

CAROLYNNE MARTINS TEIXEIRA

**NUTRIENTES DOADORES DE METIL, OBESIDADE PARENTAL E INCIDÊNCIA
DE OBESIDADE – ESTUDO CUME**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título do *Magister Scientiae*.

Orientadora: Helen Hermana Miranda Hermsdorff

Coorientadora: Leidjaira Juvanol Lopes

**VIÇOSA – MINAS GÉRIAS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

T266n
2023
Teixeira, Carolynne Martins, 1996-
Nutrientes doadores de metil, obesidade parental e
incidência de obesidade – Estudo CUME / Carolynne Martins
Teixeira. – Viçosa, MG, 2023.
1 dissertação eletrônica (118 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: Helen Hermana Miranda Hermsdorff.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Nutrição e Saúde, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.179>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Obesidade. 2. Ácido fólico. 3. Metilação de DNA.
4. Herança materna. 5. Herança paterna. 6. Alimentos -
Consumo. 7. Epigenética. 8. Nutrigenômica. I. Hermsdorff,
Helen Hermana Miranda, 1979-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de
Pós-Graduação em Ciência da Nutrição. III. Título.

CDD 22. ed. 616.398

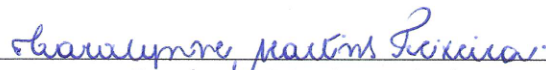
CAROLYNNE MARTINS TEIXEIRA

**NUTRIENTES DOADORES DE METIL, OBESIDADE PARENTAL E INCIDÊNCIA
DE OBESIDADE – ESTUDO CUME**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título do *Magister Scientiae*.

APROVADA: 01 de março de 2023

Assentimento:



Carolynne Martins Teixeira
Autora



Helen Hermana Miranda Hermsdorff
Orientadora

Dedico este trabalho a meu amado pai, por todo incentivo e exemplo de bondade, amor, força e honestidade. A sua essência é viva e me faz ser perseverante.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por mais uma conquista. Obrigada Senhor, por me sustentar nos dias tristes, por ser meu consolo e minha provisão. Obrigada por guardar meus caminhos e colocar nele pessoas especiais. Obrigada pela sabedoria e por cumprir a Tua vontade em minha vida, que tudo que eu alcançar seja glorificar a Tua vida por meio da minha.

A meus pais, por sonhar junto comigo, ser meu exemplo de amor e honestidade. A meu pai, José Maria Teixeira (*in memoriam*), meu maior incentivador, amigo e conselheiro, que pode acompanhar meus primeiros passos nessa jornada e hoje acompanha lá cima a concretização do nosso sonho. A minha mãe, Elizabete Martins, por todo seu cuidado e exemplo de fé.

À minha irmã, Hemylenne Teixeira, por ser tão amiga, companheira e sonhar junto comigo. Obrigada por cada conversa à quilômetros de distância que aqueciam o meu coração e amenizava a saudade.

À minha madrinha, Maria Teixeira, por todo apoio e ser meu exemplo diário de coragem, bondade e determinação.

Aos meus familiares por toda torcida ao longo dessa jornada, pelas palavras positivas e de isentivo.

Aos meus amigos pelos momentos de descontração, por vibrarem comigo nessa conquista e por entenderem os inúmeros momentos que não pude estar presente.

Às minhas amigas de profissão que o Pipeline me deu. Tati, Rafa e Alana vocês foram um presente de Deus para minha vida.

À minha orientadora, Profa. Dra. Helen Hermana M. Hermsdorff, por todo ensinamento e por ser um exemplo de pesquisadora, liderança e dedicação. Obrigada por acreditar em meu potencial e pelas oportunidades científicas e acadêmicas.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Leidjaira Juvanol Lopes, por todo conhecimento compartilhado, apoio e paciência. Sua dedicação me fez apaixonar pela bioestatística.

À Profa. Josefina Bressan, por todo ensinamento durante as aulas da disciplina de Nutrição nas Alterações Endócrinas e Metabólicas, e por ser um grande exemplo profissional.

Às minhas amigas de Viçosa, especialmente a Nathallia, Isabela, Fernanda, Maria Isabel e Júlia, vocês foram muito especiais nessa trajetória.

Ao meu querido NUTRIEN, por todo acolhimento, aprendizado e convivência ao longo desses 2 anos. Obrigada pela companhia e por sermos elos durante a criação e atividade do NUTRIEN, vou levar cada uma de vocês para sempre em meu coração. A minha coordenação de

divulgação, onde pude ser vice coordenadora, obrigada pela amizade, pelas risadas e pela sintonia de trabalho em prol do grupo.

Ao PROCARDIO-UFV, pela oportunidade em exercer a Nutrição Clínica e a cada paciente na qual pude contribuir positivamente em sua saúde.

Aos participantes do Estudo CUME por acreditarem em nosso trabalho e contribuir com a ciência brasileira, e aos pesquisadores, especialmente a Arieta por ter sido meu braço direito nas análises estatísticas. Muito obrigada pela disponibilidade, atenção e conhecimento compartilhado.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

*“O pássaro quando aprende a voar sabe mais de
coragem que de voo.”*

(autor desconhecido)

RESUMO

TEIXEIRA, Carolynne Martins, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2023. **Nutrientes doadores de metil, obesidade parental e incidência de obesidade – Estudo CUME.** Orientadora: Helen Hermana Miranda Hermsdorff. Coorientadora: Leidjaira Juvanhol Lopes

A obesidade é uma doença crônica, prevalente e multifatorial. A nutriepigenética mostra que a predisposição genética à doença interage com fatores ambientais, como a alimentação, sendo capaz de promover fenótipos distintos. Alguns nutrientes, conhecidos como doadores de metil (MetD), participam do processo de metilação do DNA e são capazes de modular a expressão de genes envolvidos no aumento do peso corporal. Assim, dietas que contemplem esses nutrientes podem contribuir como medida preventiva e terapêutica para o risco de desenvolvimento da obesidade. Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a associação entre o consumo de nutrientes MetD e a incidência de obesidade, e a sua relação com a obesidade parental. Neste estudo longitudinal, com 1.205 participantes da Coorte de Universidades de Minas Gerais (Estudo CUME), avaliou-se a incidência da obesidade em um seguimento de 4 anos (2016 – 2020). Os dados foram coletados de forma on-line por meio de questionários autorreferidos. A linha de base foi definida em 2016 e a cada dois anos os participantes foram solicitados a preencher os questionários de seguimento (Q2_2018, Q4_2020) e fornecerem informações do seu peso. O consumo diário dos nutrientes MetD (B2, B6, B9, B12, colina, betaína e metionina) foram obtidos por meio de um questionário de frequência alimentar com 144 itens alimentares, validado para a população em estudo. Um escore do consumo de MetD foi calculado considerando, inicialmente, o valor da mediana da ingestão de cada nutriente, sendo atribuído valor 0 quando a ingestão era baixa ($< p50$) e valor 1 quando a ingestão era alta ($\geq p50$). Em seguida os participantes foram categorizados em baixo (0 – 3 pontos), mediano (4 pontos) e alto (5 – 7 pontos) escore conforme o tercil da pontuação total da amostra. A presença de pai e mãe com obesidade foi identificada mediante autorrelato no questionário basal, e a obesidade parental foi determinada pela presença simultânea de pai e mãe com a doença. A regressão de risco proporcionais de Cox foi utilizada para testar as associações, e o modelo foi ajustado por fatores de confusão identificados por meio de um Gráfico Acíclico Direcionado (*Directed Acyclic Graph*, DAG). Na amostra, 89 (7,4%) casos incidentes de obesidade foram identificados. Estar no terceiro quartil de consumo de B2 e no segundo quartil de consumo de B9 e de colina resultou em 60% (IC 95%:0,20 – 0,79), 52%

(IC95%:0,26 – 0,89) e 52% (IC95%:0,24 – 0,93) menor risco de desenvolver obesidade, respectivamente. Obter um escore mediano de MetD também conferiu um menor risco (HR:0,40; IC95%: 0,18 – 0,84). A obesidade parental foi a que conferiu maior risco para os casos incidentes (HR:4,26; IC95%: 1,21 – 10,93). No entanto, ter somente pai com obesidade teve um risco superior ao que ter somente a mãe com a doença (HR:2,32; IC95% 1,21 – 4,46 vs HR:2,09; IC95% 1,15 - 3,78). Porém, ao passo que os participantes com obesidade paterna apresentavam aumento no escore do consumo de doadores de metil, o risco para incidência de obesidade diminuiu (p de interação = 0,022). Não encontramos evidência de associação para os demais nutrientes MetD e o risco de obesidade. Em conclusão, o consumo intermediário de B2, B9 e colina, bem como um escore mediano de consumo dos MetD reduziram o risco de desenvolver obesidade em indivíduos com histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental, sugerindo ainda que a alimentação é um fator protetor no histórico familiar da doença.

Palavras-chave: Obesidade. Folato. Herança parental. Consumo alimentar. Epigenética.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Carolynne Martins, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2023. **Methyl donor nutrients, parental obesity and obesity incidence – CUME study**. Adviser: Helen Hermana Miranda Hermsdorff. Co-adviser: Leidjaira Juvanhol Lopes

Obesity is a chronic, prevalent and multifactorial disease. Nutriepigenetics shows that the genetic predisposition to the disease interacts with environmental factors, such as diet, being able to promote different phenotypes. Some nutrients, known as methyl donors (MetD), participate in the DNA methylation process and are capable of modulating the expression of genes involved in increasing body weight. Thus, diets that include these nutrients can contribute as a preventive and therapeutic measure for the risk of developing obesity. Given the above, the present study aimed to evaluate the association between the consumption of MetD nutrients and the incidence of obesity and its relationship with parental obesity. In this longitudinal study, with 1,205 participants from the Cohort of Universities of Minas Gerais (CUME Study), the incidence of obesity was evaluated in a 4-year follow-up (2016 – 2020). Data were collected online through self-reported questionnaires. The baseline was set in 2016 and every two years the participants were asked to complete the follow-up questionnaires (Q2_2018, Q4_2020) and provide their weight information. The daily intake of MetD nutrients (B2, B6, B9, B12, choline, betaine and methionine) was obtained using a food frequency questionnaire with 144 food items, validated for the study population. A MetD consumption score was calculated considering, initially, the median intake value of each nutrient, with a value of 0 when intake was low ($< p50$) and a value of 1 when intake was high ($\geq p50$). Participants were then categorized into low (0 – 3 points), median (4 points) and high (5 – 7 points) scores according to the tertile of the sample's total score. The presence of a father and mother with obesity was identified through self-report in the baseline questionnaire, and parental obesity was determined by the simultaneous presence of a father and mother with the disease. Cox proportional hazards regression was used to test associations, and the model was adjusted for confounding factors identified using a Directed Acyclic Graph (DAG). In the sample, 89 (7.4%) incident cases of obesity were identified. Being in the third quartile of B2 consumption and in the second quartile of B9 and choline consumption resulted in 60% (95% CI: 0.20 – 0.79), 52% (95% CI: 0.26 – 0.89) and 52% (95%CI:0.24 – 0.93) lower risk of developing obesity, respectively. Obtaining a median MetD score also conferred a lower risk (HR:0.40; 95%CI: 0.18 – 0.84). Parental obesity was the one that conferred the highest risk for incident cases (HR:4.26; 95%CI: 1.66 –

10.93). However, having only one father with obesity had a higher risk than having only one mother with the disease (HR:2.32; 95%CI 1.21 – 4.46 vs HR:2.09; 95%CI 1.15 - 3.78). However, while participants with paternal obesity had an increase in methyl donor consumption score, the risk for incidence of obesity decreased (interaction $p = 0.022$). We found no evidence of association for the other MetD nutrients and the risk of obesity. In conclusion, intermediate consumption of B2, B9 and choline, as well as a median consumption score of MetD reduced the risk of developing obesity in individuals with a family history of maternal, paternal and parental obesity, further suggesting that diet is a protective factor in the family history of the disease.

Keywords: Obesity. Folate. Parental inheritance. Food intake. Epigenetics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Modificações epigenéticas comuns e efeitos associados no genoma.....	25
Figura 1 - Mecanismos epigenéticos na regulação da expressão gênica.....	26
Figura 2 - Metabolismo de um carbono30	
Quadro 2 - Nutrientes envolvidos no processo de metilação do DNA, seus respectivos alimentos fontes e sua ação epigenética.	32
Figura 3 - Universidades Federais participantes da coorte desde a linha de base aos anos de seguimento.....	37
Figura 4 - Fluxograma de inclusão dos participantes no Estudo Coorte de Universidades de Minas Gerais (CUME), Minas Gerais, Brasil, 2016–2020.....	38
 ARTIGO ORIGINAL <i>"Consumo de nutrientes doadores de metil reduziu a incidência de obesidade em indivíduos filhos de pais com a doença: 4 anos de seguimento (Estudo CUME)"</i>	
Figura 1 - Gráfico acíclico direcionado da associação entre o consumo de nutrientes doadores de metil e obesidade.	74
Figura 2 - Modelos de análise de riscos proporcionais de Cox para a associação entre obesidade e histórico de obesidade paterna (A), materna (B) e parental (C) de acordo com o escore de MetD, estudo CUME (n=1.205, 2016 – 2020).....	75
 ARTIGO <i>"Higher caffeine consumption is associated with insufficient sleep time in Brazilian adults (CUME study)"</i>	
Figure 1 - Acyclic graph illustrating the association between caffeine intake and sleep time	101
 ARTIGO <i>"Lipid accumulation product as an insulin resistance indicator in individuals with cardiometabolic risk (PROCARDIO study)"</i>	
Figure 1 - Acyclic graph indicating the association between BMI (A), WC (B), VAI (C), LAP (D), and IR.....	118
Figure 2 - Receiver operating characteristic (ROC) curves of BMI (A), WC (B), VAI (C), and LAP (D) to discriminate IR..	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Metilação em importantes genes de risco para à obesidade em humanos e seu efeito no estado nutricional em diferentes populações.....	27
 <i>ARTIGO ORIGINAL "Consumo de nutrientes doadores de metil reduziu a incidência de obesidade em indivíduos filhos de pais com a doença: 4 anos de seguimento (Estudo CUME)"</i>	
Tabela 1 - Incidência de obesidade de acordo com características sociodemográficas, estilo de vida e histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental Estudo CUME (n = 1.205, 2016-2020).....	70
Tabela 2 - Escore de doadores de metil de acordo com características sociodemográficas, estilo de vida e histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental, Estudo CUME (n=1.205, 2016 – 2020).....	71
Tabela 3 - Hazard ratios (HR) e intervalos de confiança de 95% para a associação entre ingestão de nutrientes doadores de metil, escore de MetD e a incidência de obesidade, Estudo CUME (n = 1.205, 2016-2020).....	72
Tabela 4 - Hazard ratios (HR) e intervalos de confiança de 95% (IC 95%) para a associação entre o histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental e a incidência de obesidade, Estudo CUME (n = 1.205, 2016-2020).....	73
 <i>ARTIGO "Higher caffeine consumption is associated with insufficient sleep time in Brazilian adults (CUME study)"</i>	
Table 1 - Sociodemographic and lifestyle characteristics according to sleep time - CUME study (2016-2020, n = 6,356).....	97
Table 2 - Sociodemographic and lifestyle characteristics according to caffeine intake - CUME study (2016-2020, n = 6,356).....	98
Table 3 - Foods that contributed to caffeine intake (mg/day) among participants - CUME study (2016-2020, n = 6,356).....	99
Table 4 - Prevalence ratio and 95% confidence intervals for the association between sleep and caffeine intake among participants in the CUME study (2016-2020, n = 6,356).....	100
 <i>ARTIGO "Lipid accumulation product as an insulin resistance indicator in individuals with cardiometabolic risk (PROCARDIO study)"</i>	
Table 1 - Characteristics of the participants according to insulin resistance, PROCARDIO-UFV (2012-2019, n = 125).....	115
Table 2 - Correlation between adiposity-related markers and insulin resistance (n = 125).....	116

Table 3 - Association between adiposity-related markers and insulin resistance, PROCARDIO
(n = 125).....117

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADRB3	Receptor Adrenérgico Beta-3, do inglês <i>Adrenergic Receptor Beta 3</i>
B12	Cobalamina
B2	Riboflavina
B6	Piridoxina
B9	Folato
CpG	Citosina-Guanina
CUME	Coorte de Universidades de Minas Gerais
DAG	do inglês, <i>Directed acyclic graphs</i>
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DHF	Diidrofolato
DHFR	Diidrofolato Redutase
DHFS	Diidrofolato Sintase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNMTs	DNA Metiltransferases
EAR	do inglês, <i>Estimated Average Requirement</i>
FTO	do inglês, <i>Alpha-Ketoglutarate Dependent Dioxygenas</i>
Glicina- N-MT	Glicina N-Metiltransferase
HAT	Histonas Acetiltransferases
Hcy	Homocisteína
HDAC	Histonas Desacetilases
HIF3A	do inglês, <i>Hypoxia Inducible Factor 3 Subunit Alpha</i>
HR	Razão de risco, do inglês <i>Razard Ration</i>
IGF2	do inglês, <i>Insulin Like Growth Factor 2</i>
IMC	Índice De Massa Corporal
Kcal	Quilocaloria
Kg	Quilograma
LINE	do inglês, <i>Long Interspersed Nuclear Elements</i>
m ²	metro ao quadrado
MAT	Metionina Adenosiltransferase
mDNA	DNA Metilado
MetD	do inglês, <i>Methyl Donor</i>

miRNA	micro RNA
MTHFR	Metilenotetrahidrofolato Redutase
MTR	5-Metiltetrahidrofolato-Homocisteína Metiltransferase
ncRNA	RNAs não codificantes
OMS	Organização Mundial da Saúde
PC	Perímetro da Cintura
PEMT	Fosfatidiletanolamina N-Metiltransferase
PIB	Produto Interno Bruto
QFA	Questionário De Frequência Alimentar
RARB	do inglês, <i>Retinoic Acid Receptor β</i>
SAM	S-Adenosilmetionina
SHA	S-Adenosilhomocisteína
SHMT	Serina Hidroximetiltransferase
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
THF	Tetraidrofolato
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto
UFV	Universidade Federal de Viçosa
UFVJM	Universidade Federal Vales do Jequitinhonha e Mucuri
UNIFAL	Universidade Federal de Alfenas
UTR	região não traduzida, do inglês <i>Untranslated Region</i>
μ g	micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 <i>Obesidade</i>	21
2.1.1 <i>Obesidade parental e ambiente obesogênico</i>	22
2.2 <i>Epigenética</i>	23
2.2.1 <i>Mecanismos epigenéticos</i>	24
2.3 <i>Metilação e obesidade</i>	26
2.4 <i>Nutrientes MetD e obesidade</i>	29
3. OBJETIVOS	35
3.1 <i>Objetivo geral</i>	35
3.2 <i>Objetivos específicos</i>	35
4. METODOLOGIA	36
4.1 <i>Coorte de Universidades de Minas (Projeto CUME)</i>	36
4.2 <i>Aspectos éticos</i>	37
4.3 <i>Participantes desse estudo</i>	38
4.4 <i>Coleta de dados</i>	39
4.5 <i>Desfecho do estudo</i>	39
4.5.1 <i>Incidência de obesidade</i>	39
4.6 <i>Avaliação do consumo dos nutrientes MetD e escore de MetD</i>	39
4.7 <i>Obesidade materna, paterna e parental</i>	40
4.8 <i>Covariáveis</i>	40
4.9 <i>Análise estatística</i>	41
REFERÊNCIAS	43
5. RESULTADOS	52
5.1 <i>Artigo original: Consumo de nutrientes doadores de metil reduziu a incidência de obesidade em indivíduos filhos de pais com a doença: 4 anos de seguimento (Estudo CUME)</i>	52
ANEXOS	75
Anexo A - Parecer do Comitê de Ética da UFV	75
Anexo B - Parecer do comitê de ética da UFMG	78
APÊNDICES	79
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	79
APÊNDICE B – Questão 69 do questionário do estudo CUME	80

APÊNDICE C – Figura 5. Curvas de sobrevida (Kaplan-Meier) geral e segundo os nutrientes doadores de metil (B2, B6, B9, B12, colina, betaína e metionina) e escore de MetD, Estudo CUME (n=1.205, 2016 - 2020)	81
APÊNDICE D – Figura 6. Curvas de sobrevida (Kaplan-Meier) geral e segundo histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental, Estudo CUME (n=1.205, 2016 - 2020)....	82
APÊNDICE E – Artigo produzido durante a pós-graduação I: Higher caffeine consumption is associated with insufficient sleep time in Brazilian adults (CUME study)	83
APÊNDICE F – Artigo produzido durante a pós-graduação II: Lipid accumulation product as an insulin resistance indicator in individuals with cardiometabolic risk (PROCARDIO study)	102

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica e metabólica (BRAY, 2017), definida como acúmulo anormal ou excessivo de gordura (WHO, 2018). Em 1997, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a obesidade uma epidemia global, sendo um problema de saúde pública progressivo e alarmante (WHO, 2000). Desde então, a prevalência mundial da doença quase triplicou nas últimas quatro décadas. De acordo com os dados mais recentes do Observatório de Saúde Global da OMS, mais de 1,9 bilhão de adultos estão com excesso de peso, e desses, 650 milhões com obesidade (WHO, 2018). Seguindo a tendência mundial, no Brasil, segundo a última Pesquisa Nacional de Saúde, a prevalência no país mais que dobrou entre 2003 (12%) e 2019 (26,8%). Desta forma, em 2019, 60,3% da população brasileira com 18 anos ou mais apresentavam excesso de peso e uma em cada quatro pessoas estavam com obesidade, o equivalente a 41 milhões de brasileiros (IBGE, 2019). Caso essa tendência permaneça, estima-se que em 2030 mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo tenha a doença (LOBSTEIN *et al.*, 2022).

Com a obesidade atingindo uma proporção epidêmica, há um aumento paralelo da preocupação com os agravos em saúde e consequências econômicas (TREMMELE *et al.*, 2017). Em 2014, o impacto econômico global desencadeado pela obesidade foi estimado em US\$ 2,0 trilhões, o que corresponde a 2,8% do Produto Interno Bruto (PIB) mundial (DOBBS *et al.*, 2014). No Brasil, o ônus econômico decorrente do excesso de peso custou R\$ 1,42 bilhão ao Sistema Único de Saúde (SUS) em 2018 (NILSON *et al.*, 2020).

Clinicamente, a obesidade é diagnosticada por meio do Índice de Massa Corporal (IMC) $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$, dividindo-se o peso em quilogramas pela altura em metros ao quadrado (WHO, 1998). A origem da doença é complexa e multifatorial, e envolve a combinação de fatores genéticos, comportamentais, ambientais, fisiológicos, sociais e culturais. Geneticamente, estima-se que 40% a 70% da doença seja passada de pais para filhos (MAES; NEALE; EAVES, 1997; ELKS *et al.*, 2012), sendo a obesidade poligênica, na qual é resultante da herança de múltiplos polimorfismos genéticos que predisõem o desenvolvimento da doença, a forma mais comum (CHAMI *et al.*, 2020). Atualmente mais de 500 genes relacionados a obesidade já foram descritos (DUIS; BUTLER, 2022), e a presença da obesidade parental (pai e mãe com obesidade) pode aumentar em dez a dose vezes a chance de desenvolvimento da doença ainda na infância (REILLY *et al.*, 2005; WHITAKER *et al.*, 2010), bem como comprometer a resposta à saciedade dependendo do contexto alimentar dos pais (FUEMMELER *et al.*, 2013).

Desta forma, embora a genética contribua para o peso corporal, fatores comportamentais e ambientais, como a alimentação, são os principais responsáveis pelo aumento expressivo atual da obesidade (WHO, 1998). Assim, a mudança no padrão alimentar da população (SWINBURN *et al.*, 2019) e o ambiente alimentar na qual o indivíduo está inserido configuram-se fatores importantes na compreensão desse cenário atual (COBB *et al.*, 2015; ATANASOVA *et al.*, 2022). A exemplo, um estudo com 925 pares de gêmeos mostrou que a herdabilidade do IMC foi maior entre aqueles que viviam em ambiente doméstico obesogênico, sugerindo que os genes relacionados à obesidade são mais fortemente associados ao IMC quando o indivíduo está exposto a um ambiente mais obesogênicos, e que a predisposição genética à obesidade pode ser atenuada por um ambiente mais saudável (SCHREMPT *et al.*, 2018).

Essa modulação no fenótipo diante da informação genética adquirida é estudada pela epigenética (WEINHOLD, 2006). Nessa ciência, a relação gene-ambiente se estreita por mecanismos moleculares que modulam a expressão gênica sem alterar a sequência do DNA (WADDINGTON, 1942). Dentre os mecanismos epigenéticos, a metilação do DNA é o mais estudado e dependente de nutrientes provenientes da alimentação para o processo de metilação biológica do DNA (FRISO *et al.*, 2017). A riboflavina (B2), a piridoxina (B6), o folato (B9), a cobalamina (B12), a colina, a betaína e a metionina são nutrientes conhecidos como doadores de metil (MetD), devido ao seu papel em uma série de reações bioquímicas da via metabólica conhecida como metabolismo de um carbono (FRISO *et al.*, 2017). Durante as reações cíclicas que acontecem nesse metabolismo, esses nutrientes contribuem para o fornecimento de grupamento metil à S-adenosilmetionina (SAM), doador universal de grupo metil, para a realização da metilação do DNA pelas DNA metiltransferases (DNMTs) (MAHMOUD, 2022).

Dessa forma, o consumo adequado desses nutrientes é importante para o equilíbrio cíclico do metabolismo de um carbono e atividade dinâmica da metilação do DNA (MAHMOUD, 2022), modulando a expressão de diferentes genes, como aqueles relacionados a obesidade (JIAO *et al.*, 2016; YADAV *et al.*, 2018; SABER CHERIF *et al.*, 2019). Inicialmente, diferentes estudos em animais evidenciaram o efeito do consumo dos nutrientes MetD na regulação no fenótipo associado ao peso e a adiposidade. (COONEY *et al.*, 2002; DOLINOY *et al.*, 2006; WATERLAND *et al.*, 2008; CRUZ-CARRILLO *et al.*, 2020). Em humanos, o consumo desses nutrientes também tem sido associado a uma menor deposição de gordura (CHANG *et al.*, 2022) e de indicadores de adiposidade (percentual de gordura corporal total, peso, IMC, perímetro da cintura, razão cintura-quadril) (GAO *et al.*, 2016; CHANG *et al.*, 2022; MLODZIK-CZYZEWSKA *et al.*, 2022), melhora do perfil de metilação do DNA

(TAYLOR *et al.* 2018) e do seu efeito na modulação de genes reguladores do apetite (PAUWELS *et al.*, 2017). No entanto, embora atualmente muitos estudos avaliem a ingestão dos nutrientes MetD sobre o fenótipo da obesidade, parte desses trabalhos são conduzidos com suplementação, em animais (WATERLAND *et al.*, 2008; CORDERO *et al.*, 2011; CORDERO *et al.*, 2013; CRUZ-CARRILLO *et al.*, 2020), com amostras modestas (TAYLOR *et al.*, 2018; DOMINGUEZ-SALAS *et al.*, 2013) e não contemplam a ingestão de todos os MetD envolvidos no processo de metilação (PAUWELS *et al.*; 2017; TAYLOR *et al.*, 2019; BRAUN *et al.*, 2015).

Assim, conhecendo-se sobre o impacto do contexto parental (REILLY *et al.*, 2005; WHITAKER *et al.*, 2010) e do ambiente familiar sobre a obesidade (FUEMMELER *et al.*, 2013), até onde sabemos, não há estudos em humanos que avaliem o efeito desses nutrientes no risco do desenvolvimento da doença e sua relação com a obesidade parental. Portanto, a hipótese do presente estudo é que o consumo de nutrientes MetD está associado a menor incidência de obesidade entre os participantes da Coorte de Universidades Mineiras em um seguimento de 4 anos, mesmo na presença de histórico familiar da doença.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade

A obesidade é uma doença crônica que ocorre devido ao acúmulo anormal ou excessivo de gordura (WHO, 2018), na qual pode interferir na manutenção de um estado ideal de saúde (ELLULU *et al.*, 2017), aumentando o risco para inúmeras doenças crônicas (ABDELAAL; LE ROUX; DOCHERTY, 2017) e mortalidade precoce (DI ANGELANTONIO, 2016). O fator epidêmico mundial da doença (WHO, 2000) tem chamado atenção devido seu efeito negativo a saúde e o ônus econômico que ela impõe (TREMMELE *et al.*, 2017) em virtude de sua prevalência crescente (LOBSTEIN *et al.*, 2022).

A obesidade é uma doença complexa e multifatorial, que resulta de fatores genéticos, comportamentais, ambientais, fisiológicos, sociais e culturais que levam ao desequilíbrio energético e favorece a deposição excessiva de gordura (WHO, 1998). A contribuição relativa desses fatores tem sido estudada, e estima-se que a herdabilidade genética da obesidade é de 40% a 70% (MAES; NEALE; EAVES, 1997; ELKS *et al.*, 2012). Classicamente, a obesidade pode ser dividida em duas grandes categorias: obesidade monogênica, que é herdada em um padrão mendeliano, tipicamente rara, de início precoce, grave e envolve pequenas ou grandes deleções cromossômicas ou defeitos genéticos; e obesidade poligênica (também conhecida como obesidade comum), que é o resultado de centenas de polimorfismos, cada um com sua respectiva alteração (CHAMI *et al.*, 2020).

Embora o fator genético desempenhe um papel importante na regulação do peso corporal, a *World Health Organization Consultation on Obesity* (1998) concluiu que fatores comportamentais e ambientais, ou seja, estilo de vida sedentário combinado com excesso de ingestão energética, são os principais responsáveis pelo aumento expressivo da obesidade. Isso porque alterações genéticas em toda a população não ocorrem em um período de tempo relativamente curto, durante o qual a obesidade atingiu proporções epidêmicas (HILL; PETERS, 1998).

A mudança no padrão alimentar, caracterizada pela alta ingestão diária de gorduras saturadas e carboidratos refinados, contribui para o desenvolvimento e progressão atual da obesidade (SWINBURN *et al.*, 2019; LÓPEZ-TABOADA; GONZÁLEZ-PARDO; CONEJO, 2020), favorecendo a hipertrofia do tecido adiposo devido o excedente calórico (LONGO *et al.*, 2019). Estima-se que apenas dez calorias excedentes ao dia podem promover um aumento de 0,45 Kg a cada ano, o que pode tornar-se clinicamente importante se continuado por décadas

(FRUHBECK *et al.*, 2001). A exposição crônica a esses fatores contribui para alterações neuroendócrinas que prejudicam o equilíbrio do eixo fome-saciedade, além de acarretar uma resposta inflamatória de baixo grau que favorece a progressão da doença e de outros agravos em saúde (CHOE *et al.*, 2016.).

