>Figura 1.</b> Fluxograma.....	63
----------------------------------	----

<b>Figura 2.</b> Correlações entre o conteúdo de ácido graxo poliinsaturado (AGPI) (A), saturado (AGS) (B) e monoinsaturado (AGMI) (C) na dieta e suas proporções nos lipídeos séricos de pacientes com DM tipo 2 (n = 118).....	64
--	----

<b>Figura 3.</b> Correlação entre os decis de ingestão de ácido graxo poliinsaturado da dieta (AGPI) e as médias de AGPI séricos nos respectivos decis.....	65
---	----

## **Introdução**

O consumo de ácidos graxos (AG) tem sido associado ao desenvolvimento de doenças crônicas, como o diabetes melito (1-3), câncer (4), doenças cardiovasculares (5;6) e outras condições acompanhadas de inflamação crônica (7). Tradicionalmente, em estudos clínicos a avaliação da ingestão lipídica da dieta é realizada através de métodos de inquérito alimentar, como os questionários de frequência alimentar (QFA), registros alimentares (RA) e recordatórios de 24 horas. Apesar de serem técnicas práticas e simples, os inquéritos alimentares são métodos sujeitos a limitação na coleta de informações e conseqüente super e/ou sub-registro (8). Sobretudo, a gordura da dieta é um dos componentes mais difíceis de mensurar através destes métodos, especialmente pela dificuldade na quantificação e na avaliação do tipo de gordura utilizada no preparo dos alimentos. Com isso tem sido crescente o interesse na identificação de marcadores que reflitam de forma objetiva a composição de gorduras da dieta (9-11)

Os marcadores biológicos são medidas de nutrientes em fluidos, tecidos e excreções corporais que refletem a absorção destes nutrientes e que, preferencialmente, não apresentem síntese endógena (12). Os marcadores biológicos fornecem uma medida mais acurada comparados aos inquéritos nutricionais por não serem afetados por vieses de memória, vieses do entrevistador e erro na estimativa da ingestão alimentar (13). Entretanto, a sua habilidade em refletir a ingestão alimentar pode ser afetada por fatores

não-dietéticos, como aspectos genéticos, tabagismo, obesidade, atividade física e metabolismo (12).

Um marcador da ingestão absoluta de gordura total não é disponível. No entanto, podem ser utilizados marcadores para quantificar modificação na ingestão de AG (14;15), assim como marcadores que refletem o consumo de AG essenciais (10;16) e não essenciais sem produção endógena (17).

A composição de AG de diversos compartimentos corporais tem sido empregada como marcadores de seu consumo na dieta (10;18). Os tecidos corporais mais frequentemente analisados são o plasma, soro ou sangue total, eritrócitos e tecido adiposo. No plasma, soro ou sangue total, os AG representam uma combinação das frações ésteres de colesterol, fosfolipídeos e triglicerídeos presentes nas lipoproteínas, além de AG livres (ligados à albumina). Nos eritrócitos, a medida de AG representa principalmente fosfolipídeos e no tecido adiposo representa principalmente os triglicerídeos (12;14;19). Cada tecido difere no período de tempo que reflete a ingestão alimentar dos AG. A composição de AG do plasma e dos eritrócitos reflete sua ingestão a curto e médio prazo, de semanas a meses (14), enquanto os AG do tecido adiposo refletem sua ingestão a longo prazo (anos) (20). Além disso, cada tecido difere quanto às suas características metabólicas, fazendo com que cada um possa refletir melhor a ingestão alimentar de um determinado AG, mas não de outros (9;21).

Esta revisão visa discutir o papel dos AG de diferentes tecidos corporais como marcadores biológicos da ingestão lipídica e de suas fontes alimentares.

## **Ácidos Graxos como marcadores biológicos da ingestão lipídica e de suas fontes alimentares**

### **Ácidos Graxos Poliinsaturados**

A utilização dos AG essenciais, mais especificamente o ácido linoléico (18:2n6) que compreende aproximadamente 90% da ingestão de AG poliinsaturados (AGPI) totais (22) e o ácido linolênico (18:3n3), ambos AGPI, como marcadores biológicos do consumo de gorduras, é de grande relevância por estes não serem sintetizados endogenamente pelos seres humanos e, sobretudo, terem um papel fundamental na saúde. Neste sentido, os AGPI, em especial os da série n-3, tanto no tecido adiposo (10;17;18), no plasma (10;16), assim como em eritrócitos (23;24) têm sido estudados.

Em indivíduos saudáveis, Tjonneland *et al.* (18) observaram uma correlação positiva entre os AGPI do tecido adiposo e os da dieta, especialmente quando esta foi avaliada através de RA com pesagem de alimentos. Andersen *et al.* (10), também avaliando indivíduos normais, observaram correlação positiva entre o conteúdo lipídico avaliado através QFA e os ácidos linoléico (18:2n6),  $\alpha$ -linolênico (18:3n3), ácido eicosapentaenóico (EPA) (20:5n3) e docosahexaenóico (DHA) (22:6n3), tanto no tecido adiposo ( $r=0,38$ ,  $r=0,42$ ,  $r=0,52$ ,  $r=0,49$ , respectivamente) quanto nos lipídeos séricos totais ( $r=0,16$ ,  $r=0,28$ ,  $r=0,51$  e  $r=0,52$ , respectivamente), confirmando que a composição dos AGPI nos lipídeos séricos totais também pode ser utilizada como marcador da sua ingestão alimentar.

Um estudo holandês realizado com indivíduos obesos com diabetes melito tipo 2, também demonstrou correlação positiva entre o conteúdo de EPA (20:5n3) ( $r= 0,66$ ) e

DHA (22:6n3) ( $r= 0,55$ ) no tecido adiposo e os seus conteúdos na dieta, analisada através de RA de 3 dias realizados a cada 2 meses ao longo de 2 anos. Os autores concluíram que em pacientes obesos com diabetes melito tipo 2 uma única biópsia de tecido adiposo reflete a informação a longo-prazo da ingestão dietética de EPA (20:5n3) e DHA (22:6n3) (25).

Os AG nas frações séricas de fosfolipídeos e ésteres de colesterol também têm sido estudados como marcadores da ingestão dietética. Durante o estudo ARIC (“Atherosclerosis Risk in Communities”) foi analisada a dieta habitual de 3570 indivíduos normais através de um QFA semi-quantitativo com 66 itens. Foram observadas correlações positivas entre os ácidos graxos saturados (AGS) e os AGPI das frações éster de colesterol e fosfolipídeos e os seus conteúdos na dieta, entretanto com valores de correlações fracas, entre 0,20 e 0,44 (26). Por outro lado, Kobayashi *et al.* (16), analisando os AG dos fosfolipídeos séricos como marcadores biológicos da ingestão dietética de 87 homens normais de origem japonesa, encontraram valores de correlação de maior magnitude, mas somente para a série n-3. Esta análise foi realizada durante as estações do inverno e do verão, e os valores das correlações foram respectivamente: EPA (20:5n3):  $r= 0,70$  e  $r= 0,63$ ; docosapentaenóico (DPA) (22:5n3):  $r= 0,45$  e  $r= 0,46$  e DHA (22:6n3):  $r= 0,44$  e  $r= 0,46$ . A presença de correlações mais fortes neste estudo quando comparado com o estudo ARIC provavelmente se deve à elevada ingestão de AGPI na dieta da população japonesa, principalmente pelo consumo de produtos marinhos ricos em AGPI da série n-3.

Quanto à série n-6 dos AGPI, especialmente o ácido linoléico (18:2n6), outros estudos também têm demonstrado correlação entre o seu conteúdo da dieta e a sua proporção no plasma, eritrócitos ou no tecido adiposo (8;13;15;23;27). No entanto, aqueles

autores que analisaram populações com menor ingestão deste AG na dieta, como a população japonesa, não encontraram o mesmo resultado (11;16).

A composição de AG nos eritrócitos como marcador da ingestão alimentar tem sido motivo de interesse, especialmente por parecer refletir a ingestão dos AG a médio-prazo, sem os inconvenientes técnicos da coleta do tecido adiposo. Recentemente, Sun *et al.* (24) compararam a composição dos AG do plasma com a dos eritrócitos como marcadores da sua ingestão de uma subamostra de 306 mulheres participantes do *Nurses' Health Study*. Estes autores observaram correlações moderadas para os ácidos EPA (20:5n3), DHA (22:6n3), linoléico (18:2n6) e AG *trans* tanto nos eritrócitos como no plasma, sendo maiores nos primeiros. Além disso os autores observaram que os AG nos eritrócitos, especialmente os AG da série n-3 e os AG *trans*, parecem ser adequados para refletir a sua ingestão alimentar a longo prazo.

Os AGPI da série n-3, especialmente o EPA (20:5n3) e o DHA (22:6n3), têm sido utilizados como marcadores da ingestão de produtos de origem marinha. Tais produtos representam a principal fonte de AGPI da série n3, apresentando correlações significativas com seus conteúdos no tecido adiposo (25;28) assim como nos fosfolípidos e ésteres de colesterol séricos (16;29) e nas membranas de eritrócitos (28). No entanto os resultados diferem nos estudos não somente pelas diferenças metabólicas dos tecidos avaliados como também pelo impacto da dieta nas populações estudadas que tem conteúdos de AG essenciais diferenciados (30).

Hodge *et al.* (22), em um estudo realizado com 4439 participantes de diferentes países, ao dividir em quartis a ingestão de diferentes fontes de gordura da dieta, avaliada através de QFA, observou associação entre os AG essenciais medidos nos fosfolípidos

séricos e os da dieta. Essa associação foi maior para o DHA (22:6n3) quando avaliada a ingestão de peixe entre os pacientes de maior quartil (22).

Conclui-se que o conteúdo de AGPI, no plasma, soro ou sangue total, na membrana de eritrócitos e em tecido adiposo apresenta significativa correlação com o seu conteúdo na dieta e pode ser utilizado como marcador biológico da ingestão deste tipo de gordura bem como de suas fontes.

### **Ácidos Graxos Saturados**

Devido à associação entre a maior ingestão de AGS e doença cardiovascular (31), existe interesse especial no estudo de marcadores biológicos da ingestão de AGS na dieta. No entanto, como a maioria destes AG pode apresentar produção endógena (síntese de novo) a partir do metabolismo dos carboidratos (acetil CoA), a correlação entre a sua ingestão na dieta e sua proporção nos tecidos tem sido fraca (10;18;19;22-24;26;32) ou não significativa (16;23).

Os ácidos pentadecanóico (15:0) e heptadecanóico (17:0), por serem sintetizados apenas por bactérias do lúmen intestinal de animais ruminantes e presentes na alimentação humana através do consumo de produtos lácteos e das carnes destes animais, têm sido foco de análise como marcadores de ingestão alimentar (16;33). Em estudo realizado com homens saudáveis de Uppsala, na Suécia, Wolk *et al.* (17) observaram correlações significativas entre o conteúdo dos ácidos pentadecanóico (15:0) e heptadecanóico (17:0) do tecido adiposo com a ingestão destes AG. Também tem sido sugerido que em populações onde o consumo de produtos lácteos é elevado, os conteúdos dos ácidos pentadecanóico (15:0) e heptadecanóico (17:0) no tecido adiposo e do ácido

pentadecanóico (15:0) nas frações séricas de éster de colesterol e fosfolipídeos podem ser utilizados como marcadores de sua ingestão na dieta (33).

Os ácidos pentadecanóico (15:0) e heptadecanóico (17:0) também tem sido estudados como marcadores da ingestão de produtos lácteos e derivados tanto no tecido adiposo (17) como nas frações éster de colesterol e fosfolipídeos séricos (33;34). Smedman *et al.* (33) demonstraram correlação entre a ingestão de gordura total de produtos lácteos e a proporção de ácido pentadecanóico (15:0) nas frações de éster de colesterol e fosfolipídeos séricos.

O ácido pentadecanóico (15:0) do plasma e membranas de eritrócitos também tem sido estudado como marcador da ingestão de leite e derivados (24). Sun *et al.* (24) ao avaliarem a relação entre o consumo de leite e derivados e doenças cardiovasculares, observou que quanto maior o consumo destas fontes maior era o conteúdo do AG 15:0 tanto no plasma quanto nas membranas dos eritrócitos.

Devido ao conteúdo importante do ácido mirístico (14:0) na gordura do leite, Wolk *et al.* (17) analisaram também o conteúdo deste AG nas frações séricas de fosfolipídios e ésteres de colesterol e no tecido adiposo em 114 homens suecos. Os autores observaram correlação significativa entre o conteúdo do ácido mirístico (14:0) da dieta proveniente dos produtos lácteos e o seu conteúdo no tecido adiposo, enquanto as correlações com este AG nas frações séricas de éster de colesterol e fosfolipídios foram também significativas, porém mais fracas.

Apesar do ácido esteárico (18:0) estar presente em grande quantidade no chocolate (~30%), a utilidade deste AG como marcador do consumo de chocolate é limitada por sofrer conversão para ácido oléico (18:1) no fígado após dessaturação (35).

Em conclusão, as medidas do ácido mirístico (14:0) no tecido adiposo e dos ácidos pentadecanóico (15:0) e heptadecanóico (17:0) no tecido adiposo e nos lipídeos séricos, podem ser utilizadas como marcadores de sua ingestão proveniente de produtos lácteos e de carnes de animais ruminantes, especialmente em populações com maior ingestão destes produtos.

