



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Vanessa Lorenço Peresi dos Santos

**Associação entre os polimorfismos do gene BCMO1
(β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1) e as
concentrações séricas de β -caroteno e retinol em
diferentes etnias brasileiras**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Patologia.

Orientadora Profa. Dra. Lucia Regina Ribeiro
Coorientadora: Profa. Dra. Daisy Maria Favero Salvadori

Botucatu
2015

Vanessa Lorenço Peresi dos Santos

**Associação entre os polimorfismos do gene BCMO1
(β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1) e as
concentrações séricas de β -caroteno e retinol em
diferentes etnias brasileiras**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Patologia.

Orientadora Profa. Dra. Lucia Regina Ribeiro
Coorientadora: Profa. Dra. Daisy Maria Favero Salvadori

Botucatu
2015

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TEC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Santos, Vanessa Lorenço Peresi dos.

Associação entre os polimorfismos do gene BCMO1 (β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1) e as concentrações séricas de β -caroteno e retinol em diferentes etnias brasileiras / Vanessa Lorenço Peresi dos Santos. - Botucatu, 2015

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Lucia Regina Ribeiro

Coorientador: Daisy Maria Favero Salvadori

Capes: 20205007

1. Polimorfismo (Genética). 2. Grupos étnicos. 3. Vitamina A na nutrição humana. 4. Caroteno.

Palavras-chave: BCMO1; Beta caroteno; Grupos étnicos; Polimorfismo de Nucleotídeo Único; Vitamina A.

DEDICATÓRIA

À Deus, criador de céus e a da terra e de tudo que neles há. Pai amoroso, onipotente, onipresente e onisciente que nos transforma e renova a cada amanhecer. Minha eterna gratidão por estar em seus caminhos e ser moldada como um vaso nas mãos do oleiro.

Ao meu esposo, Tiago Antônio dos Santos, minha gratidão por ser amada com o amor ágape que vem de Deus. Em mais de um ano de casamento pudemos desfrutar e conhecer os propósitos para nossas vidas como casal.

Aos meus pais, Gilberto Peresi e Leda Eontina Lorenço pelo amor incondicional e por sempre me guiar pelos caminhos da vida. Pela educação, que é um dos maiores presentes que os pais podem dar aos seus filhos.

À minha irmã, Cristiane Lorenço Peresi, com seu jeito de amar e expressar o carinho, pelos olhares e brincadeiras que tivemos juntas em todos estes anos.

À minha segunda família, mineira de coração! Aos meus sogros, Antônio Otaviano e Maria Conceição Otaviano dos Santos, pelas palavras e modo simples de viver que ensinam a essência de um cristão.

Aos meus cunhados, Eleandro Otaviano dos Santos, Leonardo Antônio dos Santos, Elessandra Antônia Santos de Resende, Árlem Reserva de Resende e ao sobrinho Luís Fernando que são motivo de alegria em meu viver.

“Filho meu, não te esqueças da minha lei, e o teu coração guarde os meus mandamentos. Porque eles aumentarão os teus dias e te acrescentarão anos de vida e paz. Não te desamparem a benignidade e a fidelidade; ata-as ao teu pescoço; escreve-as na tábua do teu coração. E acharás graça e bom entendimento aos olhos de Deus e do homem. Confia no Senhor de todo o teu coração, e não te estribes no teu próprio entendimento”. Provérbios 3:1-5

AGRADECIMENTO

À minha orientadora Lucia Regina Ribeiro que nestes anos me ensinou que os caminhos da genômica devem ser trilhados com determinação e persistência. Agradeço por todo conhecimento transmitido e pelas correções que sempre me fizeram buscar o melhor.

À minha coorientadora Daisy Maria Favero Salvadori, pela oportunidade de estar nesta área do conhecimento e fornecer suporte científico para a pesquisa no laboratório de Toxicogenômica e Nutrigenômica desta Universidade.

Aos membros da banca examinadora da tese pelos ensinamentos e por estarem presentes neste momento importante da minha carreira profissional.

