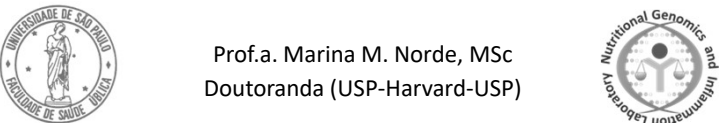


Biomarcadores da ingestão alimentar

Disciplina HNT 211 – Inquéritos alimentares

Prof.a. Marina M. Norde, MSc
Doutoranda (USP-Harvard-USP)



Índice

- O que é um biomarcador e para quê precisamos saber disso?
- Como identificar bons biomarcadores de ingestão?
- Recovery biomarkers, o que são?
- Marcadores do futuro, será?
- Estudo de caso
- Conclusões

Objetivos

- Aprender a diferença entre biomarcadores de:
 - Ingestão alimentar;
 - Estado nutricional;
 - Saúde-doença;
- Aprender a julgar o bom (e o mal) uso dos biomarcadores de ingestão alimentar;
- Aprender sobre o que são, para que servem e quais os princípios por trás da utilização dos “recovery biomarkers”;
- Aprender a buscar informações sobre os biomarcadores de ingestão.

Definições:

Biomarcador: Parâmetro biológico mensurável e quantificável que serve de indicador de saúde ou de exposições ambientais;

Biomarcadores da ingestão alimentar, serão, portanto, parâmetros biológicos mensuráveis e quantificáveis que servem de indicadores da (exposição) ingestão de algum(ns) nutrientes e/ou alimentos.

Para que servem?

A essa altura eu espero que vocês saibam para que serve medir a ingestão alimentar.

Certo?

... Dentro do contexto de tentar medir da forma mais fidedigna possível essa ingestão, para que servem os biomarcadores de ingestão alimentar?

Para que servem?

- Para verificar o consumo de um nutriente que não pode ser encontrado nas tabelas de composição de alimentos;
- Para verificar o consumo de um nutriente cuja concentração nos alimentos varia muito (ex: solo; processamento; etc);
- Para validar instrumentos de coleta de dados dietéticos;
- Para indicar deficiência de um nutriente (e suas possíveis consequências à saúde);
- Para verificar a adequação de uma intervenção nutricional;

Para que servem?

- Para verificar o consumo de um nutriente que não pode ser encontrado nas tabelas de composição de alimentos;
- Para verificar o consumo de um nutriente cuja concentração nos alimentos varia muito (ex: solo; processamento; etc);
- Para validar instrumentos de coleta de dados dietéticos;
- Para indicar deficiência de um nutriente (e suas possíveis consequências à saúde);
- Para verificar a adequação de uma intervenção nutricional;

Tabela 1. Ingestão média diária de minerais em dietas brasileiras.

Dieta	Zn(mg)	Se (ug)	Cu(mg)	Fe(mg)	Ca(mg)	Mg(mg)
Dieta I ^(*) São Paulo	10,4	36,0	1,46	15,8	525	313
Dieta II ^(**) São Paulo	11,0	18,5	0,91	10,8	1069	-
Dieta III ^(***) São Paulo	3,8	38,8	0,32	5,4	444	-
Manaus Amazonas	8,7	98,0	1,13	11,2	438	252
Santa Catarina I < renda	5,2	55,3	0,69	6,4	287	158
Santa Catarina II > renda	9,8	114,5	1,21	11,6	508	122
Cuiabá Mato Grosso	9,9	60,0	1,12	12,5	356	192

Fonte: COZZOLINO *et al.*

(*) Dieta I: Dieta de um dia, obtida no restaurante universitário, oferecida para alunos e funcionários da USP.

(**) Dieta II: Dados obtidos por registro alimentar, seguidos da elaboração da dieta média em laboratório e posterior análise.

(***) Dieta III: Análise em duplicata da dieta consumida por idosos em casas de repouso. SP.

Dieta Manaus: Baseada nos dados de SHRIMPSON & GIUGLIANO (1979), dieta preparada e analisada.

Dietas de Santa Catarina: Baseadas em levantamentos de dados da Secretaria de Abastecimento da região, preparadas e analisadas.

Dieta Cuiabá: Baseada ENDEF (FIBGE, 1978), preparada e analisada.

Para que servem?