O contexto alimentar é um fator primordial na obesidade, isso porque a exposição a um ambiente obesogênico contribui para o aumento do ganho de peso e alteração da saciedade ainda na infância (FUEMMELER *et al.*, 2013). Além disso, esse cenário também pode favorecer na herdabilidade do IMC, pois o ambiente pode modular a expressão genética diante da presença obesidade parental e favorecer o ganho de peso precoce (SCHREMPFT *et al.*, 2018). A epigenética é a ciência que explica essa interação entre a herança genética e o ambiente na modulação do fenótipo (WEINHOLD, 2006), e sua estreita relação com a alimentação tem sido sugerida com uma peça fundamental para estratégias preventivas e personalizadas de diversas doenças, como a obesidade (RAMOS-LOPEZ *et al.*, 2017).

2.1.1 Obesidade parental e ambiente obesogênico

A obesidade dos pais é um dos fatores de risco mais fortes para o desenvolvimento da obesidade (WHITAKER *et al.*, 2010), visto que há uma contribuição genética de 40% a 70% para o risco da doença (MAES; NEALE; EAVES, 1997; ELKS *et al.*, 2012), onde a herdabilidade de genes e polimorfismo de risco são capazes de influenciar no peso corporal (XIANG *et al.*, 2016), medidas antropométricas (LIVINGSTONE *et al.*, 2016), sinalização endócrina e regulação da fome e saciedade (RASKILIENE *et al.*, 2021). Nesse contexto, ter ambos os pais com a doença está associado a um aumento em 10 a 12 vezes para o risco de desenvolvimento da obesidade ainda na infância (REILLY *et al.*, 2005; WHITAKER *et al.*, 2010), bem como a alterações precoces do apetite (FUEMMELER *et al.*, 2013).

O fator ambiental, caracterizado principalmente por um ambiente obesogênico, constitui um fator crucial para o aumento progressivo da adiposidade. Esse ambiente é capaz de influenciar diferentes esferas, mas os problemas são mais acentuados em criança e jovens, pois são os pais que ditam os ambientes físicos e sociais e o acesso a alimentos saudáveis ou não saudáveis, na qual podem perdurar nas escolhas ao longo da vida. Assim, o ambiente obesogênico tem sido apontado como um fator crucial para a epidemia atual da obesidade (GOLAN; CROW, 2004; ROSENKRANZ; DZEWALTOWSKI, 2008). De fato, filhos de pais com obesidade exibem níveis mais baixos de atividade física e têm maior preferência por

alimentos ricos em gordura e menor preferência por alimentos mais saudáveis (WARDLE *et al.*, 2001; MORGAN *et al.*, 2008).

Assim, os genes relacionados ao risco para a doença são possivelmente mais fortemente associados ao IMC elevado quando os indivíduos estão expostos a ambientes familiares mais obesogênicos (SCHREMPFT *et al.*, 2018). Schrempft *et al.* (2018) mostraram que a herdabilidade do IMC foi maior entre aqueles que viviam em ambientes domésticos mais obesogênicos. Em contrapartida, os filhos que viviam em lares mais saudáveis tiveram o impacto sobre o IMC reduzido. A interação entre o gene e o ambiente é um ponto fundamental, pois a influência dos fatores genéticos possivelmente depende de determinadas exposições ambientais (FAITH; EPSTEIN, 2018), como a alimentação (SCHREMPFT *et al.*, 2018). Isso porque os nutrientes são capazes de modular a expressão gênica por meio de mecanismos epigenéticos (SCHREMPFT *et al.*, 2018) e modular a expressão do fenótipo (WEINHOLD, 2006). Assim, a alimentação pode ser uma ferramenta fundamental como medida preventiva da obesidade (RAMOS-LOPEZ *et al.*, 2017).

2.2 Epigenética

Criado por Conrad Waddington em 1942, o termo epigenética, se refere aos processos pelos quais um organismo interage com o ambiente para produzir traços fenotípicos observáveis (WADDINGTON, 1942). Mais recentemente, a definição de epigenética foi modificada para incluir todas as mudanças que ocorrem no genoma que não estão associadas à modificação da sequência do DNA (HOLLIDAY, 1994).

A epigenética refere-se ao controle da expressão gênica por meio de mecanismos não diretamente relacionados à sequência de codificação do DNA. Como resultado, todas as células de um organismo têm fenótipos muito diferentes, apesar de terem o mesmo genoma. A epigenética modula e regula a expressão gênica por meio de vários marcadores epigenômicos, termo dado a compostos químicos adicionados a proteínas histonas e reconhecidos por enzimas que estabelecem ou removem a marca específica. Essas marcas alteram a conformação espacial da cromatina, compactando-a e impedindo a ligação de fatores de transcrição ao DNA ou, abrindo-a e permitindo a ligação de fatores de transcrição (TIFFON, 2018).

Várias dessas marcações foram associadas ao aumento do depósito de gordura, assim, entender esses mecanismos moleculares pode ser uma ferramenta valiosa para a compreensão da pandemia de obesidade (LOPOMO; BURGIO; MIGLIORE; 2016).

2.2.1 Mecanismos epigenéticos

Entre os mecanismos epigenéticos já identificados, destacam-se a metilação, acetilação, fosforilação, ubiquitilação, sumoliação (**Quadro 1**), enquanto outros mecanismos e considerações epigenéticas provavelmente surgirão à medida que os estudos avançam (WEINHOLD, 2006). No entanto, os marcadores epigenéticos mais investigados incluem a metilação do DNA, modificações em proteínas histonas e regulação por RNAs não codificantes (miRNA) (**Figura 1**) (WEI *et al.*, 2017).

A metilação do DNA tem sido o marcador epigenético mais amplamente estudado desde 1948, quando foi relatado pela primeira vez (HOTCHKISS, 1948). O processo de metilação consiste na adição covalente de grupos metil ao carbono 5 de resíduos de citosina para dar origem a 5-metilcitosinas (TIFFON, 2018). Estes são doados pela S-adenosilmetionina (SAM), doador universal de metil para todas as reações epigenéticas de metilação (MOSCA *et al.*, 2021), e por sua vez, catalisado pelas enzimas da família DNA metiltransferase (DNMT) (TIFFON, 2018). Esse evento ocorre, predominantemente, em regiões do DNA seguidas de citosina-guanina, chamada de ilhas CpG (TIFFON, 2018). Entretanto, até 50% das regiões promotoras DNA estão localizadas nessas ilhas CpG (JONES; LIANG, 2009) e a ligação do grupo metil nessas regiões do DNA interfere na ligação dos fatores de transcrição, inibindo assim a atividade transcricional e acarretando no silenciamento do gene (TIFFON, 2018).

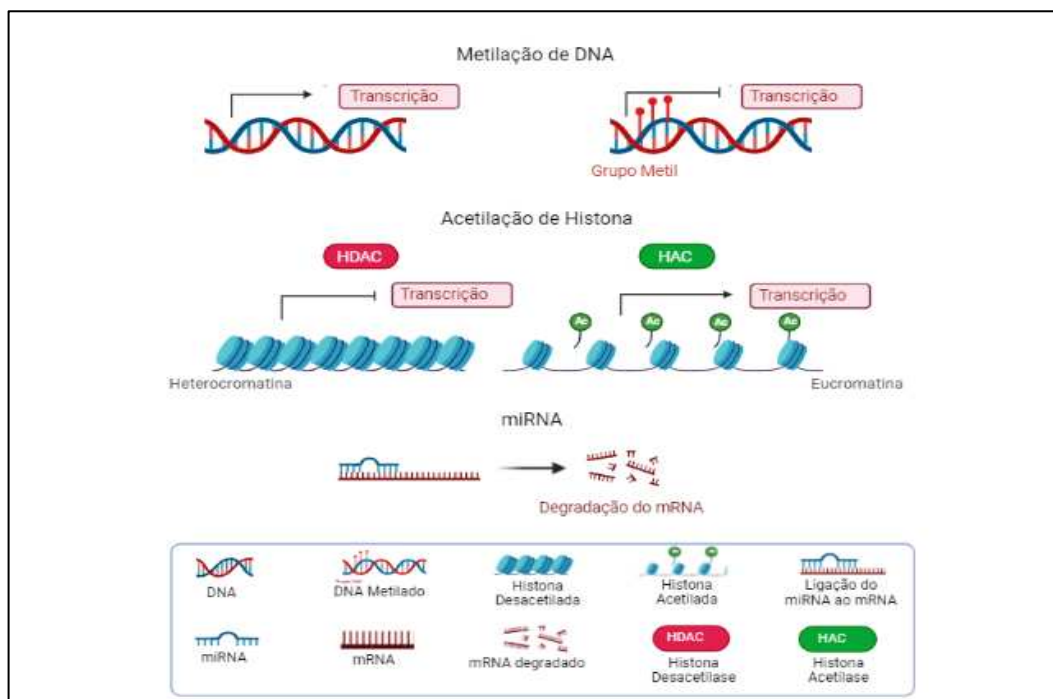
A histona é o principal componente proteico que confere dinamismo e fluidez à estrutura da cromatina, empacotando o DNA e atuando como um importante mecanismo de regulação da expressão gênica, e determinando quais regiões do DNA permanecem acessíveis à regulação gênica da célula e à maquinaria transcricional (FELSENFELD; GROUDINE, 2003). A acetilação de histonas está associada à atividade transcricional e, assim, a um estado descondensado da cromatina. A acetilação das caudas das histonas é controlada por duas famílias de enzimas: as histonas acetiltransferases (HATs), que transferem um grupo acetil, e as histonas desacetilases (HDACs), que remove grupos acetil (STERNER; BERGER, 2000). O padrão dessas marcas nas caudas das histonas é muitas vezes referido como o código das histonas, que dita a ligação das proteínas efetoras que, por sua vez, resulta em processos celulares específicos (TIFFON, 2018).

Quadro 1 - Modificações epigenéticas comuns e efeitos associados no genoma.

Modificações Epigenéticas	Efeito na função do genoma
Metilação do DNA	Metilação em sítios promotores associados ao silenciamento de genes. Metilação na região do gene associada à regulação da atividade do gene.
Metilação de histonas	Metilação de resíduos de aminoácidos na histona associada à repressão e ativação transcricional, dependente do resíduo.
Acetilação de histonas	A acetilação aumenta o acesso ao DNA para transcrição. Permite a reprogramação de todo o genoma na protaminação espermática.
Fosforilação de histonas	Fosforilação de histonas associada à compactação da cromatina. Regula a estrutura da cromatina e a condensação cromossômica durante a divisão celular.
Sumoilação de histonas	Pequenas proteínas modificadoras relacionadas à ubiquitina (SUMO) se ligam às histonas. Associado à ativação da transcrição e silenciamento de genes.
Variantes de histonas	Variantes de histonas, por exemplo, H2A.Z, CENP-A, H2AX executam várias funções especializadas, incluindo reparo de DNA, regulação de genes e função de centrômero.
Pequenos RNAs não codificantes	Micro RNAs e RNA de interação com PIWI (piRNAs) afetam a repressão e ativação da transcrição e a repressão da tradução.
RNAs não codificantes longos	Sugere-se ter uma grande variedade de funções, conhecidas por regular a repressão transcricional em larga escala no <i>imprinting</i> .

Fonte: XAVIER *et al.*, 2019

Figura 1 - Mecanismos epigenéticos na regulação da expressão gênica.



Fonte: Elaboração própria

Os RNAs não codificantes (ncRNAs), especialmente os miRNAs são marcadores importantes que medeiam vários processos (MOSCA *et al.*, 2021). Os miRNAs são uma classe de pequenos transcritos endógenos não codificantes de 16 a 29 nucleotídeos que exercem regulação pós-transcricional ligando-se a uma sequência central curta nas regiões 3' não traduzidas (3'-UTR) de mRNA ou ncRNAs, levando a clivagem ou repressão da tradução, dependendo do grau de complementariedade do miRNA - mRNA (LIN; GREGORY, 2015).

2.3 Metilação e obesidade

A importância da metilação do DNA é enfatizada pelo número crescente de doenças que são conhecidas por ocorrer quando essa informação epigenética não está devidamente estabelecida ou mantida (JIN; LIU, 2018). A metilação é uma modificação crucial envolvida em muitos processos celulares e, portanto, contribui para a patogênese de muitas doenças em humanos (STOCCORO; COPPEDÈ, 2021). A primeira descoberta ocorreu em 1983 em um estudo com câncer, onde verificou-se que às células cancerosas apresentavam um padrão de metilação diferentes das células normais (FEINBERG; TYCKO, 2004).

Na patogênese da obesidade, alterações na metilação do DNA podem representar tanto a causa quanto a consequência, atuando por meio de inflamação, estresse oxidativo, hipóxia ou

outras vias biológicas (MILAGRO *et al.*, 2011; GREGOR *et al.*, 2011; DICK *et al.*, 2014). Além das mudanças nos níveis médios de metilação do DNA, a obesidade também está associada ao aumento da variação na metilação do DNA, possivelmente refletindo a adaptação às mudanças nas condições ambientais (XU *et al.*, 2013).

Vários estudos têm mostrado a associação entre o perfil de metilação em genes candidatos para a obesidade com alterações características de um fenótipo obeso (DEMERATH *et al.*, 2015; DUNSTAN *et al.*, 2017; MEEKS *et al.*, 2017; VAN DIJK *et al.*, 2018; CZOGAŁA *et al.*, 2021). Por exemplo, o gene da leptina, um importante regulador do apetite, apresentou um nível de metilação mais alto em adolescentes com obesidade medido pelo IMC (DUNSTAN *et al.*, 2017). Em outro estudo, a maior expressão do *FTO* (*Alpha-ketoglutarate dependent dioxygenase*), um dos principais genes relacionados à adiposidade corporal, foi associado ao aumento do perímetro da cintura, da quantidade de gordura corporal e do percentual de gordura corporal (CZOGAŁA *et al.*, 2021). Outros exemplos do perfil de metilação em importantes genes de risco para a obesidade e sua relação com o estado nutricional e composição corporal podem ser observados no **Tabela 1**.

Tabela 1 - Metilação em importantes genes de risco para a obesidade em humanos e seu efeito no estado nutricional em diferentes populações.

(continua)

Autor (ano)	Gene	Mecanismo epigenético	Papel na obesidade	Tipo de amostra	População
Kurylowicz <i>et al</i> (2015)	ADRB2	Metilação	Tecido adiposo	Adipócitos	Polonês
Kurylowicz <i>et al</i> (2015)	UCP2	Metilação	Tecido adiposo	Adipócitos	Polonês
Demerath <i>et al</i> (2015)	CD38	Metilação	IMC e PC	T CD4+	Africano
Al Muftah <i>et al</i> (2016)	ABCG1	Metilação	IMC	Sangue	Cateriana
Rounge <i>et al.</i> (2016)	MC2R	Metilação	IMC	Saliva	Finlandês
Rounge <i>et al.</i> (2016)	IGF2BP1	Metilação	IMC	Saliva	Finlandês
Oelsner <i>et al</i> (2017)	Todo o genoma	Metilação	IMC	Saliva	Hispanicos

Tabela 1 - Metilação em importantes genes de risco para a obesidade em humanos e seu efeito no estado nutricional em diferentes populações.

(conclusão)

Autor (ano)	Gene	Mecanismo epigenético	Papel na obesidade	Tipo de amostra	População
Meeks <i>et al</i> (2017)	CTP1A	Metilação	IMC e obesidade abdominal	Sangue	Africano
Dunstan <i>et al</i> (2017)	LEP	Metilação	IMC, regulação do apetite	Saliva	Americano
Volberg <i>et al</i> (2017)	PPARG	Metilação	Tamanho corporal	Sangue	Americano
Van Dijk <i>et al</i> (2018)	Todo genoma	Metilação	Escore z de IMC, insulina, HOMA-IR e glicose	Sangue	Australiano
Kwon <i>et al</i> (2019)	MC4R	Metilação	IMC, alteração metabólica	Sangue	Coreana
Czogala <i>et al</i> (2021)	FTO	Metilação	IMC, PC, gordura corporal e percentual de gordura corporal	Sangue	Polonês
Nikpay <i>et al</i> (2021)	POMC	Metilação	Peso e IMC	Sangue	Canadense

IMC: índice de massa corporal; PC: perímetro da cintura

Fonte: elaboração própria

Assim, o aparecimento de um padrão alterado de metilação do DNA pode ser potencialmente perigoso para as células. A hipometilação em diferentes famílias de sequências repetitivas de *LINE* (*long interspersed nuclear elements*), por exemplo, é recorrente em diversas doenças humanas, sugerindo que o estado de metilação desses elementos pode estar envolvido na preservação da saúde. (PAPPALARDO; BARRA, 2021). Assim, a epigenética, comumente medida pela metilação do gene, é promissora para entender os fatores e mecanismos de risco da obesidade (DUNSTANT *et al.*, 2017), principalmente diante de estímulos ambientais, como o padrão alimentar, que podem induzir alterações na metilação do DNA predispondo à obesidade e comorbidades relacionadas. Dessa forma, a modulação da metilação do DNA pela

alimentação pode ser um alvo para novas estratégias terapêuticas relacionadas à prevenção e tratamento de doenças metabólicas (SAMBLAS; MILAGRO; MARTÍNEZ, 2019).

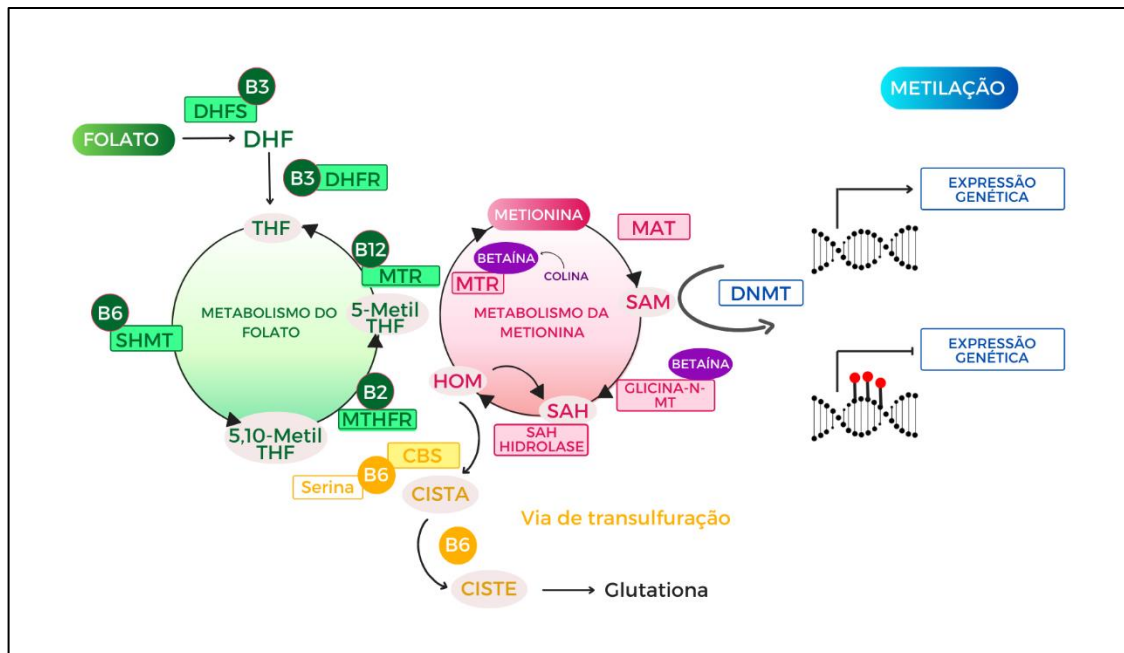
2.4 Nutrientes MetD e obesidade

O estabelecimento e manutenção da metilação do DNA é vulnerável aos fatores nutricionais, assim, a alimentação ao longo da vida pode impactar nas marcas epigenéticas, bem como no desenvolvimento e estado de saúde (PARRILLO *et al.*, 2019).

O mecanismo pelo qual os nutrientes podem modificar a metilação do DNA é através de um processo celular conhecido como “metabolismo de um carbono”, na qual fornecem grupos metil para metilação biológica de DNA (**Figura 2**) (FRISO, 2017). Esse mecanismo compreende em um grupo de reações bioquímicas que são catalisadas por um conjunto de enzimas e coenzimas que doam grupo metil para o DNA. Durante esse processo, várias reações químicas cíclicas ocorrem (MAHMOUD; ALI, 2019), estas, por sua vez, são dependentes de nutrientes provenientes da dieta (**Quadro 2**), incluindo a vitamina B2, B6, B9, B12, betaína, colina e o aminoácido metionina, que desempenham um papel significativo como cofatores ou MetD (ZHANG, 2018).

Esse processo começa com a conversão do folato da dieta em diidrofolato (DHF) através da enzima diidrofolato sintase (DHFS) e depois em tetraidrofolato (THF) pela enzima diidrofolato redutase (DHFR). O THF é então convertido em 5,10-metil THF através da enzima serina hidroximetiltransferase (SHMT) que possui vitamina B6 como coenzima. Essa reação é seguida por uma redução de 5,10-metil THF a 5-metil THF via enzima metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR), tendo como coenzima a vitamina B2. No final deste ciclo, o 5-metil THF é transformado novamente em THF pela enzima 5-metiltetraidrofolato-homocisteína metiltransferase (MTR) que utiliza a vitamina B2 como coenzima. A mesma enzima, MTR, converte a homocisteína (*Hcy*) em metionina (MAHMOUD; ALI, 2019).

Figura 2 - Metabolismo de um carbono.



Fonte: Elaboração própria

DHF: diidrofolato; DHFS: diidrofolato sintase; THF: tetraidrofolato; DHFR: diidrofolato redutase; SHMT: serina hidroximetiltransferase; MTHFR: metilenoetetraidrofolato redutase; MTR: 5-metiltetraidrofolato-homocisteína metiltransferase; Hcy: homocisteína; SAM: S-adenosilmetionina; DNMT: DNA metiltransferase; MAT: metionina adenosiltransferase; glycine-N-MT: glicina N-metiltransferase; SAH hidrolase: s-adenosilhomocisteína; mDNA: DNA metilado; DNA: ácido desoxirribonucleico.

A betaína atua como um doador indireto de metil para a última reação. Através da via da transulfuração, a homocisteína (Hcy) é convertida em cistationina pela via cistationina β -sintase, e por último a cisteína através da enzima cistationase, tendo em ambas as reações a vitamina B6 como cofator (SELHUB, 1999). A metionina, é fundamental para a síntese de S-adenosilmetionina (SAM), que atua como um cofator de DNA metiltransferase (DNMT) e um doador de metil universal para a metilação do DNA. A enzima que catalisa essa reação é a metionina adenosiltransferase (MAT). A glicina N-metiltransferase (Glicina N-MT) converte SAM em s-adenosilhomocisteína (SAH), que pode ser reversivelmente convertida em Hcy através da enzima SAH hidrolase. Finalmente, a enzima DNMT ativada catalisará a transferência de um grupo metil para o carbono 5 de citosinas no DNA para produzir DNA metilado (mDNA) (MAHMOUD; ALI, 2019).

As vitaminas B2, B6, B9 e B12, são vitaminas solúveis em água e encontradas alimentos, como carne, grãos integrais, ovos, laticínios, legumes, nozes, vegetais de folhas escuras e frutas (frutas cítricas, abacates e bananas) (IOM, 2016). Embora todas as vitaminas do complexo B sejam essenciais na regulação do metabolismo, síntese de hemoglobina e na

manutenção da integridade da pele e do sistema nervoso, as vitaminas B2, B6, B9 e B12 são especificamente críticas para o metabolismo de um carbono (BRUNO; ZIEGENFUSS, 2019). A sua deficiência, principalmente da B9, pode resultar em alterações no *pool* de SAM, doador universal de grupo metil, afetando a atividade da DNMT e a metilação do DNA (MAHMOUD; ALI, 2019). Assim, a ingestão dessas vitaminas pode afetar expressão gênica e modificar o risco de doenças onde a metilação do DNA desempenha um papel importante (QIANG *et al.*, 2018).

A colina pode ser adquirida em alimentos como gema de ovo, fígado, soja, carne cozida e frango (TIFFON, 2018), como também pode ser sintetizada endogenamente através da via da fosfatidiletanolamina N -metiltransferase (PEMT). A colina tem várias funções importantes, como: 1) é uma fonte dos grupos metil necessários para SAM; 2) é constituinte do neurotransmissor acetilcolina; 3) é um componente dos principais fosfolipídios nas membranas (fosfatidilcolina e esfingomielina). A ingestão inadequada e prolongada de colina pode predispor os indivíduos à doença hepática gordurosa não alcoólica e ao declínio cognitivo (ZEISEL, 2006). A betaína, por sua vez, pode ser encontrada em alimentos como farelo e gérmen de trigo, espinafre, beterraba e frutos do mar, e ser formada de forma endógena através da reação irreversível da colina. Seu principal papel fisiológico é atuar como um osmólito e como um doador de metil na via da transulfuração. Vários estudos tem mostrado que a betaína é um nutriente importante para a prevenção de doenças crônicas. A sua ingestão inadequada compromete o processo de metilação, impacta na concentração de homocisteína e na metabolização hepática dos lipídeos, aumentando o risco de dislipidemias e acúmulo de gordura no fígado (CRAIG, 2004).

A metionina é um aminoácido essencial sulfurado que desempenha um papel significativo na regulação do metabolismo e na síntese de outros aminoácidos (GUEDES *et al.*, 2011), sendo encontrado de forma geral em alimento fontes de proteína, mas principalmente, em sementes de gergelim, castanha do Pará, peixe, pimentão e espinafre (TIFFON, 2018). A metionina é um fator nutricional chave na metilação por ser precursor de SAM. O baixo consumo alimentar do aminoácido pode alterar os níveis de substratos metabólicos no metabolismo de um carbono e afetar a expressão de genes relacionados ao crescimento e saúde por meio do processo de metilação do DNA (ZHANG, 2018).

Portanto, a nutrição é uma das principais exposições ambientais que determinam a saúde (STOVER; CAUDILL, 2008). Considerando que o estabelecimento e manutenção da metilação do DNA é vulnerável a fatores nutricionais (PARRILLO *et al.*, 2019), alterações nesses sistemas podem contribuir para a desregulação de importantes vias metabólicas e aumentar a

suscetibilidade ao desenvolvimento da obesidade e suas comorbidades (SAMBLAS; MILAGRO; MARTÍNEZ, 2019).

Quadro 2 - Nutrientes envolvidos no processo de metilação do DNA, seus respectivos alimentos fontes e sua ação epigenética.

Nutrientes	Alimentos Fontes	Ação Epigenética
Riboflavina (B2)	Vegetais folhosos, carne, leite e ovos.	Síntese de Metionina
Piridoxina (B6)	Carnes, produtos de grãos integrais, legumes, nozes.	Síntese de Metionina
Folato (B9)	Vegetais folhosos, semente de girassol e fígado.	Síntese de Metionina
Cobalamina (B12)	Carnes, fígado, marisco e leite	Síntese de Metionina
Colina	Gema de ovo, fígado, soja, carne cozida, frango, vitela e peru.	Doador de metil para SAM
Betaína	Trigo, espinafre, marisco, beterraba.	Quebra os subprodutos tóxicos da síntese de SAM
Metionina	Semente de gergelim, castanha do Pará, peixe, pimentão e espinafre	Síntese de SAM

Fonte: adaptado de TIFFON, 2019; BRUNO; ZIEGENFUSS, 2019.

SAM: S-adenosilmetionina.

Muitas observações apoiam fortemente a hipótese de que há um *crosstalk* entre o metabolismo de um carbono e a homeostase energética (KONSTANTINOVA *et al.*, 2008). Dietas ricas em nutrientes MetD podem afetar rapidamente a expressão gênica, especialmente durante o desenvolvimento inicial, quando o epigenoma é estabelecido pela primeira vez, e podem ter efeitos duradouros na vida adulta (ALAVIAN-GHAVANINI; RUEGG, 2018).

Em um estudo de Steegers-Theunissen *et al.* (2009), o uso materno de ácido fólico pré-concepção resultou em aumento de 4,5% na metilação do *IGF2* (*insulin like growth factor 2*) e redução do peso ao nascer, em comparação aos nascidos de mulheres que não tomaram ácido

fólico. Em um outro estudo, a metilação desse gene no sangue fetal foi positivamente associada aos níveis de vitamina B12 no sangue materno (BA *et al.*, 2011).

Recentemente, uma revisão concluiu que a vitamina B12 desempenha um papel fundamental no metabolismo de gorduras, observando que uma deficiência da vitamina pode estar ligada ao aumento do acúmulo de gordura e à obesidade (BOACHIE *et al.*, 2020). Em um trabalho com 9.075 adultos americanos em que avaliaram o consumo de B12 e sua concentração sérica, os valores da vitamina foram menores entre aquele com obesidade, em comparação com os indivíduos não obesos (SUN *et al.*, 2019). Além disso, em um estudo com 256 crianças os valores de B12 foram significativamente menores em crianças com obesidade do que em crianças eutróficas (OZER; SONMEZGOZ; DEMIR, 2017).

Mlodzik-Czyzewska *et al.* (2020), em um estudo de caso-controle com mulheres adultas, mostraram que uma menor ingestão de folato e concentrações séricas de B9, se relacionava inversamente ao percentual de gordura corporal e ao perímetro da cintura. Para o gene receptor adrenérgico beta-3 (*ADRB3*) que medeia a lipólise no adipócito (LIMA, 2017), um trabalho brasileiro avaliou o consumo e a concentração sérica de B9 e encontraram uma associação entre a menor metilação no gene *ADRB3* em leucócitos com os níveis séricos de folato em adultos eutróficos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2018).

A colina e a betaína são nutrientes MetD e importantes no metabolismo de lipídeos e menor deposição de gordura no fígado (ZEISEL, 2006; CRAIG, 2004). Chang *et al.* (2022) avaliaram o consumo desse nutriente em uma amostra de 105 pacientes e encontraram que aqueles indivíduos que apresentaram ingestão adequada tiveram associação com uma menor deposição de gordura no fígado, dado pela obesidade visceral. Em um estudo canadense com 3.214 adultos, a maior ingestão desses nutrientes foi associada a uma melhor composição corporal, percentual de gordura corporal total, IMC, peso corporal e perímetro da cintura (GAO *et al.*, 2016).

O baixo consumo para os demais nutrientes também mostraram associação com obesidade. A ingestão insuficiente da vitamina B2 teve associação com a obesidade central em mulheres coreanas (SHIN; KIM, 2019). B2 e B6 também se correlacionou negativamente com a obesidade em um estudo com crianças e adolescente (TANG *et al.* 2022).