Aos amigos do laboratório: Glenda Nicioli da Silva, além de excelente profissional é amiga e nos ensina pelo seu modo de viver. Ingrid Felicidade, pela competência científica e por sempre me incentivar a trilhar nos caminhos da pesquisa. Daniela de Almeida dos Santos pela vivência nos congressos internacionais e apoio nestes anos. A Elaine Camargo pela amizade e pelo coração sempre disposto a amar e se doar pelo próximo. Aos amigos Juliana, Fábio, João Paulo, Luciana, André, Brenda, Helenice, Renato, Mariana, Carla, Marília, Bruno, Joara, Amanda, Camila, Daniele, Victória, Bruna, Cristiana, Angélica, Caroline, Maruhen, Leonardo, Pablo, Rafael e Mário pelas contribuições e por estarem juntos nesta caminhada.

Aos meus familiares, avó, tios e primos pela vivência em família que nos completa a cada dia.

Ao pastor Ântemo Del'omo por ser como um pai e nos guiar em amor nos caminhos do Senhor.

Aos amigos Ivan, Virgínia, Fábio, Érica, Pedro, Patrícia, Paulo, Manuela, Dorival, Silvia, Regini, Verônica, Wanderson, Rose, Carol, Ana Elisa, Natália e demais companheiros de caminhada: quão bom e agradável é ter a amizade de cada um de vocês.

Aos indivíduos que participaram da pesquisa, pela confiança e disponibilidade em auxiliar para o crescimento do conhecimento científico.

Ao Programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu pelo apoio e orientação na vida acadêmica.

Aos professores Camila C. Correa, Alaor A. Almeida, Mariana U. Ragasi pelas análises realizadas e pelo auxílio científico.

Ao professor e nutricionista Carlos Eduardo A. Chagas (*in memoriam*) que foi quem me ensinou há 6 anos quão maravilhosa é a Nutrigenômica. Seu profissionalismo e amor pela profissão são exemplo para continuar trilhando e crescendo nestes caminhos.

À todos os profissionais do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB, pela realização dos exames bioquímicos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de Doutorado e à FAPESP, pelo auxílio financeiro concedido (PROCESSO FAPESP Nº. 2011/07057-2).

RESUMO

A vitamina A tem importância na nutrição humana, uma vez que a sua deficiência é considerada um sério problema de saúde pública e de morbimortalidade infantil. Carotenóides pró-vitamina A, particularmente o β -caroteno proveniente de determinados alimentos de origem vegetal, são importantes fontes de vitamina A para muitas populações. Durante o processo de bioconversão os carotenóides são clivados pela enzima citossólica β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1 (BCMO1). Dois polimorfismos (*Single Nucleotide Polymorphisms* - SNPs) no gene BCMO1, R267S: rs12934922 e A379V: rs7501331, foram identificados em populações de etnias Caucasiana, Japonesa e Chinesa, podendo causar redução da atividade enzimática da BCMO1 e justificar a ampla diferença inter-individual na bioconversão do β -caroteno em vitamina A. Os objetivos deste estudo foram identificar a frequência das variantes polimórficas A379V e R267S/A379V do gene BCMO1 em três grupos populacionais brasileiros (brancos, negros e japoneses) e avaliar a relação entre os SNPs com as concentrações séricas de β -caroteno e retinol entre os três diferentes grupos étnicos. Cada grupo foi composto de 100 indivíduos voluntários, com ancestralidades Europeia, Africana e Japonesa, sendo 50% do gênero feminino e 50% do gênero masculino. Foram avaliadas as concentrações séricas de β -caroteno, retinol, zinco eritrocitário, linfócitos, proteína C-reativa, α -1-glicoproteína ácida e a ingestão alimentar de Vitamina A. Amostras de saliva e esfoliado de células da mucosa oral foram coletadas para a extração de DNA com posterior genotipagem dos SNPs A379V: rs7501331 e R267S: rs12934922 por RT-PCR. As frequências das variantes alélicas R267S e A379V com, pelo menos, um alelo T para os indivíduos com ancestralidade Europeia foram 63,0% e 44,0%, respectivamente, com ancestralidade Africana, 48,0% e 18,0%, respectivamente, e com ancestralidade Japonesa, 21,0% e 27,0%, respectivamente. Os resultados mostram, de modo inédito, que as frequências das variantes polimórficas do gene BCMO1 R267S e A379V nos grupos populacionais brasileiros avaliados dependem da etnia para ambos os SNPs. As variantes polimórficas observadas parecem não exercer influência nas concentrações séricas de β -caroteno e retinol, o que pode ser explicado pela influência de outros fatores associados ao gene BCMO1 e pela alta miscigenação da população brasileira. A variabilidade genética deve ser considerada para as futuras recomendações de suplementação de provitamina A no Brasil.