- Para verificar o consumo de um nutriente que não pode ser encontrado nas tabelas de composição de alimentos;
- Para verificar o consumo de um nutriente cuja concentração nos alimentos varia muito (ex: solo; processamento; etc.);
- Para validar instrumentos de coleta de dados dietéticos;
- Para indicar deficiência de um nutriente (e suas possíveis consequências à saúde);**
- Para verificar a adequação de uma intervenção nutricional;

Diferenciando

Existe uma exceção. Um nutriente que o marcador do seu estado nutricional é mais usado que marcadores de ingestão. (Qual?)

- Biomarcadores de ingestão:

Quanto estou comendo de ... (nutriente/alimento)?
- Biomarcadores do estado nutricional:

Tenho deficiência de ... (nutriente/alimento)?

Deficiência nutricional: falta ou ausência de nutrientes que debilita o organismo ou atrasa o desenvolvimento.
- Biomarcadores de saúde-doença:

Critério diagnóstico

Vitamina D – a vitamina do Sol

Raios UVB

colecalfiferol

Quilomícrons

PreD3 (7-DHC)

calor

colecalfiferol

25(OH)D3

25-alfa-hidroxilase

Biomarcador do EN

Meia-vida: 2 a 3 semanas

25(OH)D3

1-alfa-hidroxilase

Calcitriol

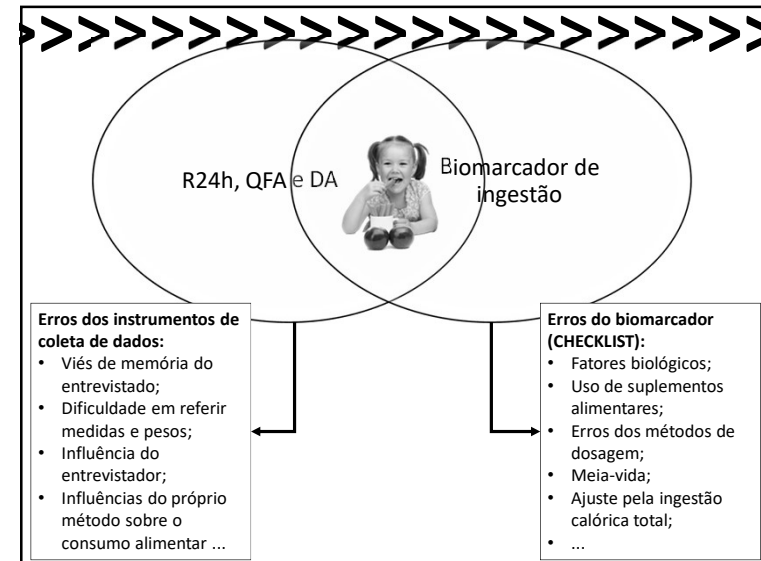
Forma ativa da Vit D

Meia-vida: 4 a 6 horas

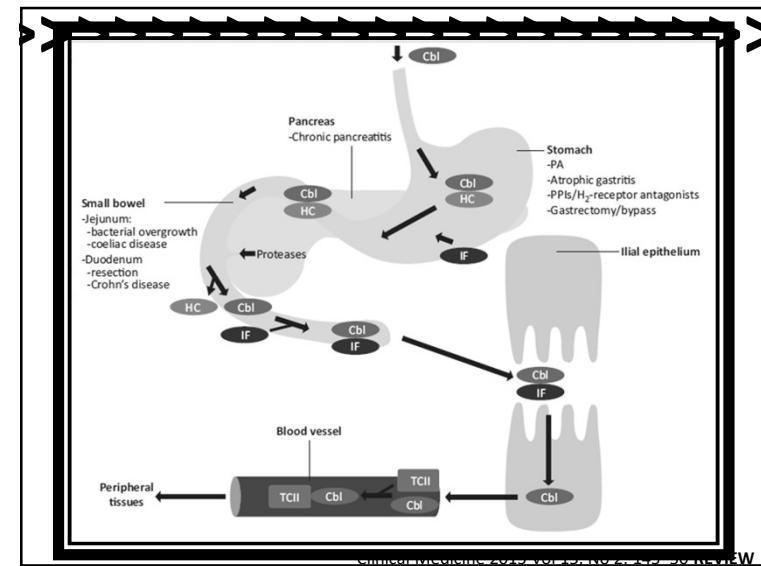
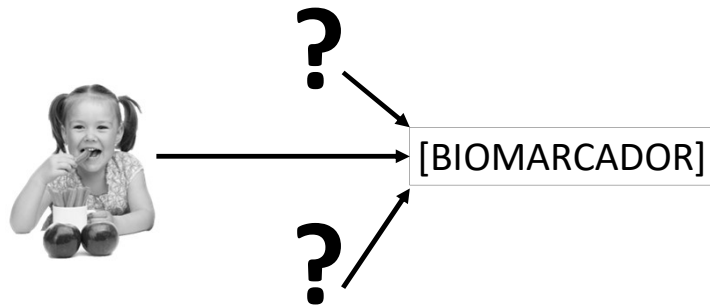
Quem contribui mais para aumentar a concentração plasmática de 25(OH)D, alimentação ou exposição ao Sol? Depende...
...mas como as fontes alimentares não são muito comuns na maioria das dietas, a exposição solar acaba sendo a principal fonte de VD na maioria das populações.