Por outro lado, a ingestão de alguns nutrientes MetD em valores acima da DRI também mostraram interagir com a obesidade e polimorfismos genéticos. A ingestão de B2, por exemplo, acima da recomendação, foi associada com a obesidade e uma variante genética perto da região do gene *CRYBB2* (*Crystallin beta B2*). A B9, outro importante MetD, a ingestão acima do proposto pela DRI também foi mais fortemente associada a obesidade e ao polimorfismo

rs4130113 do gene *GHR* (*Growth Hormone Receptor*) (KWON *et al.*, 2022). Contudo, maiores ingestões desses nutrientes MetD não repercutem necessariamente maiores níveis de metilação. Por exemplo, no estudo de Colacino *et al.* (2012), os indivíduos no quartil mais alto da ingestão de vitamina B12 mostraram significativamente menor metilação no gene *RARB* (*Retinoic Acid Receptor β*) e em CpGs de supressores tumorais, em comparação com aqueles no quartil mais baixo. Cabe destacar que altas doses de determinado nutriente pode ter efeito contrário ou deletério, devido a saturação das vias bioquímicas e aumento de produtos resultantes do seu metabolismo constante (ZHOU *et al.*, 2015).

Sendo assim, a quantidade mais satisfatória do consumo dos nutrientes MetD em relação à saúde ainda são pouco consistentes, principalmente devido a heterogeneidade do tipo de estudo, tamanho da amostra e forma de estimar o consumo diário desses nutrientes MetD (WATERLAND *et al.*, 2008; CORDERO *et al.*, 2011; CORDERO *et al.*, 2013; DOMINGUEZ-SALAS *et al.*, 2013; BRAUN *et al.*, 2015; TAYLOR *et al.*, 2018; PAUWELS *et al.*, 2017; TAYLOR *et al.*, 2019; CRUZ-CARRILLO *et al.*, 2020). Ademais, nem sempre os estudos são precisos em contemplar todos os nutrientes MetD (PAUWELS *et al.*, 2017; TAYLOR *et al.*, 2019; BRAUN *et al.*, 2015) e inserir escore da associação do consumo desses nutrientes com o desfecho em saúde (POURSALEHI *et al.*, 2022; LOTFI *et al.*, 2022). Por fim, diante do risco genético da obesidade, até onde sabemos, também não há estudos com humanos que avaliem o consumo dos nutrientes MetD na proteção da obesidade ao longo do tempo e sua relação com a obesidade parental, portanto essas lacunas precisam de ser preenchidas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a associação entre o consumo de nutrientes MetD e a incidência de obesidade entre os participantes da Coorte de Universidades Mineiras em um seguimento de quatro anos, e a sua relação com o histórico familiar de obesidade parental.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a incidência de obesidade em quatro anos de seguimento.
- Estimar o consumo dos nutrientes MetD e calcular um escore de consumo de nutrientes MetD.
- Avaliar a associação entre o consumo dos nutrientes MetD e seu escore com a incidência de obesidade, bem como com o histórico familiar de obesidade.
- Identificar interações entre o consumo dos nutrientes MetD e seu escore com a incidência de obesidade, bem como com o histórico familiar de obesidade.

4. METODOLOGIA

4.1 Coorte de Universidades de Minas (Projeto CUME)

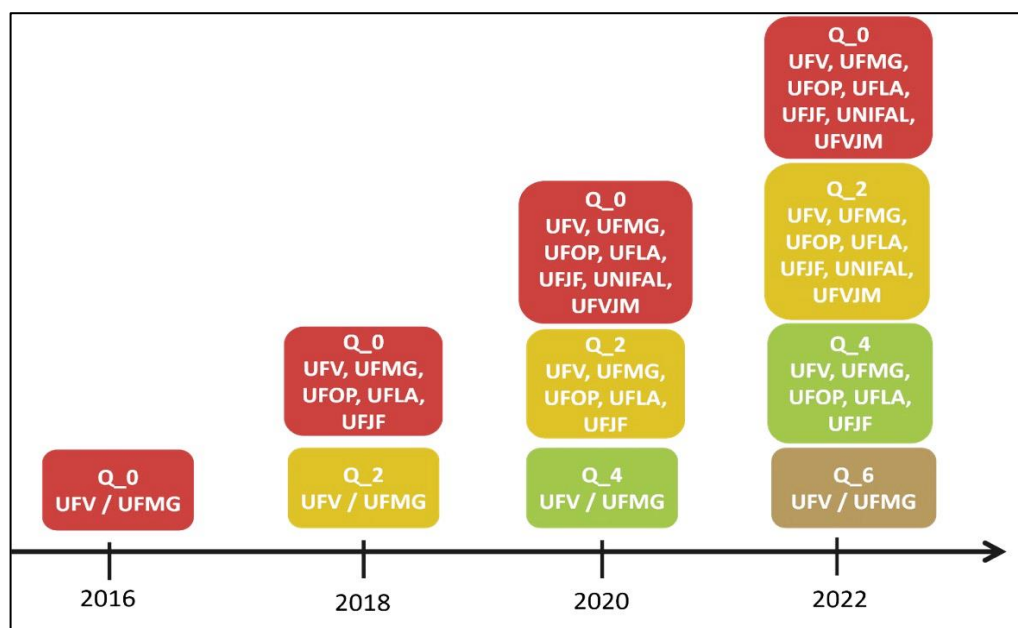
A Coorte de Universidades de Minas Gerais (Projeto CUME), iniciada em 2016, é um estudo longitudinal prospectivo concorrente aberta restrita a um grupo populacional de ex-alunos de universidades localizadas no estado de Minas Gerais, Brasil, a saber: Universidade Federal de Viçosa, Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Ouro Preto, Universidade Federal de Juiz de Fora, Universidade Federal de Lavras, Universidade Federal de Alfenas e Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (**Figura 3**). O projeto CUME tem como objetivo avaliar o impacto do padrão alimentar brasileiro e da transição nutricional na ocorrência de Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT) entre graduados e pós-graduados de instituições federais de ensino superior localizadas no estado de Minas Gerais (DOMINGOS *et al.*, 2018).

Potenciais voluntários recebem por e-mail o convite para participar do estudo, além de uma ficha de inscrição ser disponibilizada no site da coorte (<https://www.projetocume.com.br/projetocume>) para os egressos e pós-graduados que inicialmente não receberam o e-mail. Cinco convites sem resposta são considerados como recusa em participar do estudo (DOMINGOS *et al.*, 2018).

Os participantes, então, respondem um questionário autorreferido em ambiente virtual. A linha de base (Q_0) é dividida em duas partes, sendo a segunda parte enviada 1 semana após a conclusão da primeira. O primeiro questionário contém 83 questões relacionadas ao estilo de vida, fatores sociodemográficos, antropométricos, dados bioquímicos e clínicos, prática de atividade física, morbidade individual e familiar e histórico pessoal de exames preventivos. Na segunda etapa, os participantes são solicitados a preencher o Questionário de Frequência Alimentar (QFA) quantitativo e relatar seus hábitos e práticas alimentares.

Instituído a linha de base em 2016, a cada dois anos são realizadas novas ondas de avaliação em ambiente virtual. O primeiro questionário de seguimento (Q_2) foi aplicado em 2018, sendo seguido de novas avaliações em 2020 (Q_4) e 2022 (Q_6). As novas avaliações têm como objetivo realizar o acompanhamento dos participantes quanto a mudança socioeconômica, do estado nutricional, estilo de vida e dados em saúde como: novos diagnósticos, mudança dos valores bioquímicos, gestação, uso de medicamentos e até mesmo a ocorrência de infecção por vetores virais.

Figura 3 - Universidades Federais participantes da coorte desde a linha de base aos anos de seguimento.



Fonte: LEAL, A. C. G. 2021

Até o momento, 15.043 ex-alunos responderam ao questionário online. Desses, 51,3% (7.710) finalizaram o questionário de linha de base (Q_0), 3.106 participantes preencheram o primeiro questionário de seguimento (Q_2) aplicado em 2018 e 1.892 completaram o segundo questionário de seguimento (Q_4), aplicado em 2020.

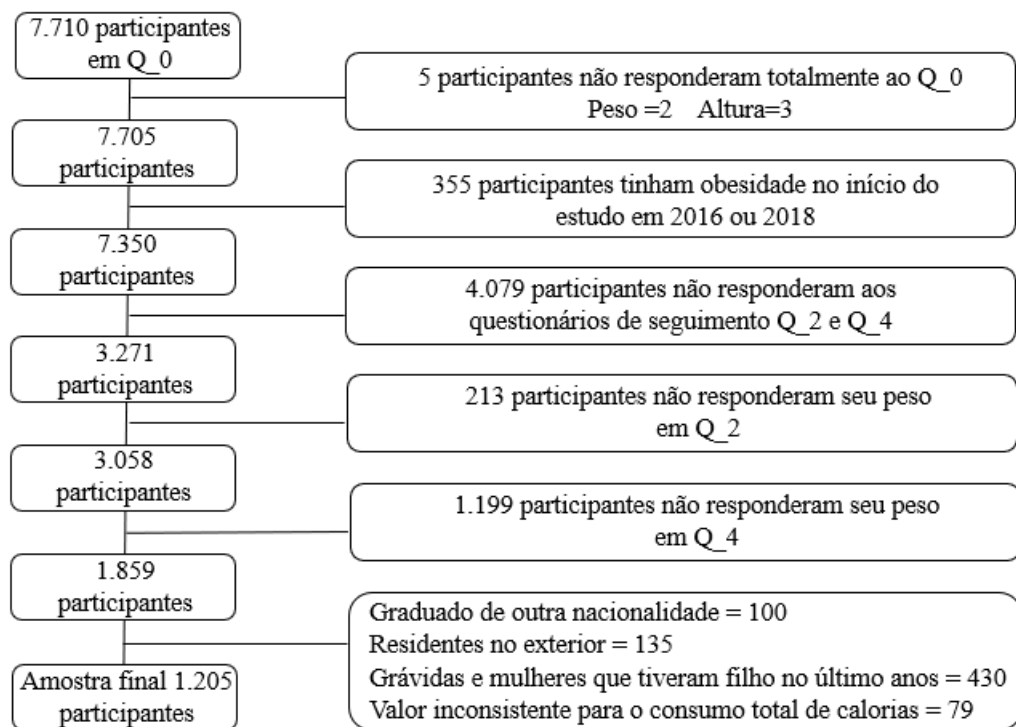
4.2 Aspectos éticos

O Projeto CUME foi conduzido de acordo com os princípios éticos estabelecidos na Declaração de Helsinque, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (nº parecer 596.741-0/2013) (ANEXO A e ANEXO B) e Comitês de todas as instituições participantes (UFMG: 07223812.3.3001.5153, UFV: 4483415.5.1001.5149, UFOP: 44483415.5.2003.5150, UFLA: 44483415.5.2002.5148, UFJF: 4483415.5.5133, UFVJM: 44483415.5.2005.5108, UNIFAL: 44483415.5.2002.5148). Todos os participantes leram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A) e indicaram concordância online antes de responder ao questionário.

4.3 Participantes desse estudo

Foram selecionados para esse estudo os participantes que responderam ao questionário basal (Q_0) e os questionários de seguimento (Q_2 ou Q_4) (**Figura 4**). Deste, foram incluídos aqueles que residiram no último ano no Brasil e que completaram todas as fases do questionário basal. Os critérios de exclusão foram: indivíduos de outra nacionalidade, mulheres que relataram gestação no período ou último ano de qualquer um dos questionários e indivíduos que apresentaram o consumo alimentar <500 kcal/dia ou >6.000 kcal/dia (SIQUEIRA *et al.*, 2018).

Figura 4 - Fluxograma de inclusão dos participantes no Estudo Coorte de Universidades de Minas Gerais (CUME), Minas Gerais, Brasil, 2016–2020



4.4 Coleta de dados

Para a análise longitudinal do presente estudo, os dados foram coletados mediante o preenchimento de questionário autorreferido em ambiente virtual, no tempo 0, 2 e 4 anos. As informações coletadas comporam o banco de dados referente as variáveis sociodemográficas, estilo de vida, antropométricas, consumo alimentar e histórico familiar de obesidade.

4.5 Desfecho do estudo

O peso e a estatura autorrelatados no questionário online e já validados nesta população (MIRANDA *et al.*, 2017), foram utilizados para o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), dividindo-se o peso (quilogramas) pela altura (metros) elevada ao quadrado. Os indivíduos que apresentaram $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ foram diagnosticados com obesidade (WHO, 1998; OPAS 2001).

4.5.1 Incidência de obesidade

A incidência de obesidade foi avaliada em um seguimento de quatro anos. O tempo até a ocorrência do desfecho foi medido em anos, desde a entrada do participante no estudo em 2016, até ocorrência do evento ou final do seguimento (2018 – 2020), o que ocorrer primeiro. A ocorrência do evento de interesse foi dada quando em algum período do seguimento foi constatado novos valores de $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$. Os participantes que apresentaram inicialmente $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ e aqueles cujo desfecho não foi identificado até o final do estudo (Q_4) ou que cessaram o acompanhamento foram censurados.

4.6 Avaliação do consumo dos nutrientes MetD e escore de MetD

Para a avaliação do consumo alimentar, um QFA composto por 144 itens, já validado para a coorte (AZARIAS *et al.*, 2021), foi utilizado. Cada participante indicou a frequência de consumo de cada alimento (diário, semanal, mensal ou anual), a quantidade de vezes que fez este consumo (0 a 9 ou mais vezes) e o tamanho da porção (específica para cada alimento). Para facilitar o preenchimento do tamanho da porção de cada item alimentar e obter informações mais confiáveis, os voluntários tiveram acesso a um álbum fotográfico com 96 imagens de porções de alimentos e utensílios de servir elaborado pela equipe CUME.

Para estimar o consumo dos nutrientes MetD (Riboflavina, B2; Piridoxina, B6; Folato, B9; Cobalamina, B12; Colina; Betaína; Metionina), foram utilizadas as informações da Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil (IBGE, 2011). Na ausência de informações, foi utilizada a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011), a Tabela do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2012) e a Tabela de

Concentração de Colina e Betaína em Componentes Alimentares Comuns (ZEISEL *et al*, 2003). Para se controlar o efeito da ingestão calórica sobre o consumo de nutrientes, os mesmos foram ajustados pela ingestão calórica total pelo método residual (WILLETT, STAMFER, 1998).

Como não existe valores de recomendação para consumo de nutrientes MetD, associados a fisiologia e ocorrência de alterações no estado de saúde, nós atribuímos ao consumo de cada um deles baixa ou alta ingestão, conforme a mediana (p50) da amostra, sendo conferido o valor 0 para o consumo $< p50$ e valor 1 para consumo $\geq p50$. Posteriormente, calculou-se a soma dos valores (0 ou 1) obtidos para cada nutriente doador de metil, de modo que a pontuação do somatório poderia variar de 0 a 7 pontos. O escore de MetD foi estratificado em tercil e classificado como baixo (0 – 3 pontos), mediano (4 pontos) e alto (5 – 7 pontos), conforme a pontuação total da amostra.

4.7 Obesidade materna, paterna e parental

A identificação da existência da obesidade materna e/ou paterna foi realizada mediante o autorrelato do participante ao responder à pergunta 69 do questionário da linha de base (APÊNCIDE B): “*Algum parente seu sofreu ou sofre de algumas dessas doença?*”. A obesidade parental foi determinada pela presença simultânea de mãe e pai com obesidade.

4.8 Covariáveis

As variáveis sociodemográficas e de estilo de vida de interesse foram sexo (masculino, feminino), idade (adulto jovem, meia idade), estado civil (solteiro/divorciado/viúvo, casado/união estável), situação ocupacional (trabalho integral/parcial/informal, estudante, aposentado/do lar, desempregado), atividade física (ativo, insuficiente ativo, inativo), consumo de álcool (sim, não), tabagismo (nunca/ex-fumante, fumante) e sono (<7 horas, ≥ 7 horas). Os indivíduos que fizeram ≥ 150 minutos/semana de atividade de intensidade moderada ou ≥ 75 minutos/semana de atividade de intensidade vigorosa foram considerados como ativos (WHO, 2010). O tempo de sono foi estratificado conforme o *National Sleep Foundation's* (HIRSHKOWITZ *et al*, 2015).

4.9 Análise estatística

A caracterização dos participantes de acordo com a incidência de obesidade e a pontuação do escore de nutrientes MetD foram apresentados como frequência absoluta e relativa, para as variáveis sociodemográficas, estilo de vida e obesidade materna, paterna e parental. As diferenças estatísticas foram avaliadas com o teste do qui-quadrado de Pearson.

A análise de risco proporcionais de Cox foi usada para estimar a associação independente dos nutrientes MetD (B2, B6, B9, B12, colina, betaína e metionina), do escore dos doadores de metil, da obesidade materna, paterna e parental com a obesidade, obtendo estimativas da razão de risco (HR) e seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC95%). A variável tempo até a ocorrência da obesidade foi definida como o tempo, em anos, entre a data inicial (entrada no estudo) e a data do evento de interesse (obesidade) ou fim do acompanhamento. A data inicial será considerada como a data do preenchimento do questionário da linha de base. Foram censurados os participantes que apresentaram inicialmente (Q_0) o desfecho, que cessaram o acompanhamento e aqueles cujo desfecho não foi identificado até o preenchimento do último questionário (Q_4).

A curva de Kaplan-Meier (APÊNDICE C e APÊNDICE D) foi utilizada para estimar a probabilidade de sobrevida até a data especificada. Para comparar as curvas de sobrevida estratificadas foi usado o teste Logrank e de Peto, que comparam os valores observados e esperados de cada estrato sob a hipótese nula de que o risco é o mesmo em todos os estratos. A proporcionalidade do risco ao longo do tempo foi avaliada com base nos resíduos de Schoenfeld.

As variáveis de ajuste foram identificadas pelo modelo teórico e selecionadas por meio de um *directed acyclic graphs* (DAG) (**Figura 1** do artigo original) elaborado no sistema DAGitty (<http://www.dagitty.net/>), e adicionalmente ajustado pela obesidade parental. Para se testar a interação entre as variáveis de exposição, as mesmas foram multiplicadas e inseridas no modelo ajustado.

Todas as análises foram realizadas no software STATA, versão 13.0, com nível de significância de 5%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELAAL, M.; LE ROUX, C. W.; DOCHERTY, N. G. Morbidity and mortality associated with obesity. **Ann Transl Med.** v. 5, n. 7, p. 161, 2017.

ALAVIAN-GHAVANINI, A.; RUEGG, J. Understanding Epigenetic Effects of Endocrine Disrupting Chemicals: From Mechanisms to Novel Test Methods. **Basic Clin Pharmacol Toxicol.** v. 122, p. 38 – 45, 2018.

ASLIBEKYAN, S. et al. Epigenome-wide study identifies novel methylation loci associated with body mass index and waist circumference. **Obesity (Silver Spring).** v. 23, n. 7, p. 1493-1501, 2015.

ATANASOV, P. et al. Food environments and obesity: A geospatial analysis of the South Asia Biobank, income and sex inequalities. **SSM Popul Health.** v. 17, p. 101055, 2022.

AZARIAS, H. G. D. A et al. Online food frequency questionnaire from the cohort of universities of minas gerais (cume project, brazil): construction, validity, and reproducibility. **Frontiers in nutrition.** v. 8, p. 709915, 2021.

BA, Y. et al. Relationship of folate, vitamin b12 and methylation of insulin-like growth factor-ii in maternal and cord blood. **Eur. J. Clin. Nutr.** v. 65, p. 480 – 485, 2011.

BOACHIE, J. et al. Low Vitamin B12 and Lipid Metabolism: Evidence from Pre-Clinical and Clinical Studies. **Nutrients.** v. 12, n. 7, p. 1925, 2020.

BRAUN, K. V. et al. Dietary Intakes of Folic Acid and Methionine in Early Childhood Are Associated with Body Composition at School Age. **J Nutr.** v. 145, n. 9, p. 2123-2129, 2015.

BRAY, G. A.; KIM, K. K.; WILDING, J. P. H. World Obesity Federation. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. **Obes Ver.** v. 18, n. 7, p. 715-723, 2017.

BRUNO, E. J. JR.; ZIEGENFUSS, T. N. Water-soluble vitamins: Research update. **Curr Sports Med Rep.** v. 4, n. 4, p. 207-213, 2005.

CHAMI, N. et al. The role of polygenic susceptibility to obesity among carriers of pathogenic mutations in MC4R in the UK Biobank population. **Plos Med.** v.17, p. 1003196, 2020.

CHANG, T. Y. et al. Optimal Dietary Intake Composition of Choline and Betaine Is Associated with Minimized Visceral Obesity-Related Hepatic Steatosis in a Case-Control Study. **Nutrients.** v. 14, n. 2, p. 261, 2022.

CHOE, S. S. et al. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. **Front Endocrinol.** v. 7, p. 30, 2016.

COLACINO, J. A. et al. Pretreatment dietary intake is associated with tumor suppressor DNA methylation in head and neck squamous cell carcinomas. **Epigenetics.** v. 7, p. 883–891, 2012.

COBB, L. K. et al. The relationship of the local food environment with obesity: A systematic review of methods, study quality, and results. **Obesity**. v. 23, n. 7, p. 1331-44, 2015.

COONEY, C. A.; DAVE, A. A.; GEORGE L. WOLFF, Maternal Methyl Supplements in Mice Affect Epigenetic Variation and DNA Methylation of Offspring. **The Journal of Nutrition**. p. 132, 2002.

CORDERO, P. et al. Leptin and TNF-alpha promoter methylation levels measured by MSP could predict the response to a low-calorie diet. **J Physiol Biochem**. v. 67, p. 463–470, 2011.

CORDERO, P. et al. Dietary supplementation with methyl donors reduces fatty liver and modifies the fatty acid synthase DNA methylation profile in rats fed an obesogenic diet. **Genes Nutr**. v. 8, n. 1, p. 105-113, 2013.

CRAIG, S. A. Betaine in human nutrition. **Am J Clin Nutr**. v. 80, n. 3, p 539-549, 2004.

CRUZ-CARRILLO, G. et al. Fetal Programming by Methyl Donors Modulates Central Inflammation and Prevents Food Addiction-Like Behavior in Rats. **Front Neurosci**. v.14, p. 452, 2020.

CZOGAŁA, W. et al. Methylation and Expression of *FTO* and *PLAG1* Genes in Childhood Obesity: Insight into Anthropometric Parameters and Glucose-Lipid Metabolism. **Nutrients**. v.13, n. 5, p. 1683, 2021.

DEMERATH, E. W. et al. Epigenome-wide association study (EWAS) of BMI, BMI change and waist circumference in African American adults identifies multiple replicated loci. **Hum Mol Genet**. v. 24, n. 15, p. 4464 - 4479, 2015.

DE OLIVEIRA, Y. et al. Decrease of the DNA methylation levels of the *ADRB3* gene in leukocytes is related with serum folate in eutrophic adults. **J Transl Med**. v. 16, n. 1, p. 152, 2018.

DI ANGELANTONIO, E. et al. Body-mass index and all-cause mortality: individual participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. **The Lancet**. v. 388, n. 10046, p. 776-786, 2016.

DICK, K. J. et al. DNA methylation and body-mass index: a genome-wide analysis. **Lancet**. v. 383, p. 1990–1998, 2014.

DOBBS, R. et al. Overcoming Obesity: An Initial Economic Analysis. McKinsey Global Institute; Jakarta, Indonesia: 2014.

DOLINOY, D. C. et al. Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. **Environ Health Perspect**. v. 114, n. 4, p. 567-572, 2006.

DOMINGOS, A. L. G. et al. Cohort Profile: The Cohort of Universities of Minas Gerais (CUME). **International Journal of Epidemiology**. v. 47, n. 6, p. 1743-1744, 2018.

DOMINGUEZ-SALAS, P. et al. DNA methylation potential: dietary intake and blood concentrations of one-carbon metabolites and cofactors in rural African women. **Am J Clin Nutr**. v. 97, n. 6, p. 1217-1227, 2013.

DUIS, J.; BUTLER, M. G. Syndromic and Nonsyndromic Obesity: Underlying Genetic Causes in Humans. **Adv Biol (Weinh)**. v. 6, n. 10, p. 2101154, 2022.

DUNSTAN, J. et al. Associations of LEP, CRH, ICAM-1, and LINE-1 methylation, measured in saliva, with waist circumference, body mass index, and percent body fat in mid-childhood. **Clin Epigenetics**. v. 9, n. 29, 2017.

ELKS, C. E. et al. Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. **Front. Endocrinol**. v. 3, n. 29, 2012.

ELLULU, M. S. et al. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. **Arch Med Sci**. v. 13, n. 4, p. 851-863, 2017.

FAITH, M. S.; EPSTEIN, L. H. Healthy Homes and Obesogenic Genes in Young Children: Rigorous Behavioral Theory and Measurement and the Detection of Gene-Environment Interactions. **JAMA Pediatr**. v. 172, n. 12, p. 1121-1122, 2018.

FEINBERG, A.; TYCKO, B. The history of cancer epigenetics. **Nat Rev Cancer**. v. 4, p. 143–153, 2004.

FELSENFELD, G.; GROUDINE, M. Controlling the double helix. **Nature**. v. 421, p. 448–453, 2003.

FRISO, S. et al. One-carbon metabolism and epigenetics. **Molecular aspects of medicine**. v. 54, p. 28–36, 2017.

FRUHBECK, G. et al. A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v. 280, p. 827–847, 2001.

FUEMMELER, B. F. et al. Parental obesity moderates the relationship between childhood appetitive traits and weight. **Obesity (Silver Spring)**. v. 21, n. 4, p. 815-23, 2013.

GAO, X. et al. Higher Dietary Choline and Betaine Intakes Are Associated with Better Body Composition in the Adult Population of Newfoundland, Canada. **PloS One**. v. 11, n. 5, p. 0155403, 2016.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual review of immunology**. v. 29, p. 415–445, 2011.

GOLAN, M.; CROW, S. Parents are key players in the prevention and treatment of weight-related problems. **Nutr. Rev**. v. 62, p. 39–50, 2004.

GUEDES, R. L. et al. Amino acids biosynthesis and nitrogen assimilation pathways: A great genomic deletion during eukaryotes evolution. **BMC Genom**. v. 12, n. 4, 2011.

HILL, J. O.; PETERS, J. C. Environmental contributions to the obesity epidemic. **Science**. v. 280, p. 1371 – 1373, 1998.

HIRSHKOWITZ, M. et al. National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. **Sleep Health**. v. 1, n. 1, p. 40-43, 2015.

HOLLIDAY, R. Epigenetics: an overview. **Dev Genet.** v. 15, p. 453–457, 1994.

HOTCHKISS, R. D. The quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography. **J Biol Chem.** v. 175, n. 1, p. 315–32, 1948.

INSTITUTE OF MEDICINE/ IOM. Dietary Reference Intakes (DRIs): Acceptable macronutrient Distribution ranges. In: Dietary References Intakes. Washington, DC: The National Academy Press, 2006. < <http://www.nap.edu/catalog/11537.html>>

JIAO, F. et al. Protective effects of maternal methyl donor supplementation on adult offspring of high fat diet-fed dams. **J Nutr Biochem.** v. 34, p. 42-51, 2016.

JIN, Z.; LIU, Y. DNA methylation in human diseases. **Genes Dis.** v. 5, n. 1, p. 1-8, 2018.

JONES, P. A.; LIANG, G. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. **Nat Rev Genet.** v. 10, n. 11, p. 805-811, 2009.

KONSTANTINOVA, S. V. et al. Divergent associations of plasma choline and betaine with components of metabolic syndrome in middle age and elderly men and women. **J Nutr.** v. 138, n. 5, p. 914-920, 2008.

KURYLOWICZ, A. et al. Obesity is associated with a decrease in expression but not with the hypermethylation of thermogenesis-related genes in adipose tissues. **J Transl Med.** v.13, p. 31, 2015.

KWON, E. J. et al. MC4R and HNF4 α promoter methylation at birth contribute to triglyceride levels in childhood: A prospective cohort study. **Medicine (Baltimore).** v. 98, n. 28, p. 16424, 2019.

LIMA, R. P. A. et al. Effect of a diet containing folate and hazelnut oil capsule on the methylation level of the ADRB3 gene, lipid profile and oxidative stress in overweight or obese women. **Clin Epigenetics.** v. 9, p. 110, 2017.

LIN, S.; GREGORY, R. I. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. **Nat. Rev. Cancer.** v. 15, p. 321–333. 2015.

LIVINGSTONE, K. M. et al. FTO genotype and weight loss: systematic review and meta-analysis of 9563 individual participant data from eight randomised controlled trials. **BMJ.** v. 354, p. 4707, 2016.

LOBSTEIN, T.; HANNAH, B.; NEVEUX, M. World Obesity Atlas; World Obesity Federation: London, UK, 2022.

LONGO, M. et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. **Int J Mol Sci.** v. 20, n. 9, p. 2358, 2019.

LÓPEZ-TABOADA, I.; GONZÁLEZ-PARDO, H.; CONEJO, N. M. Western Diet: Implications for Brain Function and Behavior. **Front Psychol.** v. 11, p. 564413, 2020.