Palavras chave: Polimorfismo de Nucleotídeo Único; BCMO1; beta Caroteno; Vitamina A; Grupos Étnicos.

ABSTRACT

Vitamin A is important in human nutrition, since deficiency is considered a serious public health and child mortality. Provitamin A carotenoids, particularly β -carotene from certain plant foods are important sources of vitamin A for many populations. During the bioconversion process carotenoids are cleaved by cytosolic enzyme β -carotene 15,15'-monooxygenase 1 (BCMO1). Two polymorphisms (Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) in BCMO1 gene, R267S: rs12934922 and A379V: rs7501331, were identified in ethnic populations of Caucasian, Japanese and Chinese, and it may cause reduced enzyme activity BCMO1 and justify the wide inter-individual differences in bioconversion of β -carotene into vitamin A. The aims of this study were to identify the frequency of polymorphic variants A379V and R267S/A379V of BCMO1 gene in three population groups (whites, blacks and Japanese) and evaluate the relationship between SNPs with serum β -carotene and retinol among three different ethnic groups. Each group was composed of 100 volunteers, with European, African and Japanese ancestry, and 50% were female and 50% male. Were evaluated plasmatic concentrations of β -carotene, retinol, zinc erythrocyte, lymphocytes, C-reactive protein, α -1-acid glycoprotein and dietary intake of Vitamin A. Samples of saliva and oral mucosa exfoliated cells were collected for DNA extraction with subsequent genotyping of SNPs R267S: rs12934922 and A379V: rs7501331 by RT-PCR. The frequencies of allelic variants R267S and A379V at least one T allele for individuals with European ancestry were 63.0% and 44.0%, respectively, African ancestry, 48.0% and 18.0%, respectively, and Japanese ancestry, 21.0 % and 27.0%, respectively. The results show, so unique, that the frequencies of polymorphic variants of the polymorphic variants A379V and R267S BCMO1 gene in Brazilian population groups evaluated depend on ethnicity for both SNPs. The polymorphic variants observed do not seem to influence on serum concentrations of beta-carotene and retinol, which can be explained by the influence of other factors associated with BCMO1 gene and high miscegenation of the Brazilian population. Genetic variability should be considered for future provitamin A supplementation recommendations in Brazil.

Keywords: Polymorphism, Single Nucleotide; BCMO1; beta Carotene; Vitamin A; Ethnic Groups.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGP: α -1-glicoproteína ácida

AI: Adequate Intake

BCDO2: β -caroteno 9',10'-dioxigenase

BCMO1: β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1

DNA: *Deoxyribonucleic acid* (Ácido desoxiribonucléico)

DPE: Desnutrição proteico-energética

DVA: Deficiência de Vitamina A

EAR: *Estimated Average Requirement* (Estimativa do Requerimento Médio)

GH: *Growth hormone* (Hormônio do crescimento)

GWAS: *Genome-wide association study* (Estudo de Associação Genômica Ampla)

IMC: Índice de Massa Corporal

Kg/m²: Quilograma por metro quadrado

mg: Miligrama

mg/dL: Miligrama por decilitro

mm³: Milímetro cúbico

μ g: Micrograma

μ g/dL: Micrograma por decilitro

μ M/L: Micromol por litro

MS: Ministério da Saúde

PCR: Proteína C-reativa

RAE: *Retinol activity equivalents* (Equivalentes de Atividade de Retinol)