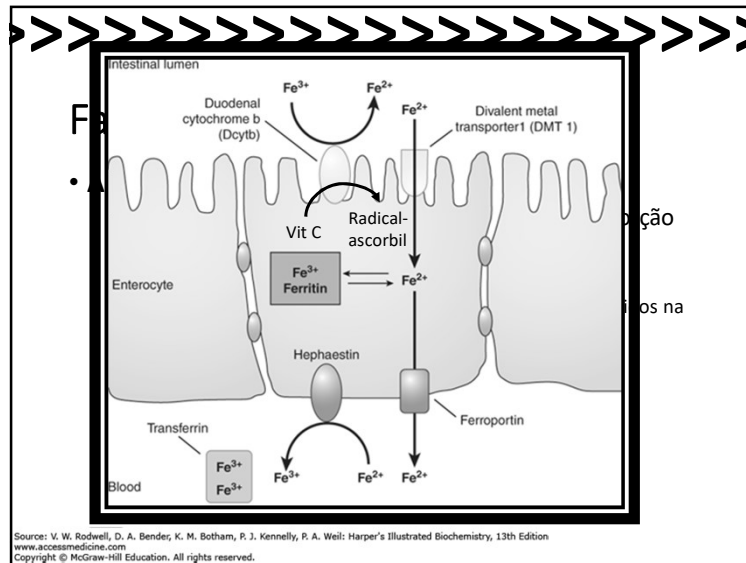
Se são usados para validar instrumentos de coleta, isso significa que são mais precisos que os R24h, QFA e DA para medir a ingestão?

- pro...mento, es...
- (c) Para validar instrumentos de coleta de dados dietéticos;
 - d) Para indicar deficiência de um nutriente (e suas possíveis consequências à saúde);
 - (e) Para verificar a adesão a uma intervenção nutricional;

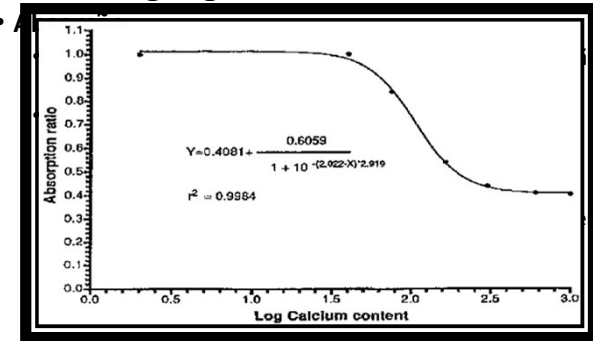


Como identificar bons biomarcadores de ingestão alimentar?





Fatores ?? : CHECKLIST



Fatores ?? : CHECKLIST

• Absorção

- Condições fisiopatológicas que interferem na absorção do nutriente (Ex: Vitamina B12);
- Preparações culinárias:
 - Alguns nutrientes ficam mais biodisponíveis se consumidos na presença de outros (ex: Fe não heme e Vit C; vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos);
 - Alguns ficam menos biodisponíveis se consumidos na presença de outros (Ex: Ca e Fe)
 - Alguns ficam mais/menos biodisponíveis de acordo com aplicação de calor em técnicas de preparo (ex: licopeno).

<http://www.fao.org/3/Y2809E/y2809e00.htm#Contents>

Source: V. W. Rodwell, D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, P. A. Weil: Harper's Illustrated Biochemistry, 13th Edition
www.accessmedicine.com
Copyright © McGraw-Hill Education. All rights reserved.