- LOPOMO, A.; BURGIO, E.; MIGLIORE, L. Epigenetics of Obesity. **Prog Mol Biol Transl Sci.** v. 140, p. 151-184, 2016.
- LOTFI, K. et al. Dietary methyl donor micronutrients intake in relation to psychological disorders in adults. **British Journal of Nutrition.** v. 128, n. 1, p. 64-74, 2022.
- MAES, H. H.; NEALE, M. C.; EAVES, L. J. Genetic and environmental factors in relative body weight and human obesity. **Behav. Genet.** v. 27, p. 325–351, 1997.
- MAHMOUD, A. M. An Overview of Epigenetics in Obesity: The Role of Lifestyle and Therapeutic Interventions. **International journal of molecular sciences.** v. 23, n. 3, p. 1341, 2022.
- MAHMOUD, A. M.; ALI, M. M. Methyl Donor Micronutrients that Modify DNA Methylation and Cancer Outcome. **Nutrients.** v. 11, n. 3, p. 608, 2019.
- MEEKS, K. A. C. et al. An epigenome-wide association study in whole blood of measures of adiposity among Ghanaians: the RODAM study. **Clin Epigenetics.** v. 9, p. 103, 2017.
- MILAGRO, F. I. et al. A dual epigenomic approach for the search of obesity biomarkers: DNA methylation in relation to diet-induced weight loss. **Faseb j.** v. 25, p. 1378–1389, 2011.
- MIRANDA, A. E. S. et al. Validation of metabolic syndrome and its self reported components in the CUME Study. **REME Revista Mineira de Enfermagem.** v. 21, p. 10691, 2017.
- MLODZIK-CZYZEWSKA, M. A.; MALINOWSKA, A. M.; CHMURZYNSKA, A. Low folate intake and serum levels are associated with higher body mass index and abdominal fat accumulation: a case control study. **Nutr J.** v. 19, p. 53, 2020.
- MLODZIK-CZYZEWSKA, M. A. et al. Associations of plasma betaine, plasma choline, choline intake, and MTHFR polymorphism (rs1801133) with anthropometric parameters of healthy adults are sex-dependent. **J Human Nutri diet.** v. 35, n. 4, p. 701–712, 2022.
- MORGAN, P. J. et al. Correlates of objectively measured physical activity in obese children. **Obesity (Silver Spring).** v. 16, n. 12, p. 2634 – 41, 2008.
- MOSCA, L. et al. Mutual Correlation between Non-Coding RNA and S-Adenosylmethionine in Human Cancer: Roles and Therapeutic Opportunities. **Cancers.** v. 13, n. 13, p. 3264, 2021.
- NILSON, E. A. F. et al. Custos atribuíveis a obesidade, hipertensão e diabetes no Sistema Único de Saúde, Brasil, 2018. *Revista Panamericana de Salud Pública* [online]. v. 44. Disponível em: <<https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.32>>. Acesso: 14 fevereiro de 2022.
- NIKPAY, M. et al. Epigenome-Wide Study Identified Methylation Sites Associated with the Risk of Obesity. **Nutrients.** v.13, n. 6, p. 1984, 2021.
- OELSNER, K. T. et al. Maternal BMI as a predictor of methylation of obesity-related genes in saliva samples from preschool-age Hispanic children at-risk for obesity. **BMC genomics.** v.18, n. 1, p. 57, 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). XXXVI Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud – Encuesta Multicêntrica – Salud Bienestar y Envejecimiento (SABE) en América Latina e el Caribe – Informe preliminar. 2001.

OZER, S.; SONMEZGOZ, E.; DEMIR, O. Negative correlation among vitamin B12 levels, obesity severity and metabolic syndrome in obese children: A case control study. **J Pak Med Assoc.** v. 67, n. 11, p. 1648-1653, 2017.

PAPPALARDO, X. G.; BARRA, V. Losing DNA methylation at repetitive elements and breaking bad. **Epigenetics Chromatin.** v. 14, n. 1, p. 25, 2021.

PARRILLO, L. et al. Nutritional Factors, DNA Methylation, and Risk of Type 2 Diabetes and Obesity: Perspectives and Challenges. **Int J Mol Sci.** v. 20, n.12, p. 2983, 2019.

PAUWELS, S. et al. Maternal intake of methyl-group donors affects DNA methylation of metabolic genes in infants. **Clin Epigenet.** v. 9, n. 16, 2017.

PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES 2008-2009: Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 360 p.

PESQUISA NACIONAL DE SAÚDE: 2019. Atenção primária à saúde e informações antropométricas: Brasil, grandes regiões e unidades da federação / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, 2020. 70p.

POURSALEHI, D. et al. Association between methyl donor nutrients and metabolic health status in overweight and obese adolescents. **Sci Rep.** v. 12, p. 17045, 2022.

QIANG, Y. et al. Intake of dietary one-carbon metabolism-related b vitamins and the risk of esophageal cancer: A dose-response meta-analysis. **Nutrients.** v. 10, p. 835, 2018.

RAMOS-LOPEZ, O. et al. Guide for Current Nutrigenetic, Nutrigenomic, and Nutriepigenetic Approaches for Precision Nutrition Involving the Prevention and Management of Chronic Diseases Associated with Obesity. **J Nutrigenet Nutrigenomics.** v. 10, p. 43-62, 2017.

RASKILIENE, A. et al. Associations of *MC4R*, *LEP*, and *LEPR* Polymorphisms with Obesity-Related Parameters in Childhood and Adulthood. **Genes (Basel).** v. 12, n. 6, p. 949, 2021.

REILLY, J. J. et al. Early life risk factors for obesity in childhood: Cohort study. **BMJ.** v. 330, p. 1357, 2005.

ROSENKRANZ, R. R.; DZEWALTOWSKI, D. A. Model of the home food environment pertaining to childhood obesity. **Nutr. Rev.** v. 66, p. 123–140, 2008.

SAMBLAS, M.; MILAGRO, F. I.; MARTÍNEZ, A. DNA methylation markers in obesity, metabolic syndrome, and weight loss. **Epigenetics.** v. 14, n. 5, p. 421-444, 2019.

SABER CHERIF, L. et al. Methyl Donor Deficiency during Gestation and Lactation in the Rat Affects the Expression of Neuropeptides and Related Receptors in the Hypothalamus. **Int J Mol Sci.** v. 20, n. 20, p. 5097, 2019.

- SCHREMPFT, S. et al. Variation in the Heritability of Child Body Mass Index by Obesogenic Home Environment. **JAMA Pediatr.** v. 1, p. 1153-1160, 2018.
- SELHUB, J. Homocysteine metabolism. **Annu. Rev. Nutr.** v. 19, p. 217–246, 1999.
- SHIN, W. Y.; KIM, J. H. Low riboflavin intake is associated with cardiometabolic risks in Korean women. **Asia Pac J Clin Nutr.** v. 28, n. 2, p. 285-299, 2019.
- SIQUEIRA, J. H. et al. Sugar-sweetened soft drinks and fructose consumption are associated with hyperuricemia: crosssectional analysis from the Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil). **Nutrients.** v. 10, p. 981. 2018.
- STEEGERS-THEUNISSEN, R. P. et al. Periconceptional maternal folic acid use of 400 microg per day is related to increased methylation of the IGF2 gene in the very young child. **PLoS ONE.** v. 4, p. 7845, 2009.
- STERNER, D. E.; BERGER, S. L. Acetylation of histones and transcription-related factors. **Microbiol Mol Biol Rev.** v. 64, n. 2, p. 435-459, 2000.
- STOCCORO, A.; COPPEDÈ, F. Mitochondrial DNA Methylation and Human Diseases. **Int J Mol Sci.** v. 22, n. 9, p. 4594, 2021.
- STOVER, P. J.; CAUDILL, M. A. Genetic and epigenetic contributions to human nutrition and health: managing genome-diet interactions. **J. Am. Diet Assoc.** v. 108, n. 9, p. 1480-1487, 2008.
- SUN, Y. et al. Inverse association between serum vitamin B12 concentration and obesity among adults in the United States. **Front Endocrinol.** v. 10, p. 414, 2019.
- SWINBURN, B. A. et al. The Global Syndemic of Obesity, Undernutrition, and Climate Change: The Lancet Commission report. **The Lancet.** v. 393, p. 791–846, 2019.
- TANG, W. et al. Associations Between Different Dietary Vitamins and the Risk of Obesity in Children and Adolescents: A Machine Learning Approach. **Front Endocrinol.** v. 12, n. 816975, 2022.
- TAYLOR, R. M. et al. Methyl-Donor and Cofactor Nutrient Intakes in the First 2-3 Years and Global DNA Methylation at Age 4: A Prospective Cohort Study. **Nutrients.** v. 10, n. 3, p. 273, 2018.
- TIFFON, C. The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. **Int J Mol Sci.** v. 19, n. 11, p. 3425, 2018.
- TREMME, M. et al. Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. **Int J Environ Res Public Health.** v. 14, n. 4, p. 435. 2017.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - Agricultural Research Service. Nutritive Value of Foods, Home and Garden Bulletin, n.72, 2012.
- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO, versão 4. 2011.

- VAN DIJK, S. J. et al. DNA methylation in blood from neonatal screening cards and the association with BMI and insulin sensitivity in early childhood. **Int J Obes (Lond)**. v. 42, n. 1, p. 28-35, 2018.
- VOLBERG, V. et al. CpG Methylation across the adipogenic PPAR γ gene and its relationship with birthweight and child BMI at 9 years. **BMC Med Genet**. v. 18, n. 1, p. 7, 2017.
- WADDINGTON, C. H. The epigenotype. 1942. **Int J Epidemiol**. v. 41, n. 1, p. 10-13. 2012.
- WARDLE, J. et al. Food and activity preferences in children of lean and obese parents. **Int J Obes Relat Metab Disord**. v. 25, n. 7, p. 971–977, 2001.
- WATERLAND, R. A. et al. Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. **Int J Obes**. v. 32, n. 9, p. 1373-1379, 2008.
- WEI, J. W. et al. Non-coding RNAs as regulators in epigenetics (Review). **Oncol Rep**. v. 37, n. 1, p. 3-9, 2017.
- WEINHOLD, B. Epigenetics: the science of change. **Environ Health Perspect**. v. 114, n. 3, p. 160-167, 2006.
- WHITAKER, K. L. et al. Comparing maternal and paternal intergenerational transmission of obesity risk in a large population-based sample. **Am. J. Clin. Nutr**. v. 91, p. 1560–1567, 2010.
- WILLETT, W. C. Nutritional Epidemiology. New York. **Oxford University Press**. 2 ed., 1998.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. OBESITY: preventing and managing the global epidemic. Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 1998: 152 (WHO technical report series, 894).
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 2000.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global recommendations on physical activity for health. Geneva: WHO; 2010
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Noncommunicable diseases country profiles 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.
- XAVIER, M. J. et al. Transgenerational inheritance: how impacts to the epigenetic and genetic information of parents affect offspring health. **Hum Reprod Update**. v. 25, n. 5, p. 518-540, 2019.
- XIANG, L. et al. FTO genotype and weight loss in diet and lifestyle interventions: a systematic review and meta-analysis. **Am J Clin Nutr**. v. 103, n. 4, p. 1162-1170, 2016.
- XU, X. et al. A genome-wide methylation study on obesity: differential variability and differential methylation. **Epigenetics**. v. 8, p. 522–533, 2013.

YADAV, D. K. et al. Vitamin B12 supplementation influences methylation of genes associated with Type 2 diabetes and its intermediate traits. **Epigenomics**. v. 10, n. 1, p. 71-90, 2018.

ZEISEL, S. H. Choline: critical role during fetal development and dietary requirements in adults. **Annu Rev Nutr**. v. 26, p. 229–50, 2006.

ZHANG, N. Role of methionine on epigenetic modification of DNA methylation and gene expression in animals. **Anim Nutr**. v. 4, p. 11–16, 2018.

ZHOU, S. S. et al. Vitamin paradox in obesity: Deficiency or excess?. **World J Diabetes**. v. 6, n. 10, p. 1158-1167, 2015.

5. RESULTADOS

Este trabalho resultou em um artigo científico intitulado “Consumo de nutrientes doadores de metil reduziu a incidência de obesidade em indivíduos filhos de pais com a doença: 4 anos de seguimento (Estudo CUME)”. Além disso, foram produzidos outros dois artigos durante a pós-graduação, o primeiro intitulado “*Higher caffeine consumption is associated with insufficient sleep time in Brazilian adults (CUME study)*” (APÊNDICE E), e o segundo intitulado “*Lipid accumulation product as an insulin resistance indicator in individuals with cardiometabolic risk (PROCARDIO study)*” (APÊNDICE F).

5.1 Artigo original

Consumo de nutrientes doadores de metil reduziu a incidência de obesidade em indivíduos filhos de pais com a doença: 4 anos de seguimento (Estudo CUME)

Carolynne Martins Teixeira ^a, Josefina Bressan ^a, Leidjaira Juvanhol Lopes ^b, Arieta Carla Gualandi Leal ^a, Adriano Marçal Pimenta ^d, Helen Hermana Miranda Hermsdorff ^{a,c}

^a *Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.*

^b *Laboratório de Epidemiologia Nutricional, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.*

^c *Instituto de Políticas Públicas e Desenvolvimento Sustentável, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.*

^d *Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil*

RESUMO

INTRODUÇÃO: O grupo metil, fornecido pela alimentação, é necessário para a metilação do DNA. Esse modula a expressão gênica incluindo a regulação de genes relacionados à obesidade.

OBJETIVO: Avaliar a associação entre o consumo de nutrientes doadores de metil (MetD) e a incidência de obesidade, e a sua relação com a obesidade parental.

METODOLOGIA: Este estudo longitudinal, com 1.205 participantes da Coorte de Universidades de Minas Gerais (Estudo CUME), avaliou a incidência da obesidade em um seguimento de 4 anos (2016 – 2020).

O consumo dos nutrientes MetD B2, B6, B9, B12, colina, betaína e metionina foram obtidos por meio de um questionário de frequência alimentar validado para a população. Um escore de MetD foi calculado, e os participantes foram categorizados em baixo, mediano e alto risco conforme o tercil da pontuação total da amostra. A presença de pai e mãe com obesidade e a obesidade parental (presença simultânea de pai e mãe com a doença) foi autorrelatada.

RESULTADOS: Na amostra, 89 (7,4%) casos incidentes de obesidade foram identificados.

Estar no terceiro quartil de consumo de B2 e no segundo quartil do consumo B9 e de colina resultou em 60% (IC 95%:0,20 – 0,79), 52% (IC95%:0,26 – 0,89) e 52% (IC95%:0,24 – 0,93) menor risco de desenvolver obesidade, respectivamente. Obter escore mediano para MetD também conferiu um menor risco (HR:0,40; IC95%: 0,18 – 0,84). A obesidade parental foi a que conferiu maior risco para os casos incidentes (HR:4,26; IC95%: 1,66 – 10,93). Porém, os

participantes com obesidade paterna que apresentaram alto escore de consumo de MetD tiveram menor risco para incidência de obesidade (p de interação = 0,022).

CONCLUSÃO: O consumo intermediário de B2, B9 e colina, bem como uma um escore mediano de MetD reduziu o risco de desenvolver obesidade em indivíduos com histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental, sugerindo ainda que a alimentação é fator protetor no histórico familiar da doença.

Palavras-chave: Obesidade. Folato. Herança parental. Metilação. Epigenética.

SUMMARY

INTRODUCTION: The methyl group, supplied by food, is necessary for DNA methylation.

This modulates gene expression including the regulation of obesity-related genes.

OBJECTIVE: To evaluate the association between consumption of methyl donor nutrients (MetD) and the incidence of obesity and its relationship with parental obesity.

METHODOLOGY: This longitudinal study, with 1,205 participants from the Cohort of Universities of Minas Gerais (CUME Study), evaluated the incidence of obesity in a 4-year follow-up (2016 – 2020). Consumption of nutrients MetD B2, B6, B9, B12, choline, betaine and methionine were obtained using a food frequency questionnaire validated for the population. A MetD score was calculated, and participants were categorized into low, medium, and high risk according to the tertile of the sample's total score. The presence of a father and mother with obesity and parental obesity (simultaneous presence of a father and mother with the disease) were self-reported. **RESULTS:** In the sample, 89 (7.4%) incident cases of obesity were identified. Being in the third quartile of B2 intake and in the second quartile of B9 and choline intake resulted in 60% (95% CI: 0.20 – 0.79), 52% (95% CI: 0.26 – 0.89) and 52% (95%CI:0.24 – 0.93) lower risk of developing obesity, respectively. Obtaining a median MetD score also conferred a lower risk (HR:0.40; 95%CI: 0.18 – 0.84). Parental obesity was the one that conferred the highest risk for incident cases (HR:4.26; 95%CI: 1.66 – 10.93). However, participants with paternal obesity who had a high MetD consumption score had a lower risk of obesity incidence (interaction $p = 0.022$). **CONCLUSION:** Intermediate consumption of B2, B9 and choline, as well as a median MetD score, reduced the risk of developing obesity in individuals with a family history of maternal, paternal and parental obesity, further suggesting that diet is a protective factor in family history of the disease.

Keywords: Obesity. Folate. Parental inheritance. Methylation. Epigenetics.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica que tem sido uma preocupação desafiadora no século XXI devido sua alta prevalência mundial (WHO, 2018). Estima-se que uma em cada cinco mulheres e um em cada sete homens terão obesidade em 2030, o que significa que haverá mais de 1 bilhão de pessoas com a doença em todo o mundo (LOBSTEIN *et al.*, 2022). Dentre os fatores de risco, a herança genética corresponde cerca de 40% a 70% do desenvolvimento da obesidade (MAES; NEALE; EAVES, 1997; ELKS *et al.*, 2012). No entanto, apesar da sua importante influência no aumento da adiposidade corporal, a exposição genética sozinha não seria responsável por esse aumento expressivo da obesidade em um período relativamente curto, durante o qual a doença atingiu proporções epidêmicas (LOBSTEIN *et al.*, 2022).

A suscetibilidade genética à obesidade interage com fatores ambientais, como a alimentação, e podem induzir alterações na expressão gênica (ORDOVAS; SHEN, 2008) como retrata a (nutri)epigenética (RAMOS-LOPEZ *et al.*, 2017; BORDONI; GABBIANELLI, 2019). A epigenética é a área que se concentra nessas alterações, modulando a expressão do fenótipo diante da informação genética adquirida. Essa modificação não requer alterações na sequência de nucleotídeos do genoma, mas envolve mudanças na expressão do DNA principalmente pelo mecanismo de metilação (WEINHOLD, 2006), o qual é dependente de nutrientes provenientes da alimentação (FRISO *et al.*, 2017). A riboflavina (B2), a piridoxina (B6), o folato (B9), a cobalamina (B12), a colina, a betaína e a metionina são nutrientes conhecido como doadores de metil (MetD) devido seu papel em uma série de reações bioquímicas, conhecida como metabolismo de um carbono (FRISO *et al.*, 2017). Durante as reações cíclicas que acontecem nesse metabolismo, esses nutrientes contribuem para o fornecimento de grupamento metil à S-adenosilmetionina (SAM), doador universal de grupo metil, para a realização da metilação do DNA pelas DNA metiltransferases (DNMTs) (MAHMOUD, 2022).

Assim, a ingestão desses nutrientes MetD podem modular a expressão de genes relacionados a obesidade (JIAO *et al.*, 2016; YADAV *et al.*, 2018; SABER CHERIF *et al.*, 2019) e influenciar o epigenótipo (MILAGRO *et al.*, 2013; RAMOS-LOPEZ; RIEZU-BOJ; MILAGRO, 2022). Por exemplo, a metilação no gene *HIF3A* (*Hypoxia Inducible Factor 3 Subunit Alpha*) foi estatisticamente associado a alteração do Índice de Massa Corporal (IMC), mediada pela ingestão de B2, B9 e B12 (HUANG *et al.*, 2015). A metilação do *FTO* (*Alpha-Ketoglutarate Dependent Dioxygenase*), um importante gene relacionado ao aumento da adiposidade e controle metabólico, foi aumentada após a suplementação de B12 (10 µg/dia) (YADAV *et al.*, 2018). Além disso, um estudo animal onde se testou os potenciais efeitos

transgeracionais no peso corporal, encontrou que a suplementação de MetD evitou a obesidade em animais filhos de ratas obesas (WATERLAND *et al.*, 2008). No entanto, essa associação do consumo dos MetD em humanos diante da obesidade parental parece ainda não ter sido avaliada. Além disso, parte dos trabalhos atuais são conduzidos com amostras modestas (TAYLOR *et al.*, 2018; DOMINGUEZ-SALAS *et al.*, 2013), não contemplam a ingestão de todos os MetD envolvidos no processo de metilação (PAUWELS *et al.*; 2017; TAYLOR *et al.*, 2019; BRAUN *et al.*, 2015) ou ainda inserem escore de consumo desses nutrientes e sua associação com o desfecho (POURSALEHI *et al.*, 2022).

Diante do exposto, o presente estudo avaliou a associação entre o consumo de nutrientes MetD e a incidência de obesidade, e a sua relação com histórico familiar de parental, em uma coorte de brasileiros com seguimento de 4 anos.

METODOLOGIA

Estudo CUME

A Coorte de Universidades de Minas Gerais (Estudo CUME), iniciada em 2016, é um estudo longitudinal prospectivo concorrente aberta, que tem como objetivo avaliar o impacto do padrão alimentar brasileiro e da transição nutricional na ocorrência de Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT) entre graduados e pós-graduados de instituições federais de ensino superior localizadas no estado de Minas Gerais, Brasil (DOMINGOS *et al.*, 2018).

A cada dois anos são realizadas novas ondas de recrutamento de participantes e coleta de dados. Os participantes, inicialmente, respondem um questionário inicial (Q_0) autorreferido em ambiente virtual dividida em duas etapas, com uma semana de intervalo. O primeiro questionário contém 83 questões relacionadas ao estilo de vida, fatores sociodemográficos, antropométricos, dados bioquímicos e clínicos, prática de atividade física, morbidade individual e familiar e histórico pessoal de exames preventivos. Na segunda etapa, os participantes preenchem o Questionário de Frequência Alimentar (QFA) quantitativo e relatam seus hábitos e práticas alimentares. Os questionários de acompanhamento (Q_2, Q_4, ...Q_n) avaliam as mudanças dessas características nos participantes, tendo como objetivo identificar alterações do estilo de vida e incidência de novas doenças.

O Estudo CUME é conduzido de acordo com os princípios éticos estabelecidos na Declaração de Helsinque, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (nº parecer 596.741-0/2013) e Comitês de todas as instituições participantes (UFMG:

07223812.3.3001.5153, UFV: 4483415.5.1001.5149, UFOP: 44483415.5.2003.5150, UFLA: 44483415.5.2002.5148, UFJF: 4483415.5.5133, UFVJM: 44483415.5.2005.5108, UNIFAL: 44483415.5.2002.5148). Todos os participantes leram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e indicaram concordância online antes de responder ao questionário.

População estudada

Este estudo é uma análise longitudinal do Estudo CUME (2016 – 2020), no qual os participantes que responderam completamente os questionários da linha de base (Q_0) e os questionários de seguimento (Q_2 ou Q_4) foram selecionados. Desses, foram excluídos aqueles com obesidade na linha de base ($n = 355$), egressos de outra nacionalidade ($n = 10$), brasileiros residentes no exterior ($n = 135$), gestantes e mulheres que tiveram filho no último ano ($n = 430$) e aqueles que relataram valores inconsistentes para o consumo total de calorias <500 kcal/dia ou >6.000 kcal/dia ($n = 79$) (SIQUEIRA *et al.*, 2018). Assim, a amostra final desse estudo consistiu em 1.205 participantes.

Desfecho do estudo

O desfecho do estudo, a obesidade, foi identificado quando o Índice de Massa Corporal (IMC) ≥ 30 kg/m² (WHO, 1998, OPAS, 2001). O peso e a estatura autorrelatados nos questionários online foram utilizados para o cálculo do IMC, dividindo-se o peso (quilogramas) pela altura (metros) elevada ao quadrado (WHO, 1998). Peso, altura e IMC foram previamente validados na população dessa coorte (MIRANDA *et al.*, 2017).

O tempo até a ocorrência do desfecho foi medido em anos, desde a entrada do participante no estudo em 2016, até ocorrência do evento ou final do seguimento (2018 – 2020), o que ocorrer primeiro. A ocorrência do evento de interesse ao longo do seguimento de 4 anos foi dada quando em algum período foi constatado novos valores de $IMC \geq 30$ Kg/m². Os participantes que apresentaram obesidade inicialmente (Q_0) e aqueles cujo desfecho não foi identificado até o final do estudo (Q_4) ou que cessaram o acompanhamento foram censurados.

Consumo alimentar e escore de MetD

O consumo alimentar foi avaliado por meio de um QFA composto por 144 itens alimentares, já validado para essa coorte (AZARIAS *et al.*, 2021). Para facilitar o

preenchimento do tamanho da porção de cada item alimentar e obter informações mais confiáveis, os voluntários tiveram acesso a um álbum fotográfico com 96 imagens de porções de alimentos e utensílios de servir elaborado pela equipe CUME.

Para o cálculo do consumo dos nutrientes MetD (Riboflavina, B2; Piridoxina, B6; Folato, B9; Cobalamina, B12; Colina; Betaína; Metionina), utilizou-se as informações da Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil (IBGE, 2011) e, na ausência de informações, a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011), a Tabela do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2012) e a Tabela de Concentração de Colina e Betaína em Componentes Alimentares Comuns (ZEISEL *et al*, 2003), foram utilizadas nessa ordem de prioridade. Para se controlar o efeito da ingestão calórica sobre o consumo dos nutrientes MetD, esses foram ajustados pela ingestão calórica diária pelo método residual (WILLETT *et al*, 1996).

Como não existe valores de recomendação para o consumo dos nutrientes MetD, associados a fisiologia e ocorrência de alterações no estado de saúde, nós atribuímos ao consumo de cada um deles baixa ou alta ingestão, conforme a mediana (p50) da amostra, sendo conferido o valor 0 para o consumo < p50 e valor 1 para consumo $\geq$ p50. Posteriormente, calculou-se a soma dos valores (0 ou 1) obtidos para cada nutriente doador de metil, de modo que a pontuação do somatório poderia variar de 0 a 7 pontos. O escore de MetD foi estratificado em tercil e classificado como baixo (0 – 3 pontos), mediano (4 pontos) e alto (5 – 7 pontos), conforme a pontuação total da amostra.

Obesidade materna, paterna e parental

A identificação da existência da obesidade materna e/ou paterna foi realizada mediante o autorrelato do participante ao responder à pergunta do questionário da linha de base “*Algum parente seu sofreu ou sofre de algumas dessas doença?*”. A obesidade parental foi determinada pela presença simultânea de mãe e pai com obesidade.

Covariáveis

As variáveis sociodemográficas e de estilo de vida de interesse foram sexo (masculino, feminino), idade (adulto jovem, meia idade), estado civil (solteiro/divorciado/viúvo, casado/união estável), situação ocupacional (trabalho integral/parcial/informal, estudante, aposentado/do lar, desempregado), atividade física (ativo, insuficiente ativo, inativo), consumo

de álcool (sim, não), tabagismo (nunca/ex-fumante, fumante) e sono (<7horas, ≥7horas). Os indivíduos que fizeram ≥150 minutos/semana de atividade de intensidade moderada ou ≥ 75 minutos/semana de atividade de intensidade vigorosa foram considerados como ativos (WHO, 2010). O tempo de sono foi estratificado conforme o *National Sleep Foundation's* (HIRSHKOWITZ *et al*, 2015).

Análise estatística

A caracterização dos participantes de acordo com a incidência de obesidade e a pontuação do escore de nutrientes MetD foram apresentados como frequência absoluta e relativa, para as variáveis sociodemográficas, estilo de vida e obesidade materna, paterna e parental. As diferenças estatísticas foram avaliadas com o teste do qui-quadrado de Pearson.

A análise de risco proporcionais de Cox foi usada para estimar a associação independente dos nutrientes MetD (B2, B6, B9, B12, colina, betaína e metionina), do escore de MetD, da obesidade materna, paterna e parental com a obesidade, obtendo estimativas da razão de risco (HR) e seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC95%). As variáveis de ajuste foram identificadas pelo modelo teórico e selecionadas por meio de um *directed acyclic graphs* (DAG) (**Figura 1**) elaborado no sistema DAGitty (<http://www.dagitty.net/>), e adicionalmente ajustado pela obesidade parental. Para se testar a interação entre as variáveis de exposição, as mesmas foram multiplicadas e inseridas no modelo ajustado.

Todas as análises foram realizadas no software STATA, versão 13.0, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Durante o período médio de 3,8 (±0,4) anos de acompanhamento no Estudo CUME, 89 casos incidentes de obesidade (n=7,4%) foram identificados entre os 1.205 participantes. A proporção dos novos casos de obesidade conforme o histórico familiar da doença foi maior entre aqueles com obesidade materna, seguindo da obesidade paterna e obesidade parental. Além disso, ser fisicamente inativo também apresentou uma maior frequência dentre os casos incidentes da doença (**Tabela 1**).

Em relação ao escore de doadores de metil, os participantes no maior tercil eram mais praticantes de atividade física, sendo a maior parte deles ativos (63,9%; p = 0,001) (**Tabela 2**). Quando avaliamos associação dos MetD e seu escore com a incidência de obesidade (**Tabela**

3), os participantes no terceiro quartil de ingestão da vitamina B2 tiveram menor risco de desenvolver obesidade, bem como aqueles no segundo quartil de ingestão de B9 e de colina. A vitamina B6 também conferiu um menor risco, mas essa associação perdeu significância após o ajuste do modelo. Para os demais nutrientes MetD, não houve associações. Em relação ao escore de doadores de metil, ter um escore mediano (T2) foi independentemente associado ao menor risco de obesidade.

Por sua vez, a obesidade parental foi a que apresentou maior risco para a ocorrência de obesidade, como mostra a **Tabela 4**. No entanto, a obesidade paterna apresentou uma associação mais forte que a obesidade materna. De modo interessante, os participantes com baixo escore de MetD (T1) e com obesidade paterna apresentaram maior risco para incidência da obesidade, em comparação aqueles com alto escore (T3) (p de interação = 0,022) (**Figura 2**).

DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo, até onde sabemos, a investigar a influência do consumo de nutrientes MetD durante a vida adulta no risco de obesidade, e sua relação com histórico de obesidade parental. Assim, neste estudo de coorte prospectiva, o consumo intermediário dos nutrientes MetD B2, B9 e colina foi independentemente associado ao menor risco de obesidade, bem como obter uma pontuação mediana para o escore de consumo dos nutrientes doadores de metil. Além disso, a obesidade parental foi a que conferiu maior risco para o desenvolvimento da doença, seguido da obesidade paterna. No entanto, ao passo que a pontuação do escore de consumo dos nutrientes MetD entre os participantes aumentava, o risco conferido pela obesidade paterna diminuiu.

Há muito se suspeita que os nutrientes envolvidos no metabolismo de um carbono desempenham papéis importantes no desenvolvimento da obesidade através da modulação da metilação do DNA, o mecanismo epigenético mais estudado até o momento (MAHMOUD, 2022). Esse metabolismo compreende em um grupo de reações bioquímicas cíclicas que são catalisadas por um conjunto de enzimas dependente de nutrientes como B2, B6, B9 B12, colina, betaína e metionina para a doação de grupo metil para a metilação biológica do genoma, regulando a expressão dos genes sem alterar a sequência do DNA (FRISO *et al.*, 2017).