### **Ácidos Graxos Monoinsaturados**

Quanto aos AG monoinsaturados (AGMI), a correlação entre o seu conteúdo na dieta e a sua proporção no tecido adiposo também tem se mostrado fraca (19) ou não significativa (10;18;23;32), por serem AG que também podem ser sintetizados endogenamente. O mesmo tem se observado quando os AG são analisados no plasma ou nos eritrócitos (10;16;23;24;26).

Recentemente, um estudo australiano observou uma maior correlação ( $r = 0,46$ ) entre os AGMI medidos em fosfolipídeos plasmáticos e seu conteúdo da dieta (22), diferente do demonstrado por outros autores (10;16;18;19;23;24;26;32). No entanto, a população deste estudo apresentava uma proporção alta de imigrantes do sul europeu (~25%), com alta ingestão de óleo de oliva na dieta. Quando a população foi estratificada de acordo com a etnia, observou-se que as correlações positivas eram apenas nesta subamostra de indivíduos.

Em algumas populações o ácido oléico (18:1n9) tem sido indicado como marcador do consumo de óleo de oliva (22;36). No entanto, esta condição presume que nestes indivíduos a gordura não é utilizada como fonte de energia e que a ingestão de outras gorduras é homogênea (9). Hodge *et al.* (22) observaram que os níveis do ácido oléico

(18:1n9) aumentam nos fosfolípidos plasmáticos com o aumento da ingestão de óleo de oliva e encontraram correlação significativa entre o conteúdo de ácido oléico (18:1n9) na dieta e seu conteúdo nos fosfolípidos séricos ( $r = 0,45$ ).

### Ácidos Graxos *trans*

No lúmen intestinal de ruminantes ocorre também a formação de AG *trans*, especialmente o 16:1 que pode ser encontrado no leite destes animais e em seus derivados. Além disso, os AG *trans* são produzidos pelo processo de hidrogenação de óleos vegetais na produção industrial de margarinas. Estudos têm analisado o papel do 16:1 como marcador biológico de suas fontes tanto no tecido adiposo (32), como no plasma e em membranas de eritrócitos (37).

Baylin *et al.* (19) observaram, correlações significativas ( $0,16 < r < 0,58$ ) entre conteúdo de AG *trans* no tecido adiposo e ingestão alimentar, após ajuste para idade, sexo, índice de massa corporal e fumo. Foi também demonstrado que a correlação positiva entre o conteúdo de AG *trans* na dieta e no tecido adiposo foi maior com os AG *trans* de fonte vegetal do que com os AG *trans* de origem animal (0,27 vs. 0,08) (32).

O emprego da gordura vegetal hidrogenada na fabricação de alimentos trouxe um aumento no consumo de AG *trans* na dieta moderna. Estudos epidemiológicos têm mostrado efeito deletério dos AG *trans* no perfil lipídico sérico (aumento na razão LDL/HDL) (27) e conseqüente risco aumentado para doença cardiovascular (38). Como não existe síntese endógena de AG *trans*, estes AG também podem ser utilizados como marcadores da sua ingestão. Baylin *et al.* (38) observaram através da correlação entre o conteúdo de AG *trans* no tecido adiposo e ingestão alimentar, que os melhores indicadores

para ingestão total de AG *trans* foram o *ct18:2* n-6 e *tc18:2* n-6 ( $r=0,58$  para ambos), seguido do total de *t18:1* ( $r=0,45$ ) e *t16:1* ( $r=0,16$ ), após ajuste para idade, sexo, índice de massa corporal e fumo.

Recentemente, os AG *trans* medidos no plasma e eritrócitos também foram avaliados como marcadores da sua ingestão alimentar (24). No estudo de Sun et al (24), foi demonstrado que os AG *trans* totais e o *t18:1* nos eritrócitos se correlacionaram mais fortemente do que os mesmos no plasma ( $r = 0,43$  vs  $r = 0,30$  e  $r = 0,42$  vs  $r = 0,29$ , respectivamente), podendo ser usados como marcadores de sua ingestão a médio prazo.

O Quadro 1 resume os principais estudos de correlação entre ácidos graxos da dieta e ácidos graxos séricos e do tecido adiposo. Embora a técnica de avaliação da ingestão alimentar seja diferente entre os estudos, assim como outros fatores como etnia, número de indivíduos estudados, tempo de acompanhamento, presença ou não de patologias associadas (por exemplo, diabetes melito) observou-se que as correlações chegam até 0,7. Deve ser lembrado que uma boa correlação não significa uma concordância absoluta entre as variáveis que estão sendo analisadas. Neste sentido, a utilização dos AG como marcadores biológicos da ingestão de gorduras não nos permite uma quantificação precisa da ingestão destes mesmos AG, mas complementa de forma objetiva as informações fornecidas pelos inquéritos alimentares quanto à ingestão de gorduras, especialmente a ingestão dos AGPI e dos AGS provenientes de produtos lácteos. Além disso, modificações da composição destes AG séricos podem ser usadas eficientemente para avaliar modificações introduzidas na dieta e servem como um instrumento de medida de adesão às intervenções dietéticas.

Em conclusão, a ingestão lipídica pode ser avaliada através de inquéritos alimentares e de marcadores biológicos, estes últimos visualizados na composição de AG no tecido adiposo, plasma, soro, sangue total e eritrócitos. As medidas dos AG essenciais e/ou seus metabólitos (EPA e DHA), de alguns AG saturados (15:0 e 17:0) provenientes de produtos lácteos e dos ácidos graxos *trans* refletem em geral de forma adequada o seu conteúdo na ingestão alimentar. Os AG séricos, no plasma, sangue total e eritrócitos constituem-se nos marcadores biológicos de eleição para utilização em pesquisa clínica e epidemiológica devido a sua relativa praticidade.

As informações obtidas através de inquéritos alimentares associadas à identificação dos marcadores biológicos constituem a forma ideal de avaliação da ingestão de gorduras da dieta.

## Referências

- (1) Nettleton JA, Katz R. n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review. *J Am Diet Assoc* 2005 Mar;105(3):428-40.
- (2) van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care* 2002 Mar;25(3):417-24.
- (3) Marshall JA, Bessesen DH. Dietary fat and the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002 Mar;25(3):620-2.
- (4) Rose DP. Dietary fatty acids and cancer. *Am J Clin Nutr* 1997 Oct;66(4 Suppl):998S-1003S.
- (5) Hu FB, Cho E, Rexrode KM, Albert CM, Manson JE. Fish and long-chain omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease and total mortality in diabetic women. *Circulation* 2003 Apr 15;107(14):1852-7.
- (6) Schaefer EJ. Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *Am J Clin Nutr* 2002 Feb;75(2):191-212.
- (7) Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed Pharmacother* 2006 Nov;60(9):502-7.

- (8) Westerterp KR, Goris AH. Validity of the assessment of dietary intake: problems of misreporting. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002 Sep;5(5):489-93.
- (9) Arab L. Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr* 2003 Mar;133 Suppl 3:925S-32S.
- (10) Andersen LF, Solvoll K, Johansson LR, Salminen I, Aro A, Drevon CA. Evaluation of a food frequency questionnaire with weighed records, fatty acids, and alpha-tocopherol in adipose tissue and serum. *Am J Epidemiol* 1999 Jul 1;150(1):75-87.
- (11) Kuriki K, Nagaya T, Tokudome Y, Imaeda N, Fujiwara N, Sato J, et al. Plasma concentrations of (n-3) highly unsaturated fatty acids are good biomarkers of relative dietary fatty acid intakes: a cross-sectional study. *J Nutr* 2003 Nov;133(11):3643-50.
- (12) Willett WC. Nature of variation in diet. *Nutritional Epidemiology*. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 1998. p. 33-49.
- (13) Potischman N. Biologic and methodologic issues for nutritional biomarkers. *J Nutr* 2003 Mar;133 Suppl 3:875S-80S.
- (14) Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, Penders M, Zegwaard M. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res* 1997 Oct;38(10):2012-22.

- (15) Zock PL, Mensink RP, Harryvan J, de Vries JH, Katan MB. Fatty acids in serum cholesteryl esters as quantitative biomarkers of dietary intake in humans. *Am J Epidemiol* 1997 Jun 15;145(12):1114-22.
- (16) Kobayashi M, Sasaki S, Kawabata T, Hasegawa K, Akabane M, Tsugane S. Single measurement of serum phospholipid fatty acid as a biomarker of specific fatty acid intake in middle-aged Japanese men. *Eur J Clin Nutr* 2001 Aug;55(8):643-50.
- (17) Wolk A, Vessby B, Ljung H, Barrefors P. Evaluation of a biological marker of dairy fat intake. *Am J Clin Nutr* 1998 Aug;68(2):291-5.
- (18) Tjonneland A, Overvad K, Thorling E, Ewertz M. Adipose tissue fatty acids as biomarkers of dietary exposure in Danish men and women. *Am J Clin Nutr* 1993 May;57(5):629-33.
- (19) Baylin A, Kabagambe EK, Siles X, Campos H. Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake. *Am J Clin Nutr* 2002 Oct;76(4):750-7.
- (20) Lands WE. Long-term fat intake and biomarkers. *Am J Clin Nutr* 1995 Mar;61(3 Suppl):721S-5S.
- (21) Astorg P, Bertrais S, Laporte F, Arnault N, Estaquio C, Galan P, et al. Plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids as biomarkers of their dietary intakes: a cross-sectional study within a cohort of middle-aged French men and women. *Eur J Clin Nutr* 2007 Jul 11.

- (22) Hodge AM, Simpson JA, Gibson RA, Sinclair AJ, Makrides M, O'Dea K, et al. Plasma phospholipid fatty acid composition as a biomarker of habitual dietary fat intake in an ethnically diverse cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007 Jul;17(6):415-26.
- (23) Baylin A, Kim MK, Donovan-Palmer A, Siles X, Dougherty L, Tocco P, et al. Fasting whole blood as a biomarker of essential fatty acid intake in epidemiologic studies: comparison with adipose tissue and plasma. *Am J Epidemiol* 2005 Aug 15;162(4):373-81.
- (24) Sun Q, Ma J, Campos H, Hu FB. Plasma and erythrocyte biomarkers of dairy fat intake and risk of ischemic heart disease. *Am J Clin Nutr* 2007 Oct;86(4):929-37.
- (25) Popp-Snijders C, Blonk MC. Omega-3 fatty acids in adipose tissue of obese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus reflect long-term dietary intake of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid. *Am J Clin Nutr* 1995 Feb;61(2):360-5.
- (26) Ma J, Folsom AR, Shahar E, Eckfeldt JH. Plasma fatty acid composition as an indicator of habitual dietary fat intake in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Am J Clin Nutr* 1995 Sep;62(3):564-71.
- (27) Ascherio A. Epidemiologic studies on dietary fats and coronary heart disease. *Am J Med* 2002 Dec 30;113 Suppl 9B:9S-12S.

- (28) Godley PA, Campbell MK, Miller C, Gallagher P, Martinson FE, Mohler JL, et al. Correlation between biomarkers of omega-3 fatty acid consumption and questionnaire data in African American and Caucasian United States males with and without prostatic carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996 Feb;5(2):115-9.
- (29) Amiano P, Dorronsoro M, de RM, Ruiz de Gordo JC, Irigoien I. Very-long-chain omega-3 fatty acids as markers for habitual fish intake in a population consuming mainly lean fish: the EPIC cohort of Gipuzkoa. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Eur J Clin Nutr* 2001 Oct;55(10):827-32.
- (30) Astorg P, Arnault N, Czernichow S, Noisette N, Galan P, Hercberg S. Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids* 2004 Jun;39(6):527-35.
- (31) Getz GS, Reardon CA. Nutrition and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007 Dec;27(12):2499-506.
- (32) Garland M, Sacks FM, Colditz GA, Rimm EB, Sampson LA, Willett WC, et al. The relation between dietary intake and adipose tissue composition of selected fatty acids in US women. *Am J Clin Nutr* 1998 Jan;67(1):25-30.
- (33) Smedman AE, Gustafsson IB, Berglund LG, Vessby BO. Pentadecanoic acid in serum as a marker for intake of milk fat: relations between intake of milk fat and metabolic risk factors. *Am J Clin Nutr* 1999 Jan;69(1):22-9.

- (34) Wolk A, Furuheim M, Vessby B. Fatty acid composition of adipose tissue and serum lipids are valid biological markers of dairy fat intake in men. *J Nutr* 2001 Mar;131(3):828-33.
- (35) Connor WE. Harbingers of coronary heart disease: dietary saturated fatty acids and cholesterol. Is chocolate benign because of its stearic acid content? *Am J Clin Nutr* 1999 Dec;70(6):951-2.
- (36) Fusconi E, Pala V, Riboli E, Vineis P, Sacerdote C, Del PM, et al. Relationship between plasma fatty acid composition and diet over previous years in the Italian centers of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Tumori* 2003 Nov;89(6):624-35.
- (37) Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Hu FB. Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *Am J Clin Nutr* 2007 Jul;86(1):74-81.
- (38) Baylin A, Kabagambe EK, Ascherio A, Spiegelman D, Campos H. High 18:2 trans-fatty acids in adipose tissue are associated with increased risk of nonfatal acute myocardial infarction in costa rican adults. *J Nutr* 2003 Apr;133(4):1186-91.

Quadro 1. Estudos de correlação entre ácidos graxos da dieta e sua correlação em diferentes tecidos corporais.