Fatores ?? : CHECKLIST

• Transporte:

- Deficiência do transportador do nutriente na corrente sanguínea (ex: desnutrição energético-proteica);
- Competição pelo transportador;

• Metabolização:

- Meia-vida curta;
- Valores muito estáveis (ex: Ca);
- Competição por sítios enzimáticos com outros compostos (Ex: medicamentos);

Fatores ?? : CHECKLIST

- **Excreção:**
 - Doenças renais; episódios diarreicos;
 - Medicamentos: diuréticos, laxantes e xenicais;
- **Síntese endógena do nutriente** (Ex: vitamina D, colesterol, aminoácidos condicionalmente essenciais)
- **Suplementos alimentares** (Ex: AG n-3, multivitamínicos, vitamina D, cálcio)

Fatores ?? : CHECKLIST

- **Método de dosagem do biomarcador de ingestão:**
 - **Material biológico;**

Que tipo de amostras podem ser usadas para avaliação de biomarcador de ingestão?

Plasma total:
1 – 2 semanas

Eritrócitos:
1 – 2 meses

Tecido adiposo:
1 ano

AG	Tecido adiposo	Membrana de eritrócito	Plasma total
C14:0	2,8%	0,4%	0,8%
C16:0	21,5%	25,6%	23,0%
C18:0	3,4%	14,3%	7,6%
C18:1 n-9	43,5%	14,3%	19,5%
C18:2 n-6	13,9%	11,2%	30,4%
C18:3 n-3	0,8%	0,1%	0,6%
C20:4 n-6	0,3%	14,1%	5,4%
EPA	0,0%	0,8%	1,4%
DHA	0,1%	3,9%	2,4%

Chap 8, *Nutritional Epidemiology* (Willet W, 2012)

Fatores ?? : CHECKLIST

- **Método de dosagem do biomarcador de ingestão:**
 - **Material biológico;**
 - **Coleta;**
 - Período do dia;
 - Preparo anterior à coleta;
 - Proteção contra luminosidade;
 - Anticoagulantes;
 - Etc...

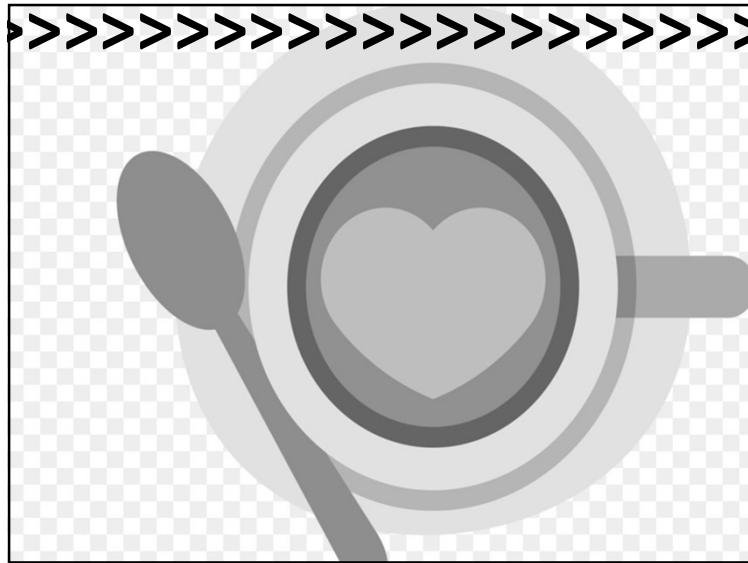
Fatores ?? : CHECKLIST

• Método de dosagem do biomarcador de ingestão:

- Material biológico;
- Coleta;
- Método laboratorial;
 - Melhor maneira de checar o método é verificar outros trabalhos científicos;
 - Para cada biomarcador, um método será mais adequado.

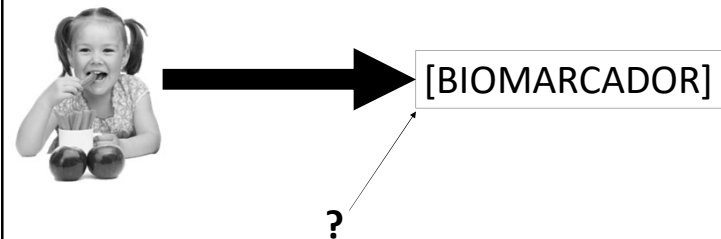
Outros cuidados para garantir a qualidade do biomarcador de ingestão:

- Tempo de resposta à ingestão (curto/longo prazo);
- Variabilidade intra-individual;
- Necessidade de ajuste pela ingestão energética.