RAR: Receptor de ácido retinóico

RBP: *Retinol Binding Protein* (Proteína Ligadora de Retinol)

RDA: *Recommended Dietary Allowances* (Dosagem Diária Recomendada)

RDR: Dose-resposta relativa

RNA_m: Ácido ribonucléico mensageiro

RXR: Receptor X de retinóides

SNP: *Single Nucleotide Polymorphism* (Polimorfismo de nucleotídeo único)

SR-B1: *Cholesterol transporter scavenger receptor*

UI: Unidades Internacionais

UL: *Tolerable Upper Intake Level* (Limite de Ingestão Máxima Tolerável)

WHO: *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

Capítulo I	8
1. Revisão da Literatura	8
1.1. Histórico.....	8
1.2. Definição, estrutura química e tipos retinóides.....	8
1.3. Funções	10
1.4. Fontes alimentares	12
1.5. Necessidades nutricionais	13
1.6. Biodisponibilidade	17
1.7. Método de dosagem	19
1.8. Deficiência	21
1.9. Metabolismo	25
1.10. Enzima e gene β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1 (BCMO1)	26
Referências Bibliográficas.....	32
Capítulo II	41
Artigo Científico.....	41
Conclusões.....	63
Referências Bibliográficas	64
Apêndices	69
Anexo	73

Capítulo I

1. Revisão da Literatura

1.1. Histórico

A vitamina A foi a primeira vitamina lipossolúvel a ser descoberta. Dois grupos de pesquisadores Mc Collum & Davis na Universidade de Wisconsin e Osborne & Mendel na Universidade de Yale, fizeram a descoberta quase que simultaneamente em 1913, sendo que estes autores a chamaram de “fator dietético não-identificado lipossolúvel A”, marcando a origem da atual designação alfabética para as vitaminas. Desde então, a importância desta vitamina na nutrição humana vem crescendo, uma vez que sua deficiência é considerada um sério problema de saúde pública e de morbimortalidade infantil, principalmente em alguns países da Ásia e África, onde a carência de vitamina A é a principal causa de cegueira não-acidental (Roncada, 1998).

1.2. Definição, estrutura química e tipos retinóides

Vitamina A é o termo genérico usado para descrever apenas os retinóides que têm estrutura cíclica β -ionona, fundamental para a função da vitamina A, ou seja, β , α e γ -caroteno e a criptoxantina. A grande maioria dos 600 carotenóides identificados não tem atividade pró-vitamina A devido à ausência do anel β -ionona (Roncada, 1998). O termo carotenóide refere-se a um grupo de pigmentos lipossolúveis e poli-insaturados de cor variável entre o amarelo e o vermelho escuro (Germano, 2004).

Os carotenóides são designados como formas pró-vitamínicas, por sua capacidade de bioconversão em retinol. São constituídos por átomos de carbono, dispostos em um sistema extenso de ligações duplas conjugadas, estando presentes nas formas dos isômeros cis e trans (mais comuns e mais estáveis) (IOM, 2001). Este sistema extenso de duplas ligações conjugadas confere destaque a estas moléculas, sendo responsável pelas propriedades e funções tão importantes dos carotenóides. Este sistema é cromóforo, proporcionando aos alimentos fonte de carotenóides cores que vão do amarelo ao vermelho (Rodrigues-Amaya, 2008).

Quimicamente, os carotenóides são substâncias isoprenóides, formadas por oito unidades de isopreno, sendo que a ligação isoprênica é invertida na parte central da molécula de forma que os dois grupos metílicos fiquem separados por três carbonos (Lehninger, 2000).

Mais de 650 diferentes carotenóides naturais já foram isolados e caracterizados, sem considerar os isômeros trans e cis (Kull, 1995). Desses, cerca de cem carotenóides têm sido relatados em alimentos, e aproximadamente 50 são precursores da vitamina A. Os carotenóides precursores desta vitamina possuem pelo menos um anel de β -ionona não substituído, com cadeia lateral poliênica com um mínimo de 11 carbonos (Ambrosio, 2006; Rodrigues-Amaya, 2008).