A vitamina B2 tem dupla atuação no metabolismo de um carbono, sendo uma coenzima importante nas reações no ciclo do folato e na conversão da homocisteína em metionina pela enzima metiltransferase (MAHMOUD; ALI, 2019). Em um estudo experimental, a deficiência de B2 foi associada ao aumento da liberação de citocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo, hiperleptinemia e hipoadiponectinemia (MAZUR-BIALY; POCHEĆ, 2017). De modo geral, poucos estudos se debruçam em avaliar em humanos a relação da ingestão diária dessa vitamina com a obesidade e processos epigenéticos de metilação. No entanto, Huang *et al* (2015) encontraram um menor aumento no IMC entre aqueles com menor consumo de B2 ao longo de 10 anos, aparentemente mediando a metilação no gene *HIF3A*. Outros dois estudos recentes mostraram resultados semelhantes. No primeiro, o consumo de B2 acima da ingestão diária recomendada (DRI) interagiu significativamente com a obesidade e com a variante genética rs5760920 do gene *CRYBB2* (*Crystallin beta B2*) (KWON *et al.*, 2022). No outro, estar no quartil inferior de consumo de B2 teve menor risco de sobrepeso e obesidade entre mulheres adultas chinesas (JU *et al.*, 2022). No entanto, os esclarecimentos a respeito do efeito do consumo de B2 sobre a gênese da obesidade ainda são pouco precisos, mas estudos prospectivos tendem a mostrar que uma menor ingestão da vitamina contribui para valores menores de IMC (HUANG *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2018).

Em uma análise anterior do estudo CUME (n=2.695), focada em avaliar a associação transversal da ingestão diária de B9 com o folato sérico e a prevalência de excesso de peso ou obesidade, concluiu que 12% dos participantes tinham consumo de B9 abaixo da necessidade média estimada (EAR), como também tiveram menor prevalência para os desfechos principais e uma associação positiva entre os tercís de consumo de B9 com o folato sérico, mesmo em um consumo diário mais baixo (PEREIRA *et al.*, 2019). A vitamina B9 é fundamental para a atividade cíclica do metabolismo de um carbono. A sua codependência com o ciclo da metionina (LYON *et al.*, 2020) faz com que ela seja responsável por 10% a 20% do fornecimento de MetD. Assim, a deficiência de B9 pode resultar em alterações no pool de SAM, influenciando no grau de metilação do DNA (MAHMOUD; ALI, 2019). De fato, alguns estudos sustentam essas informações, mostrando uma associação direta entre a ingestão desse nutriente e a metilação do DNA (PUFULETE *et al.*, 2005; CRIDER *et al.*, 2011; KOK *et al.*, 2015; O'REILLY *et al.*, 2016), sugerindo, ainda, que seu efeito epigenético seja dose-resposta devido os diferentes perfis de metilação encontrado conforme a quantidade da vitamina ingerida (ZHANG *et al.*, 2014; MAHMOUD; ALI, 2019).

A colina, por sua vez, pode ser adquirida pela alimentação ou sintetizada endogenamente através da via da fosfatidiletanolamina N-metiltransferase (PEMT) (ZEIZEL, 2006). Estima-se que 60% do fornecimento de MetD no metabolismo de um carbono seja dado pelo nutriente (NICULESCU; ZEISEL, 2002), havendo um aumento da via da transsulfuração quando há pouco folato disponível (JACOB *et al.*, 1999). O consumo de colina com estado clínico de saúde é em maior parte relacionados a sua deficiência. Até o momento, não há valores diários de referência para o consumo desse composto (IOM, 2006), e sua relação com a obesidade tem sido associados a melhora do acúmulo de gordura corporal (GAO *et al.*, 2016; CHANG *et al.*, 2022; MLODZIK-CZYZEWSKA *et al.*, 2022). No entanto, estudos observacionais transversais mostraram que a maior ingestão de colina está inversamente associada aos parâmetros relacionados a obesidade (percentual de gordura corporal total, peso, IMC, perímetro da cintura, razão cintura-quadril) (GAO *et al.*, 2016; CHANG *et al.*, 2022; MLODZIK-CZYZEWSKA *et al.*, 2022). De modo interessante, esses maiores valores diários de consumo se assemelham ao encontrado no nosso estudo. No entanto, precisa-se de cautela ao ponderar uma quantidade alta de consumo, pois recente metanálise mostrou que indivíduos que consomem mais colina (> 251 mg) apresentaram pior perfil lipídico e glicêmico, e maior mortalidade (MAZIDI *et al.*, 2019). Assim, mais estudos são necessários sobre a quantidade mais adequada de colina a ser ingerida para o alcance dos seus potenciais benefícios, incluindo potenciais mecanismos epigenéticos relacionados com a obesidade.

De fato, o processo epigenético de metilação modula a expressão genética e (FRISO *et al.*, 2017), portanto, regula genes envolvidos no ganho de peso (SAMODIEN *et al.*, 2019). Assim, ao passo que a hipometilação é ruim, a hipermetilação também não é desejada (MAHMOUD; ALI, 2019). Sendo assim, o consumo intermediário desses nutrientes, como encontrado por nós, pode favorecer um equilíbrio dessas funções. Pois, altas doses de determinado nutriente pode ter efeito contrário ou deletério, devido a saturação das vias bioquímicas e aumento de produtos resultantes do seu metabolismo constante (ZHOU *et al.*, 2015). Assim, tão importante quanto o fornecimento adequado dos nutrientes MetD (FRISO *et al.*, 2017) é a manutenção de hábitos de vida saudáveis, que somados aos fatores ambientais regulam a expressão gênica favorecendo mecanismos contrários ao risco para a obesidade (KLEMP *et al.*, 2022).

Em relação ao aumento do risco para obesidade dado a presença de obesidade familiar, esse aspecto é bem fundamentado (LOOS; YEO, 2022). Estima-se que 40% a 70% da obesidade seja herdada geneticamente (MAES; NEALE; EAVES, 1997; ELKS *et al.*,

2012), e a teoria mendeliana de segregação sustentam nossos resultados (MENDEL, 1865), na qual a presença simultânea de mãe e pai com obesidade conferiu o maior risco para a doença devido a combinação genética. Em relação ao risco da obesidade paterna ser superior a materna encontrado em nosso estudo, ainda não há evidências que a confirme e, portanto, sugere-se que essa resposta envolva um conjunto de relações genéticas e epigenéticas (MCPHERSON *et al.*, 2014; ORNELLAS *et al.*, 2017; RETNAKARAN *et al.*, 2021; LIN *et al.*, 2022).

Nosso estudo apresenta pontos fortes. Até onde sabemos este é o primeiro estudo a investigar a relação da obesidade e do consumo de nutrientes MetD de acordo com a obesidade familiar. Além disso, a utilização de um QFA validado para a população permitiu maior confiabilidade dos dados de consumo. A utilização de um escore de consumo de nutrientes MetD também foi um diferencial em nosso estudo, podendo se tornar uma ferramenta útil na análise de associação de MetD da dieta. Ademais, o tempo de seguimento e o controle por vários potenciais fatores de confusão contribuem para maior segurança do efeito independente dos nossos resultados. No entanto, algumas limitações precisam ser pontuadas. Não foi possível realizar a análise dos polimorfismos e, ou, grau de metilação dos genes envolvidos no metabolismo de um carbono, bem como das principais variantes genéticas relacionadas ao ganho de peso e obesidade, o que seria inviável pelo tamanho da amostra. Acreditamos que essas informações permitiriam explicar melhor nossos resultados, além de fornecer informações mais precisas da relação entre o consumo alimentar e a modulação epigenética da obesidade frente as suas variações genéticas para o risco da doença e dos polimorfismos relacionados ao metabolismo desses nutrientes, na qual influenciam diretamente na resposta interindividual e reações moleculares. Nesse sentido, perspectivas futuras têm sido avaliadas no estudo CUME para avaliação de biomarcadores (epi)genéticas em subamostra.

CONCLUSÃO

O consumo intermediário dos nutrientes MetD B2, B9 e colina, bem como escore mediano de nutrientes MetD mostrou reduzir o risco de obesidade em um seguimento de 4 anos, enquanto o alto escore de MetD foi fator protetor para a história de obesidade paterna. Nossos resultados corroboram a alimentação como fator protetor na presença de histórico

familiar dessa doença crônica, com ênfase na avaliação e promoção dos alimentos fontes dos nutrientes MetD.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos os participantes do projeto CUME, sem os quais esta pesquisa não seria possível. Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. J Bressan, HHM Hermsdorff e AM Pimenta são bolsistas em Produtividade de Pesquisa do CNPq. Os financiadores não tiveram nenhum papel no desenho do estudo, coleta e análise de dados, decisão de publicação ou preparação do artigo.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

CMT, LJJ E HHMH, desenho desse estudo. CMT e ACGL, curadoria do bando de dados e análise dos dados. CMT, LJJ, AMP e HHMH interpretação dos resultados. CMT, escrita do manuscrito. JB, LJJ, ACGL, AMP e HHMH revisão do manuscrito. JB, AMP e HHMH, desenho, gestão científica e financeira do Estudo CUME. Todos os autores contribuíram e aprovaram a versão final do manuscrito.

DECLARAÇÃO DE INTERESSE

Os autores declaram nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

AZARIAS, H. G. D. A et al. Online food frequency questionnaire from the cohort of universities of minas gerais (cume project, brazil): construction, validity, and reproducibility. **Frontiers in nutrition**. v. 8, n.709915, 2021.

BORDONI, L.; GABBIANELLI, R. Primers on nutrigenetics and nutri(epi)genomics: Origins and development of precision nutrition. **Biochimie**. v. 160, p. 156-171, 2019.

CHANG, T. Y. et al. Optimal Dietary Intake Composition of Choline and Betaine Is Associated with Minimized Visceral Obesity-Related Hepatic Steatosis in a Case-Control Study. **Nutrients**, v. 14, n. 2, p. 261, 2022.

CRIDER, K. S. et al. Genomic DNA Methylation Changes in Response to Folic Acid Supplementation in a Population-Based Intervention Study among Women of Reproductive Age. **PLoS ONE**. v. 6, n. 12, p. 28144, 2011.

DOMINGOS, A. L. G. et al. Cohort Profile: The Cohort of Universities of Minas Gerais (CUME), **International Journal of Epidemiology**. v. 47, n. 6, p. 1743-1744, 2018.

ELKS, C. E. et al. Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. **Front. Endocrinol.** v. 3, n. 29, 2012.

FRISO, S. et al. One-carbon metabolism and epigenetics. **Mol Aspects Med.** v. 54, p. 28–36, 2017.

GAO, X. et al. Higher Dietary Choline and Betaine Intakes Are Associated with Better Body Composition in the Adult Population of Newfoundland, Canada. **PloS One**. v. 11, n. 5, p. 0155403, 2016.

HILL, J. O.; PETERS, J. C. Environmental contributions to the obesity epidemic. **Science**. v. 280, p. 1371 – 1373, 1998.

HIRSHKOWITZ, M. et al. National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. **Sleep Health**. v. 1, n. 1, p. 40-43, 2015.

HUANG, T. et al. DNA Methylation Variants at HIF3A Locus, B-Vitamin Intake, and Long-term Weight Change: Gene-Diet Interactions in Two U.S. Cohorts. **Diabetes**. v. 9, p. 3146–3154, 2015.

INSTITUTE OF MEDICINE/ IOM. Dietary Reference Intakes (DRIs): Acceptable macronutrient Distribution ranges. In: Dietary References Intakes. Washington, DC: The National Academy Press, 2006. < <http://www.nap.edu/catalog/11537.html>>

JACOB, R. A. et al. Folate nutriture alters choline status of women and men fed low choline diets. **J Nutri**. v. 129, n. 3, p. 712–717, 1999.

JIAO, F. et al. Protective effects of maternal methyl donor supplementation on adult offspring of high fat diet-fed dams. **J Nutr Biochem**. v. 34, p. 42-51, 2016.

JU, L. et al. Dietary Micronutrient Status and Relation between Micronutrient Intakes and Overweight and Obesity among Non-Pregnant and Non-Lactating Women Aged 18 to 49 in China. **Nutrients**. v. 14, n. 9, p. 1895, 2022.

- KOK, D. E. et al. The effects of long-term daily folic acid and vitamin B12 supplementation on genome-wide DNA methylation in elderly subjects. **Clinical epigenetics**. v. 7, p. 121, 2015.
- KLEMP, I. et al. DNA methylation patterns reflect individual's lifestyle independent of obesity. **Clin Transl Med**. v.12, n. 6, p. 851, 2022.
- KWON, Y. J. et al. Identification of the interactions between specific genetic polymorphisms and nutrient intake associated with general and abdominal obesity in middle-aged adults. **Clin Nutr**. v. 41, n. 2, p. 543-551, 2022.
- LI, X. et al. DNA methylation variant, B-vitamins intake and longitudinal change in body mass index. **Int J Obes**. v. 43, p. 468–474, 2019.
- LIN, J.; GU, W.; HUANG, H. Effects of Paternal Obesity on Fetal Development and Pregnancy Complications: A Prospective Clinical Cohort Study. **Front. Endocrinol**. v. 13, p. 826665, 2022.
- LOBSTEIN, T.; HANNAH, B.; NEVEUX, M. World Obesity Atlas. World Obesity Federation: London, UK, 2022.
- LOOS, R. J. F.; YEO, G. S. H. A genética da obesidade: da descoberta à biologia. **Nat Rev Genet**. v. 23, p. 120-133, 2022.
- LYON, P. et al. Vitamins and One-Carbon Metabolism: Implications in Human Health and Disease. **Nutrients**. v. 12, n. 9, p. 2867, 2020.
- MAES, H. H.; NEALE, M. C.; EAVES, L. J. Genetic and environmental factors in relative body weight and human obesity. **Behav. Genet**. v. 27, p. 325–351, 1997.
- MAHMOUD, A. M.; ALI, M. M. Methyl donor micronutrients that modify dna methylation and cancer outcome. **Nutrients**. v. 11, n. 3, p. 608, 2019.
- MAHMOUD A. M. An Overview of Epigenetics in Obesity: The Role of Lifestyle and Therapeutic Interventions. **Int J Mol Sci**. v. 23, n. 3, p. 1341, 2022.
- MCPHERSON, N. O.; FULLSTON, T.; AITKEN, R. J. et al. Paternal obesity, interventions, and mechanistic pathways to impaired health in offspring. **Ann Nutr Metab**. v. 64, p. 231-238, 2014.
- MAZIDI, M. et al. Dietary choline is positively related to overall and cause-specific mortality: results from individuals of the National Health and Nutrition Examination Survey and pooling prospective data. **Br J Nutr**. v. 122, n. 11, p. 1262-1270, 2019.

MAZUR-BIALY, A. I.; POCHÉĆ, E. Vitamin B2 deficiency enhances the pro-inflammatory activity of adipocyte, consequences for insulin resistance and metabolic syndrome development. **Life sciences**. v. 178, p. 9 – 16, 2017.

MENDEL, G. Versuche über Pflanzen-Hybriden. Verhandlungen des naturforschenden Vereines zu Brünn. v. 4, p. 3–47, 1865.

MILAGRO, F. I.; MANSEGO, M. L.; DE MIGUEL, C.; MARTÍNEZ, J. A. Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives. **Mol Aspects Med**. v. 34, n. 4, p. 782-812, 2013.

MIRANDA, A. E. S. et al. Validation of metabolic syndrome and its self reported components in the CUME Study. **REME Revista Mineira de Enfermagem**. v. 21, p. 10691, 2017.

MLODZIK-CZYZEWSKA, M. A. et al. Associations of plasma betaine, plasma choline, choline intake, and MTHFR polymorphism (rs1801133) with anthropometric parameters of healthy adults are sex-dependent. **J Hum Nutr Diet**. v. 35, n. 4, p. 701-712, 2022.

NICULESCU, M. D.; ZEISEL, S. H. Diet, methyl donors and DNA methylation: interactions between dietary folate, methionine and choline. **J Nutr**. v. 132, n. 8, p. 2333-2335, 2002.

ORDOVAS, J. M.; SHEN, J. Gene-environment interactions and susceptibility to metabolic syndrome and other chronic diseases. **J Periodontol**. v. 79, n. 8, p. 1508-1513, 2008.

O'REILLY, S. L, et al. Folic Acid Supplementation in Postpolypectomy Patients in a Randomized Controlled Trial Increases Tissue Folate Concentrations and Reduces Aberrant DNA Biomarkers in Colonic Tissues Adjacent to the Former Polyp Site. **J Nutri**. v. 146, n. 5, p. 933–939, 2016.

ORNELLAS, F et al. Obese fathers lead to an altered metabolism and obesity in their children in adulthood: review of experimental and human studies. **J. Pediatr**. v. 93, p. 6, 2017.

PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES 2008-2009: Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 360 p.

PEREIRA, G. A. et al. Dietary Folate Intake Is Negatively Associated with Excess Body Weight in Brazilian Graduates and Postgraduates (CUME Project). **Nutrients**. v. 11, n. 3, p. 518, 2019.

PUFULETE, M. et al. Influence of folate status on genomic DNA methylation in colonic mucosa of subjects without colorectal adenoma or cancer. **British journal of câncer**. v. 92, n. 5, p. 838–842, 2005.

RAMOS-LOPEZ, O. et al. Guide for Current Nutrigenetic, Nutrigenomic, and Nutriepigenetic Approaches for Precision Nutrition Involving the Prevention and Management of Chronic Diseases Associated with Obesity. **J Nutrigenet Nutrigenomics**. v. 10, p. 43-62, 2017.

RAMOS-LOPEZ, O.; RIEZU-BOJ, J. I.; MILAGRO, F. I. Genetic and epigenetic nutritional interactions influencing obesity risk and adiposity outcomes. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. v. 25, n. 4, p. 235-240, 2022.

RETNAKARAN, R. et al. Paternal weight prior to conception and infant birthweight: a prospective cohort study. **Nutr. Diabetes**. v. 11, p. 28, 2021.

SABER CHERIF, L. et al. Methyl Donor Deficiency during Gestation and Lactation in the Rat Affects the Expression of Neuropeptides and Related Receptors in the Hypothalamus. **Int J Mol Sci**. v. 20, n. 20, p. 5097, 2019.

SAMODIEN, E. et al. Diet-induced DNA methylation within the hypothalamic arcuate nucleus and dysregulated leptin and insulin signaling in the pathophysiology of obesity. **Food Sci Nutr**. v. 7, n. 10, p. 3131–3145, 2019.

SIQUEIRA, J. H. et al. Sugar-sweetened soft drinks and fructose consumption are associated with hyperuricemia: crosssectional analysis from the Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil). **Nutrients**. v. 10, p. 981. 2018.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - Agricultural Research Service. Nutritive Value of Foods, Home and Garden Bulletin, n.72, 2012.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO, versão 4. 2011.

WATERLAND, R. A. et al. Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. **Int J Obes (Lond)**. v. 32, n. 9, p. 1373-1379, 2008.

WEINHOLD, B. Epigenetics: the science of change. **Environ Health Perspect**. 114, p. 160-167, 2006.

WILLETT, W. C. Nutritional Epidemiology. New York. **Oxford University Press**. 2 ed., 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. OBESITY: preventing and managing the global epidemic. Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 1998: 152 (WHO technical report series, 894).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global recommendations on physical activity for health. Geneva: WHO; 2010

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Noncommunicable diseases country profiles 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.

YADAV, D. K. et al. Vitamin B12 supplementation influences methylation of genes associated with Type 2 diabetes and its intermediate traits. **Epigenomics**. v. 10, n. 1, p. 71-90, 2018.

ZEISEL, S. H. et al. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods [published correction appears in J Nutr. 2003 Sep;133(9):2918]. **J Nutr**. v. 133, n. 5, p. 1302-1307, 2003.

ZEISEL, S. H. Choline: critical role during fetal development and dietary requirements in adults. **Annu Rev. Nutr**. v. 26, p. 229–50, 2006.

ZHANG, Y. F. et al. Folate intake and the risk of breast cancer: a dose-response meta-analysis of prospective studies. **PloS One**. v. 9, n. 6, p. 100044, 2014.

ZHOU, S. S. et al. Vitamin paradox in obesity: Deficiency or excess?. **World J Diabetes**. v. 6, n. 10, p. 1158-1167, 2015.

Tabela 1 - Incidência de obesidade de acordo com características sociodemográficas, estilo de vida e histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental Estudo CUME (n = 1.205, 2016-2020)

Variáveis	Total n (%)	Incidência n (%)	Valor de <i>p</i>
Sexo			0,228
Feminino	814 (67,5)	55 (6,8)	
Masculino	391 (32,5)	34 (8,7)	
Idade			0,400
Adulto jovem (≤ 39 anos)	820 (68,1)	57 (6,9)	
Meia idade (≥ 40 anos)	385 (31,9)	32 (8,3)	
Estado civil			0,187
Solteiro/divorciado/viúvo	664 (55,1)	55 (8,3)	
Casado/união estável	541 (44,9)	34 (6,3)	
Situação ocupacional			0,331
Trabalho integral/parcial/informal	921 (76,4)	73 (7,9)	
Estudante	183 (15,2)	10 (5,6)	
Aposentado(a)/do lar	39 (3,2)	4 (10,3)	
Desempregado	62 (5,2)	2 (3,2)	
Atividade física			0,029
Ativo	673 (55,8)	50 (7,4)	
Insuficiente ativo	273 (22,7)	12 (4,4)	
Inativo	259 (21,5)	27 (10,4)	
Consumo de álcool			0,825
Não	296 (24,6)	21 (7,1)	
Sim	909 (75,4)	68 (7,5)	
Tabagismo			0,477
Nunca/ex-fumante	1.099 (91,2)	83 (7,6)	
Fumante	106 (8,8)	6 (5,7)	
Tempo de sono			0,113
< 7 horas	396 (32,9)	36 (9,1)	
≥ 7 horas	808 (67,1)	53 (6,5)	
Escore de doadores de metil			0,050
T1 (0 - 3 pontos)	610 (50,6)	50 (8,2)	
T2 (4 pontos)	224 (18,6)	8 (3,6)	
T3 (5 – 7 pontos)	371 (30,8)	31 (8,4)	
Histórico familiar de obesidade			0,001
Ausente	966 (80,2)	59 (66,3)	
Obesidade materna	127 (10,5)	14 (15,7)	
Obesidade paterna	90 (7,5)	11 (12,4)	
Obesidade parental	22(1,8)	5 (5,6)	

Valor de *p* para o teste de qui-quadrado de Pearson.

Tabela 2 - Escore de doadores de metil de acordo com características sociodemográficas, estilo de vida e histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental, Estudo CUME (n = 1.205, 2016-2020)

Variáveis	Escore de MetD			Valor de <i>p</i>
	T1 (Baixo: 0 – 3) n (%)	T2 (Mediano: 4) n (%)	T3 (Alto: 5 – 7) n (%)	
Sexo				0,382
Feminino	405 (66,4)	148 (66,1)	261 (70,3)	
Masculino	205 (33,6)	76 (33,9)	110 (29,7)	
Idade				0,617
Adulto jovem (≤ 39 anos)	413 (67,7)	148 (66,1)	259 (69,8)	
Meia idade (≥ 40 anos)	197 (32,3)	76 (33,9)	112 (30,2)	
Estado civil				0,555
Solteiro/divorciado/viúvo	266 (43,6)	107 (47,8)	168 (45,3)	
Casado/união estável	344 (56,4)	117 (52,2)	203 (54,7)	
Situação ocupacional				0,624
Trabalho integral/parcial/informal	462 (75,7)	171 (76,3)	288 (77,6)	
Estudante	93 (15,2)	33 (14,7)	57 (15,4)	
Aposentado(a)/do lar	17 (2,8)	9 (4,0)	13 (3,5)	
Desempregado	38 (6,3)	11 (5,0)	13 (3,5)	
Atividade física				0,001
Ativo	309 (50,7)	127 (56,7)	237 (63,9)	
Insuficiente ativo	154 (25,2)	45 (20,1)	74 (19,9)	
Inativo	147 (24,1)	52 (23,2)	60 (16,2)	
Consumo de álcool				0,089
Não	160 (26,2)	60 (26,8)	76 (20,5)	
Sim	450 (73,8)	164 (73,2)	295 (79,5)	
Tabagismo				0,157
Nunca/ex-fumante	549 (90,0)	203 (90,6)	347 (93,5)	
Fumante	61 (10,0)	21 (9,4)	24 (6,5)	
Tempo de sono				0,202
< 7 horas	395 (64,7)	155 (69,2)	259 (69,8)	
≥ 7 horas	215 (35,3)	69 (30,8)	112 (30,2)	
Histórico familiar de obesidade				0,412
Ausente	490 (80,3)	182 (81,3)	294 (79,3)	
Obesidade materna	63 (10,3)	26 (11,6)	38 (10,2)	
Obesidade paterna	50 (8,2)	11 (4,9)	29 (7,8)	
Obesidade parental	7 (1,2)	5 (2,2)	10 (2,7)	

Valor de *p* para o teste de qui-quadrado de Pearson.

Tabela 3 - Hazard ratios (HR) e intervalos de confiança de 95% para a associação entre a ingestão de nutrientes doadores de metil, escore de MetD e a incidência de obesidade, Estudo CUME (n = 1.205, 2016-2020)

Variáveis	Riboflavina (B2, mg/dia)		p de tendência
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Q1 (0,49 – 1,47)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,460
Q2 (1,48 – 1,89)	0,61 (0,34 – 1,10)	0,67 (0,37 – 1,22)	
Q3 (1,90 – 2,47)	0,38 (0,19 – 0,74)*	0,40 (0,20 – 0,79)*	
Q4 (2,48 – 46,56)	0,92 (0,55 – 1,54)	0,95 (0,57 – 1,59)	
	Piridoxina (B6, mg/dia)		
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Q1 (0,59 – 1,44)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,463
Q2 (1,45 – 1,86)	0,48 (0,24 – 0,93)*	0,55 (0,28 – 1,08)	
Q3 (1,87 – 2,56)	0,78 (0,44 – 1,38)	0,84 (0,47 – 1,49)	
Q4 (2,57 – 9,88)	0,99 (0,58 – 1,69)	1,08 (0,62 – 1,87)	
	Folato (B9, mcg/dia)		
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Q1 (122,39 – 337,53)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,230
Q2 (338,33 – 441,84)	0,48 (0,26 – 0,87)*	0,48 (0,26 – 0,89)*	
Q3 (442,06 – 586,29)	0,61 (0,35 – 1,07)	0,64 (0,36 – 1,12)	
Q4 (586,42 – 1.671,72)	0,65 (0,37 – 1,13)	0,63 (0,36 – 1,10)	
	Cobalamina (B12, mcg/dia)		
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Q1 (0,30 – 2,58)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,873
Q2 (2,59 – 3,60)	1,05 (0,60 – 1,85)	1,15 (0,65 – 2,05)	
Q3 (3,61 – 4,87)	0,52 (0,26 – 1,02)	0,54 (0,27 – 1,09)	
Q4 (4,88 – 33,71)	1,13 (0,65 – 1,97)	1,21 (0,69 – 2,15)	
	Colina (mg/dia)		
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Q1 (102,12 – 263,66)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,729
Q2 (263,76 – 350,64)	0,46 (0,23 – 0,89)*	0,48 (0,24 – 0,93)*	
Q3 (350,74 – 457,84)	0,87 (0,50 – 1,51)	0,84 (0,48 – 1,48)	
Q-4 (458,32 – 1.703,21)	0,90 (0,52 – 1,55)	0,92 (0,52 – 1,62)	
	Betaína (mg/dia)		
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Q1 (14,32 – 81,30)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,913
Q2 (81,31 – 105,80)	0,59 (0,32 – 1,11)	0,60 (0,32 – 1,13)	
Q3 (105,82 – 139,46)	0,91 (0,52 – 1,59)	0,94 (0,53 – 1,65)	
Q4 (139,74 – 441,61)	0,86 (0,49 – 1,51)	0,83 (0,47 – 1,46)	
	Metionina (mg/dia)		
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Q1 (0,46 – 1,36)	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,868
Q2 (1,37 – 1,84)	0,71 (0,39 – 1,29)	0,73 (0,40 – 1,34)	
Q3 (1,85 – 2,45)	0,58 (0,31 – 1,09)	0,55 (0,29 – 1,06)	
Q4 (2,46 – 10,60)	1,09 (0,63 – 1,86)	1,15 (0,66 – 2,00)	
	Escore de MetD		
	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)	
Baixo [610 (50,6%)]	1 (Ref.)	1 (Ref.)	0,875
Mediano [224 (18,6%)]	0,42 (0,20 – 0,89)*	0,40 (0,18 – 0,84)*	
Alto [371 (30,8%)]	0,97 (0,62 – 1,52)	0,96 (0,60 – 1,52)	

HR: hazard ratio; IC: intervalo de confiança 95%; Ref.: referência; B2, B6, Colina, Betaína, Metionina: miligrama; B9 e B12: micrograma. Baixo: T1 (0 – 3 pontos); Médio: T2 (4 pontos) Alto: T3 (5 – 7 pontos)

Modelo 1: modelo bruto

Modelo 2: ajustado por sexo, idade, estado civil, situação ocupacional, sono, atividade física, consumo de álcool, tabagismo e obesidade parental.

*p <0,005

Tabela 4 - Hazard ratios (HR) e intervalos de confiança de 95% (IC 95%) para a associação entre o histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental e a incidência de obesidade, Estudo CUME (n = 1.205, 2016-2020)

Histórico familiar de obesidade	Modelo 1 HR (IC 95%)	Modelo 2 HR (IC 95%)
Ausente	1 (Ref.)	1 (Ref.)
Obesidade Materna	1,83 (1,02 – 3,28)*	2,09 (1,15 – 3,78)*
Obesidade Paterna	2,04 (1,07 – 3,89)*	2,32 (1,21 – 4,46)*
Obesidade Parental	3,78 (1,51 – 9,44)*	4,26 (1,66 – 10,93)*

HR: hazard ratio; IC: intervalo de confiança 95%; Ref.: referência; Obesidade parental: presença de pai e mãe com obesidade

Modelo 1: modelo bruto

Modelo 2: sexo, idade, estado civil, situação ocupacional, atividade física, sono, consumo de álcool e tabagismo.