Recovery biomarkers: o que são?

- A grande parte dos biomarcadores, como já vimos, são influenciados por fatores que os impedem de refletirem 100% da ingestão alimentar;



Recovery biomarkers:

- Nitrogênio urinário;
- Potássio urinário;
- Sódio urinário;
- Água duplamente marcada.

Em populações saudáveis!

Nitrogênio urinário

Quando o corpo está em balanço nitrogenado
(não há ganho nem perda de proteína corporal)

~ 83,5% do N proveniente da proteína alimentar é excretado na urina

- Precisa de medidas repetidas, porque tem grande variabilidade intra-individual;
- Urina de 24-horas (ou do período do estudo);
- Precisa ser ajustado pela ingestão energética;
- Água duplamente marcada.

É afetado por peso corporal, atividade física e insuficiência renal

Potássio urinário

~ 77% do K proveniente da proteína alimentar é excretado na urina;
~ 18% é eliminado nas fezes (esse valor é maior com ↑ ing. fibras)

- Precisa de medidas repetidas, porque tem grande variabilidade intra-individual;
- Urina de 24-horas (ou do período do estudo);
- Precisa ser ajustado pela ingestão energética;
- Água duplamente marcada.

É afetado por insuficiência renal

Sódio urinário

~ 86% do Na proveniente da proteína alimentar é excretado na urina;
Pode variar pela perda no suor (ex: estação do ano, atividade física)

- Marcador de curtíssimo prazo;
- Precisa de medidas repetidas, porque tem grande variabilidade intra-individual;
- Urina de 24-horas (ou do período do estudo);
- Precisa ser ajustado pela ingestão energética;
- Água duplamente marcada.

É afetado por atividade física e insuficiência renal

Água duplamente marcada (Doubly-labeled water - DLW)

- Com a informação sobre o volume de CO₂ exalado e uma estimativa da proporção de macronutrientes da dieta, é possível calcular o gasto energético.

Table 3 Nutrients and resulting components of oxygen and carbon dioxide when metabolized (1957)

Nutrient	Oxygen (kJ/l)	Carbon dioxide (kJ/l)
Carbohydrate	21.1	21.1
Protein	18.7	23.4
Fat	19.6	27.8

- O gasto energético é exatamente igual ao consumo energético em indivíduos com peso corporal estável.

É afetado insuficiência renal

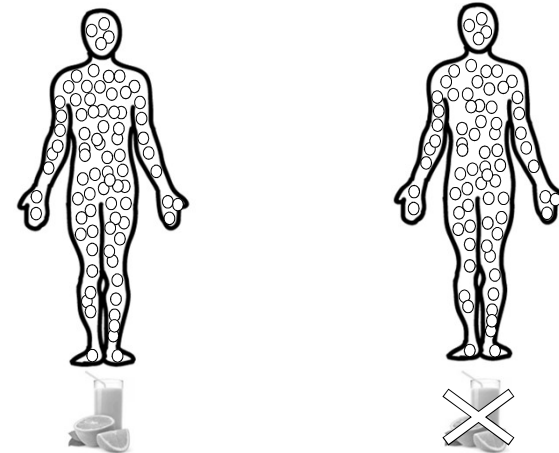
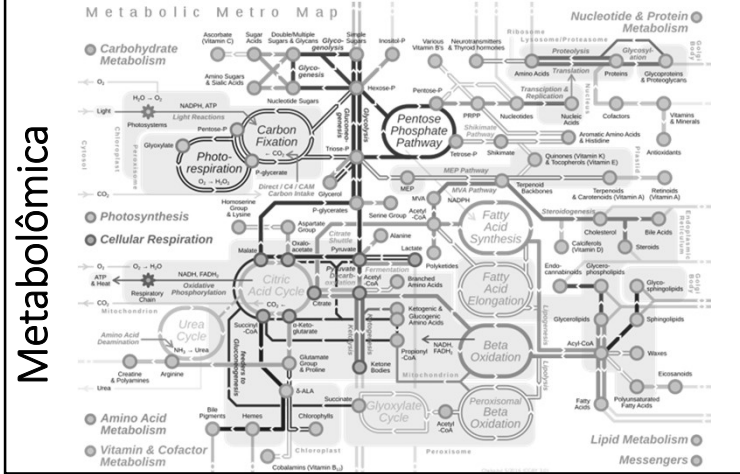
Hydrogen
- CO₂
oxygen
exalado