Estudo e População Estudada	Inquérito Alimentar	Local de Medida do Ácido Graxo	Ácido Graxo analisado	r		
Tjonneland <i>et al.</i> 1993 Indivíduos sem DM	RA 7 dias	Tecido Adiposo	AGPI	0,57		
			EPA	0,44		
			DHA	0,55		
Popp-Snijders <i>et al.</i> 1995 Indivíduos com DM	12 RA 3 dias	Tecido Adiposo	AGPI	0,50		
			EPA	0,66		
			DHA	0,55		
Ma <i>et al.</i> 1995 Indivíduos sem DM	QFA	Fosfolípidos Séricos Ésteres de Colesterol	FL	EC		
			AGPI	0,25	0,31	
			EPA	0,20	0,23	
			DHA	0,42	0,42	
			AGS	0,15	0,23	
Wolk <i>et al.</i> 1998 Indivíduos sem DM	4 RA 1 semana	Tecido Adiposo	15:0	0,61		
			17:0	0,40		
			15:0 + 17:0	0,60		
Andersen <i>et al.</i> 1999 Indivíduos sem DM	QFA	Tecido Adiposo Lípidos Séricos Totais	TA	LT		
			AGPI	0,34	0,20	
			EPA	0,52	0,51	
			DHA	0,49	0,52	
Smedman <i>et al.</i> 1999 Indivíduos sem DM	RA 7 dias	Fosfolípidos Séricos Ésteres de Colesterol	FL	EC		
			15:0	0,34	0,46	
Wolk <i>et al.</i> 2001 Indivíduos sem DM	RA	Tecido Adiposo Fosfolípidos Séricos Ésteres de Colesterol	TA	FL	EC	
			14:0	0,64	0,30	0,34
Kobayashi <i>et al.</i> 2001 Indivíduos sem DM	RA 7 dias	Fosfolípidos Séricos	Inverno	Verão		
			AGPI n-3	0,61	0,60	
			EPA	0,70	0,63	
			DPA	0,45	0,46	
			DHA	0,44	0,46	
Kuriki <i>et al.</i> 2003 Indivíduos sem DM	RA 7 dias	Plasma	AGM	0,33♂	0,31♀	
			Linoléico	0,43♂	0,24♀	
			EPA	0,66♂	0,69♀	
			DHA	0,86♂	0,59♀	
Baylin <i>et al.</i> 2003 Indivíduos sem DM	QFA	Tecido Adiposo	ct18:2 n-6	0,58		
			tc18:2 n-6	0,58		
			t18:1	0,45		
			t16:1	0,46		
Baylin <i>et al.</i> 2005 Indivíduos sem DM	QFA	Plasma	Plasma	Sangue	TA	
		Sangue total	AGPI	0,39	0,40	0,51
		Tecido Adiposo	18:2 n-6	0,41	0,43	0,52
			18:3 n-3	0,39	0,38	0,51
			EPA	0,28	0,22	-0,08
DHA	0,31	0,23	0,26			
Hodge <i>et al.</i> 2007 Indivíduos sem DM	QFA	Fosfolípidos Séricos	AGMI	0,46		
			AGPI	0,39		
			Linoléico	0,58		
			Linoléico	0,24		
			EPA	0,40		
DHA	0,78					
Sun <i>et al.</i> 2007 Indivíduos sem DM	QFA	Plasma	Plasma	Eritrócitos		
		Eritrócitos	AGPI	0,30	0,41	
			Linoléico	0,25	0,24	
			Linoléico	0,23	0,18	
			EPA	0,21	0,38	
		DHA	0,48	0,56		
Astorg <i>et al.</i> 2007 Indivíduos sem DM	15 RA 24h	Plasma	18:2 n-6	0,22 ♂	0,19 ♀	
			EPA	0,24 ♂	0,27 ♀	
			DHA	0,25 ♂	0,27 ♀	

r= coeficiente de Pearson; RA= registro alimentar; QFA= questionário de frequência alimentar; FL = Fosfolípidos; EC = Ésteres de colesterol; TA = Tecido Adiposo; LT = Lípidos Totais; ♂ = homens; ♀ = mulheres AGPI= ácidos graxos poliinsaturados; EPA= ácido eicosapentaenóico; DHA= ácido docosahexaenóico; AGPI n-3= ácidos graxos poliinsaturados da série n-3; DPA= ácido docosapentaenóico; AGS= ácidos graxos saturados; 15:0 ácido pentadecanóico; 17:0 ácido heptadecanóico; 14:0 ácido mirístico; ct18:2 n-6= *cis, trans* 18:2 n-6; tc18:2 n-6= *trans, cis* 18:2 n-6; t18:1= *trans* 18:1; t16:1= *trans* 16:1; linoléico = 18:2 n6; linolênico = 18:3 n3.

**Ácidos graxos em lipídeos totais séricos como marcadores biológicos da  
ingestão lipídica em pacientes com Diabetes Melito tipo 2**

**Miriam Bittencourt Moraes**

**Juliana dos Santos Vaz**

**Magda Susana Perassolo**

**Ana Luiza Teixeira dos Santos**

**Jorge Luiz Gross**

**Mirela Jobim de Azevedo**

**Themis Zelmanovitz**

Endereço para correspondência: Themis Zelmanovitz, Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350 / Prédio 12 - 4º andar CEP 90035-003 - Porto Alegre - RS, Brasil

Fone / Fax: (51) 2101.8127 / 3331.3312

E-mail: [themis.voy@terra.com.br](mailto:themis.voy@terra.com.br)

## Resumo

A composição de ácidos graxos séricos (AG) tem sido empregada como marcador biológico da ingestão lipídica em indivíduos normais. Inexistem dados sobre os AG séricos como marcadores de sua ingestão alimentar em pacientes com Diabetes Mellito (DM) tipo 2. Este estudo transversal visa avaliar a composição de AG nos lipídeos totais séricos como marcadores da ingestão lipídica e de alimentos selecionados e determinar a variabilidade intra-individual da ingestão lipídica em pacientes com DM tipo 2. Cento e dezoito pacientes (66 homens; idade=60±10 anos) preencheram registros alimentares com pesagem por 3 dias (RA 3 dias) e foram submetidos a coleta de sangue para análise dos AG nos lipídios totais séricos (cromatografia gasosa), em jejum, no dia posterior ao último dia do registro. A aderência ao RA foi confirmada através da estimativa da ingestão protéica calculada com a uréia urinária de 24h, medida no terceiro dia do registro. A correlação entre os AG poliinsaturados (AGPI) totais e o ácido linoléico séricos e o seu conteúdo na dieta foram 0,368 (P<0,001) e 0,355 (P<0,001), respectivamente. A correlação entre os AG saturados (AGS) e monoinsaturados (AGMI) séricos na dieta foram 0,306 (P<0,001) e 0,233 (P=0,012), respectivamente. Quando as ingestões dos AG foram divididas em decis, apenas os AGPI séricos mantiveram correlação com seu conteúdo na dieta (r=0,855; P=0,002). Os AGPI e o ácido linoléico séricos apresentaram correlação com o seu conteúdo em óleos vegetais e margarinas (r=0,341; P<0,001 e r=0,341; P<0,001, respectivamente), assim como os AGS e o ácido mirístico apresentaram correlação com o seu conteúdo em leites e derivados (r=0,211; P=0,023 e r=0,272; P=0,003, respectivamente). Os coeficientes de variação intra-individuais dos AGPI, AGS e AGMI da dieta foram, respectivamente, 11,4 ±

5,6%,  $8,6 \pm 4,2\%$  e  $6,7 \pm 5,0\%$ . Os coeficientes de variação intra-individuais dos AGPI, AGS e AGMI séricos foram, respectivamente,  $6,5 \pm 4,6\%$ ,  $7,7 \pm 8,7\%$  e  $11,3 \pm 8,5\%$ . Em conclusão, em pacientes com DM tipo 2 os AG séricos apresentam correlação com sua ingestão alimentar podendo ser utilizados como marcadores biológicos do seu conteúdo na dieta assim como do consumo de fontes alimentares de gorduras.

**Abstract**

The composition of serum fatty acids (FA) has been used as a biological marker of lipid ingestion in normal individuals. There are no data on serum FA as markers of dietary intake in patients with type 2 Diabetes Mellitus (DM), and the intraindividual variability of lipid intake by these patients has not been clearly established in the literature. This observational study aims at evaluating the FA composition in serum total lipids as markers of lipid intake and of selected foods, and to determine intraindividual variability of lipid intake in patients with type 2 DM. One hundred and eighteen patients (66 males: age=60±10 years) completed 3-day weighed diet records (WDR 3 days ) and their blood was drawn to analyze the FA in fasting serum total lipids (gas chromatography) on the day after the last day of the record. Compliance with the WDR was evaluated by estimating protein intake calculated with 24h urinary urea, measured on the third day of record. The correlations between the total polyunsaturated FA (PUFA) and the serum linoleic acid and their content in the diet were 0.368 ( $P < 0.001$ ) and 0.355 ( $P < 0.001$ ), respectively. The correlation between the serum saturated and monounsaturated FA and their content in the diet were 0.306 ( $P < 0.001$ ) and 0.233 ( $P = 0.012$ ), respectively. When FA intakes were divided into deciles, only the serum PUFA maintained a correlation with their dietary content ( $r = 0.855$ ;  $P = 0.002$ ). The PUFA and serum linoleic acid presented a correlation with their content in vegetal oils and margarines ( $r = 0.341$ ;  $P < 0.001$  and  $r = 0.341$ ;  $P < 0.001$ , respectively), and the saturated FA and myristic acid presented a correlation with their content in milk and its by-products ( $r = 0.211$ ;  $P = 0.023$  and  $r=0.272$ ;  $P=0.003$ , respectively). The intraindividual CV of PUFA, saturated FA and monounsaturated FA in

the diet were respectively,  $11.4 \pm 5.6\%$ ,  $8.6 \pm 4.2\%$  and  $6.7 \pm 5.0\%$ . The intraindividual CV of serum PUFA, saturated FA and monounsaturated FA were respectively,  $6.5 \pm 4.6\%$ ,  $7.7 \pm 8.7\%$  e  $11.3 \pm 8.5\%$ . Concluding, in patients with type 2 DM, the serum FA was correlated with their dietary intake, and can be used as biological markers of their content in the diet, and of the consumption of selected sources of fat.

## **Introdução**

Os ácidos graxos (AG) da dieta têm sido associados tanto ao desenvolvimento do diabetes melito tipo 2 (DM tipo 2) (1-3) como de suas complicações crônicas, especialmente as complicações macrovasculares (4). Com isto, a orientação nutricional com ênfase na ingestão de lipídeos tem assumido um papel essencial tanto na prevenção primária, como na prevenção secundária (desenvolvimento de complicações macrovasculares) e terciária em pacientes com DM tipo 2 (5).

Em estudos clínicos e epidemiológicos e na prática clínica a avaliação da ingestão de lipídeos é geralmente realizada por meio de inquéritos alimentares. Apesar de serem técnicas práticas e simples, os inquéritos alimentares são métodos de análise indireta e sujeitos a limitação na coleta de informações e conseqüente super e/ou sub-registro (6;7), além de outras causas de inadequação, em especial em pacientes com DM (8). Pelo exposto, a utilização de marcadores biológicos pode oferecer informações mais precisas por não estarem sujeitos às mesmas limitações, podendo ser complementares à avaliação da dieta habitual assim como da aderência à terapia nutricional recomendada.

A composição dos AG do plasma, do soro ou de outros tecidos corporais (como eritrócitos e tecido adiposo), especialmente os AG essenciais (ácido linoléico e ácido  $\alpha$ -linolênico), pode refletir o conteúdo de AG da dieta e tem sido sugerida como instrumento de avaliação objetiva da composição de lipídeos consumida pelos indivíduos (9-13). Em indivíduos não diabéticos têm sido demonstradas correlações significativas entre a proporção dos AG poliinsaturados (AGPI) totais, ácidos linoléico,  $\alpha$ -linolênico,

eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), tanto no plasma como nas frações éster de colesterol e fosfolipídeos séricos, e o seu conteúdo na dieta (14;15). O único estudo realizado com pacientes com DM analisou apenas composição dos AG do tecido adiposo como marcador biológico da ingestão de lipídeos. Este estudo demonstrou correlações significativas entre os ácidos EPA e DHA do tecido adiposo e seu conteúdo na dieta (16). Até o presente momento não se tem informação sobre o papel dos AG séricos como marcadores biológicos da sua ingestão alimentar em pacientes com DM.

A utilização dos AG séricos como marcadores de fontes alimentares foi estudada apenas em indivíduos não diabéticos (12;14;17;18). Quanto aos AG saturados (AGS) tem sido observada uma correlação significativa entre o ácido mirístico (14:0), o ácido pentadecanóico (15:0) e o ácido heptadecanóico (17:0) e os seus respectivos conteúdos nos produtos lácteos da dieta (13;17-19). Também os AGPI, EPA e DHA correlacionaram-se com seus conteúdos provenientes de produtos marinhos da dieta (12).