Os seis carotenóides mais pesquisados por seu envolvimento na saúde humana são: β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina (van Poppel, 1995) (Figura 1).

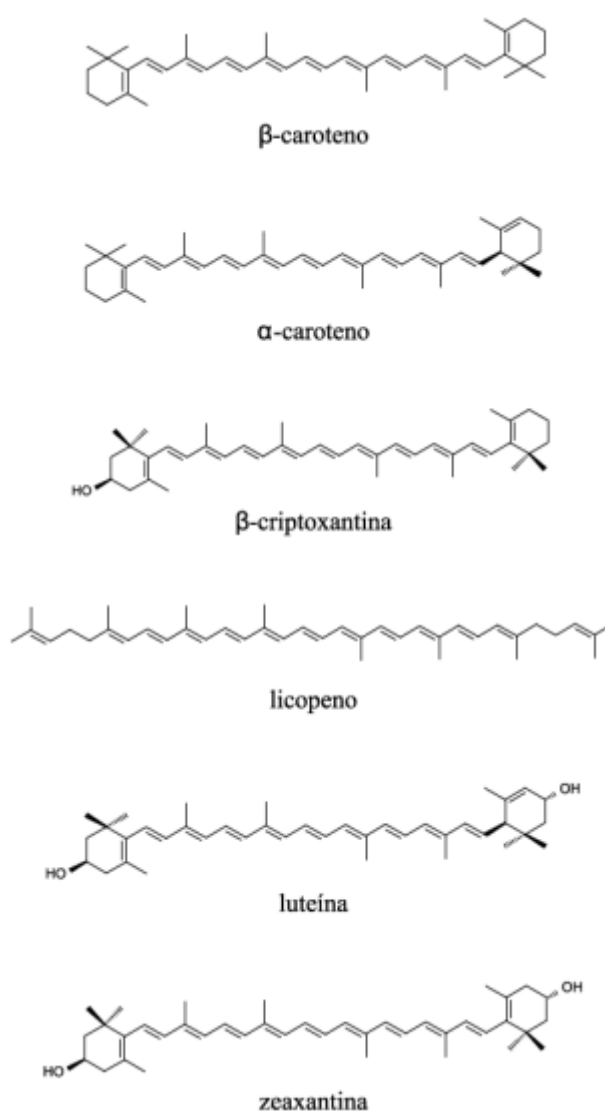


Figura 1: Estrutura química dos principais carotenóides considerados importantes para a saúde humana.

Além de serem os principais carotenóides no sangue humano (Epler et al., 1993), são, também, com exceção da zeaxantina, os mais comumente encontrados nos alimentos, sendo que o β -caroteno é o mais largamente distribuído (Rodriguez-Amaya, 1993). De todos os carotenóides conhecidos, o β -caroteno, além de ser a mais abundante fonte de pró-vitamina A presente nos alimentos, é o carotenóide que possui maior atividade pró-vitâmica A, pois possui estrutura simétrica com 2 anéis β -ionona ligados por uma cadeia poliênica de 22 carbonos com 100% de atividade vitamínica (Kurilich et al., 1999; Layrisse et al., 2000; Leung et al., 2009). O α -caroteno e a β -criptoxantina têm cerca de 50% da atividade do β -caroteno, ao passo que a luteína, zeaxantina e licopeno não possuem atividade pró-vitamina A (Rodrigues-Amaya, 2008).

Carotenóides pró-vitamina A, particularmente o β -caroteno proveniente de plantas, são importantes fontes de vitamina A para muitas populações, principalmente em países onde a deficiência de vitamina A (DVA) é prevalente, e onde fontes pré-formadas de vitamina A são consumidas ocasionalmente. Nestes casos, a contribuição dos precursores de vitamina A é ainda mais significativa (Edwards, 2001).

Os retinóides possuem esta denominação devido à similaridade com o retinol e foram originalmente isolados da retina, onde a vitamina atua nos pigmentos visuais (Gibson, 1990; Combs, 2002). O retinol se oxida reversivelmente a retinal no organismo e este a ácido retinóico (oxidação irreversível) (Roncada, 1998).