- Até os *recovery biomarkers* são afetados por fatores extrínsecos e intrínsecos

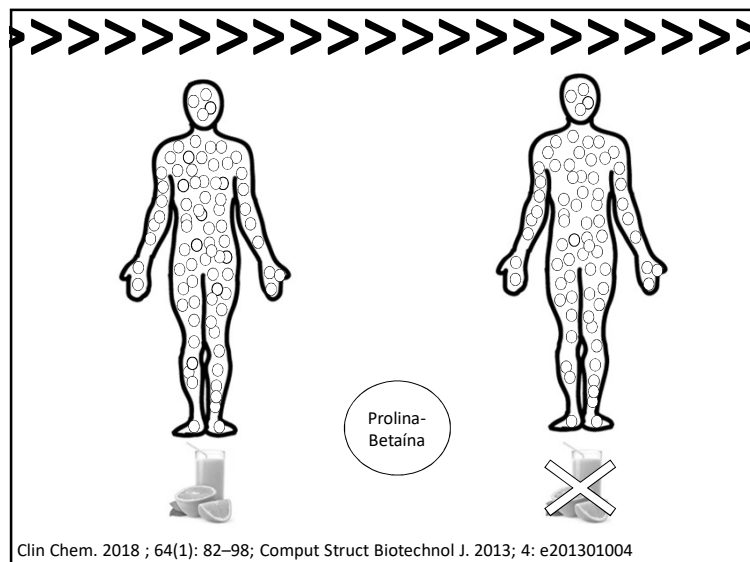
→ Precisamos estar atentos para esses fatores em estudos que relacionam biomarcadores de ingestão e doenças!

- Será a ingestão causadora da doença ou os outros fatores que afetam a concentração do biomarcador?

Biomarcadores do futuro:



Clin Chem. 2018 ; 64(1): 82-98; Comput Struct Biotechnol J. 2013; 4: e201301004



Metabolômica

- Ainda são poucos biomarcadores descobertos:
 - Carne vermelha;
 - Carnes cozidas;
 - Peixes;
 - Hortaliças;
 - Frutas cítricas;
 - Café;
 - Chá;
- Biomarcadores de padrões alimentares não são específicos;
- Marcadores de curto-prazo;
- **O CHECKLIST também vale para esses biomarcadores!**

O FUTURO AINDA ESTÁ POR VIR!

Clin Chem. 2018 ; 64(1): 82–98; Comput Struct Biotechnol J. 2013; 4: e201301004

Estudo de caso

Dietary biomarker evaluation in a controlled feeding study in women from the Women's Health Initiative cohort^{1,2}

Johanna W Lampe,^{3,4*} Ying Huang,³ Marian L Neuhauser,^{3,4} Lesley F Tinker,³ Xiaoling Song,³ Dale A Schoeller,⁶ Soyoung Kim,⁷ Daniel Raftery,⁵ Chongzhi Di,³ Cheng Zheng,⁸ Yvonne Schwarz,³ Linda Van Horn,⁹ Cynthia A Thomson,¹⁰ Yasmin Mossavar-Rahmani,¹¹ Shirley AA Beresford,^{3,9} and Ross L Prentice^{3,4}

³Division of Public Health Sciences, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA; ⁴School of Public Health and ⁵School of Medicine, University of Washington, Seattle, WA; ⁶Department of Nutritional Sciences, College of Agricultural and Life Sciences, University of Wisconsin, Madison, WI; ⁷Division of Biostatistics, Institute for Health and Society, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI; ⁸Joseph J Zilber School of Public Health, University of Wisconsin, Milwaukee, WI; ⁹Department of Preventive Medicine, Northwestern University, Feinberg School of Medicine, Chicago, IL; ¹⁰Department of Health Promotion Sciences, Mel and Enid Zuckerman College of Public Health, University of Arizona, Tucson, AZ; and ¹¹Department of Epidemiology and Population Health, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY

This trial was registered at clinicaltrials.gov as NCT00000611. *Am J Clin Nutr* 2017;105:466–75.