A variabilidade intra-individual da ingestão de lipídeos pode influenciar a interpretação das informações fornecidas pelos pacientes nos inquéritos alimentares (7). Além disso, a variabilidade da ingestão alimentar pode prejudicar as análises de correlação entre nutrientes e seus marcadores biológicos, assim como a associação entre nutrientes e doenças crônicas (20). Contudo, em pacientes com DM, poucos autores analisaram a variabilidade da ingestão de lipídeos em inquéritos alimentares. Estes estudos apresentam algumas limitações como, por exemplo, a análise do coeficiente de variação (CV) da ingestão de AG expressa em gramas e não ajustada para a energia, o que ocorre quando os valores são expressos em percentual do valor energético total, e cálculo do coeficiente de

variação em um único período de tempo (21;22). Além disso, alguns destes estudos analisaram apenas pacientes com DM tipo 1 (23;24).

O presente estudo visa avaliar a composição dos AG nos lipídeos totais séricos como marcadores biológicos da ingestão de lipídeos e de alimentos selecionados na dieta habitual de pacientes com DM tipo 2 e determinar a variabilidade intra-individual dos AG séricos e da dieta.

## **Pacientes e Métodos**

### **Pacientes**

Foram selecionados pacientes com DM tipo 2 em acompanhamento no Ambulatório de Diabete do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre de 2003 a 2006. A definição de DM tipo 2 foi baseada nos seguintes critérios: início do DM com idade acima de 30 anos, ausência de episódio prévio de cetose ou cetonúria e tratamento com insulina somente após 5 anos do diagnóstico. Os critérios de exclusão do estudo foram: doenças do aparelho digestivo (associadas à mal absorção), hipotireoidismo não compensado, cardiopatia isquêmica grave, infarto do miocárdio ou revascularização miocárdica nos últimos seis meses, presença de doenças sistêmicas agudas ou crônicas em atividade (ex.: neoplasias), incapacidade de realizar a técnica de recordatório alimentar com pesagem de alimentos, presença de gestação, orientação dietética por nutricionista no último ano, índice de massa corporal (IMC)  $> 40\text{Kg/m}^2$ , níveis de triglicérides séricos  $> 400\text{mg/dL}$  e creatinina sérica  $> 1,5\text{mg/dL}$ .

### **Logística do estudo**

Neste estudo transversal os pacientes foram inicialmente submetidos a uma avaliação clínica e treinados para a realização da técnica de registros alimentares (RA) com pesagem de alimentos. Uma explicação detalhada foi fornecida a cada paciente, com demonstrações da técnica e orientação para realização do RA de um dia para treinamento, com posterior revisão com a nutricionista. Os pacientes realizaram registros alimentares com pesagem de três dias e concomitante ao terceiro dia de registro, coleta de urina de 24h. No dia seguinte a coleta de urina os pacientes eram submetidos à coleta de sangue após jejum de 12h e eram atendidos pela nutricionista para revisão dos registros. Os pacientes em uso de hipolipemiantes orais eram orientados a suspendê-los por seis semanas para a coleta de sangue.

Para a avaliação da variabilidade intra-individual da ingestão de gorduras e dos AG séricos, uma sub-amostra de pacientes selecionados consecutivamente repetiu a realização do RA de três dias com coleta de urina por mais duas ocasiões com intervalo de um mês entre elas.

O presente protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e os pacientes depois de esclarecidos acerca da natureza do mesmo, assinaram um Termo de Consentimento (ANEXO A).

### **Avaliação Nutricional**

A avaliação nutricional consistiu da realização do RA de 3 dias e de medidas antropométricas.

O RA de três dias era composto por dois dias da semana e um dia de final-de-semana, sendo o último dia de registro concomitante com coleta de urina de 24 horas para medida da uréia urinária (ANEXO B) (25). Foram fornecidas balanças comerciais domésticas (medidas de 1-125 gramas) aos pacientes para registro do peso dos alimentos consumidos e copos graduados (pyrex) com medidas até 250 ml para registro do volume dos líquidos consumidos.

A análise dos alimentos foi realizada utilizando-se a média das calorias e nutrientes ingeridos nos três dias de RA. A ingestão dos macro- e micronutrientes da dieta foi analisada através do programa Nutribase 98 Clinical Nutritional Manager V1.09 (26). A adequacidade dos RA de três dias foi confirmada através da estimativa da ingestão protéica pela uréia urinária utilizando-se a fórmula: Ingestão Protéica (g de Proteína/dia) = Ingestão Nitrogenada X 6,25, onde: Ingestão Nitrogenada = nitrogênio da uréia urinária (uréia urinária/2) + nitrogênio não uréico (= 0,031g/kg PA) (27). As coletas de urina foram consideradas adequadas quando o valor de creatinina urinária era de 700 a 1500mg/24h nas mulheres e de 1000 a 1800mg /24h nos homens (28). A ingestão de álcool foi avaliada através de aplicação de questionário de frequência alimentar semi-quantitativo (ANEXO C).

As medidas antropométricas compreenderam peso (com roupas leves e sem sapatos), estatura, média da dobra cutânea tricipital (3 medidas) e circunferência do braço (medidas no ponto médio, entre o acrômio e o olécrano na face posterior do braço não dominante e relaxado). A área muscular do braço foi calculada de acordo com o Índice de Frisancho como descrito previamente (25). Para tais medidas foram utilizadas balança antropométrica, fitas métricas de fibra de vidro e plicômetro científico CESCORF®. Os

dados antropométricos foram analisados pelo programa Sistema de Apoio à decisão em Nutrição da Escola Paulista de Medicina (29).

### **Avaliação Clínica**

A medida da pressão arterial foi realizada em duas medidas da pressão arterial com esfigmomanômetro aneróide, com intervalo de 1 minuto, com o paciente sentado após 5 minutos de repouso, utilizando manguito de tamanho adequado ao diâmetro do braço, nas fases I e V de Korotkoff, sendo as leituras feitas o mais próximo da marcação de 2 mmHg na escala. O paciente era considerado hipertenso quando apresentasse as médias da pressão sistólica maior ou igual a 140mmHg ou da diastólica maior ou igual a 90mmHg em pelo menos 2 ocasiões em separado, ou história de Hipertensão Arterial Sistêmica em tratamento farmacológico independente dos níveis pressóricos (30). A avaliação da função renal foi feita através da dosagem de creatinina sérica e da medida da concentração de albumina urinária em amostra casual de urina estéril (31). Para confirmação da presença de micro ou macroalbuminúria, se necessário, era realizada a medida da excreção urinária de albumina em 24h. A avaliação cardiovascular consistiu da realização do questionário cardiovascular da Organização Mundial de saúde (questionário Rose) (32) e do eletrocardiograma de repouso. O eletrocardiograma de esforço ou a cintilografia miocárdica com estresse eram realizados, quando indicados, para avaliar a presença de isquemia miocárdica (33). A doença vascular periférica foi avaliada através do questionário a cerca da presença de claudicação intermitente (questionário Rose) e/ou ausência do pulso tibial posterior no exame clínico. A presença de doença cerebrovascular foi estabelecida se história de

acidente vascular cerebral e/ou achados compatíveis (seqüelas) estavam presentes. A presença de retinopatia diabética foi avaliada através de fundoscopia direta sobre midríase.

Quanto ao hábito de fumar, foi considerado fumante aquele paciente tabagista atual ou que parou de fumar em período de até seis meses da avaliação. Os demais foram considerados ex-fumantes ou não fumantes.

A avaliação da atividade física foi realizada aplicando-se questionário padrão, de acordo com Tuomilehto *et al.* (34). O paciente era considerado sedentário quando suas atividades diárias habituais correspondiam ao nível 1 do questionário para avaliação de atividade física proposto. O nível 2 do questionário corresponde a atividade leve, nível 3 corresponde a indivíduos ativos e nível 4 a indivíduos muito ativos (ANEXO D).

### **Análise laboratorial**

A glicose sérica foi medida pelo método da glicose-oxidase, a creatinina sérica através do método de Jaffé, e a hemoglobina glicosilada por cromatografia líquida de alta precisão (Merck-Hitachi L9100 com valores de referência de 4,7-6,0%). A albumina urinária foi medida por imunoturbidimetria (Sera-Pak immuno microalbuminuria; Bayer; Tarrytown NY). O colesterol total e os triglicerídeos foram medidos por método colorimétrico enzimático e o colesterol HDL por método enzimático direto. O colesterol LDL foi calculado pela Fórmula de Friedewald ( $LDL = CT - HDL - TG/5$ ). A uréia urinária foi determinada por método cinético enzimático.

Os AG séricos foram determinados nos lipídeos totais. Os ácidos graxos foram extraídos do soro com clorofórmio-metanol (2:1, em volume) e convertidos em ésteres metílicos através da metilação com trifluoreto de boro metanol como descrito previamente

(35). Posteriormente, os ésteres metílicos foram separados e identificados por cromatografia gasosa (Hewlett-Packard 6890 com detector de chama), usando-se uma coluna com diâmetro interno de 0,20  $\mu\text{m}$  (CP-Sil 88). O hélio foi usado como gás de arraste. O sistema de injeção para colunas capilares em modalidade de *splitter* teve relação de partição de 5:1. A temperatura do injetor foi de 200°C e a do detector foi de 250°C. A temperatura inicial da coluna foi de 160°C permanecendo nesta por 5 minutos, após atingiu 190°C numa velocidade de 2°C/min permanecendo nesta por 2 minutos e seguindo para 220°C a 1°C/min. Para a identificação dos AG foi utilizado um padrão contendo 24 AG. A proporção de cada AG foi determinada pela integração da área sob a curva de cada pico e dividindo-se o resultado pela área total de todos os AG.

### **Análise Estatística**

Na comparação das características clínicas e laboratoriais quantitativas foi aplicado o teste t de Student ou U de Mann Whithney para amostras independentes, e o teste qui quadrado para as variáveis qualitativas.

O coeficiente de variação intra-individual (CVi) médio da ingestão de gorduras e dos AG séricos foi calculado a partir do CVi de cada paciente onde  $CVi = (DP/média) \times 100$ . Na comparação da ingestão de gorduras e dos AG séricos entre os três meses do estudo de variabilidade foram utilizados os testes ANOVA para medidas repetidas ou ANOVA de Friedman (para as variáveis sem distribuição normal).

As correlações entre os AG séricos e os AG ingeridos na dieta, assim como entre os AG séricos e em suas fontes alimentares, foram determinadas através do Coeficiente de Correlação de Pearson ajustado para sexo e teste  $A_{1C}$ . Aquelas variáveis que não apresentavam distribuição normal foram distribuídas em “ranks” para posterior análise das correlações.

Os dados foram descritos como média  $\pm$  desvio padrão ou como mediana (mínimo – máximo). Foram utilizados os Programas estatísticos SPSS versão 12.0 e Medcalc. Foi considerado significativo um alfa  $\leq 0,05$ .

## Resultados

### Pacientes

Cento e sessenta e sete pacientes foram considerados elegíveis; destes, 28 se recusaram a participar, 8 não realizaram os RA de forma adequada, 6 desistiram, 3 iniciaram participação em outros protocolos, e 4 apresentaram intercorrências clínicas (piora do controle glicêmico, infecção urinária de repetição, internação psiquiátrica e etilismo). Desta forma foram incluídos 118 pacientes (66 homens e 52 mulheres) (Figura 1).

A média de idade dos pacientes foi  $60 \pm 10$  anos, o tempo médio de DM  $11 \pm 7$  anos e o IMC  $28 \pm 4$  Kg/m<sup>2</sup>. Setenta e quatro pacientes (63%) apresentavam circunferência de cintura de maior risco cardiovascular ( $> 94$ cm para homens e  $> 80$ cm para mulheres) (36). Dezesesseis pacientes (14%) eram tabagistas, noventa e dois pacientes (78%) eram hipertensos, quatorze pacientes (12%) apresentavam cardiopatia isquêmica e 43 pacientes (36%) apresentavam nefropatia diabética (micro- ou macroalbuminúria). Quanto às características laboratoriais, a glicose de jejum foi  $145 \pm 52$ mg/dl, o teste A<sub>1C</sub>  $7,3 \pm 1,5\%$ , colesterol sérico  $200 \pm 41$ mg/dl, colesterol HDL  $49 \pm 11$ mg/dl, colesterol LDL  $124 \pm 34$ mg/dl, triglicerídeos  $133 (40-573)$  mg/dl e a creatinina sérica  $0,9 \pm 0,2$  mg/dl. Com relação às características da dieta, o valor energético total (VET) diário foi  $1922 \pm 465$ Kcal; deste, 19% foi proveniente de proteínas, 46% de carboidratos e 34% de gorduras. Da gordura da dieta, 9,8% do VET foi proveniente de AGS, 12% de AGMI e 10% de AGPI. A

média da razão poliinsaturados/saturados (P/S) foi  $1,1 \pm 0,4$  e da razão linoléico/linolênico  $10,6 \pm 6,9$ . A ingestão diária média de colesterol foi  $218 \pm 104$  mg e a de fibras totais foi  $22 \pm 8$  g.

Da sub-amostra de 27 pacientes selecionada para avaliar a variabilidade intra-individual da ingestão de gorduras e dos AG séricos, quatro pacientes não concluíram as coletas devido a ocorrência de eventos clínicos (pneumonia, infarto do miocárdio e acidente de automóvel com fratura óssea). Dessa forma, 23 pacientes (14 homens e 9 mulheres) foram incluídos. Estes 23 pacientes não foram diferentes em relação às características clínicas e laboratoriais quando comparados com os 95 pacientes que não participaram desta parte do estudo. Quanto às características da dieta, o grupo de 23 pacientes apresentou uma menor ingestão de fibras ( $19 \pm 6$ g vs  $23 \pm 8$ g/dia;  $p=0,048$ ) do que os demais 95 pacientes. Não se observou diferença entre os grupos quanto ao VET ou quanto às proporções de proteína, carboidratos e gorduras da dieta.