* p <0,05

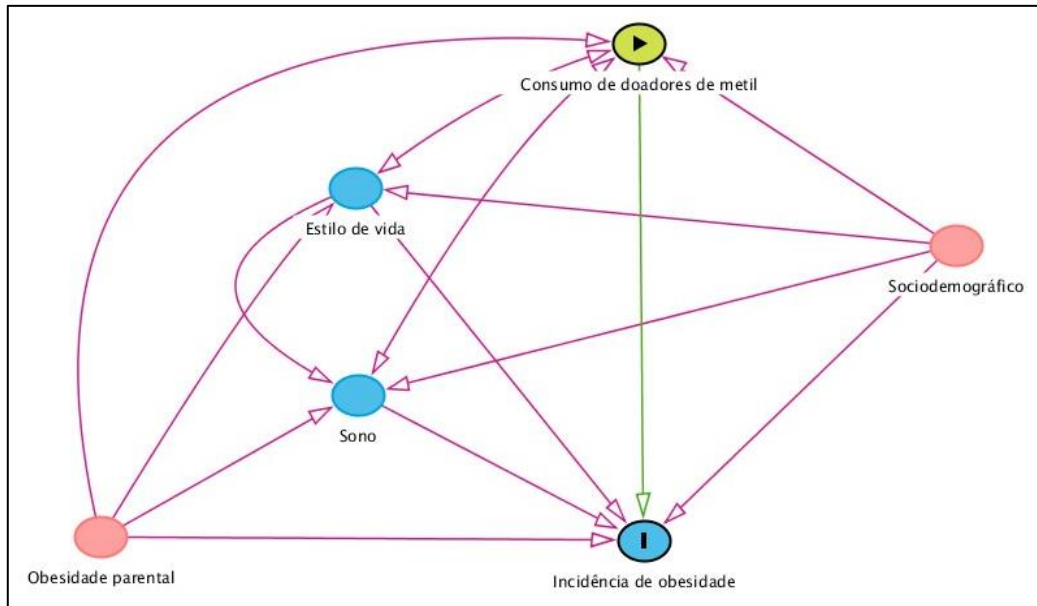


Figura 1 - Gráfico acíclico direcionado da associação entre o consumo de nutrientes doadores de metil e obesidade. Obesidade (desfecho); Consumo de doadores de metil (exposição): riboflavina (B2), piridoxina (B6), folato (B9), cobalamina (B12), colina, betaína, metionina; Obesidade parental: pai e mãe com obesidade; Sociodemográficos (covariáveis): sexo, idade, estado civil e situação ocupacional; Estilo de vida (covariáveis): atividade física, consumo de álcool e tabagismo; Sono (covariável).

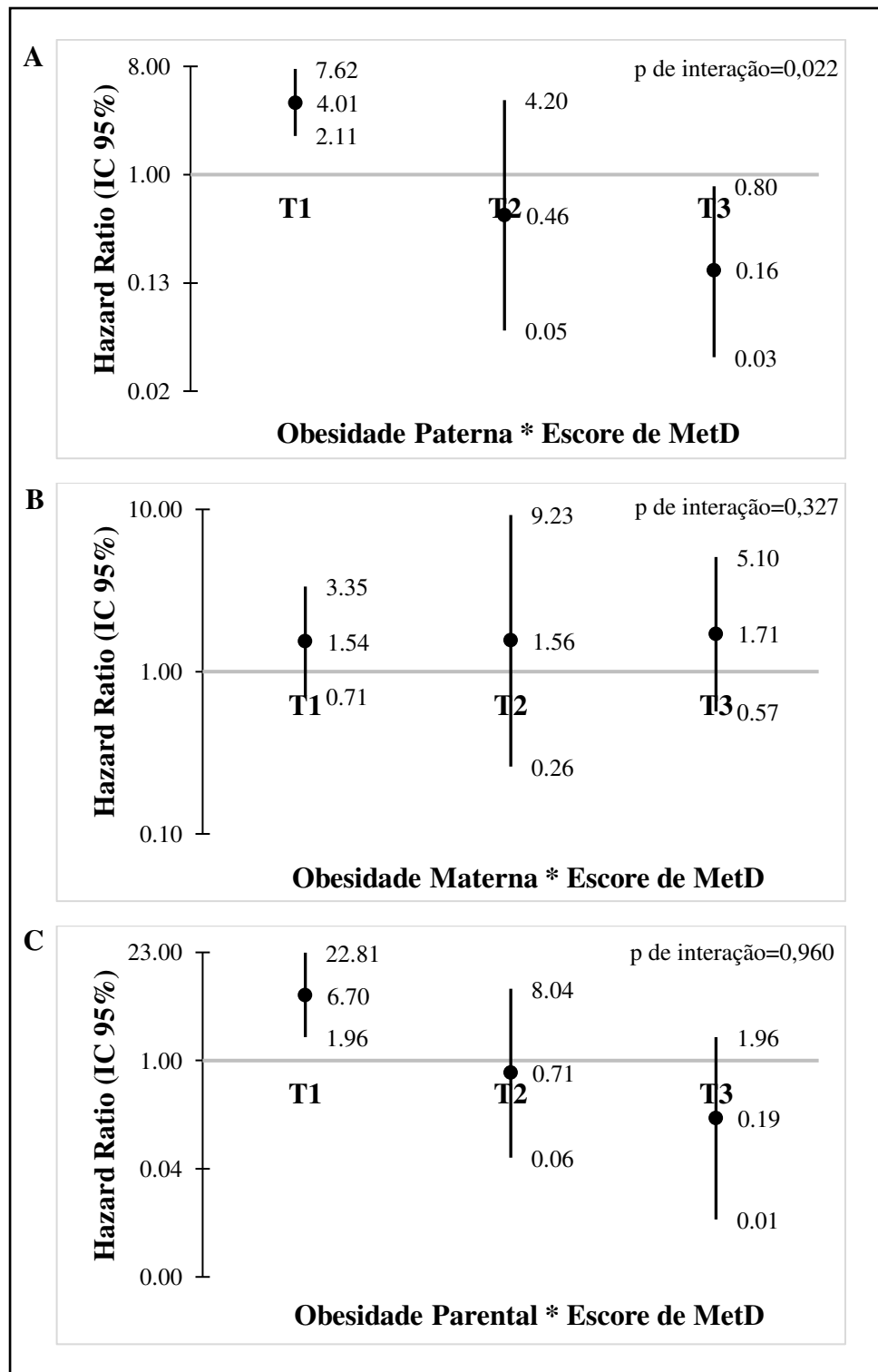
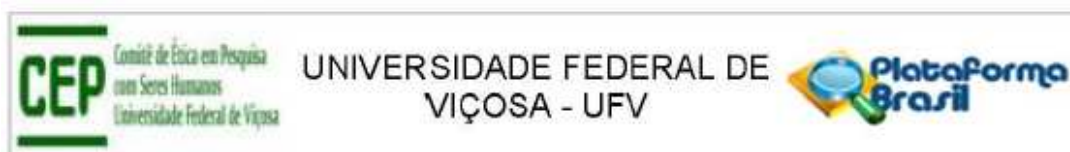


Figura 2 - Modelos de análise de riscos proporcionais de Cox para a associação entre obesidade e histórico de obesidade paterna (A), materna (B) e parental (C) de acordo com o escore de MetD, Estudo CUME (n=1.205, 2016 – 2020). Ajustado por sexo, idade, estado civil, situação ocupacional, atividade física, sono, consumo de álcool e tabagismo.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética da UFV



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: COORTE DAS UNIVERSIDADES MINEIRAS (CUME): IMPACTO DO PADRÃO ALIMENTAR BRASILEIRO E DA TRANSIÇÃO NUTRICIONAL SOBRE AS DOENÇAS E AGRAVOS NÃO TRANSMISSÍVEIS

Pesquisador: Adriano Marçal Pimenta

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 07223812.3.3001.5153

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 596.741-0

Data da Relatoria: 18/01/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de Protocolo de Pesquisa que analisa Coorte das Universidades Mineiras (CUME) Impacto do Padrão Alimentar Brasileiro e da Transição Nutricional sobre as doenças e Agravos não transmissíveis.

Objetivo da Pesquisa:

Realizar análise comparativa com relação às Instituições Universidades Mineiras referentes ao padrão alimentar do Brasileiro

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos para os indivíduos

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de Protocolo de pesquisa relevante e que oferecerá retorno para a sociedade

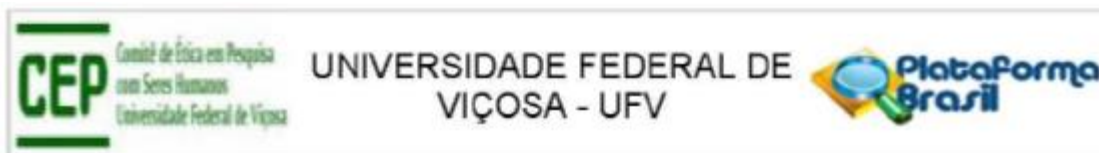
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos pertinentes ao Protocolo de Pesquisa foram apresentados.

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação

Endereço: Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior
Bairro: campus Viçosa **CEP:** 36.570-000
UF: MG **Município:** VICOSA
Telefone: (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação de Parecer: 596.741-0

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não ha pendências e nem lista de inadequações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer Favorável na 1ª reunião de 2013, em 18/01/2013, às 14h30min.

VICOSA, 11 de Abril de 2014

Assinador por:

Patricia Aurélia Del Nero
(Coordenador)

Este parecer reemitido substitui o parecer número 596741 gerado na data 18/01/2013 20:00:56, onde o número CAAE foi alterado de 07223812.3.1001.5149 para 07223812.3.3001.5153.

Endereço: Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior
Bairro: campus Viçosa **CEP:** 36.570-000
UF: MG **Município:** VICOSA
Telefone: (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br

ANEXO B - Parecer do Comitê de Ética da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 07223812.3.1001.5149

Interessado(a): Prof. Adriano Marçal Pimenta
Departamento de Enfermagem Materno Infantil e
Saúde Pública
Escola de Enfermagem - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 18 de março de 2013, o projeto de pesquisa intitulado **"Coorte das Universidades Mineiras (CUME): impacto do padrão alimentar brasileiro e da transição nutricional sobre as doenças e agravos não transmissíveis"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Prof.ª Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estimado (a) ex-aluno (a) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) ou da Universidade Federal de Viçosa (UFV), vimos por meio deste, convidá-lo (a) a participar de uma pesquisa intitulada “Coorte de Universidades MinEiras (CUME), cujo objetivo é avaliar o impacto do padrão alimentar brasileiro, de grupos de alimentos e fatores dietéticos específicos no desenvolvimento de Doenças e Agravos Não Transmissíveis (DANT), tais como obesidade, hipertensão arterial, cânceres, doenças intestinais, pulmonares e cardiovasculares, entre outras. Este estudo será desenvolvido em parceria entre a Escola de Enfermagem da UFMG e o Departamento de Nutrição e Saúde da UFV, e é de responsabilidade dos seguintes professores: Dra. Josefina Bressan (Coordenadora/UFV), Dra. Helen Hermana Miranda Hermsdorff (Colaboradora/UFV) e Dr. Adriano Marçal Pimenta (Colaborador/UFMG). Caso concorde em participar, você responderá a um questionário, autoaplicável, com 55 perguntas sobre dados demográficos, socioeconômicos, antropométricos, bioquímicos, hábitos de vida, consumo alimentar e histórico de saúde. Esse questionário será nosso questionário basal (Q_0). Posteriormente, a cada dois anos, você deverá responder a outros questionários de seguimento (Q_2, Q_4, ..., Q_n), também autoaplicáveis, normalmente com um número menor de perguntas, com o intuito de avaliar modificações em relação aos parâmetros basais. Sua colaboração é voluntária e o seu anonimato será garantido. Firmamos o compromisso de que os seus dados serão utilizados, apenas, para fins da pesquisa e divulgados, somente, em eventos e periódicos científicos. O seu consentimento em participar deste estudo também deve considerar que o projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética e Pesquisa da UFMG e da UFV. Em qualquer fase da pesquisa, você poderá fazer perguntas, caso tenha dúvidas, e retirar o seu consentimento, além de não permitir a posterior utilização de seus dados, sem nenhum ônus ou prejuízo. Se os esclarecimentos feitos forem satisfatórios e se estiver de acordo, favor assinar o presente termo, dando seu consentimento para a participação da pesquisa em questão.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Josefina Bressan

Profa. Dra. Helen Hermana Miranda Hermsdorff

Prof. Dr. Adriano Marçal Pimenta

Nome: _____ R.G. _____

Assinatura: _____

Local _____ Data: ____/____/____

Nome do coordenador da pesquisa: Josefina Bressan. Tel.: (31) 3899-2692 Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG: Av. Presidente Antônio Carlos, nº 6627. Prédio da Reitoria, 7º andar, sala 7018, Bairro Pampulha, Belo Horizonte/MG. CEP: 31270-901. Tel.: (31) 3499-4592. Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFV: Av. PH Rolfs, s/n, Divisão de Saúde, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa/MG. CEP: 36570-001 Tel.: (31) 3899-3783.

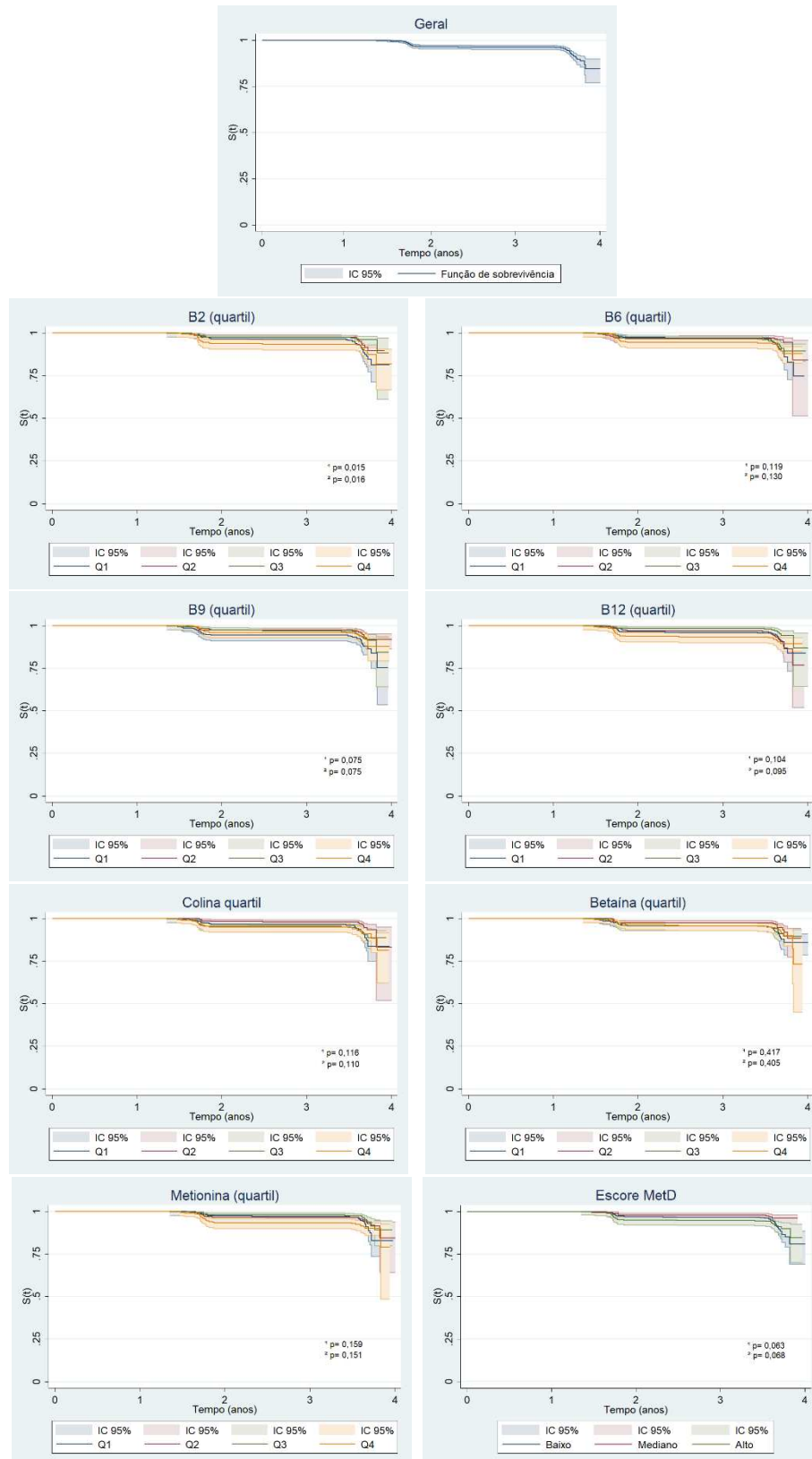
APÊNDICE B – Questão 69 do questionário do estudo CUME

69. Algum parente seu sofre ou sofreu alguma dessas doenças? *

	Não	Pai	Mãe	Irmão(ã)	Avô/Avó
Infarto agudo do miocárdio	☒	☐	☐	☐	☐
Acidente vascular cerebral	☒	☐	☐	☐	☐
Diabetes	☒	☐	☐	☐	☐
Hipertensão arterial	☒	☐	☐	☐	☐
Obesidade	☒	☐	☐	☐	☐
Câncer de mama	☒	☐	☐	☐	☐
Câncer de colo de útero	☒	☐	☐	☐	☐
Câncer de próstata	☒	☐	☐	☐	☐
Câncer de cólon ou reto	☒	☐	☐	☐	☐
Outros tipos de câncer	☒	☐	☐	☐	☐

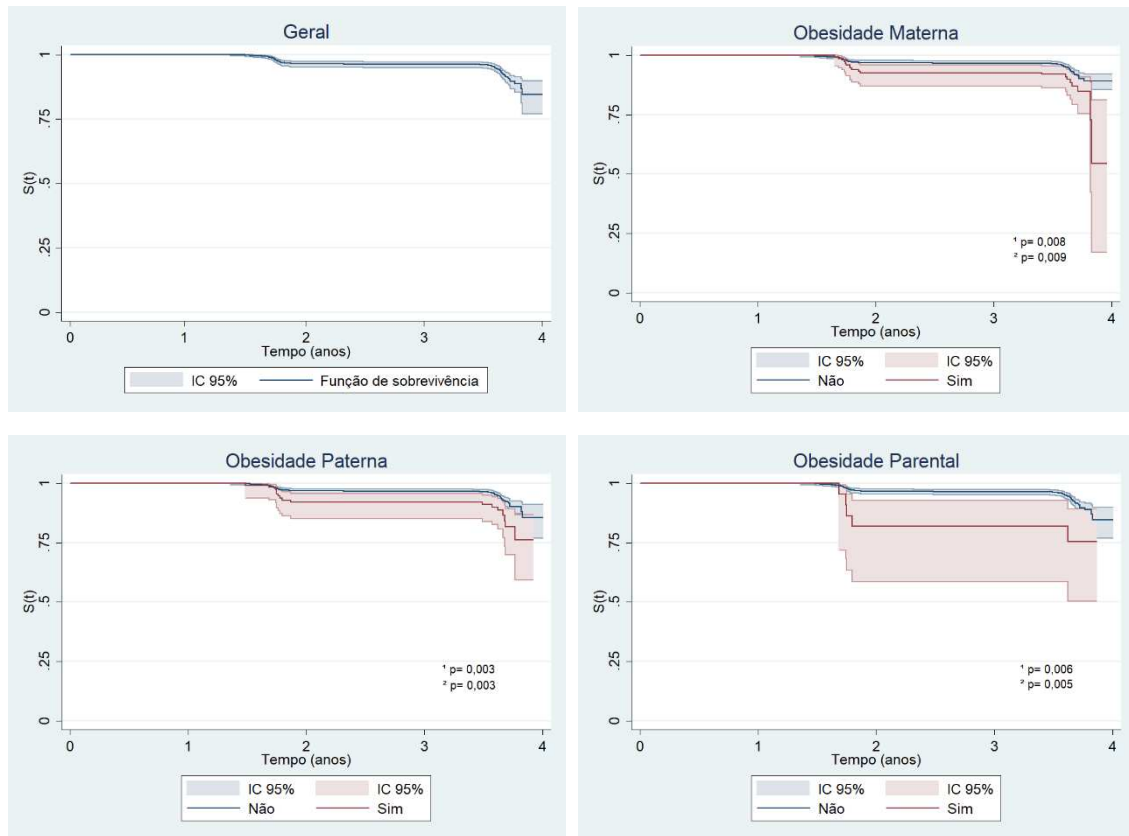
APÊNDICE C – Figura 5

Figura 5. - Curvas de sobrevida (Kaplan-Meier) geral e segundo os nutrientes doadores de metil (B2, B6, B9, B12, colina, betaína e metionina) e escore de MetD, Estudo CUME (n=1.205, 2016 - 2020).



¹ Teste de log-rank; ² Teste de Peto

APÊNDICE D – Figura 6

Figura 6 - Curvas de sobrevida (Kaplan-Meier) geral e segundo histórico familiar de obesidade materna, paterna e parental, Estudo CUME (n=1.205, 2016 - 2020).

¹ Teste de log-rank; ² Teste de Peto

APÊNDICE E – Artigo produzido durante o mestrado I

Higher caffeine consumption is associated with insufficient sleep time in Brazilian adults (CUME study)

Carolynne Martins Teixeira¹, Josefina Bressan¹, Helen Hermana Miranda Hermsdorff^{1,2}, Arieta Carla Gualandi Leal¹, Adriano Marçal Pimenta³, Sarah Aparecida Vieira Ribeiro⁴ e Leidjaira Juvanhil Lopes⁴

¹ *Laboratory of Energy Metabolism and Body Composition, Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.*

² *Institute of Public Policies and Sustainable Development, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.*

³ *Department of Nursing, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil*

⁴ *Laboratory of Nutritional Epidemiology, Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.*

Correspondence author:

HHM Hermsdorff, Laboratory of Energy Metabolism and Body Composition, Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Av. Peter Henry Rolfs, s/n – UFV Campus, 36570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. Phone: + 55 (31) 3612-5195, email: helenhermana@ufv.br

Artigo produzido durante a disciplina NUT – 649, a ser submetido na revista *International Journal of Food Sciences and Nutrition* (Qualis A2)

ABSTRACT

Introduction: Caffeine is the most consumed psychoactive substance worldwide. Also, it may influence the physiological state of sleep and favor the risk of chronic and metabolic impairments associated with worsening this outcome. **Objective:** To assess the association between caffeine intake and sleep time in Brazilian adults. **Methods:** This cross-sectional study was conducted with 6,356 undergraduate and graduate students (4,296 females [67.6%]; 34.8 [$\pm$ 8.4] years) of the Minas Gerais Universities Cohort (CUME study). Data were collected using a self-reported online questionnaire, and caffeine consumption was obtained using a validated food frequency questionnaire containing 144 food items. Insufficient sleep was determined when sleep time was shorter than seven hours. **Result:** Mean caffeine intake was 68.9 ($\pm$ 62.8) mg/day, and mean sleep time was 6.9 ($\pm$ 1.0) h/day. A total of 31.9% of participants, mostly female (64.1%), had an insufficient sleep. Females were also more likely to consume higher caffeine doses than males (58.8% vs. 41.6%, $p < 0.001$). Coffee and soda (light, diet, or zero) mostly contributed to caffeine consumption ($R^2 = 0.92$ and 0.94 , respectively). Last, individuals in the upper quartile of caffeine consumption (93.0 to 570.8 mg/day) had a 15% increase in the prevalence of insufficient sleep compared with the lowest quartile (PR: 1.15; 95% CI: 1.04 - 1.26). **Conclusion:** Caffeine consumption was independently associated with increased prevalence of insufficient sleep in a highly educated adult Brazilian population.

Keywords: caffeine consumption; coffee; caffeinated beverages; sleep; cohort.

INTRODUCTION

Sleep is a physiological and vital necessity in all species (Han et al., 2022), however, sleep time seems to be reducing, and individuals have frequently slept less (Hublin et al., 2020). Sleep restriction (i.e., insufficient sleep time to maintain normal performance) may generate neurobehavioral deficits and physiological changes associated with increased risk of obesity, cardiovascular disease, traffic accidents, and death (Banks and Dinges, 2007). Currently, sleep restriction is the leading cause of low sleep time and is caused mainly by working conditions, social and domestic responsibilities, lifestyle (Banks and Dinges, 2007), and consumption of substances that enhance alertness (e.g., caffeine) (Watson et al., 2016).

Caffeine is the most consumed psychoactive substance worldwide (dePaula and Farah, 2019) and may reduce sleep time even at low doses (< 100 mg/day) (Adan et al., 2008). After absorption, it crosses the blood-brain barrier (Nehlig, 2018) and blocks adenosine receptors in the central nervous system (i.e., A1, A2a, A2b, and A3), mainly A1 and A2a (Fredholm Bertil B. et al., 1999; Caballero, 2003). Caffeine also increases dopaminergic receptor responses (Fredholm and Svenningsson, 2003), resulting in enhanced alertness stimulation and sleep reduction (Weibel et al., 2021).

Previous studies examined caffeine intake by considering dose, frequency, and time of consumption to assess and minimize the impact of caffeine on sleep time (Weibel et al., 2021). However, few studies gathered detailed information on caffeine consumption and sources (Watson et al., 2016) or assessed only caffeinated drinks (Brick et al., 2010; Lund et al., 2010; Regestein et al., 2010; Sanchez-Ortuno et al., 2005; Whittier et al., 2014; Zunhammer et al., 2014).

Therefore, this study aimed to assess the association between caffeine consumption and sleep time among Brazilian adults.

METHODOLOGY

CUME study

The Minas Gerais University Cohort (CUME) has assessed the impacts of dietary and nutritional patterns on chronic non-communicable diseases among undergraduates and graduates of different universities in the State of Minas Gerais (Brazil) since 2016 (Domingos et al., 2018). Data related to body weight, lifestyle, and health are collected every two years

using a self-reported electronic questionnaire. At baseline data collection (Q_0), participants invited by email who signed the informed consent form completed the questionnaire, which was divided into two stages. The first stage assessed demographic information, socioeconomic characteristics, lifestyle, and health conditions, whereas the second stage assessed food consumption using the Food Frequency Questionnaire (FFQ) and eating practices and habits.

The study was approved by the human research ethics committees of all participating institutions (UFMG: 07223812.3.3001.5153, UFV: 4483415.5.1001.5149, UFOP: 44483415.5.2003.5150, UFLA: 44483415.5.2002.5148, UFJF: 4483415.5.5133, UFVJM: 44483415.5.2005.5108, and UNIFAL: 44483415.5.2002.5148).

Study population

This cross-sectional study analyzed data from Q_0 of the CUME study collected in 2016, 2018, and 2020 from participants who adequately completed the FFQ ($n = 7,324$). Exclusion criteria comprised individuals aged over 59 years ($n = 158$), using tranquilizers and sleep-inducing drugs ($n = 289$), with total calorie intake < 500 kcal/day or $> 6,000$ kcal/day ($n = 235$) (Siqueira et al., 2018), pregnant women and women who had a child in the last year ($n = 276$), graduates of another nationality ($n = 26$), and Brazilians living abroad ($n = 273$). Thus, the final sample size consisted of 6,356 participants.

Outcome

We used the question number 40 of Q_0 to assess sleep time: "over the last 12 months, how much time on average per day did you dedicate to the following activities?" One of the activities was sleep time, and answers were collected in integer values (1 to 8 h or ≥ 9 h). Insufficient sleep was considered as < 7 hours, according to the National Sleep Foundation (Hirshkowitz et al., 2015).

Caffeine consumption

Habitual food consumption was estimated using the quantitative FFQ with 144 food items validated for this population (Azarias et al., 2021). A photo album was used with the questionnaire for better reliability of the portions consumed, and caffeine intake was estimated for each food using information from the United States Department of Agriculture Chart

(USDA, 2012). The effect of caloric intake on caffeine consumption was controlled by adjusting for total caloric intake using the residual method (WILLETT et al., 1997).

Covariates

Sociodemographic variables included sex (female or male), age (years), marital status (legally married/common-law marriage/other or single/separated/divorced), and occupational status (retired/unemployed, student, or full-time/part-time/informal job).

Regarding lifestyle, the consumption of alcoholic beverages (yes or no), smoking (smoker, never smoked, or former smoker), and physical activity (active, insufficiently active, or inactive) were assessed. Individuals who performed > 150 min/week of moderate-intensity activity or > 75 min/week of vigorous-intensity activity were considered active (World Health Organization, 2010). Screen time was obtained by adding up the hours allocated to using the computer and television and classified as low (< 3 h/day or < 21 h/week) or high ($\geq$ 3 h/day or $\geq$ 21 h/week) (Davies et al., 2012). Depression was self-reported (yes or no) and previously validated (Santos et al., 2021). Antidepressant drug use was also self-reported (yes or no).

Statistical analysis

The Shapiro-Wilk test verified data normality. Sociodemographic variables (sex, age, marital status, and occupational status), lifestyle (physical activity, screen time, alcohol consumption, and smoking), depression, and use of antidepressant drugs were described using absolute and relative frequency or median and interquartile range.

Pearson's chi-square test compared frequencies, while differences between two and three groups, respectively, were compared using Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis tests; the latter was followed by Dunn's post hoc test.

Poisson regression estimated the prevalence ratio (PR) and confidence intervals (95% CI) of the association between caffeine consumption and sleep time. The model was adjusted for sociodemographic and lifestyle variables (directed acyclic graph developed in the DAGitty system; Figure 1) and depression and antidepressant use due to associations with the dependent variable. In addition, a stepwise multiple regression (Willett W, 1998) was used to identify the main food items associated with caffeine consumption.

All analyses were performed using STATA software, version 13.0, with a significance level of 5%.

RESULTS

The mean caffeine intake was 68.9 ($\pm$ 62.8) mg/day, and mean sleep time was 6.9 ($\pm$ 1.0) h/day. Of the 6,356 individuals included in this study, 31.9% had insufficient sleep time. Of these, most were females, single/separated/divorced, and with full-time/part-time/informal jobs. Regarding lifestyle, sedentary individuals had less sleep time than those insufficiently active (25.7% vs. 18.9%; $p < 0.001$), with longer screen time, who consumed alcohol, and former smokers. Also, 42.7% of participants with insufficient sleep time had depression, and 5.7% were taking antidepressants (Table 1).

The characteristics associated with insufficient sleep time were also associated with the upper quartile of caffeine consumption (Table 2), except for depression (40.8%) and antidepressants (7.7%). In addition, coffee and soda (diet, light, or zero) were the most contributors to caffeine intake. Other food items that contributed to caffeine intake are listed in Table 3, in which food consumption explained 96% of the total variability of substance consumption.

Last, individuals in the upper quartile of caffeine consumption (93.0 to 570.8 mg/day) were more likely to present insufficient sleep (PR: 1.15, 95% CI: 1.04 - 1.26). The association remained statistically significant when the model was adjusted for depression and antidepressant use (Table 4).

DISCUSSION

In this study, higher caffeine consumption was independently associated with insufficient sleep time. For this, total caffeine intake was estimated using 144 food items from a validated FFQ (Azarias et al., 2021), allowing greater reliability of daily consumption than other studies that assessed intake using the number of daily cups (Filtness et al., 2020; Lund et al., 2010; Sanchez-Ortuno et al., 2005; Zunhammer et al., 2014) or a limited number of food items (Brick et al., 2010; Kerpershoek et al., 2018; Regestein et al., 2010; Zunhammer et al., 2014).

Our results corroborate previous studies reporting an inverse association between caffeine intake and sleep time (Adan et al., 2008; Drake et al., 2013; Halldorsson et al., 2021; Landolt et al., 1995; Riera-Sampol et al., 2022; Watson et al., 2016). Likewise, Riera-Sampol *et al.* (2022) showed that coffee contributed mostly to caffeine intake and females were more prone to higher caffeine consumption than males.