Estudo de caso

- **Objetivo:** verificar quanto que os biomarcadores de ingestão se correlacionam à ingestão de uma dieta fornecida durante 2 semanas; comparar esses biomarcadores de ingestão com “recovery biomarkers”; verificar se outros fatores (ex: IMC, AF, etc) contribuem para explicar variações nos biomarcadores de ingestão.

→ Usar os resultados desse estudo para ajustar resultados de um estudo maior.

Estudo de caso



Sub-amostra: 153 mulheres
(Poder estatístico: >88%)

WHI: 93 676 mulheres pós-menopausa

EXCLUÍDAS:

- Diabetes, insuficiência renal, incontinência urinária, uso de medicamentos e oxigênio.



Dietas fornecidas pelo o estudo, iguais aos hábitos alimentares relatados pelas participantes do estudo.

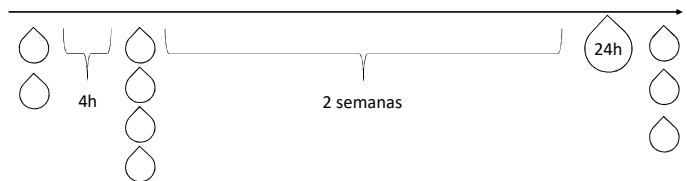
Duração: duas semanas.

Estudo de caso

- Biomarcadores de ingestão: medidos antes e depois das 12 semanas; procedimentos de coleta, estocagem e dosagem padrão ouro;
- Sangue em jejum (medidos no soro):

- Folato
- Vitamina B12
- Tocoferol
- Luteína
- Licopeno
- α -caroteno
- β -caroteno
- AG

- DLW: protocolo padrão; duplicata em 9 mulheres $\rightarrow$ 5,1% de variação;
- Urina de 24-horas: para medir nitrogênio urinário.



Estudo de caso

- Outros dados também coletados:

- Idade;
- Etinia;
- Antropometria (3 vezes durante o protocolo);
- Atividade física;
- Medicamentos;
- Suplementos alimentares (usa: sim/não)
- Tabagismo;
- Escolaridade;
- Estação do ano em que participou do estudo.

$\rightarrow$ Foram instruídas a não modificar esses hábitos durante o protocolo.

TABLE 2
Correlations between ln-transformed nutrient intake over feeding period and biomarker measures in the postmenopausal women

Consumed nutrients	Biomarker			Pearson correlation squared
Total energy, kcal/d	Ein, kcal/d			0.51
Protein, g/d	Protein, g/d			0.38
Vitamin B-12, μ g/d	Vitamin B-12, pg/mL	152	0.66	0.40
Dietary folate equivalents μ g/d	Folate, ng/mL	151	0.66	0.44
α -Carotene, μ g/d	α -Carotene (adj), μ g/d			0.45
β -Carotene, μ g/d	β -Carotene (adj), μ g/d			0.28
Lutein + zeaxanthin, μ g/d	Lutein + zeaxanthin, μ g/d			0.37
Lycopene (trans + cis), μ g/d	Lycopene (trans + cis), μ g/d			0.30
α -Tocopherol, mg/d	α -Tocopherol (adj), mg/d			0.42
γ -Tocopherol, mg/d	γ -Tocopherol (adj), mg/d			0.02
Fatty acids	Phospholipid fatty acids, relative concentration (%)			
Total SFAs, g/d	SFAs, ¹ %	149	0.25	0.06
SFAs, % of energy	SFAs, %	149	0.25	0.06
Total MUFAs, g/d	MUFAs, ² %	150	0.12	0.01
MUFAs, % of energy	MUFAs, %	150	0.18	0.03
Total PUFAs, g/d	PUFAs, ³ %	152	0.37	0.13
PUFAs, % of energy	PUFAs, %	152	0.43	0.19

¹adj, serum nutrient concentration adjusted for serum cholesterol; Ein, energy intake (derived from doubly labeled water); NPAAS-15, Nutrition and Physical Activity Assessment Study Feeding Study.

²Number of pairs of participant diet and biomarker data used to compute the Pearson correlation.

³SFAs = 14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0 + 20:0 + 22:0 + 24:0 + 23:0.

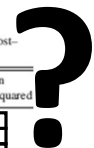
⁴MUFAs = 16:1n-9c + 16:1n-7c + 17:1n-9c + 18:1n-8c + 18:1n-9c + 18:1n-7c + 18:1n-5c + 20:1n-9 + 24:1n-9.