Quando os 118 pacientes foram divididos de acordo com o sexo, observou-se que os homens apresentaram idade superior à das mulheres ( $62 \pm 8$  vs  $58 \pm 12$  anos;  $p = 0,015$ ) assim como valores de creatinina sérica ( $0,98 \pm 0,20$  mg/dl vs  $0,82 \pm 0,14$  mg/dl;  $p < 0,001$ ). Os valores de colesterol HDL nos homens foram menores do que nas mulheres ( $46 \pm 11$ mg/dl vs  $52 \pm 10$  mg/dl;  $p = 0,002$ ). Quanto às características das dietas os homens apresentaram maiores valores de VET ( $2096 \pm 451$ Kcal vs  $1701 \pm 384$ Kcal;  $p < 0,001$ ), conteúdo de colesterol ( $240 \pm 113$ mg/dia vs  $190 \pm 86$ mg/dia;  $p = 0,010$ ) e de fibras totais ( $24 \pm 8$ g/dia vs  $19 \pm 8$ g/dia;  $p < 0,001$ ) e menor proporção de gorduras totais ( $34 \pm 7\%$ VET vs  $36 \pm 7\%$ VET;  $p = 0,039$ ) do que as mulheres.

### **Correlações entre os AG séricos e seus conteúdos na dieta**

A composição dos AG séricos totais e individuais e dos AG ingeridos na dieta dos 118 pacientes com DM tipo 2, assim como os respectivos coeficientes de correlação estão descritos na Tabela 1. As correlações entre os AG séricos e seu conteúdo na dieta estão expressos na Figura 2. Observou-se uma correlação significativa entre os AGPI, AGS e AGMI séricos e os respectivos AG ingeridos na dieta, ajustada para sexo e teste A1C. Não se observou diferença entre os coeficientes de correlação de cada grupo de AG.

Ao serem analisados os AGPI individuais, observou-se correlação apenas entre o conteúdo de ácido linoléico (18:2n6) sérico e seu conteúdo na dieta. Em relação aos AGS individuais, os ácidos mirístico (14:0) e palmítico (16:0) séricos correlacionaram-se com seus conteúdos na dieta. Quando analisados os AGMI individuais, observou-se correlação apenas entre o ácido palmitoléico sérico e seu conteúdo na dieta (Tabela 1).

Quando a ingestão de AGPI dos 118 pacientes foi dividida em decis, observou-se uma correlação significativa entre as médias de ingestão de AGPI de cada decil e as médias correspondentes dos valores de AGPI séricos (Fig. 3). Não houve correlação entre as médias de ingestão de cada decil de AGS e AGMI e as respectivas médias de proporções séricas.

As correlações entre os AG séricos e ingeridos foram analisados separadamente nos homens e nas mulheres (Tabela 2). Quando analisadas apenas as pacientes femininas, as correlações mantiveram-se significativas quanto aos AGPI e ácido linoléico, AGS e ácido mirístico e AGMI. Não se observou correlação entre o ácido palmítico e ácido palmitoléico séricos e seus conteúdos na dieta, respectivamente (Tabela 2). Nos homens as correlações se mantiveram significativas quanto aos AGPI e ácido linoléico, AGS, ácido mirístico e

ácido palmítico. Não se observaram correlações significativas entre os AGMI e ácido palmitoléico séricos e seus conteúdos correspondentes na dieta (Tabela 2). Quando comparados os coeficientes de correlação entre os AG séricos e os AG da dieta entre os homens e as mulheres, apenas a correlação entre o EPA sérico e seu conteúdo na dieta nos homens foi significativamente maior que nas mulheres ( $r = 0,240$  vs  $r = - 0,197$ ;  $P = 0,020$ ).

Em relação às fontes alimentares de AG da dieta observaram-se correlações significativas entre as proporções de AGPI e de ácido linoléico séricos e o seu conteúdo em óleos vegetais e margarinas ( $r = 0,341$ ;  $P < 0,001$  e  $r = 0,341$ ;  $P < 0,001$ , respectivamente). Quanto às fontes lácteas, observou-se correlação significativa entre as proporções de AGS e de ácido mirístico séricos e o seu conteúdo em leites e derivados ( $r = 0,211$ ;  $P = 0,023$  e  $r = 0,272$ ;  $P = 0,003$ , respectivamente). Não foram observadas correlações entre AG séricos e a ingestão de carnes e entre AG séricos e a ingestão de embutidos.

### **Variabilidade Intra-Individual dos Ácidos Graxos da dieta e séricos**

A ingestão de lipídeos (% do VET) foi de  $35,7 \pm 6,4$  % no primeiro mês,  $36,1 \pm 6,1$ % no segundo mês e de  $35,5 \pm 6,5$ % no terceiro mês, sem diferença entre eles ( $P > 0,05$ ). O CV intra-individual médio da ingestão de lipídeos foi de  $8,1 \pm 5,3$ %.

A ingestão dos AGPI, AGS e AGMI, assim como dos AG individuais analisados nos três meses do estudo está descrita na Tabela 3. Não se observou diferença na ingestão dos AG entre os 3 meses, exceto a ingestão de AGPI que foi menor no primeiro mês quando comparada ao segundo mês. Os CVs intra-individuais variaram de 6,7% até 132,1%.

Os AG séricos nos três meses do estudo e seus respectivos CVs intra-individuais médios estão descritos na Tabela 4. Os percentuais de AGPI foram menores no terceiro mês quando comparado ao primeiro e segundo mês, enquanto os percentuais do ácido linoléico foram menores no terceiro mês apenas comparado ao segundo mês. Os CVs intra-individuais médios dos AGs séricos estão descritos na Tabela 4. Os CVs intra-individuais variaram de 4,9% até 173,2%.

Quando analisados os CVs intra-individuais da ingestão de lipídeos e dos AG séricos divididos de acordo com o sexo não se observou diferença entre os homens e as mulheres, com exceção do CV do EPA sérico que foi significativamente maior nas mulheres ( $156\% \pm 30$  vs  $114\% \pm 58$ ;  $p = 0,040$ ) quando comparado aos homens.

## **Discussão**

### **Correlações entre os AG séricos e seus conteúdos na dieta e em fontes alimentares**

No presente estudo demonstrou-se correlação significativa entre os AGPI séricos e seus percentuais na dieta de pacientes com DM tipo 2. Esta correlação se mostrou ainda mais intensa quando a ingestão de AGPI da dieta foi dividida em decis e correlacionada com a proporção média dos AGPI séricos em cada decil. Este achado está de acordo com outros estudos realizados em indivíduos não-diabéticos, que demonstraram correlação significativa entre a ingestão alimentar dos AGPI e a sua proporção nos AG séricos, tanto medidos em lipídeos totais (9;13) como nas frações ésteres de colesterol (15) e fosfolipídeos (12;15). Este resultado se deve especialmente ao ácido linoléico que compõe 89% do total de AGPI da dieta dos pacientes do presente estudo. Quando analisado apenas

o ácido linoléico sérico, também se observou uma correlação significativa com o seu conteúdo da dieta, assim como em outros estudos (9;13;15;37).

Quando analisados os AGPI da fração n-3, não se observou correlação entre a sua proporção sérica e seu percentual na dieta, diferente do demonstrado por outros autores (12-14;37;38). Isto se deve provavelmente a dois fatores. Primeiro, no presente estudo a proporção de AGPI da fração n-3 do total de gordura da dieta foi muito pequena. Geralmente, os indivíduos com uma dieta tipicamente ocidental, ou similar a ela, apresentam uma proporção reduzida de AGPI n-3 (11) especialmente quando comparados com populações com ingestão rica em produtos marinhos, que são ricos em EPA e DHA (37). A menor proporção de um nutriente na dieta pode prejudicar as análises de correlação com seus respectivos marcadores biológicos. Como exemplo, no estudo japonês de Kobayashi et al, a ingestão de EPA e DHA dos participantes foi em torno de 1,1 e 1,7% respectivamente, da gordura total da dieta, enquanto a população do presente estudo apresentou uma ingestão em torno de 0,021 e 0,070% dos AG totais. De fato, em estudos realizados com outras populações japonesas (12) tem sido observado correlações superiores a de estudos com populações ocidentais (13;39) especialmente quanto aos EPA e DHA. No presente estudo apenas 15% dos pacientes relatou ingerir carne de peixe. O segundo aspecto é a grande variabilidade intra-individual da ingestão da fração n-3 dos AGPI, assim como das suas proporções séricas. No presente estudo observou-se um CV intra-individual de até 132% para os AGPI n-3 da dieta e de até 173% para os AGPI n-3 séricos. É sabido que estes altos valores de variabilidade intra-individual podem prejudicar as análises de correlação (40).

Quando analisados os AGS e os AGMI, a correlação entre seus conteúdos na dieta e suas proporções nos lipídeos séricos não foi tão consistente. As correlações tanto do grupo de AGS e de AGMI, como de alguns AG individuais (ácidos mirístico, palmítico e palmitoléico) foram significativas, mas quando sua ingestão foi dividida em decís, houve perda da significância. Estes resultados são comparáveis aos de outros estudos que analisaram os AGS e AGMI séricos como marcadores biológicos da sua ingestão em indivíduos sem DM, onde foram observadas correlações fracas ou ausência de correlação (9;11-15;39). As correlações menores dos AGS e aos AGMI séricos poderiam ser explicadas pelo fato de os AGS e os AGMI poderem apresentar produção endógena (síntese de novo) a partir do metabolismo dos carboidratos (acetil CoA). No entanto, já foi demonstrado que a síntese de gordura é relativamente rara em indivíduos que consomem mais de 25% de energia proveniente de gordura (41). Como no presente estudo a ingestão média de gordura foi de 35% do VET, possivelmente a contribuição da síntese de gordura endógena seja desprezível como fonte de AGS e AGMI séricos, e isto explique a presença de correlação significativa.

As correlações analisadas nos homens e nas mulheres foram similares, exceto quanto ao EPA, que mostrou ter correlação significativa apenas nos homens. Isto poderia ser devido à conhecida maior atividade da enzima delta-6 dessaturase nas mulheres, que permite maior conversão do ácido linolênico para seus metabólitos (EPA, DPA e DHA) (42). Ou seja, a proporção de EPA sérico proveniente da conversão do ácido linolênico nas mulheres seria maior do que nos homens, o que poderia diminuir a correlação entre o EPA proveniente da dieta e a sua proporção sérica nas mulheres.

Quando se analisa os AG em diferentes compartimentos corporais, não é esperado que ocorram correlações fortes com os AG da dieta (ou seja, próximos de 1,0), independente do tipo de tecido analisado (10). Fatores não-dietéticos como absorção, metabolismo, determinantes genéticos ou de estilo de vida, podem afetar a concentração dos AG nos tecidos humanos (10;20). Também discrepâncias nos registros alimentares associadas às dificuldades na mensuração das fontes de gorduras da dieta (exemplo: quantidade de óleo utilizado), e a erros na inferência da composição de gordura de determinados alimentos, podem comprometer as análises de correlação (10).

No presente estudo também se observou uma associação significativa entre os AGPI séricos, em especial o ácido linoléico, e sua principal fonte alimentar, os óleos e margarinas. Estudos prévios que analisaram a associação entre os AGPI séricos e suas fontes alimentares o fizeram em relação aos AGPI da fração n-3 e ingestão de produtos marinhos (12;39) e apenas em indivíduos não-diabéticos.

Quanto aos AGS, o presente estudo demonstrou correlação significativa com a ingestão de produtos lácteos e derivados, em especial o ácido mirístico, como já demonstrado por outros autores em indivíduos sem DM (18). A mesma associação não foi encontrada quando analisados os ácidos pentadecanóico (15:0) e heptadecanóico (17:0), como descrita por Smedman et al. (19). Estes autores demonstraram correlação entre a proporção dos AG 15:0 e 17:0 nas frações éster de colesterol e fosfolípídeos séricos e a ingestão de produtos lácteos. Uma possível justificativa para esta diferença pode ser o fato de o presente estudo ter analisado os AG nos lipídeos totais séricos.

Uma possível limitação na análise de correlações entre os AG séricos e da dieta foi a impossibilidade de correção para a variabilidade intra-individual da ingestão nos 118

pacientes analisados, uma vez que foi realizada apenas uma avaliação (um RA três dias e uma coleta de sangue). Este fato pode ter tido um efeito em reduzir o valor das correlações obtidas (20). De fato, quando este tipo de análise é realizado com a possibilidade deste ajuste, observa-se uma melhor correlação. Nos 23 pacientes que foram estudados no protocolo da variabilidade, foi observada uma correlação superior ( $r=0,455$ ) para os AGPI (dados não apresentados).

Outra possível limitação nas análises de correlação do presente estudo seria que a medida dos AG, como marcadores biológicos da ingestão alimentar de AG, foi realizada em lipídeos totais séricos e não em frações. De fato, os AG de cada compartimento corporal refletem a ingestão alimentar em diferentes períodos de tempo: os triglicédeos séricos refletem a ingestão da última refeição, os ésteres de colesterol e os fosfolipídeos refletem a ingestão de curto-prazo, enquanto os eritrócitos e o tecido adiposo refletem longos períodos de ingestão alimentar (43). Além disso, cada tecido tem uma especificidade diferente para cada AG, tornando-o um marcador melhor dependendo do AG analisado (15). Neste sentido, a análise dos AG nos lipídeos totais séricos permitiria avaliar de uma forma mais abrangente o efeito da alimentação sobre a composição dos AG séricos, embora este tipo de estratégia tenha como consequência provável os menores valores de correlação. Deve ser também considerado que a análise dos lipídeos totais é tecnicamente mais simples e rápida e, portanto, mais aplicável para estudos clínicos.