Caffeine consumption increases sleep latency time and reduces sleep efficiency, stage 4 sleep (Landolt et al., 1995), and delta spectral waves (Nunes et al., 2017). According to Halldorsson *et al.* (2021), even a low dose of caffeine (< 0.5 mg/kg) decreases sleep duration by 0.74 hours (95% CI: 0.65 - 0.84); all participants of the study had less than six hours of sleep time (Halldorsson et al., 2021).

Caffeine is the most consumed psychoactive substance worldwide (dePaula and Farah, 2019). It acts on adenosine receptor antagonists in the central nervous system, including A1 and A2a, capable of influencing sleep (Ribeiro and Sebastio, 2010). Variations in the adenosine gene (e.g., polymorphism ADORA2A 1976 T > C) may also decrease sleep quality due to the ability to attribute certain characteristics to individuals, such as sensitiveness (CC and CT) and insensitiveness (TT) to substance consumption. According to Cornelis *et al.* (2007), individuals with TT genotype may consume high caffeine amounts but are more likely to decrease caffeine intake over time (Cornelis et al., 2007). In our study, individuals had lower caffeine consumption than the average Brazilian population (Mendes et al., 2020); however, we did not include genetic assessments.

Also, the individual response to caffeine effects is greatly influenced by its pharmacokinetics via CYP2A2, which accounts for 90% of caffeine metabolization. Similarly, the CYP1A2 rs762551 polymorphism divides the population into fast (AA) and slow metabolizers (AC and CC) of caffeine (Denden et al., 2016). The latter has greater availability of caffeine due to reduced enzymatic activity (Sachse et al., 1999), and consequently, the negative effects are easily felt (Ogawa and Ueki, 2007). Although the lowest quartile was not statistically significant, this characteristic presents potential similarity with the present study since a higher chance of insufficient sleep time was observed even at low caffeine doses.

Although a small portion of individuals with depression presented insufficient sleep, this clinical condition is associated with changes in sleep time and efficiency (e.g., rapid eye movement, non-rapid eye movement, and impaired sleep permanence). In contrast, studies conducted with this population suggest a potential protective factor of caffeine (Grosso et al., 2016; Kim and Kim, 2018; Wang et al., 2016) due to its non-selective action on adenosine receptors and reduced dopamine depletion (López-Cruz et al., 2018). Nevertheless, although not statistically significant, individuals with depression were prevalent users of the substance.

Our study has limitations. First, the timing of consumption of caffeine-containing foods was not analyzed, and the period between consumption and time before bedtime influences sleep quality (Drake et al., 2013). Second, the genotype was not assessed in our sample. Genetic

variability affects the availability of caffeine and its pharmacokinetic and pharmacodynamic effects, critically influencing consumption levels (Nehlig, 2018). Thus, we believe genetic information may explain the effects of caffeine consumption in our study since participants were below national averages (Mendes et al., 2020).

Nevertheless, some points must be highlighted. We aimed to assess the association between caffeine consumption and sleep. Thus, instead of considering just one set of caffeinated drinks, we used more than 100 food items from a previously validated questionnaire to represent a more realistic consumption (Azarias et al., 2021). Also, the population studied allowed using detailed questions, which improved the reliability of answers. Studies with a population of high educational levels have shown reliable results (Seguí-Gómez et al., 2006).

CONCLUSION

Caffeine consumption was associated with shorter sleep time in highly educated Brazilians. Individual strategies should be encouraged to minimize the effects and consequences of low sleep time, such as sleep hygiene and adequate volume and timing of caffeine consumption. Future studies are also needed to investigate the genetic factors involved in the interindividual response of the studied population.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge all the participants of the summit project, without whom this research would not be possible. This study was partially funded by the Coordenação De Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Financial code 001. J Bressan, HHM Hermsdorff, and AM Pimenta are CNPq research productivity fellows. Funders had no role in study design, data collection, data analysis, publication decision, or preparation of the article.

DECLARATION OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Carolynne M. Teixeira: <https://orcid.org/0000-0002-8418-5051>

Josefina Bressan: <https://orcid.org/0000-0002-4993-9436>

Helen H. M. Hermsdorff: <https://orcid.org/0000-0002-4441-6572>

Arieta C. G. Leal: <https://orcid.org/0000-0003-3113-8590>

Adriano M. Pimenta: <https://orcid.org/0000-0001-7049-7575>

Sarah A. V. Ribeiro: <https://orcid.org/0000-0002-0304-2711>

Leidjaira J. Lopes: <https://orcid.org/0000-0001-8012-6006>

REFERENCES

Adan A, Prat G, Fabbri M, et al. 2008. Early effects of caffeinated and decaffeinated coffee on subjective state and gender differences. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 32:1698-1703.

Azarias HG de A, Marques-Rocha JL, Miranda AE da S, et al. 2021. Online Food Frequency Questionnaire From the Cohort of Universities of Minas Gerais (CUME Project, Brazil): Construction, Validity, and Reproducibility. *Front Nutr*. 8:709915.

Banks S and Dinges DF, 2007. Behavioral and Physiological Consequences of Sleep Restriction. *J Clin Sleep* 3:519-528.

Brick CA, Seely DL and Palermo TM. 2010. Association Between Sleep Hygiene and Sleep Quality in Medical Students. *Behav Sleep Med*. 8:113-121.

Caballero B, Finglas P, Toldra F. 2003. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Cambridge: Academic Press.

Cornelis MC, El-Sohemy A and Campos H. 2007. Genetic polymorphism of the adenosine A2A receptor is associated with habitual caffeine consumption. *Am J Clin Nutr*. 86:240–244.

- Davies CA, Vandelandotte C, Duncan MJ, et al. 2012. Associations of physical activity and screen-time on health related quality of life in adults. *Prev Med.* 55:46–49.
- Denden S, Bouden B, Haj Khelil A, et al. 2016. Gender and ethnicity modify the association between the CYP1A2 rs762551 polymorphism and habitual coffee intake: evidence from a meta-analysis. *Genet Mol Res.* 15:10.4238.
- dePaula J and Farah A. 2019. Caffeine Consumption through Coffee: Content in the Beverage, Metabolism, Health Benefits and Risks. *Beverages.* 5:37.
- Domingos ALG, da Silva Miranda AE, Pimenta AM, et al. 2018. Cohort Profile: The Cohort of Universities of Minas Gerais (CUME). *Int J Epidemiol.* 47:1743-1744H.
- Drake C, Roehrs T, Shambroom J, et al. 2013. Caffeine Effects on Sleep Taken 0, 3, or 6 Hours before Going to Bed. *J Clin Sleep Med.* 9:1195-200.
- Filtiness AJ, Hickman JS, Mabry JE, et al. 2020. Associations between high caffeine consumption, driving safety indicators, sleep and health behaviours in truck drivers. *Safety Science.* 126:104664.
- Fredholm BB and Svenningsson P. 2003. Adenosine-dopamine interactions: Development of a concept and some comments on therapeutic possibilities. *Neurology.* 61:S5-S9.
- Fredholm Bertil B., Bättig Karl, Holmén Janet, et al. 1999. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Reviews.* 51(1): 83–133.
- Grosso G, Micek A, Castellano S, et al. 2016. Coffee, tea, caffeine and risk of depression: A systematic review and dose-response meta-analysis of observational studies. *Mol Nutr Food Res.* 60(1): 223–234.

- Halldorsson TI, Kristjansson AL, Thorisdottir I, et al. 2021. Caffeine exposure from beverages and its association with self-reported sleep duration and quality in a large sample of Icelandic adolescents. *Food Chem Toxicol.* 157: 112549.
- Han M, Yuan S and Zhang J. 2022. The interplay between sleep and gut microbiota. *Brain Res Bull.* 180:131–146.
- Hirshkowitz M, Whiton K, Albert SM, et al. 2015. National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. *Sleep Health.* 1: 40–43.
- Hublin C, Haasio L and Kaprio J. 2020. Changes in self-reported sleep duration with age - a 36-year longitudinal study of Finnish adults. *BMC Public health.* 20:1373.
- Kerpershoek ML, Antypa N and van den Berg JF. 2018. Evening use of caffeine moderates the relationship between caffeine consumption and subjective sleep quality in students. *J Sleep Res.* 27:e12670
- Kim Jiwon and Kim Jihye. 2018. Green Tea, Coffee, and Caffeine Consumption Are Inversely Associated with Self-Report Lifetime Depression in the Korean Population. *Nutrients.* 10:1201
- Landolt H, Dijk DJ, Gaus SE, et al. 1995. Caffeine Reduces Low-Frequency Delta Activity in the Human Sleep EEG. *Neuropsychopharmacology.* 12: 229–238.
- López-Cruz L, Salamone JD and Correa M 2018. Caffeine and Selective Adenosine Receptor Antagonists as New Therapeutic Tools for the Motivational Symptoms of Depression. *Front in Pharmacol.* 9:526.
- Lund HG, Reider BD, Whiting AB, et al. 2010. Sleep patterns and predictors of disturbed sleep in a large population of college students. *J Adolesc Health.* 46:124–132.

- Mendes GF, Reis CEG, Nakano EY, et al. 2020. Translation and Validation of the Caffeine Expectancy Questionnaire in Brazil (CaffEQ-BR). *Nutrients*. 12:1–19.
- Nehlig A 2018. Interindividual Differences in Caffeine Metabolism and Factors Driving Caffeine Consumption. *Pharmacol Ver*. 70(2): 384–411.
- Nunes RA, Mazzotti DR, Hirotsu C, et al. 2017. The association between caffeine consumption and objective sleep variables is dependent on ADORA2A c.1083T>C genotypes. *Sleep Medicine*. 30: 210–215.
- Ogawa N and Ueki H. 2007. Clinical importance of caffeine dependence and abuse. *Psychiatry Clin Neurosci* 61:263–268.
- Regestein Q, Natarajan V, Pavlova M, et al. 2010. Sleep debt and depression in female college students. *Psychiatry Res*. 176:34–39.
- Ribeiro JA and Sebastiao AM 2010. Caffeine and adenosine. *J Alzheimers Dis*. 20:S3-S15.
- Riera-Sampol A, Rodas L, Martínez S, et al. 2022. Caffeine Intake among Undergraduate Students: Sex Differences, Sources, Motivations, and Associations with Smoking Status and Self-Reported Sleep Quality. *Nutrients*. 14:1661.
- Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, et al. 1999. Functional significance of a C→A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol*. 47:445.
- Sanchez-Ortuno M, Moore N, Taillard J, et al. 2005. Sleep duration and caffeine consumption in a French middle-aged working population. *Sleep Med*. 6:247–251.
- Santos BF, Oliveira HN, Miranda AES, et al. 2021. Research quality assessment: Reliability and validation of the self-reported diagnosis of depression for participants of the Cohort

of Universities of Minas Gerais (CUME project). *J Affective Disorders Reports* 6:100238.

Seguí-Gómez M, Fuente C de la, Vázquez Z, et al. 2006. Cohort profile: The ‘Seguimiento Universidad de Navarra’ (SUN) study. *Int J Epidemiol.* 35:1417–1422.

Siqueira JH, Mill JG, Velasquez-Melendez G, et al. 2018. Sugar-Sweetened Soft Drinks and Fructose Consumption Are Associated with Hyperuricemia: Cross-Sectional Analysis from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Nutrients.* 10:981.

United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service 2012. *Nutritive Value of Foods.* United States Department of Agriculture.

Wang L, Shen X, Wu Y, et al. 2016. Coffee and caffeine consumption and depression: A meta-analysis of observational studies. *Aust N Z J Psychiatry.* 50:228–242.

Watson EJ, Coates AM, Kohler M, et al. 2016. Caffeine Consumption and Sleep Quality in Australian Adults. *Nutrients.* 8:479.

Weibel J, Lin YS, Landolt HP, et al. 2021. The impact of daily caffeine intake on nighttime sleep in young adult men. *Sci Rep.* 11:4668.

Whittier A, Sanchez S, Castañeda B, et al. 2014. Eveningness Chronotype, Daytime Sleepiness, Caffeine Consumption, and Use of Other Stimulants Among Peruvian University Students. *J Caffeine Res.* 4:21-27.

Willett W (1998) *Nutritional Epidemiology.* New York: Oxford University Press.

Willett WC, Howe GR and Kushi LH. 1997. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr.* 65:1220S-1228S.

World Health Organization. 2010. Global recommendations on physical activity for health.

World Health Organization.

Zunhammer M, Eichhammer P and Busch V. 2014. Sleep Quality during Exam Stress: The Role of Alcohol, Caffeine and Nicotine. PLOS ONE. 9:e109490.

Table 1. Sociodemographic and lifestyle characteristics according to sleep time - CUME study (2016-2020, n = 6,356)

Variables	Sleep		<i>p-value*</i>
	Insufficient (< 7 hours) 2,025 (31.9)	Sufficient (≥ 7 hours) 4,331 (68.1)	
Age (years)**	34 (29 – 41)	32 (28 – 39)	< 0.001
Sex			
Female	1,298 (64.1)	2,998 (69.2)	< 0.001
Male	727 (35.9)	1,333 (30.8)	
Marital status			0.076
Legally married/common-law marriage/other	981 (48.4)	1,995 (46.1)	
Single/Separated/Divorced	1,044 (51.6)	2,336 (53.9)	
Occupational status			< 0.001
Full-time/part-time/informal job	1,571 (77.6)	3,110 (71.8)	
Student	319 (15.7)	797 (18.4)	
Retired/unemployed	135 (6.7)	424 (9.8)	
Physical activity			< 0.001
Active	1,122 (55.4)	2,527 (58.4)	
Insufficiently active	382 (18.9)	881 (20.3)	
Sedentary	521 (25.7)	923 (21.3)	
Screen time			< 0.001
< 3 hours	684 (33.8)	339 (7.8)	
≥ 3 hours	1,341 (66.2)	3,992 (92.2)	
Alcohol consumption			0.079
Yes	1,471 (72.6)	3,236 (74.7)	
No	554 (27.4)	1,095 (25.3)	
Smoking			0.015
Smoker	265 (13.1)	460 (10.6)	
Former smoker	1,586 (78.3)	3,500 (80.8)	
Never smoked	174 (8.6)	371 (8.6)	
Depression			0.024
Yes	865 (42.7)	1,721 (39.7)	
No	1,160 (57.3)	2,610 (60.3)	
Antidepressants			< 0.001
Yes	116 (5.7)	361 (8.3)	
No	1,909 (94.3)	3,970 (91.7)	

* *p-value* for Pearson's chi-square test.** *p-value* for Mann Whitney U test; data are shown as median and interquartile range.

Table 2. Sociodemographic and lifestyle characteristics according to caffeine intake - CUME study (2016-2020, n = 6,356)

Variables	Caffeine (mg/day)				<i>p-value</i> *
	Q1 (0 – 27.2)	Q2 (27.3 – 53.8)	Q3 (53.9 – 92.9)	Q4 (93.0 – 570.8)	
Age (years)**	31 (27 – 37) ^a	32 (28 – 39) ^b	34 (29 – 41) ^c	35 (29 – 41) ^d	0.001
Sex					<0.001
Female	1,111 (69.4)	1,170 (74.1)	1,093 (68.4)	922 (58.4)	
Male	491 (30.6)	408 (25.9)	504 (31.6)	657 (41.6)	
Marital status					<0.001
Legally married/common-law marriage/other	670 (41.8)	744 (47.1)	793 (49.7)	769 (48.7)	
Single/Separated/Divorced	932 (58.2)	834 (52.9)	804 (50.3)	810 (51.3)	
Occupational status					0.001
Full-time/part-time/informal job	1,111 (69.3)	1,178 (74.6)	1,204 (75.4)	1,188 (75.2)	
Student	323 (20.2)	255 (16.2)	268 (16.8)	270 (17.1)	
Retired/unemployed	168 (10.5)	145 (9.2)	125 (7.8)	121 (7.7)	
Physical activity					0.305
Active	905 (56.5)	884 (56.0)	952 (59.6)	908 (57.5)	
Insufficiently active	323 (20.2)	336 (21.3)	305 (19.1)	299 (18.9)	
Sedentary	374 (23.3)	358 (22.7)	340 (21.3)	372 (23.6)	
Screen time					0.001
< 3 hours	239 (14.9)	226 (14.3)	256 (16.0)	302 (19.1)	
≥ 3 hours	1,363 (85.1)	1,352 (85.7)	1,341 (84.0)	1,277 (80.9)	
Alcohol consumption					<0.001
Yes	1,018 (63.5)	1,161 (73.6)	1,265 (79.2)	1,263 (80.0)	
No	584 (36.5)	417 (26.4)	332 (20.8)	316 (20.0)	
Smoking					<0.001
Smoker	111 (6.9)	147 (9.3)	207 (13.0)	260 (16.5)	
Former smoker	1,392 (86.9)	1,326 (84.0)	1,247 (78.1)	1,121 (71.0)	
Never smoked	99 (6.2)	105 (6.7)	143 (8.9)	198 (12.5)	
Depression					0.897
Yes	639 (39.9)	647 (41.0)	656 (41.1)	644 (40.8)	
No	963 (60.1)	931 (59.0)	941 (58.9)	935 (59.2)	
Antidepressants					0.850
Yes	126 (7.9)	117 (7.4)	113 (7.1)	121 (7.7)	
No	1,476 (92.1)	1,461 (92.6)	1,484 (92.9)	1,458 (92.3)	

* *p-value* for Pearson's chi-square test.** *p-value* for Kruskal-Wallis with Dunn's post hoc; data are shown as median and interquartile range.

Different letters indicate statistically different medians according to Dunn's post hoc test.

Table 3. Foods that contributed to caffeine intake (mg/day) among participants - CUME study (2016-2020, n = 6,356)

Food	Accumulated R²*
Coffee	0.92
Diet/light/zero soda	0.94
<i>Chimarrão</i>	0.95
Soft drinks	0.95
Dark Chocolate	0.95
Mate/black tea	0.95
Tropical fruits	0.96
Cereal bar	0.96
White/green tea	0.96
Beer	0.96
Chocolate milk	0.96
Industrialized fruit juice	0.96
Alcoholic beverages	0.96
Breakfast Cereal	0.96
Sweets	0.96
Milk Chocolate	0.96

* Cumulative R² adjusted by stepwise linear regression.

Table 4. Prevalence ratio and 95% confidence intervals for the association between sleep and caffeine intake among participants in the CUME study (2016-2020, n = 6,356).

Variables	Quartiles of caffeine consumption (mg/day)				p-trend
	Q1 (0 – 27.2)	Q2 (27.3 – 53.8)	Q3 (53.9 – 92.9)	Q4 (93.0 – 570.8)	
Raw model					
Sleep PR (95% CI)	1 (Ref.)	0.97 (0.87 – 1.08)	1.05 (0.94 – 1.16)	1.25 (1.13 – 1.38)	<0.001
Model 1					
Sleep PR (95% CI)	1 (Ref.)	0.97 (0.87 – 1.07)	1.02 (0.92 – 1.13)	1.15 (1.04 – 1.26)	0.002
Model 2					
Sleep PR (95% CI)	1 (Ref.)	0.97 (0.87 – 1.07)	1.02 (0.92 – 1.12)	1.15 (1.04 – 1.26)	0.002

PR: prevalence ratio; 95%CI: 95% confidence interval; Ref.: reference

Model 1: adjusted for gender, age, marital status, occupational status, physical activity, alcohol consumption, and smoking

Model 2: adjusted for model 1 depression and antidepressant.

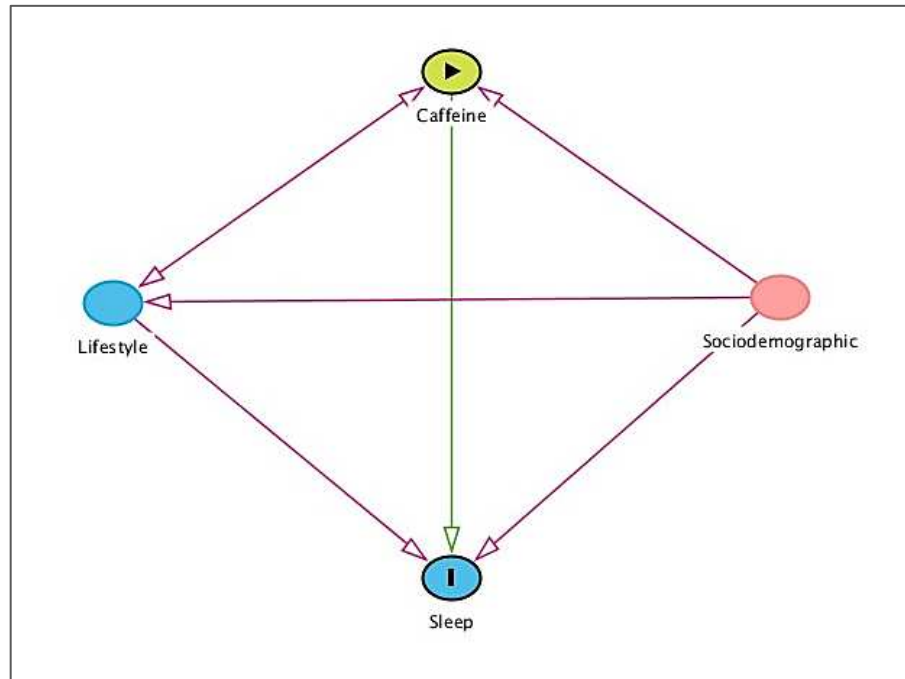


Figure 1. Acyclic graph illustrating the association between caffeine intake and sleep time.

Sociodemographic data: gender, age, marital status, and occupational status;
lifestyle: physical activity, alcohol consumption, and smoking.

APÊNDICE F – Artigo produzido durante o mestrado II

Lipid accumulation product as an insulin resistance indicator in individuals with cardiometabolic risk (PROCARDIO study)

Nathallia Maria Cotta e Oliveira^{a*}, Carolynne Martins Teixeira^{a*}, Karla Pereira Balbino, Leidjaira Juvanhol Lopes^a, Helen Hermana Miranda Hermsdorff

^a Laboratory of Energy Metabolism and Body Composition, Department of Nutrition and Health, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

^b Institute of Public Policies and Sustainable Development, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

** These authors worked equally on this paper.*

Corresponding author:

HHM Hermsdorff, Laboratory of Energy Metabolism and Body Composition, Department of Nutrition and Health, Federal University of Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/n – UFV Campus, Zip code: 36570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. Phone: (31) 3612-5195, e-mail: helenhermana@ufv.br

Artigo produzido durante a participação do PROCARDIO-UFV, a ser submetido na revista *Journal of the American Nutrition Association* (fator de impacto 3,571)

ABSTRACT

Objectives: To determine the diagnostic accuracy for IR of different adiposity-related markers in individuals with cardiometabolic risk.

Methods: This cross-sectional study included 125 individuals with cardiometabolic risk from the Cardiovascular Health Care Program of the Federal University of Viçosa (PROCARDIO-UFV). IR was defined with a value of homeostasis model assessment of IR (HOMA-IR) > 3.11 (75 percentile). Weight, height, and waist circumference (WC) were measured, and Lipid Accumulation Product (LAP), visceral adiposity index (VAI), and body mass index (BMI) were calculated. A directed acyclic graph developed using the DAGitty system identified confounding factors. The receiver operating characteristic curve analysis was used to discriminate IR.

Results: LAP showed the highest diagnostic accuracy among the adiposity-related markers (area under the curve [AUC] 0.740, confidence interval of 95% [CI95%]: 0.643 to 0.837), followed by BMI (0.732, 0.641 to 0.823), and WC (0.729, 0.634 to 0.823). Cutoff points for LAP, BMI, and WC to identify IR were 48.8 (sensitivity [S] = 87.1%, specificity [E] = 57.4), 28.9 kg/m² (S = 74.2%, E = 61.7%) and 97.5 cm (S = 74.2%, E = 62.8%), respectively.

Conclusion: LAP, BMI, and WC showed diagnostic accuracy for IR in individuals with cardiometabolic risk, with greater sensitivity for LAP. Although further studies are needed, a promising application of this indicator in clinical practice is suggested.

Keywords: Lipid accumulation product; visceral adiposity index; body mass index; waist circumference; insulin resistance.

Introduction

Insulin resistance (IR) is an early type 2 diabetes mellitus (T2DM) predictor (1). The homeostasis model assessment of IR (HOMA-IR) is an IR indicator and a T2DM predictor which requires a single measurement of fasting blood glucose and serum insulin (2).

Adipose tissue regulates glucose metabolism (3,4). However, excessive fat accumulation, especially in the abdominal region, is an independent risk factor for metabolic disorders involving glucose metabolism (5,6). The increased production of adipokines leads to chronic subclinical inflammation, IR, and T2DM (7–9).

Abdominal or body fat can be estimated by measuring waist circumference (WC) or using anthropometric indexes, such as the Body Mass Index (BMI). However, these measurements provide limited information on fat distribution (10,11). Although Magnetic Resonance Imaging (MRI) and Computed Tomography (CT) are the gold standards for measuring visceral fat (12), they are costly and not accessible in clinical practice and epidemiological studies (13).

In this context, developed the Visceral Adiposity Index (VAI) (14). VAI is a simple sex-specific adiposity-related marker that uses anthropometric indexes (WC and BMI) and metabolic markers (triglycerides [TG] and high-density lipoprotein [HDL]) to estimate dysfunctions in the visceral adipose tissue. VAI is strongly correlated with visceral adiposity measured by MRI and may also detect IR and cardiometabolic risk (14–16).

Lipid Accumulation Product (LAP) is another simple and low-cost marker using an anthropometric index (WC) and a metabolic marker (TG). LAP was suggested as a central adiposity indicator, possibly identifying diabetes better than BMI in adults (17).

Recent studies have investigated the relationship between VAI and LAP and IR and metabolic diseases (16,18–23). However, evidence is limited about whether VAI and LAP present more clinical usefulness than traditional IR indicators (BMI and WC). Thus, this study aimed to determine the diagnostic accuracy of adiposity-related markers for IR in individuals with cardiometabolic risk and their cutoff points.

Methods

The Cardiovascular Health Care Program of the Federal University of Viçosa (PROCARDIO-UFV) study

The PROCARDIO-UFV is a nutritional intervention study aiming to promote cardiovascular health registered in the Brazilian registry of clinical trials (ReBEC: RBR-5n4y2g). The inclusion criteria for the clinical trial were already described (24) and encompassed individuals older than 20 years presenting cardiovascular disease or one or more cardiometabolic risk factors, such as dyslipidemia (TG $\geq$ 150 mg/dL, total cholesterol [TC] $\geq$ 200 mg/dL, and HDL $<$ 40 [men] and $<$ 50 [women] mg/dL), pre or arterial hypertension ($\geq$ 130/85 mmHg), high fasting blood glucose ($\geq$ 100 mg/dL), T2DM, or BMI $\geq$ 25 kg/m² associated to one or more mentioned criteria.

This study was approved by the human research ethics committee of the Federal University of Viçosa (registry no. 066/2012/HRECs), according to resolution 466/2012 of the National Health Council. All individuals read and signed the informed consent form.

Participants

This cross-sectional study included 125 individuals from PROCARDIO-UFV between March 2012 and July 2019. Participants provided data on fasting blood glucose, fasting insulin, TG, HDL, weight, height, and WC in the first appointment (baseline).

Outcome

HOMA-IR was calculated using the formula: $\text{HOMA-IR} = \text{fasting insulin (mU/L)} \times \text{fasting blood glucose (mmol/L)} / 22.5$. To convert glucose values from mg/dL to mmol/L, we used the 0.05551 factor. IR was defined by HOMA-IR values greater than ≥ 3.11 (75 percentile in the study sample).

Anthropometric and biochemical assessments

BMI was calculated using body weight (kg) and height (m). Overweight was considered as BMI $\geq$ 25 kg/m² for adults and BMI $\geq$ 28 kg/m² for older adults (25,26). WC was measured above the umbilical scar. Values $\geq$ 80 cm for women and $\geq$ 90 cm for men were considered high (27). The waist-to-height ratio was calculated using WC (cm) / height (cm).

The measurements of fasting blood glucose, insulin, TG, TC, HDL, and LDL concentrations were performed at the Clinical Analysis Laboratory of the Federal University of Viçosa, according to standardized protocols.

VAI and LAP

The VAI was calculated according to the formula proposed by Amato et al. (2010) and the LAP by the formula proposed by Kahn et al. (2006), as follows:

$$\text{VAI women: } \frac{WC}{36.58 + (1.89 \times BMI)} \times \frac{TG}{0.81} \times \frac{1.52}{HDL}$$

$$\text{VAI men: } \frac{WC}{39.68 + (1.88 \times BMI)} \times \frac{TG}{1.03} \times \frac{1.31}{HDL}$$

$$\text{LAP women: } (WC [cm] - 58) \times (TG [mmol/L])$$

$$\text{LAP men: } (WC [cm] - 65) \times (TG [mmol/L])$$

Individuals with high VAI and LAP were those with values greater than 3.22 and 82.88, respectively, corresponding to the 75 percentile value in the study sample

Other variables

Data on sex, age, physical activity, alcohol consumption, and smoking were collected during interviews.

Systolic and diastolic blood pressure (29,30) were measured using a sphygmomanometer (Missouri, São Paulo, Brazil), with approximately 2 mmHg (30). Values $\geq 140/90$ mmHg indicated hypertension (30).

Caloric intake was estimated using the 24-hour dietary recall, applied using the multiple-step method (31). The nutritional composition and caloric intake were estimated using the DietPRO software (version 5.8) based on the Brazilian Food Composition Table (32).

Statistical analysis

Data normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. Categorical variables were presented as absolute and relative frequencies. Continuous variables were presented as mean and standard deviation or median and interquartile range.

Pearson's chi-square was used to assess the association between categorical variables, and Student's t-test or Mann-Whitney test was used to compare groups, when appropriate. The

correlation between adiposity indicators (BMI, WC, VAI, LAP) and IR was assessed by Spearman's correlation coefficient.

The association between the investigated adiposity indicators and IR was tested by Logistic Regression, and the results were expressed as Odds Ratio and their respective confidence intervals. The model was adjusted for confounding factors identified by a directed acyclic graph (DAG) (Figure 1), prepared in the DAGitty program (<http://www.dagitty.net/>). ROC (Receiver Operating Characteristic) curve analysis was performed to identify the discriminatory ability of adiposity indicators and compare the diagnostic performance of VAI and LAP in relation to BMI and WC. Furthermore, sensitivity (S), specificity (E), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and the Youden Index were estimated. The cutoff point for IR was identified at the point equivalent to the best balance between sensitivity and specificity values.