1.3. Funções

Os diferentes metabólitos dos retinóides apresentam funções específicas no organismo. O retinol é um metabólito intermediário que atua na função reprodutora. Já o retinal é um composto essencial que exerce ação nos bastonetes, na transdução da luz em sinais neurais necessários para a visão, atuando também na função reprodutora humana. O ácido retinóico possui atividade parcial de vitamina A, sendo-lhe atribuída uma atividade quimiopreventiva sobre a expressão de genes envolvidos com a diferenciação e proliferação celular, atuando na manutenção da integridade das células epiteliais de todo organismo. Atua na manutenção da diferenciação normal da córnea e das membranas conjuntivas, prevenindo a xerofthalmia, bem como para os fotorreceptores e para as células em cone. Os ésteres de retinol representam a forma de armazenamento, sendo principalmente em retinil palmitato e estereato (Roncada, 1998; Press Conference of the State Council Information Office, 2004; Biesalski, 2007; Fonseca, 2008).

A vitamina A também está relacionada com o desenvolvimento dos ossos, influenciando o crescimento longitudinal por meio da promoção da diferenciação das células pituitárias secretoras do hormônio do crescimento (GH) e pela estimulação direta da secreção de GH. Exerce ação protetora na pele e mucosa, possui função essencial na capacidade funcional dos órgãos do sistema reprodutivo, participa do fortalecimento do sistema imunológico, atuando na secreção e proliferação dos linfócitos. Contribui para o desenvolvimento normal dos dentes, para a conservação do esmalte dentário, manutenção do bom estado do cabelo e na prevenção da oxidação celular por intermédio dos carotenóides pró-vitamínicos A, que atuam como fontes desta vitamina. Atua na estabilidade de membranas celulares, na adiposidade corporal e participa das transformações no metabolismo da corticosterona, do colesterol e dos hormônios sexuais. Além disso, tem sido sugerido que a vitamina A é também essencial para a eritropoiese (Underwood, 1996; Press Conference of the State Council Information Office, 2004; Ambrosio, 2006; Fonseca, 2008).

Ao lado de sua função como precursor de vitamina A, o β -caroteno atua como antioxidante, interrompendo a progressão da atividade dos radicais livres e sequestrando os radicais oxigênio *singlet* (Palozza, 1992). A capacidade dos carotenóides de sequestrar estas espécies tem sido atribuída ao extenso sistema de duplas ligações conjugadas, obtendo-se a máxima proteção daqueles que possuem nove ou mais duplas ligações (Foote et al., 1970). Foi constatado que o licopeno, sendo acíclico, é mais eficiente do que o dicíclico β -caroteno, embora os dois tenham 11 duplas ligações conjugadas (di Mascio, 1989). Os carotenóides sequestram o oxigênio *singlet* de duas maneiras: por transferência física da energia de excitação do oxigênio *singlet* para o carotenóide, resultando na formação de carotenóide *triplet*, que é capaz de retornar ao estado não excitado após dissipar o seu excesso de energia como calor, ou por meio de uma reação química entre o oxigênio *singlet* e o carotenóide, resultando na destruição irreversível desse último (Rodrigues-Amaya, 2008).

Embora sejam micronutrientes presentes nos alimentos em níveis muito baixos (microgramas por grama), os carotenóides estão entre os constituintes alimentícios mais importantes para a saúde humana (Rodrigues-Amaya, 2008). Alguns estudos mostram que altas concentrações séricas de carotenóides protegem contra o declínio do muscular relacionado à idade, desabilidade física e cognitiva e morbidades crônicas (Goldberg, 1988; Jacques, 1988; Hankinson et al., 1992; Gaziano, 1993; Seddon et al., 1994). Outros estudos epidemiológicos mostram que dietas ricas em alimentos contendo carotenóides estão associadas com o decréscimo do risco de certas doenças crônicas como o câncer (van Poppel, 1995) e doenças cardiovasculares (Gaziano, 1993). A luteína e a zeaxantina constituem o