### **Variabilidade intra-individual dos Ácidos Graxos da dieta e séricos**

No presente estudo o CV<sub>i</sub> médio da ingestão de lipídeos dos pacientes com DM tipo 2 foi 8,1% analisado durante três meses e através de RA 3 dias com pesagem de alimentos

repetidos por três vezes. Este valor parece ser menor do que o descrito na literatura (21;22;24), possivelmente por apresentar um delineamento diferente dos outros estudos. Close et al (22), analisando a ingestão de lipídeos através de RA de 7 dias de pacientes adultos com DM, encontrou para os homens valores de CV de 19,6 a 22,4% e para as mulheres valores de 19,9 a 21,6%. Os valores superiores encontrados pelo autor podem ser explicados pelo fato de terem sido medidos em gramas e não como percentual do VCT. No *DNCT Study* (21), os valores do CVi da ingestão de lipídeos foram descritos separados para os pacientes com DM tipo 1 e 2 e também para homens e mulheres. O CVi da ingestão lipídica nos pacientes com DM tipo 2 foi 16,4% e 15,0% para os homens e mulheres, respectivamente. Estes CVi foram calculados a partir de registros diários de 7 dias consecutivos, o que pode também resultar em valores mais altos.

Um estudo com delineamento muito similar ao presente estudo, realizado com RA três dias repetido em duas ocasiões com intervalo de 6 semanas entre eles, também demonstrou um CVi médio de ingestão de lipídeos de 27,7% (24). Provavelmente este valor superior se deva ao fato de ter sido analisado em pacientes com DM tipo 1 que apresentam uma faixa etária menor e por ter sido determinado a partir da ingestão de lipídeos analisada em conteúdo absoluto (gramas) e não corrigido para a energia.

No presente estudo, quando analisados os CVi dos grupos de AG, os valores foram 8,1%; 6,7%; e 11,4% para os AGS, AGMI e AGPI, respectivamente. Em indivíduos sem DM, Jorgensen (44) em 1992 encontrou CVs de 18, 19 e 34% para AGS, AGM e AGP, respectivamente, determinados por registros alimentares de 7 dias e avaliando a ingestão dos mesmos em gramas por dia. Até o presente momento são escassos os dados sobre variabilidade intra-individual da ingestão dos grupos de AG em pacientes com DM. Riley

et al (23) analisando pacientes com DM tipo 1, observou um CVi para a ingestão de AGS de 29,4%, utilizando um RA de 2 dias consecutivos com pesagem de alimentos.

Quando analisada a ingestão dos AG individuais, observaram-se valores altos especialmente para os AGPI da fração n-3 que variaram de 11,9 a 132,1%. Esta grande variabilidade pode estar relacionada ao menor consumo de fontes de AGPI da fração n-3 na população estudada. Entre os AGPI da fração n-6 o ácido araquidônico foi o que apresentou maior CVi (37,9%). O que poderia explicar os valores superiores de CVi destes grupos de AG e dos AGs individuais em relação à gordura total da dieta pode ser a maior dificuldade dos participantes em registrar algumas características particulares sobre as fontes das gorduras, como o tipo de carne, o tipo de óleo utilizado no cozimento, o que não mudaria o total ingerido mas sim a proporção dos AGs individuais. Diferenças de plantio, criação e processamento dos alimentos são fatores que interferem no conteúdo de AG dos alimentos, assim como diferenças nas descrições da composição de gordura dos alimentos em tabelas alimentares (10).

Os valores dos CVi dos AGS, AGMI e AGPI e dos AG individuais séricos apresentaram um comportamento em geral similar aos CVi dos AG da dieta, sendo que a maior variabilidade dos CVi também foi observada nos AGPI da fração n-3. Até onde se tem conhecimento, não se tem informação sobre a variabilidade intra-individual dos AG séricos em pacientes com DM.

**Conclusão**

A combinação da medida dos AG séricos com um instrumento de avaliação dietética permite uma análise mais acurada da ingestão lipídica em pacientes com DM tipo 2.

Em conclusão, os AGPI, especialmente o ácido linoléico, podem ser usados como marcadores biológicos da sua ingestão e como marcadores da ingestão de óleos e margarinas nesta população. Entre os AGS, o ácido mirístico também pode ser usado como marcador da ingestão de produtos lácteos.

## Referências Bibliográficas

- (1) Marshall JA, Bessesen DH. Dietary fat and the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002 Mar;25(3):620-2.
- (2) Nettleton JA, Katz R. n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review. *J Am Diet Assoc* 2005 Mar;105(3):428-40.
- (3) van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men. *Diabetes Care* 2002 Mar;25(3):417-24.
- (4) Franz MJ, Bantle JP, Beebe CA, Brunzell JD, Chiasson JL, Garg A, et al. Nutrition principles and recommendations in diabetes. *Diabetes Care* 2004 Jan;27 Suppl 1:S36-S46.
- (5) Nutrition Recommendations and Interventions for Diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2007 Jan;30 Suppl 1:S48-S65.
- (6) Buzzard M. 24-h dietary recall and food record methods. *Nutritional Epidemiology*. 2 ed. New York: Oxford University Press; 1998. p. 50-73.
- (7) Goris AH, Westerterp-Plantenga MS, Westerterp KR. Underreporting and underrecording of habitual food intake in obese men: selective underreporting of fat intake. *Am J Clin Nutr* 2000 Jan;71(1):130-4.

- (8) Vaz JS, Bittencourt M, Almeida JC, Gross JL, Azevedo MJ, Zelmanovitz T. Protein intake estimated by weighed diet records in type 2 diabetic patients: Misreporting and intra-individual variability using 24-h nitrogen output as criterion standart. *Am J Diet Assoc.* In press 2007.
- (9) Andersen LF, Solvoll K, Johansson LR, Salminen I, Aro A, Drevon CA. Evaluation of a food frequency questionnaire with weighed records, fatty acids, and alpha-tocopherol in adipose tissue and serum. *Am J Epidemiol* 1999 Jul 1;150(1):75-87.
- (10) Arab L. Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr* 2003 Mar;133 Suppl 3:925S-32S.
- (11) Baylin A, Kim MK, Donovan-Palmer A, Siles X, Dougherty L, Tocco P, et al. Fasting whole blood as a biomarker of essential fatty acid intake in epidemiologic studies: comparison with adipose tissue and plasma. *Am J Epidemiol* 2005 Aug 15;162(4):373-81.
- (12) Kobayashi M, Sasaki S, Kawabata T, Hasegawa K, Akabane M, Tsugane S. Single measurement of serum phospholipid fatty acid as a biomarker of specific fatty acid intake in middle-aged Japanese men. *Eur J Clin Nutr* 2001 Aug;55(8):643-50.
- (13) Sun Q, Ma J, Campos H, Hu FB. Plasma and erythrocyte biomarkers of dairy fat intake and risk of ischemic heart disease. *Am J Clin Nutr* 2007 Oct;86(4):929-37.
- (14) Hodge AM, Simpson JA, Gibson RA, Sinclair AJ, Makrides M, O'Dea K, et al. Plasma phospholipid fatty acid composition as a biomarker of habitual dietary fat

- intake in an ethnically diverse cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007 Jul;17(6):415-26.
- (15) Ma J, Folsom AR, Shahar E, Eckfeldt JH. Plasma fatty acid composition as an indicator of habitual dietary fat intake in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Am J Clin Nutr* 1995 Sep;62(3):564-71.
- (16) Popp-Snijders C, Blonk MC. Omega-3 fatty acids in adipose tissue of obese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus reflect long-term dietary intake of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid. *Am J Clin Nutr* 1995 Feb;61(2):360-5.
- (17) Wolk A, Vessby B, Ljung H, Barrefors P. Evaluation of a biological marker of dairy fat intake. *Am J Clin Nutr* 1998 Aug;68(2):291-5.
- (18) Wolk A, Furuheim M, Vessby B. Fatty acid composition of adipose tissue and serum lipids are valid biological markers of dairy fat intake in men. *J Nutr* 2001 Mar;131(3):828-33.
- (19) Smedman AE, Gustafsson IB, Berglund LG, Vessby BO. Pentadecanoic acid in serum as a marker for intake of milk fat: relations between intake of milk fat and metabolic risk factors. *Am J Clin Nutr* 1999 Jan;69(1):22-9.
- (20) Willet W.C. Nature of variation in diet. *Nutritional Epidemiology*. 2 ed. New York: Oxford University Press; 1998. p. 33-49.

- (21) Diet and day-to-day variability in a sample of Spanish adults with IDDM or NIDDM. The Diabetes and Nutrition Study Group of the Spanish Diabetes Association (GSEDNu). *Horm Metab Res* 1997 Sep;29(9):450-3.
- (22) Close EJ, Wiles PG, Lockton JA, Walmsley D, Oldham J, Wales JK. The degree of day-to-day variation in food intake in diabetic patients. *Diabet Med* 1993 Jul;10(6):514-20.
- (23) Riley MD, Blizzard L. Comparative validity of a food frequency questionnaire for adults with IDDM. *Diabetes Care* 1995 Sep;18(9):1249-54.
- (24) Wolever TM, Hamad S, Chiasson JL, Josse RG, Leiter LA, Rodger NW, et al. Day-to-day consistency in amount and source of carbohydrate intake associated with improved blood glucose control in type 1 diabetes. *J Am Coll Nutr* 1999 Jun;18(3):242-7.
- (25) Moulin CC, Tiskievicz F, Zelmanovitz T, de OJ, Azevedo MJ, Gross JL. Use of weighed diet records in the evaluation of diets with different protein contents in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 1998 May;67(5):853-7.
- (26) USDA SR 12 Research Quality Nutrient Data. The Agricultural Research Service: Composition of Foods, Agricultural Handbook no 8. Washington, DC.: US Department of Agriculture; 1998.
- (27) Maroni BJ, Steinman TI, Mitch WE. A method for estimating nitrogen intake of patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1985 Jan;27(1):58-65.

- (28) Latner L.A. Protein Metabolism. In: Cantarow and Trumper, editor. Clinical Biochemistry. 7 ed. WB Saunders Copany; 1975. p. 147-234.
- (29) Sistema de apoio à decisão em nutrição. Versão 2.5 Centro de informática em saúde (CIS), Escola paulista de medicina (EPM); São Paulo, SP.
- (30) Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. JAMA 2003 May 21;289(19):2560-72.
- (31) Gross JL, Zelmanovitz T, Oliveira J, de Azevedo MJ. Screening for diabetic nephropathy: is measurement of urinary albumin-to-creatinine ratio worthwhile? Diabetes Care 1999 Sep;22(9):1599-600.
- (32) ROSE GA. The diagnosis of ischaemic heart pain and intermittent claudication in field surveys. Bull World Health Organ 1962;27:645-58.
- (33) Standards of medical care in diabetes--2006. Diabetes Care 2006 Jan;29 Suppl 1:S4-42.
- (34) Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. N Engl J Med 2001 May 3;344(18):1343-50.

- (35) FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957 May;226(1):497-509.
- (36) Zimmet P, berti KG MM, Serrano RM. [A new international diabetes federation worldwide definition of the metabolic syndrome: the rationale and the results]. *Rev Esp Cardiol* 2005 Dec;58(12):1371-6.
- (37) Astorg P, Arnault N, Czernichow S, Noisette N, Galan P, Hercberg S. Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids* 2004 Jun;39(6):527-35.
- (38) Kuriki K, Nagaya T, Tokudome Y, Imaeda N, Fujiwara N, Sato J, et al. Plasma concentrations of (n-3) highly unsaturated fatty acids are good biomarkers of relative dietary fatty acid intakes: a cross-sectional study. *J Nutr* 2003 Nov;133(11):3643-50.
- (39) Astorg P, Bertrais S, Laporte F, Arnault N, Estaquio C, Galan P, et al. Plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids as biomarkers of their dietary intakes: a cross-sectional study within a cohort of middle-aged French men and women. *Eur J Clin Nutr* 2007 Jul 11.
- (40) Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, et al. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol* 1985 Jul;122(1):51-65.

- (41) Hellerstein MK. De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects. *Eur J Clin Nutr* 1999 Apr;53 Suppl 1:S53-S65.
- (42) Burdge G. Alpha-linolenic acid metabolism in men and women: nutritional and biological implications. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004 Mar;7(2):137-44.
- (43) Cantwell MM. Assessment of individual fatty acid intake. *Proc Nutr Soc* 2000 May;59(2):187-91.
- (44) Jorgensen LM, Isaksson B, Schroll M. Reproducibility and validity of 7-day food records. *Eur J Clin Nutr* 1992 Oct;46(10):729-34.