Statistical analyzes were performed using STATA® software version 13.0 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA) and SPSS® version 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM, Chicago, IL), adopting statistical significance (α) of 5%.

Results

Of the 125 individuals, 60.8% were female. The average age found was 43.9 (± 16.1) years, BMI 29.2 (± 5.3) kg/m², and WC 97.1 (± 14.4) cm. Of the sample, 24.8% and 25.6% had high VAI and LAP values, respectively. The prevalence of obesity was 40.8% and DM2 29.8% (Data not shown in table), and 24.8% were diagnosed with IR (Table 1).

Correlation analysis indicated a moderate positive relationship between IR and BMI ($r_s = 0.549$; $p < 0.001$), WC ($r_s = 0.511$; $p < 0.001$), and LAP ($r_s = 0.457$; $p < 0.001$), and weaker with the VAI ($r_s = 0.227$; $p = 0.002$) (Table 2). After adjusting the model for the covariates, logistic regression showed that individuals with obesity and high waist circumference had 3.57 (1.40 – 9.12) and 7.92 (1.42 – 44.17), respectively, times more risk of IR. As for VAI and LAP, those with high values were strongly associated with a higher risk of IR when compared to individuals with normal values, however, these results were not statistically significant (Table 3)

Finally, the results of the ROC curves are shown in Figure 2. The LAP was the indicator with the best diagnostic capacity, showing the largest area under the curve (AUC: 0.740 [0.643–0.837]; $p < 0.001$), followed by BMI (AUC: 0.732 [0.641–0.823]; $p < 0.001$) and WC (AUC: 0.729 [0.634–0.823]; $p < 0.001$) in the study sample. On the other hand, the lowest AUC found was for VAI (AUC: 0.661 [0.549–0.774]; $p = 0.007$). The cutoff point for the LAP to identify IR

in the sample was 48.8 ($S = 87.1\%$, $E = 57.4\%$; $PPV = 0.37$; $NPV = 0.20$; $IY = 0.445$) and the VAI was 2.3 ($S = 64.4\%$, $E = 60.6\%$; $PPV = 0.38$; $NPV = 0.78$; $IY = 0.251$). As for BMI and WC, the cutoff point was 28.9 kg/m² ($S = 74.2\%$, $E = 61.7\%$; $PPV = 0.37$; $NPV = 0.83$; $IY = 0.359$) and 97.5 cm ($S = 74.2\%$, $E = 62.8\%$; $PPV = 0.29$; $NPV = 0.92$; $IY = 0.370$), respectively.

Discussion

The relationship between adiposity and IR has been described in the literature (28,33). In this sense, several studies have been investigating the ability of different indicators of body adiposity, including BMI, WC, VAI, and LAP to discriminate IR, as well as which of them are better able to identify this clinical condition (15,34–38). In the present study, the LAP index showed the highest diagnostic capacity for IR and greater sensitivity than traditional adiposity indicators (BMI and WC). To the best of our knowledge, this is the first study that investigated the ability of different adiposity indicators to discriminate IR in a population at cardiometabolic risk.

LAP is a central adiposity marker and was proposed as a simple and inexpensive index capable of estimating metabolic risk in adults (17,39). A previous study conducted with American adults from the National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES), which investigated the usefulness of different indices, including the VAI and LAP to identify IR, found AUC values for the LAP and VAI of (0.810 [0.788–0.831]) and (0.750 [0.727–0.775]), respectively, suggesting that the LAP has a better ability than the VAI to predict IR (34). On the other hand, another study with adults without diabetes found a similar ability of the LAP and VAI indices (AUC: 0.761 and AUC: 0.743, respectively) (40). In addition, Anoop S. et al., (2021) reported that the LAP is a potential index for predicting IR in normoglycemic, non-obese adult men. In contrast, another study identified a lower ability of the LAP to predict IR in adults of both sexes (AUC: 0.689 [0.665–0.714]). However, in the analysis stratified by sex, the LAP index showed a better ability among men (AUC: 0.759 [0.728–0.791]) (37,38). Regarding the LAP cutoff point for diagnosing IR, our study established that values ≥ 48.8 are capable of diagnosing IR with high sensitivity, however, values lower than ours were established by Anoop S. et al. (2021) and Lee et al. (2021) (≥ 33.4 and ≥ 42.5 , respectively). The LAP index has a strong association with abdominal obesity, which results in chronic low-grade inflammation, which appears to be involved in impaired insulin signaling, with consequent IR (28,33,41).

In turn, although the traditional indicators of adiposity, BMI and WC, only reflect body adiposity (42), the present study showed that these indicators also can identify individuals with IR. However, the accuracy of these traditional indicators was not better than that of the LAP index. Thus, the ideal cutoff points established in our study for BMI and WC were 28.9 kg/m² and 97.5 cm, respectively. Similarly, a previous study with elderly individuals showed that LAP has a better ability to discriminate IR when compared to BMI and WC (43). In this sense, it is suggested that BMI, WC and LAP can be considered alternative markers to identify individuals with IR in clinical practice.

On the other hand, VAI, proposed by Amato et al. (2010) to evaluate the distribution and function of adipose tissue, as well as insulin sensitivity, presented in the present study a lower accuracy to identify IR, when compared to the other investigated indicators. Similarly, other studies have identified a lower ability of the VAI index to identify individuals with IR (15,37). However, in other studies VAI AUC values were relatively higher (0.700 [0.594-0.806]) (35), (0.743) (40) and (0.750 [0.727-0.775]) (35), suggesting a better ability of this index to discriminate this clinical condition. This variation found in the ability of the VAI to discriminate IR between studies may be related to the heterogeneity of the clinical characteristics of the study population and/or the HOMA-IR cutoff point used for its definition. Regarding the VAI cutoff point, our study established that values ≥ 2.3 are capable of identifying individuals with IR. Similarly, Pekgor et al. (2019) identified that values greater than 2.31 predict the presence of this condition in overweight individuals, however, Bermúdez et al., (2021) established a lower value (1.7).

Our study has strengths. Considering the good results found for the LAP, and that the metabolic markers, TG and HDL, are low cost and easily available in clinical practice, and given the simplicity of measuring the WP and calculating the BMI and LAP indices, our study showed that these adiposity indicators can be used as alternative markers to identify individuals with IR in a population with cardiometabolic risk when fasting insulin and/or HOMA-IR are not available. Identifying IR is of paramount importance for establishing an effective treatment capable of reducing complications related to glucose disorders and the development of DM2.

Finally, the results of our study should be interpreted with caution due to some limitations. First, our study used cross-sectional data, which does not allow us to establish a cause-and-effect relationship between LAP, BMI and WC, and IR. Thus, longitudinal studies are needed to better establish the relationship between these indicators and IR. Second, IR was not determined by the gold standard method, the hyperinsulinemic-euglycemic clamp, although HOMA-IR was used, a robust surrogate marker to define IR, which presents a good correlation

with the clamp (44) and has been extensively studied in the literature (2). Third, different HOMA-IR values to define IR were used in the studies analyzed for the discussion, which may compromise the comparison of results.

In conclusion, the present study supports the use of some adiposity indicators to identify individuals with IR in clinical practice, with emphasis on the LAP index, which shows a good ability to discriminate IR in adult and elderly individuals with cardiometabolic, than traditional indicators (BMI and WC). Although further studies are needed, our result suggests a promising application of this indicator in clinical practice

Acknowledges

We thank CAPES for supporting the postgraduate scholarships of Nathallia Maria Cotta e Oliveira and Carolynne Martins Teixeira. Also, we thank the individuals from PROCARDIO-UFV for participating in the study and the professionals for their excellent technical assistance.

Disclosure statement

The authors declare no conflict of interest.

Author contribution

Research design: Oliveira NMC, Teixeira CM, Balbino KP, Lopes LJ, Hermsdorff HHM. Data analysis and interpretation: Oliveira NMC, Teixeira CM, Balbino KP, Lopes LJ, Hermsdorff HHM.

Manuscript writing: Oliveira NMC, Teixeira CM.

Manuscript review: Oliveira NMC, Teixeira CM, Balbino KP, Lopes LJ e Hermsdorff HHM.

Funding

This study was financed by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), grant nº 001. HHM Hermsdorff is supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, process nº 308772/2017-2).

References

1. Taylor R. Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2012;61:778. doi: 10.2337/DB12-0073.
2. Horáková D, Štěpánek L, Janout V, Janoutová J, Pastucha D, Kollárová H, Petráková A, Štěpánek L, Husár R, Martiník K. Optimal Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) Cut-Offs: A Cross-Sectional Study in the Czech Population. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 55:158. doi: 10.3390/MEDICINA55050158.
3. Luo L, Liu M. Adipose tissue in control of metabolism. *J Endocrinol*. 2016;231:R77–R99. doi: 10.1530/JOE-16-0211.
4. Shahed-Morshed MD, Haq T, Fariduddin MD, Parveen S, Ayub T, Mahbub N, Hasanat MA. The Association of Visceral Adiposity Index with Insulin Resistance in Adults with Prediabetes. *Open J Endocr Metab Dis*. 2021;11:12–23. doi: 10.4236/OJEMD.2021.111002.
5. Hermsdorff HHM, Zulet MÁ, Bressan J, Martínez JA. Efecto de la dieta en la inflamación crónica y de bajo grado relacionada con la obesidad y el síndrome metabólico. *Endocrinología y Nutrición*. 2008;55(9):409–419. doi: 10.1016/S1575-0922(08)75078-2.
6. Jabłonowska-Lietz B, Wrzosek M, Włodarczyk M, Nowicka G. New indexes of body fat distribution, visceral adiposity index, body adiposity index, waist-to-height ratio, and metabolic disturbances in the obese. *Kardiol Pol*. 2017;75(11):1185–1191. doi: 10.5603/KP.A2017.0149.
7. Hermsdorff HHM, Zulet MÁ, Puchau B, Martínez JA. Fruit and vegetable consumption and proinflammatory gene expression from peripheral blood mononuclear cells in young adults: a translational study. *Nutr Metab (Lond)*. 2010;7:42. doi: 10.1186/1743-7075-7-42.
8. Codoñer-Franch P, Murria-Estal R, Tortajada-Girbés M, Del Castillo-Villaescusa C, Valls-Bellés V, Alonso-Iglesias E. New factors of cardiometabolic risk in severely obese children: influence of pubertal status. *Nutr Hosp*. 2010;25:845–851. doi: 10.3305/nh.2010.25.5.4539.
9. Rohm T V., Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022; 55(1):31–55. doi: 10.1016/J.IMMUNI.2021.12.013.
10. Donini LM, Poggiogalle E, Del Balzo V, Lubrano C, Faliva M, Opizzi A, Perna S, Pinto A, Rondanelli M. How to Estimate Fat Mass in Overweight and Obese Subjects. *Int J Endocrinol*. 2013;4:1-10. doi: 10.1155/2013/285680.
11. Müller MJ, Lagerpusch M, Enderle J, Schautz B, Heller M, Bosy-Westphal A. Beyond the body mass index: tracking body composition in the pathogenesis of obesity and the metabolic syndrome. *Obes Ver*. 2012;13(2):6–13. doi: 10.1111/J.1467-789X.2012.01033.X.
12. National Institutes of Health. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res*. 1998; 6:51S-209S.
13. Štěpánek L, Horáková D, Cibičková L, Vaverková H, Karásek D, Nakládalová M, Zapletalová J. Can Visceral Adiposity Index Serve as a Simple Tool for Identifying Individuals with Insulin Resistance in Daily Clinical Practice? *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(9):545. doi: 10.3390/MEDICINA55090545.

14. Amato MC, Giordano C, Galia M, Criscimanna A, Vitabile S, Midiri M, Galluzzo A. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care*. 2010;33:920–922. doi: 10.2337/DC09-1825.
15. Martínez-Sánchez FD, Vargas-Abonce VP, Rocha-Haro A, Flores-Cardenas R, Fernández-Barrio M, Guerrero-Castillo AP, Meza-Arana CE, Gullias-Herrero A, Gómez-Sámano MÁ. Visceral adiposity index is associated with insulin resistance, impaired insulin secretion, and β -cell dysfunction in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes Epidemiology and Management*. 2021;2:100013. doi: 10.1016/J.DEMAN.2021.100013.
16. Leite NN, Cota BC, Gotine AREM, Rocha DMUP, Pereira PF, Hermsdorff HHM. Visceral adiposity index is positively associated with blood pressure: A systematic review. *Obes Res Clin Pract*. 2021;15:546–556. doi: 10.1016/J.ORCP.2021.10.001.
17. Kahn HS. The lipid accumulation product is better than BMI for identifying diabetes: a population-based comparison. *Diabetes Care*. 2006;29:151–153. doi: 10.2337/DIACARE.29.1.151.
18. Wu Z, Yu S, Kang X, Liu Y, Xu Z, Li Z, Wang J, Miao X, Liu X, Li X, et al. Association of visceral adiposity index with incident nephropathy and retinopathy: a cohort study in the diabetic population. *Cardiovasc Diabetol*. 2022;21:1–9. doi: 10.1186/S12933-022-01464-1/FIGURES/4.
19. Alkhalaqi A, Al-Naimi F, Qassmi R, Shi Z, Ganji V, Salih R, Bawadi H. Visceral adiposity index is a better predictor of type 2 diabetes than body mass index in Qatari population. *Medicine*. 2020;99(35):e21327. doi: 10.1097/MD.00000000000021327.
20. Dong L, Lin M, Wang W, Ma D, Chen Y, Su W, Chen Z, Wang S, Li X, Li Z, et al. Lipid accumulation product (LAP) was independently associated with obstructive sleep apnea in patients with type 2 diabetes mellitus. *BMC Endocr Disord*. 2020;20(179):1–7. doi: 10.1186/S12902-020-00661-X/FIGURES/2.
21. Hameed EK, AbdulQahar ZH. Visceral adiposity index in female with type 2 diabetic mellitus and its association with the glycemic control. *Diabetes Metab Syndr*. 2019;13:1241–1244. doi: 10.1016/J.DSX.2019.01.039
22. Nusrianto R, Ayundini G, Kristanti M, Astrella C, Amalina N, Muhadi, Riyadina W, Tahapary DL, Soewondo P. Visceral adiposity index and lipid accumulation product as a predictor of type 2 diabetes mellitus: The Bogor cohort study of non-communicable diseases risk factors. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;155:107798. doi: 10.1016/J.DIABRES.2019.107798.
23. Kyrou I, Panagiotakos DB, Kouli GM, Georgousopoulou E, Chrysoshoou C, Tsigos C, Tousoulis D, Pitsavos C. Lipid accumulation product in relation to 10-year cardiovascular disease incidence in Caucasian adults: The ATTICA study. *Atherosclerosis*. 2018;279:10–16. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.10.015.
24. de Almeida AP, Rocha DMUP, Moreira AVB, Moraes e Lima HCF, Hermsdorff HHM. Personalized Nutrition Using PROCARDIO to Reduce Cardiometabolic Risk in the Academic Community: A Study Protocol with Preliminary Results. *J Am Coll Nutr [Internet]*. 2020;39(7):591–600. doi: 10.1080/07315724.2019.1706663.

25. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity : preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva. WORLD HEALTH ORGANIZATION 2000.
26. OPAS. Encuesta multicéntrica salud bienestar y envejecimiento (SABE) en América Latina: informe preliminar. 2001.
27. ABESO. Associação brasileira para o estudo da obesidade e da síndrome metabólica. Diretrizes Brasileiras de Obesidade.2016;13–30.
28. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444:840–846. doi: 10.1038/NATURE05482.
29. Sociedade Brasileira de Cardiologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010;95:1-51.
30. Brazilian Society of Cardiology. 7th Brazilian Guidelines of Hypertension. *Arq Bras Cardiol*. 2016;107: 1-83.
31. Conway JM, Ingwersen LA, Vinyard BT, Moshfegh AJ. Effectiveness of the US Department of Agriculture 5-step multiple-pass method in assessing food intake in obese and nonobese women 1-3. *Am J Clin Nutr*. 2003;77:1171–1179.
32. BRASIL. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos/NEPA-UNICAMP 2011, 4 ed, Campinas. 2011.
33. Wu H, Ballantyne CM. Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Circ Res* [Internet]. 2020;126:1549–1564. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315896.
34. Mazidi M, Kengne AP, Katsiki N, Mikhailidis DP, Banach M. Lipid accumulation product and triglycerides/glucose index are useful predictors of insulin resistance. *J Diabetes Complications*. 2018;32:266–270. doi: 10.1016/J.JDIACOMP.2017.10.007.
35. Pekgor S, Duran C, Berberoglu U, Eryilmaz MA. The Role of Visceral Adiposity Index Levels in Predicting the Presence of Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Overweight and Obese Patients. *Metab Syndr Relat Disord*. 2019;17(5):296–302. doi: 10.1089/MET.2019.0005.
36. Lee J, Kim B, Kim W, Ahn C, Choi HY, Kim JG, Kim J, Shin H, Kang JG, Moon S. Lipid indices as simple and clinically useful surrogate markers for insulin resistance in the U.S. population. *Sci Rep*. 2021;11(1):2366. doi: 10.1038/S41598-021-82053-2.
37. Bermúdez V, Salazar J, Fuenmayor J, Nava M, Ortega Á, Duran P, Rojas M, Añez R, Rivas-Montenegro A, Angarita L, et al. Lipid Accumulation Product Is More Related to Insulin Resistance than the Visceral Adiposity Index in the Maracaibo City Population, Venezuela. *J Obes*. 2021;551490. doi: 10.1155/2021/5514901.
38. Anoop S. S, Dasgupta R, Rebekah G, Jose A, Inbakumari MP, Finney G, Thomas N. Lipid accumulation product (LAP) as a potential index to predict risk of insulin resistance in young, non-obese Asian Indian males from Southern India: observations from hyperinsulinemic-euglycemic clamp studies. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2021;9(1):e002414. doi: 10.1136/BMJDRC-2021-002414.

39. Kahn HS, Valdez R. Metabolic risks identified by the combination of enlarged waist and elevated triacylglycerol concentration. *Am J Clin Nutr.* 2003;78:928–934. doi: 10.1093/AJCN/78.5.928.
40. Er L-K, Wu S, Chou H-H, Hsu L-A, Teng M-S, Sun Y-C, Ko Y-L. Triglyceride Glucose-Body Mass Index Is a Simple and Clinically Useful Surrogate Marker for Insulin Resistance in Nondiabetic Individuals. 2016;11(3):0149731. doi: 10.1371/journal.pone.0149731.
41. Ahmed B, Sultana R, Greene MW. Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomed Pharmacother.* 2021;137:111315. doi: 10.1016/J.BIOPHA.2021.111315
42. Wang S, Liu Y, Li F, Jia H, Liu L, Xue F. A novel quantitative body shape score for detecting association between obesity and hypertension in China. *BMC Public Health* [Internet]. 2015;15(7):1–9. doi: 10.1186/S12889-014-1334-5/TABLES/6.
43. Nunes SH, Nogueira Saad MA, da Cruz Filho RA, Jorge AJL, Santos MMS dos, Martins W de A, Campos TL de, Rosa MLG. Is lipid accumulation product a better cardiovascular risk predictor in elderly individuals than anthropometric measures? *Revista portuguesa de cardiologia.* 2021;40:539–544. doi: 10.1016/J.REPCE.2020.09.007.
44. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Car.* 2000;23(1):57–63. doi: 10.2337/DIACARE.23.1.57.

Table 1. Characteristics of the participants according to insulin resistance, PROCARDIO-UFV (2012 to 2019, n = 125)

Variables	IR*		p
	Yes 31 (24.8%)	No 94 (75.2%)	
Age (years) [†]	48 (29 – 60)	48 (28 – 55)	0.581
Sex, female (%)*	21 (67.7)	55 (58.5)	0.361
Physical activity (%)*	11 (35.5)	51 (54.8)	0.062
Alcohol consumption (%)*	16 (51.6)	60 (64.5)	0.201
Smoking (%)*	0 (0.0)	4 (4.3)	0.501
BMI (kg/m ²) [†]	31.4 (28.4 – 34.4)	27.8 (24.1 – 31.1)	0.0001
WC (cm) [†]	105 (± 12.1)	94 (± 14.1)	0.0003
Total caloric intake (Kcal) [†]	1,385 (1,039 – 1,789)	1,695 (1,391 – 2,054)	0.016
SBP (mmHg) [†]	130 (120 – 140)	120 (120 – 130)	0.263
DBP (mmHg) [†]	80 (80 – 88)	80 (80 – 80)	0.717
TG (mmol/L) [†]	2.2 (± 1.4)	1.7 (± 1.2)	0.084
TC (mmol/L) [†]	5.0 (± 1.1)	5.3 (± 1.0)	0.181
HDL (mmol/L) [†]	1.0 (0.8 – 1.3)	1.2 (1.0 – 1.4)	0.077
LDL (mmol/L) [†]	2.8 (± 0.8)	3.3 (± 0.9)	0.022
Insulin (μU/ml) [†]	18.1 (14.4 – 22.4)	7.7 (53.0 – 11.0)	< 0.001
Fasting blood glucose (mg/dL) [†]	98 (90 – 126)	88 (80 – 98)	< 0.001

PROCARDIO-UFV: Cardiovascular Health Care Program of the Federal University of Viçosa; IR: insulin resistance; BMI: body mass index; WC: waist circumference; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; TG: triglycerides; TC: total cholesterol; HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein; HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance

IR* HOMA-IR > 3.11 (75 percentile).

† p-value in Student's t-test

‡ p-value in Mann-Whitney test

** p-value in Pearson's chi-square test

Table 2. Correlation between adiposity-related markers and insulin resistance (n = 125).

	BMI	WC	VAI	LAP
IR*	0.549	0.511	0.274	0.457
p-value	< 0.001	< 0.001	0.002	< 0.001

IR: insulin resistance; BMI: body mass index; WC: waist circumference; VAI: visceral adiposity index; LAP: lipid accumulation product; HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance.

IR* HOMA-IR > 3.11 (75 percentile).

Table 3. Association between adiposity-related markers and insulin resistance, PROCARDIO (n = 125).

Variables	IR** OR (CI95%)
BMI	
Raw model	
Normal weight	1 (Ref.)
Overweight	3.06 (1.32 - 7.10)*
Adjusted model	
Normal weight	1 (Ref.)
Overweight	3.57 (1.40 - 9.12)*
WC	
Raw model	
Normal	1 (Ref.)
High	4.97. (1.10 - 22.41)*
Adjusted model	
Normal	1 (Ref.)
High	7.92 (1.42 – 44.17)*
VAI	
Raw model	
Normal	1 (Ref.)
High	2.03 (0.83 - 4.93)
Adjusted model	
Normal	1 (Ref.)
High	2.04 (0.74 - 5.59)
LAP	
Raw model	
Normal	1 (Ref.)
High	2.33 (0.97 - 5.60)
Adjusted model	
Normal	1 (Ref.)
High	2.07 (0.78 - 5.46)

PROCARDIO-UFV: Cardiovascular Health Care Program of the Federal University of Viçosa; OR: odds ratio; CI95%: confidence interval of 95%; HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance

Adjusted model: sex, age, physical activity, alcohol consumption, smoking, and caloric intake.

IR** HOMA-IR > 3.11 (75th percentile).

* p < 0.05

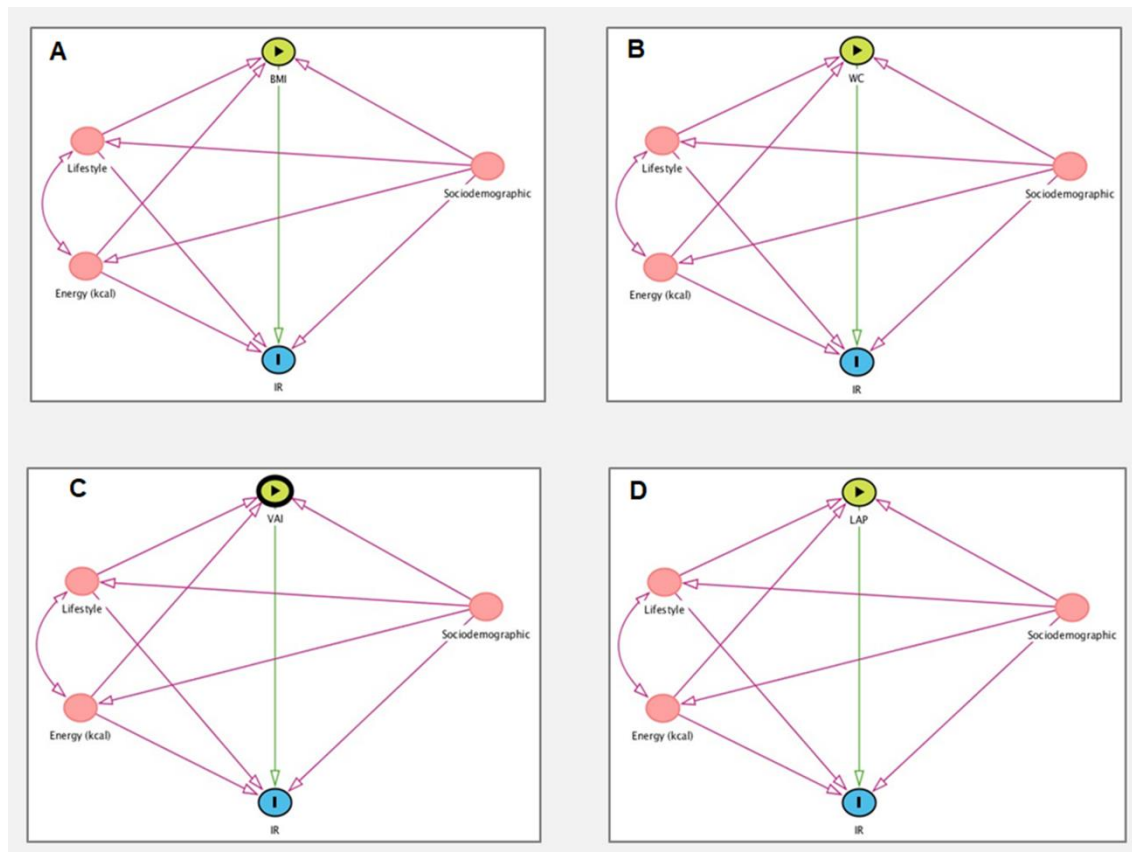


Figure 1. Acyclic graph indicating the association between BMI (A), WC (B), VAI (C), LAP (D), and IR.

Sociodemographic: sex, age, marital status, family income. Lifestyle: physical activity, smoking, and alcohol consumption. BMI (exposure): body mass index; WC (exposure): waist circumference; VAI (exposure): visceral adiposity index; LAP (exposure): lipid accumulation product; IR (outcome): insulin resistance.

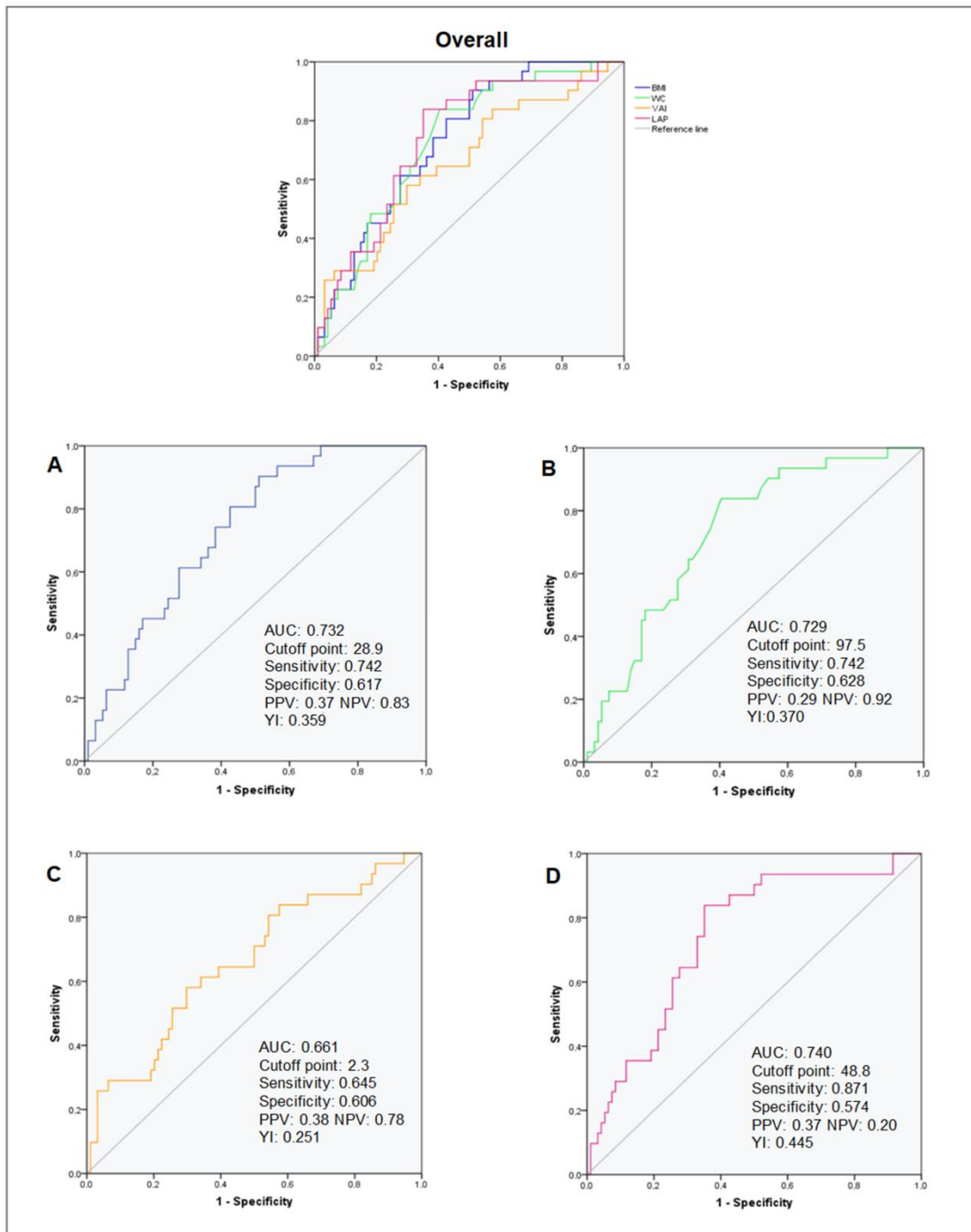


Figure 2. Receiver operating characteristic (ROC) curves of BMI (A), WC (B), VAI (C), and LAP (D) to discriminate IR. BMI: body mass index; WC: waist circumference; VAI: visceral adiposity index; LAP: lipid accumulation product; IR: insulin resistance; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; YI: Youden index; AUC: area under the curve.