pigmento de cor amarela da mácula da retina humana (Landrum, 2001) e são tidos como os responsáveis pelo efeito protetor oftalmológico dos carotenóides, atuando tanto como antioxidantes quanto como filtros da luz azul de alta energia (Krinsky, 2003), prevenindo a degeneração macular relacionada com a idade (Goldberg, 1988; Seddon et al., 1994) e catarata (Jacques et al., 1988; Hankinson et al., 1992). No entanto, estudos clínicos não foram capazes de mostrar benefícios para as hipóteses testadas, e alguns destes estudos sugerem que a suplementação utilizando megadose de carotenóides pode ser perigosa (Hennekens, 1994; Lemke et al., 2003). Por exemplo, no estudo ATBC (α -Tocopherol, β -carotene Cancer Prevention) realizado por um grupo Finlandês, a suplementação de carotenóides a homens fumantes expostos no trabalho ao amianto teve uma associação positiva com o aumento na incidência do câncer de pulmão (The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study Group, 1994; Omenn et al., 1996).

1.4. Fontes alimentares

A vitamina A pré-formada pode ser obtida sob a forma de palmitato de retinila, a partir da ingestão de fontes alimentares de origem animal como ovos, leite integral e seus derivados, peixe e fígado ou na forma de suplemento alimentar. A vitamina A pode ser obtida pelo organismo por meio da conversão do β -caroteno ingerido com as frutas e hortaliças ricas neste composto, presente no mamão, manga, caqui, acerola, melão caipira, goiaba, nêspira, pitanga, abacate, cenoura, abóbora, mostarda, couve, brócolis, rúcula, agrião, almeirão, escarola, espinafre, além das frutas palmáceas buriti, tucumã, bocaiúva, bacuri e umari, sendo que o buriti é o produto alimentar detentor da maior concentração conhecida de β -caroteno dentro da vasta gama já analisada de alimentos brasileiros (Combs, 2002; Fonseca, 2008; Rodrigues-Amaya, 2008; PNAN, 2014).

Os carotenóides são biossintetizados por plantas, algas, fungos, leveduras e bactérias. Devido à capacidade das plantas sintetizarem esses compostos *de novo*, os alimentos de origem vegetal contêm, além dos carotenóides principais, pequenas quantidades de precursores e derivados, proporcionando uma composição complexa e variável. Já os alimentos de origem animal não possuem a mesma composição. Os animais são incapazes de biossintetizar carotenóides e, portanto, dependem da alimentação para sua obtenção, modificando-os por meio de um número limitado de transformações metabólicas (Press Conference of the State Council Information Office, 2004; Rodrigues-Amaya, 2008).

É importante ressaltar que, somente a coloração de vegetais não garante a atividade de vitamina A, como é o caso, por exemplo, do tomate ou beterraba, cuja coloração se origina de pigmentos como xantofilas ou licopeno (sem atividade vitamínica A) (Germano, 2004).

Em populações de baixa renda, o consumo de vitamina A é, via de regra, predominantemente de fontes de origem vegetal, podendo representar 80% ou mais do total de vitamina A ingerida (Saunders, 2000; Germano, 2004). Observa-se que as fontes de origem vegetal substituem os alimentos de origem animal com vantagens pela frequência de consumo e pelo preço, pois a vitamina A pré-formada é menos acessível para a população de baixa renda (Germano, 2004).

1.5. Necessidades nutricionais

As recomendações nutricionais vigentes das necessidades da vitamina A foram estabelecidas em 2001 e tornaram-se o principal guia das necessidades nutricionais dos Estados Unidos e, também, no Brasil devido à ausência de padrões brasileiros (IOM, 2001; Ambrosio, 2006).