Tabela 1. Valores de AG séricos e da dieta e suas correlações em pacientes com DM tipo 2 (n=118)

AG	Soro	Dieta	r*	P
	(% dos lipídeos totais)	(% lipídeos)		
AGPI	38,1 ± 5,2	28,6 ± 7,1	0,37	<0,001
18:2n6	28,7 ± 4,5	25,5 ± 6,4	0,35	<0,001
20:4n6	5,6 (0,5-10,1)	0,1 (0,0-1,8)	0,10	0,287
18:3n3	0,4 (0,0-6,0)	3,0 (0,5-5,5)	0,12	0,180
20:5n3	0,00 (0,00-0,47)	0,00 (0,00-0,50)	-0,09	0,330
22:6n3	0,38 (0,00-7,45)	0,03 (0,00-1,50)	0,01	0,914
AGS	38,9 ± 4,1	28,1 ± 5,3	0,31	0,001
14:0	1,8 (0,0-10,6)	1,9 (0,0-4,8)	0,35	<0,001
16:0	28,6 ± 3,0	15,8 ± 2,2	0,22	0,017
18:0	7,4 (0,7-17,1)	7,3 (4,8-9,8)	-0,05	0,579
AGMI	23,0 ± 3,6	34,6 ± 4,6	0,23	0,012
16:1	3,5 ± 1,6	1,5 ± 0,5	0,24	0,011
18:1	17,2 ± 2,6	32,2 ± 5,0	0,01	0,958

Os dados estão expressos como média ± DP ou mediana (mínimo e máximo)

\* Coeficiente de correlação de Pearson ajustado para sexo e teste A<sub>1C</sub>

AGPI = ácidos graxos poliinsaturados; AGS = ácidos graxos saturados; AGMI = ácidos graxos monoinsaturados; 18:2n6 = ác. linoléico; 20:4n6 = ác. araquidônico; 18:3n3 = ác.  $\alpha$ linolênico; 20:5n3 = ác. eicosapentaenóico; 22:6n3 = ác. docosaheptaenóico; 14:0 = ác. mirístico; 16:0 = ác. palmítico; 18:0 = ác. esteárico; 16:1 = ác. palmitoléico; 18:1 = ác. oléico

Tabela 2. Correlações entre a composição dos AG séricos e da dieta em pacientes com DM tipo 2 divididos de acordo com o sexo.

AG	Mulheres		Homens	
	r*	P	r*	P
AGPI	0,47	0,001	0,31	0,011
18:2n6	0,29	0,042	0,40	0,001
20:4n6	-0,14	0,337	0,21	0,088
18:3n3	0,24	0,083	-0,09	0,484
20:5n3	-0,20	0,167	0,24	0,054
22:6n3	0,10	0,467	-0,11	0,360
AGS	0,30	0,033	0,32	0,010
14:0	0,36	0,010	0,35	0,004
16:0	0,21	0,134	0,25	0,041
18:0	-0,07	0,606	-0,08	0,524
AGMI	0,33	0,016	0,16	0,208
16:1	0,25	0,079	0,23	0,067
18:1	-0,00	0,992	0,03	0,823

Os dados estão expressos como média  $\pm$  DP ou mediana (mínimo e máximo)

\* Coeficiente de correlação de Pearson ajustado para teste A<sub>1C</sub>

AGS = ácidos graxos saturados; AGMI = ácidos graxos monoinsaturados; AGPI = ácidos graxos polinsaturados; 18:2n6 = ác. linoléico; 20:4n6 = ác. araquidônico; 18:3n3 = ác.  $\alpha$ linolênico; 20:5n3 = ác. eicosapentaenóico; 22:6n3 = ác. docosahexaenóico; 14:0 = ác. mirístico; 16:0 = ác. palmítico; 18:0 = ác. esteárico; 16:1 = ác. palmitoléico; 18:1 = ác. Oléico

Tabela 3. Variabilidade intra-individual dos ácidos graxos da dieta de pacientes com Diabetes Melito tipo 2 (n = 23): valores mensais e coeficientes de variação (CV).

AG	1º mês	2º mês	3º mês	P*	CV(%)
AGPI % lip	25,7 ± 5,9	28,1 ± 7,6	26,8 ± 7,2	0,04**	11,4 ± 5,6
18:2n6 % lip	22,8 ± 5,6	24,8 ± 6,6	23,8 ± 6,9	0,05	11,1 ± 6,9
20:4n6 % lip	0,1 (0,0-0,40)	0,1 (0,0-0,47)	0,2 (0,1-0,3)	0,13	37,9 (8,1-87,8)
18:3n3 % lip	2,6 (1,1-4,3)	3,2 (0,9-4,4)	2,5 (1,2-4,59)	0,20	11,9 (1,5-55,4)
20:5n3 % lip	0,0 (0,0-0,37)	0,0 (0,0-0,31)	0,01 (0,0-0,12)	0,82	131,0 (74,5-173,2)
22:6n3 % lip	0,02 (0,0-0,12)	0,02 (0,0-0,91)	0,04 (0,0-0,68)	0,48	132,1 (47,1-173,2)
AGS % lip	30,2 ± 5,0	29,7 ± 6,2	29,3 ± 5,2	0,60	8,6 ± 4,2
14:0 % lip	0,7 (0,3-2,2)	0,7 (0,2-2,1)	0,8 (0,1-2,0)	0,15	20,5 (3,6-46,7)
16:0 % lip	16,7 ± 2,1	16,4 ± 2,2	16,3 ± 2,2	0,56	7,3 ± 3,8
18:0 % lip	7,8 (6,5-10,5)	7,38 (5,5-12,7)	7,8 (4,8-9,7)	0,20	8,0 (2,6-19,2)
AGMI % lip	35,7 ± 4,8	34,0 ± 3,37	35,7 ± 3,9	0,07	6,7 ± 5,0
16:1 % lip	1,6 ± 0,4	1,56 ± 0,4	1,6 ± 0,4	0,83	13,0 ± 7,1
18:1 % lip	33,6 ± 4,6	31,8 ± 3,2	32,8 ± 4,5	0,19	7,7 ± 6,3

Os dados estão expressos como média ± DP ou mediana (mínimo e máximo)

\* ANOVA para medidas repetidas ou ANOVA de Friedman para as variáveis sem distribuição normal;

\*\*AGPI do 1º mês vs 2º mês (p= 0,020)

% lip= percentual dos lipídeos da dieta; AGPI = ácidos graxos polinsaturados; AGS = ácidos graxos saturados; AGMI = ácidos graxos monoinsaturados; 18:2n6 = ác. linoléico; 20:4n6 = ác. araquidônico; 18:3n3 = ác.  $\alpha$ linolênico; 20:5n3 = ác. eicosapentaenóico; 22:6n3 = ác. docosahexaenóico; 14:0 = ác. mirístico; 16:0 = ác. palmítico; 18:0 = ác. esteárico; 16:1 = ác. palmitoléico; 18:1 = ác. Oléico

Tabela 4. Variabilidade intra-individual dos ácidos graxos séricos de pacientes com Diabetes Melito tipo 2 (n = 23): valores mensais e coeficientes de variação (CV).

AG	1º mês	2º mês	3º mês	P*	CV(%)
AGPI % lip	37,2 ± 4,2	38,0 ± 4,9	35,6 ± 4,5	0,01**	6,5 ± 4,6
18:2n6 % lip	27,3 ± 3,6	28,1 ± 4,1	25,9 ± 4,6	0,01***	8,2 ± 5,2
20:4n6 % lip	5,3 (3,5-10,1)	5,5 (0,0-10,1)	5,3 (0,3-8,1)	0,88	10,6 (0,8-161,2)
18:3n3 % lip	0,0 (0,0-0,8)	0,3 (0,0-0,9)	0,1 (0,0-1,2)	0,09	114,2 (23,3-173,2)
20:5n3 % lip	0,0 (0,0-0,45)	0,01 (0,0-0,47)	0,11 (0,0-0,56)	0,39	173,2 (31,4-173,2)
22:6n3 % lip	0,044 (0,01-6,86)	0,74 (0,00-4,57)	0,44 (0,01-5,42)	0,88	98,7 (42,5-171,4)
AGS % lip	40,3 ± 3,1	38,8 ± 6,4	40,5 ± 3,4	0,30	7,7 ± 8,7
14:0 % lip	2,0 (0,0-5,6)	1,9 (0,0-3,8)	1,7 (0,7-4,0)	0,87	31,4 (10,2-173,2)
16:0 % lip	29,3 ± 1,8	28,9 ± 2,7	28,8 ± 2,5	0,55	4,9 ± 2,4
18:0 % lip	7,6 (5,1-11,3)	8,1 (6,2-12,0)	7,6 (0,7-11,9)	0,26	12,3 (1,6-75,9)
AGMI % lip	22,5 ± 3,9	22,0 ± 3,4	23,9 ± 4,7	0,14	11,3 ± 8,5
16:1 % lip	3,5 ± 1,1	3,2 ± 1,4	3,7 ± 1,1	0,39	30,8 ± 16,7
18:1 % lip	17,0 ± 2,8	17,0 ± 2,7	18,4 ± 4,0	0,10	10,1 ± 9,4

Os dados estão expressos como média ± DP ou mediana (mínimo e máximo);

\* ANOVA para medidas repetidas ou ANOVA de Friedman para as variáveis sem distribuição normal;

\*\*AGPI do 3º mês vs 1º (p=0,057) e 2º meses (p=0,006);

\*\*\*18:2 do 2º mês vs 3º mês (p=0,001);

% lip= percentual dos lipídeos totais séricos; AGPI = ácidos graxos polinsaturados; AGS = ácidos graxos saturados; AGMI = ácidos graxos monoinsaturados; 18:2n6 = ác. linoléico; 20:4n6 = ác. araquidônico; 18:3n3 = ác.  $\alpha$ linolênico; 20:5n3 = ác. eicosapentaenóico; 22:6n3 = ác. docosahexaenóico; 14:0 = ác. mirístico; 16:0 = ác. palmítico; 18:0 = ác. esteárico; 16:1 = ác. palmitoléico; 18:1 = ác. oléico