⁵PUFAs = 18:3n-3 + 20:3n-3 + 20:5n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3 + 18:2n-6 + 18:3n-6 + 20:2n-6 + 20:3n-6 + 20:4n-6 + 22:2n-6 + 22:4n-6 + 22:5n-6.

Por que o R^2 entre a ingestão e os recovery biomarkers foi mais baixo que em outros estudos?

para esses biomarcadores ingestão?

Por que os AG tiveram um R^2 tão baixo?



	Critério	Atende (Sim/Não)
Fatores extrínsecos	- É pouco influenciado pela <u>absorção</u> do nutriente (ex: doenças; métodos de preparo do alimento; uso de medicamentos).	
	- É pouco influenciado pelo <u>transporte</u> e distribuição do nutriente (ex: distúrbios em que transportadores do nutriente na corrente sanguínea não está disponível; competição pelo mesmo transportador).	
	- É pouco influenciado pela <u>metabolização</u> do nutriente (ex: meia-vida curta; valores muito estáveis; competição por vias metabólicas/enzimas hepáticas com outros nutrientes ou medicamentos).	
	- É pouco influenciado pela <u>excreção</u> do metabólito (ex: doenças renais; uso de diuréticos e laxantes).	
	- Não é influenciado por <u>síntese endógena</u> .	
	- Não é confundido pelo uso de <u>suplementos alimentares</u> .	
Método de Dosagem	- A <u>coleta</u> foi padronizada de forma adequada	
	- O <u>material biológico</u> em que foi dosado é adequado	
	- O <u>método laboratorial</u> utilizado para a dosagem foi adequado	
	Fatores intrínsecos	
Característica do Biomarcador	- Reflete a ingestão do <u>tempo de interesse</u> (curto ou longo prazo)	
	- A <u>variabilidade intra-individual</u> foi considerada	
	- É possível/necessário <u>ajustar pela ingestão energética</u>	

	Critério	Atende (Sim/Não)
Fatores extrínsecos	- É pouco influenciado pela <u>absorção</u> do nutriente (ex: doenças; métodos de preparo do alimento; uso de medicamentos).	SIM
	- É pouco influenciado pelo <u>transporte</u> e distribuição do nutriente (ex: distúrbios em que transportadores do nutriente na corrente sanguínea não está disponível; competição pelo mesmo transportador).	SIM
	- É pouco influenciado pela <u>metabolização</u> do nutriente (ex: meia-vida curta; valores muito estáveis; competição por vias metabólicas/enzimas hepáticas com outros nutrientes ou medicamentos).	SIM
	- É pouco influenciado pela <u>excreção</u> do metabólito (ex: doenças renais; uso de diuréticos e laxantes).	SIM
	- Não é influenciado por <u>síntese endógena</u> .	SIM/NÃO
	- Não é confundido pelo uso de <u>suplementos alimentares</u> .	NÃO
Método de Dosagem	- A <u>coleta</u> foi padronizada de forma adequada	SIM
	- O <u>material biológico</u> em que foi dosado é adequado	SIM
	- O <u>método laboratorial</u> utilizado para a dosagem foi adequado	SIM
	Fatores intrínsecos	
Características do Biomarcador	- Reflete a ingestão do <u>tempo de interesse</u> (curto ou longo prazo)	SIM/NÃO
	- A <u>variabilidade intra-individual</u> foi considerada	NÃO
	- É possível/necessário <u>ajustar pela ingestão energética</u>	SIM, mas não fizeram.

CONCLUSÃO

- Os biomarcadores de ingestão alimentar tem vantagens e desvantagens que devem ser levadas em consideração sempre que se lê um estudo que os utilize para investigar a associação:

Nutrição → Saúde-Doença

- Também são importantes em estudos de:
 - Validação de instrumentos de coleta de dados dietéticos;
 - Adesão de uma intervenção nutricional;

CONCLUSÃO

- A **metabolômica** é uma área promissora, mas que ainda precisa avançar mais; Não substituí o uso de instrumentos de coleta de dados dietéticos;
- Para saber usar adequadamente um biomarcador de ingestão precisamos conhecer:
 - Absorção, metabolismo e excreção dos nutrientes;
 - Efeito de medicamentos, condições específicas de saúde e genética sobre esse metabolismo;
 - Melhor protocolo de coleta, armazenagem e dosagem;
 - R² da relação ingestão → biomarcador;