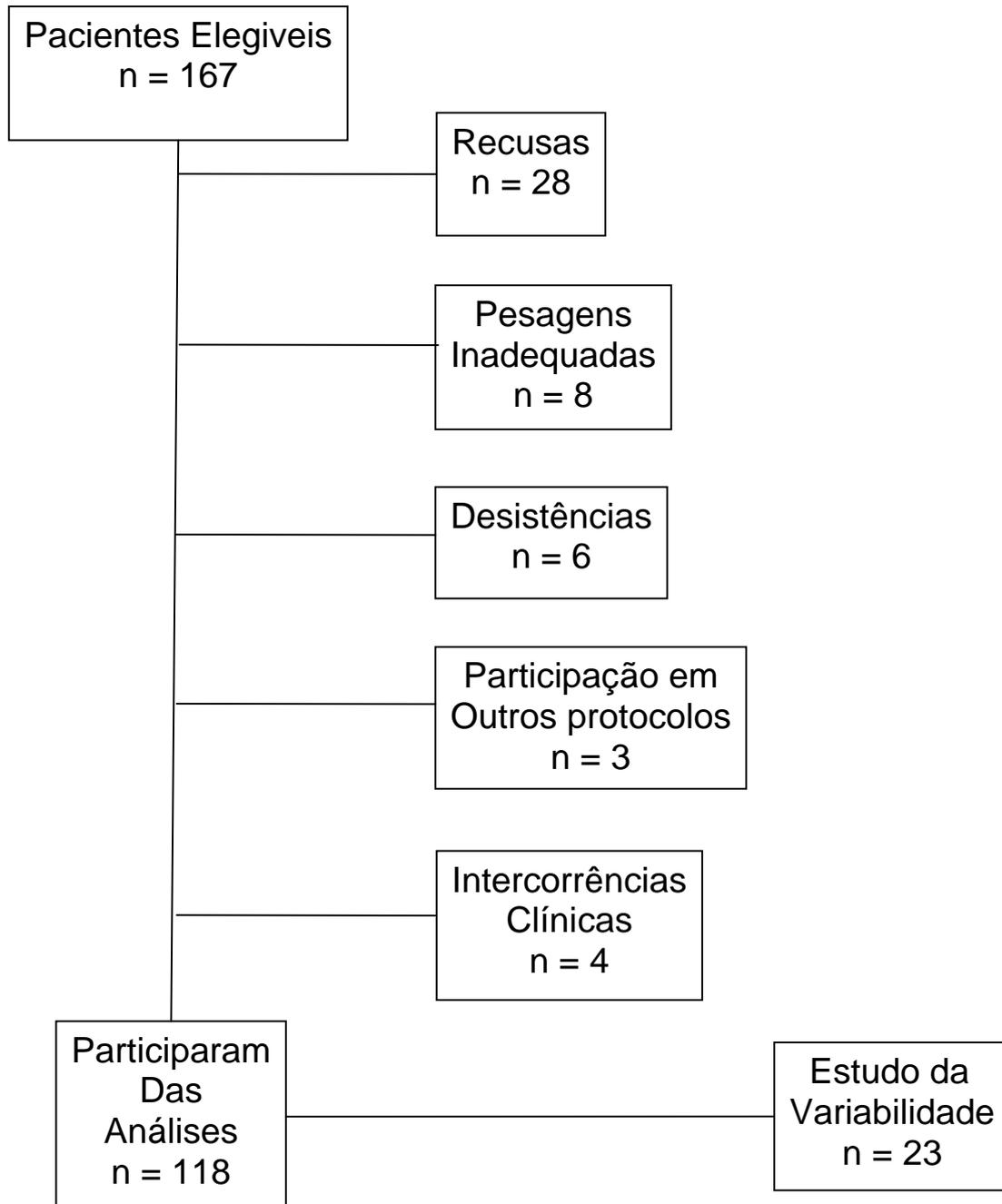


Figura 1. Fluxograma

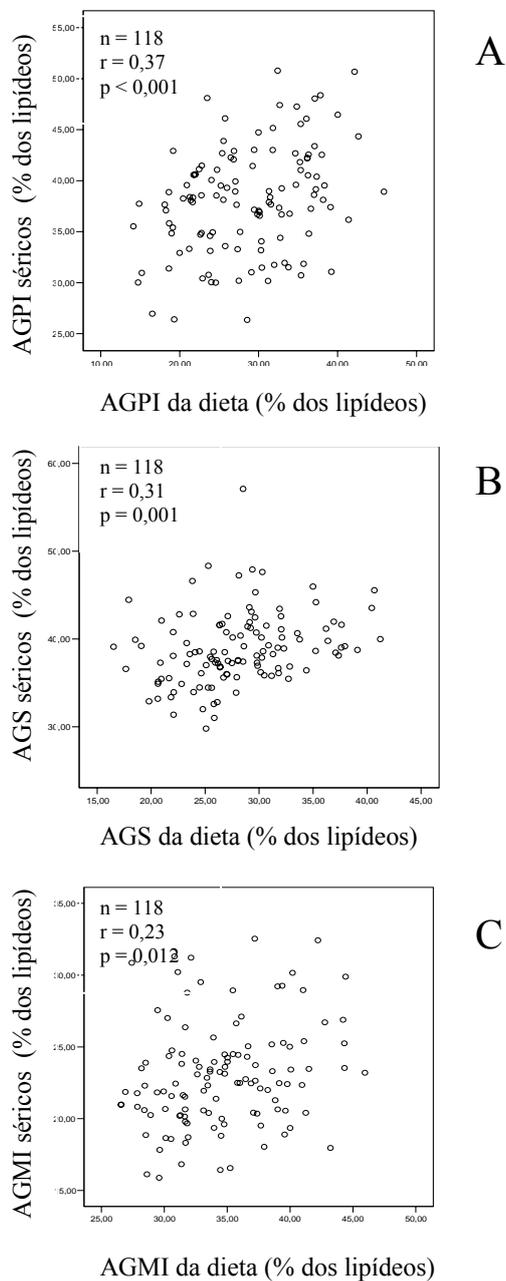


Figura 2. Correlações entre o conteúdo de ácido graxo poliinsaturado (AGPI) (A), saturado (AGS) (B) e monoinsaturado (AGMI) (C) na dieta e suas proporções nos lipídeos séricos de pacientes com DM tipo 2 ( $n = 118$ ).

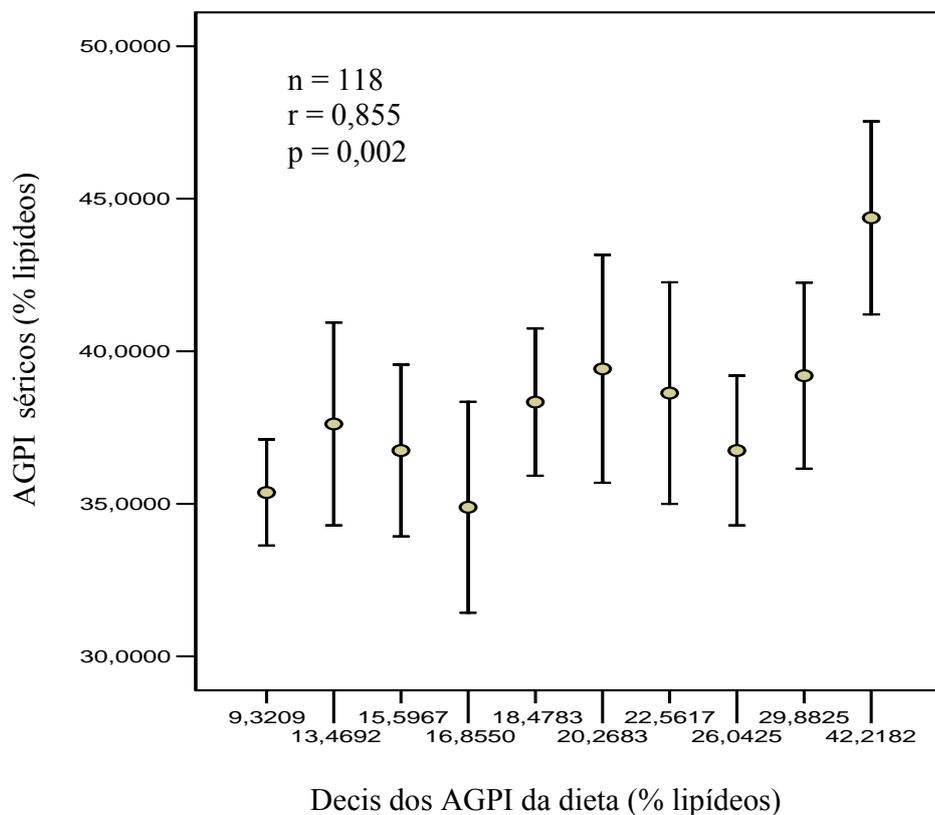


Figura 3. Correlação entre os decis de ingestão de ácido graxo poliinsaturado da dieta (AGPI) e as médias de AGPI séricos nos respectivos decis.

\* Círculo corresponde à média e barras a 95% do intervalo de confiança da proporção de AGPI sérico.

## ANEXO A

### TERMO DE CONSENTIMENTO

O projeto de pesquisa intitulado "*Avaliação da composição protéica e lipídica da dieta em pacientes com diabetes melito com e sem nefropatia diabética*" será desenvolvido no Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

O comprometimento dos rins é uma complicação que pode ocorrer em até 30% das pessoas com Diabetes Melito. Além da dieta usualmente recomendada aos pacientes com Diabetes Melito, para o tratamento deste problema tem sido recomendado alterações nas proteínas da dieta. É também possível que as gorduras da alimentação, assim como influenciam nos problemas cardíacos, estejam relacionadas aos problemas renais. Para acompanhar e avaliar a alimentação dos pacientes diabéticos tem sido usado a realização de registros alimentares no qual são registrados o peso dos alimentos consumidos durante o dia. Este método já tem sido utilizado há muito tempo e é uma forma precisa de analisar os hábitos alimentares dos pacientes.

Este estudo visa dois objetivos: analisar a ingestão de proteínas e de gordura na alimentação de pacientes diabéticos, através da aplicação consecutiva de históricos alimentares com pesagem; e avaliar a relação entre os constituintes da dieta e as gorduras circulantes no sangue.

Os pacientes com diabetes melito tipo 2 selecionados serão avaliados por nutricionista, que se utilizará das informações obtidas dos históricos alimentares e exames de sangue para avaliação e acompanhamento dos mesmos. Estes pacientes receberão orientações sobre as recomendações atuais sobre a dieta do paciente diabético e serão acompanhados regularmente pela nutricionista. Nas consultas para entrega dos históricos alimentares, o paciente também deverá trazer uma coleta de urina de 24 horas e será realizada uma coleta de sangue em jejum. Tais procedimentos serão realizados por 3 vezes com intervalo de aproximadamente 4 semanas entre eles. Tais procedimentos não envolvem qualquer risco de vida para os pacientes. Apresentam somente o desconforto da picada para retirada do sangue e exigem a dedicação para a pesagem e preenchimento dos históricos alimentares e para a coleta de urina.

Eu, ..... fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas

com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disto, sei que novas informações obtidas durante o estudo me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa face à estas informações.

O profissional Dr/Dra. .... certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado que caso existam danos à minha saúde causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Assinatura do paciente: .....

Assinatura do investigador: .....

Pesquisador Responsável: Dr<sup>a</sup> Mirela Jobim de Azevedo  
Telefone para contato: 2101.8127

**ANEXO B**  
**REGISTRO ALIMENTAR\***

<b>REGISTRO ALIMENTAR</b>			
<b>Nome:</b>			
<b>Data:</b>			
<b>Dia da semana:</b> ( ) segunda ( ) terça ( ) quarta ( ) quinta ( ) sexta ( ) sábado ( ) domingo			
	ALIMENTO	MEDIDA	SOBRAS
<b>CAFÉ DA MANHÃ</b>			
<b>COLAÇÃO</b>			
<b>ALMOÇO</b>			
<b>LANCHE DA TARDE</b>			
<b>JANTAR</b>			
<b>CEIA</b>			
<b>Observações:</b>			

\*A versão do registro alimentar entregue aos pacientes para 1 dia de preenchimento apresenta-se em 3 páginas.

## ANEXO C

## QUESTIONÁRIO ALIMENTAR

1. Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_
2. Quantas pessoas moram na sua casa? \_\_\_\_\_ Quantas participam do almoço e do jantar?  
\_\_\_\_\_
3. Marque com um **X** as refeições que você **costuma fazer diariamente**:
  - ( ) café da manhã
  - ( ) lanche da manhã
  - ( ) almoço
  - ( ) lanche da tarde
  - ( ) jantar
  - ( ) lanche da noite
4. Além das refeições marcadas no item 3, você consome **algum alimento em outros horários**? Se a resposta for **SIM**, escreva os horários e os tipos de alimentos consumidos:
5. Costuma fazer todas as refeições em casa? Se a resposta for **NÃO**, escreva quais as refeições que são feitas fora e onde.
6. Dos grupos de alimentos relacionados a seguir, escreva ao lado aqueles que fazem parte do seu hábito de consumo:
  - **Verduras e legumes:**
  - **Frutas:**
  - **Carne de boi (quais os cortes):**
  - **Carne de galinha (quais as partes):**
  - **Peixe (quais os tipos):**
  - **Queijo:**
  - **Leite:**
  - **Arroz:**
  - **Feijão:**
  - **Macarrão:**
7. Quais os locais que costumam ser compradas as carnes:
  - \_ carne bovina: ( ) açougue ( ) mercado/supermercado ( ) mercado público
  - \_ carne de frango: ( ) açougue ( ) mercado/supermercado ( ) mercado público
  - \_ peixe: 1. ( ) açougue ( ) mercado/supermercado ( ) mercado público
  - 2. ( ) fresco ( ) congelado
8. Assinale abaixo o(s) tipo (s) de **gordura usado(s) para cozinhar** os alimentos:

- óleo de soja             óleo de girassol             óleo de milho             óleo de oliva  
 óleo de algodão             óleo de canola             óleo de arroz             banha de porco  
 banha vegetal             gordura de côco             manteiga             margarina

9. Quanto tempo dura 1 garrafa/lata de óleo em sua casa para toda a família?

10. Costuma reaproveitar o óleo ou gordura utilizada na fritura?

11. O que você utiliza diariamente no pão ou bolacha:

- margarina (tipo: \_\_\_\_\_)  
 manteiga     patê (tipo: \_\_\_\_\_)  
 outros (\_\_\_\_\_ )

12. Costuma comer a gordura da carne?

13. Quais os temperos usados para cozinhar?

14. Assinale o tipo de pão consumido mais freqüentemente:

- pão d'água (cacetinho)     pão de forma branco     pão de cachorro-quente  
 pão caseiro     pão integral     pão de centeio     outros (descreva)

➔ **No caso de usar o pão caseiro, descreva a receita e o rendimento:**

15. Você utiliza adoçante? Qual a marca?

16. Utiliza doces, gelatinas ou outros produtos **dietéticos**? De que tipo e marca?

17. Costuma tomar chá regularmente? Qual? Com ou sem adoçante?

18. Toma bebida alcoólica? Se **SIM**, preencha abaixo o tipo e as quantidades ingeridas habitualmente.

a) bebidas destiladas:  uísque     vodca     cachaça     conhaque

quantidade: \_\_\_\_\_ dose(s)    \_\_\_\_\_ copo (s)    \_\_\_\_\_ martelinho (s)

frequência : \_\_\_\_\_ vezes/dia    \_\_\_\_\_ vezes/semana    \_\_\_\_\_ vezes/mês

b) bebidas fermentadas:

vinho tinto suave             vinho tinto seco             vinho branco suave

vinho branco seco             cerveja preta             cerveja comum

cerveja caracu

quantidade: \_\_\_\_\_ copo (s)    \_\_\_\_\_ taça (s)

frequência: \_\_\_\_\_ vezes/dia    \_\_\_\_\_ vezes/semana    \_\_\_\_\_ vezes/mês

19. Você é alérgico(a) a algum alimento? Qual?

20. Relacione abaixo os alimentos que não gosta.

*ANEXO D**QUESTIONÁRIO DE ESTILO DE VIDA*

Gostaríamos agora de saber como é seu **estilo de vida em relação à atividade física**. Pense nas suas atividades que você realiza **durante uma semana normal**. Leia as 4 frases abaixo e escolha a frase que mais se encaixa em sua condição de atividade física:

- 1.(  ) Eu leio, assisto televisão e trabalho em casa sem esforço físico.
- 2.(  ) Eu caminho, ando de bicicleta e faço outros exercícios leves não mais que 4 horas por semana.
- 3.(  ) Faço exercícios para manter a forma física: jogos com bola, corrida, academia de ginástica, natação, não mais que 3 horas por semana.
- 4.(  ) Faço exercícios de maneira competitiva muitas vezes na semana, correndo, jogando ou com outros esportes que exigem grande esforço.