De acordo com o Instituto de Medicina (*Institute of Medicine - IOM*), a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization - WHO*) e a Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (*Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO*), para a caracterização da quantidade diária recomendada de vitamina A é utilizada a definição de EAR (*Estimated Average Requirement*), estimada como a ingestão diária suficiente para satisfazer as necessidades nutricionais de 50% dos indivíduos saudáveis. A dosagem diária recomendada (RDA), sigla do inglês *Recommended Dietary Allowances*, é o nível de consumo alimentar de cada nutriente suficiente para satisfazer os requerimentos nutricionais de quase todo indivíduo saudável (entre 97 e 98%), compreendido num determinado grupo, por gênero, faixa etária e estágio de vida. A ingestão adequada (AI), sigla do inglês *Adequate Intake* corresponde ao valor médio de ingestão diária de um nutriente no qual não existem evidências científicas suficientes para o estabelecimento de uma RDA/EAR, sendo baseada na ingestão de nutrientes de um grupo de pessoas saudáveis. A UL (*Tolerable Upper Intake Level*) indica o mais alto nível de ingestão de um nutriente que não causará efeitos adversos à saúde da maioria das pessoas. Acima da UL, o risco de efeitos adversos à saúde aumenta sensivelmente (IOM, 2001; WHO & FAO, 2004).

Na tabela 1 estão apresentados os valores atualmente estabelecidos pelo *Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies* dos Estados Unidos para a

ingestão de vitamina A, expressos em μg de Equivalentes de Atividade de Retinol (*Retinol activity equivalents* - RAE)/dia, sendo que 1RAE = 1 μg retinol (IOM, 2001).

Tabela 1: Recomendações de ingestão para vitamina A e limites superiores toleráveis

Estágio da vida	EAR ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	RDA ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	UL ($\mu\text{g}/\text{dia}$)
Lactentes			
0-6 meses	--	400 (AI)	600
7-12 meses	--	500 (AI)	600
Crianças			
1-3 anos	210	300	600
4-8 anos	275	400	900
Masculino			
9-13 anos	445	600	1700
14-18 anos	630	900	2800
19-30 anos	625	900	3000
31-50 anos	625	900	3000
51-70 anos	625	900	3000
>70 anos	625	900	3000
Feminino			
9-13 anos	420	600	1700
14-18 anos	485	700	2800
19-30 anos	500	700	3000
31-50 anos	500	700	3000
51-70 anos	500	700	3000
>70 anos	500	700	3000
Gestantes			
14-18 anos	530	750	2800
19-30 anos	550	770	3000
31-50 anos	550	770	3000
Lactantes			
14-18 anos	885	1200	2800
19-30 anos	900	1300	3000
31-50 anos	900	1300	3000

Fonte: IOM (2001)

A ingestão diária mínima (EAR) de vitamina A para garantir uma concentração sérica adequada e prevenir sintomas de deficiência em indivíduos adultos é de 500 a 625 μg , em crianças de 210 a 275 μg , em gestantes 550 μg e em lactantes 900 μg (IOM, 2001), sendo, no geral, necessária aos seres humanos em quantidade inferior a 1 mg/dia (van Het Hof, 2000). A RDA para homens e mulheres é de 900 e 700 $\mu\text{g}/\text{dia}$, respectivamente, sendo que a UL para adultos é de 3000 $\mu\text{g}/\text{dia}$ de vitamina A (IOM, 2001).

A unidade de medida, tanto para o β -caroteno quanto para a vitamina A, chama-se Equivalentes de Atividade de Retinol, do inglês *retinol activity equivalents* (RAE). Os atuais fatores de conversão da vitamina A são RAE, sendo variável de acordo com o tipo de

carotenóide: 1RAE = 1 µg all-trans-retinol, 2 µg all-trans-β-caroteno em óleo, 12 µg all-trans-β-caroteno alimentar, 24 mg α-caroteno, 24 mg β-criptoxantina e outros carotenóides (IOM, 2001). Considera-se que 1 µg de retinol equivale a 3,33 UI de atividade pró-vitáminica A a partir do retinol e que 10 UI de β-caroteno equivalem a 3,33 UI de retinol (WHO, 1966). Como visto, o β-caroteno é reconhecido como o mais potente precursor de retinol (IOM, 2001).

De acordo com o The Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), estudo que realiza coleta sistemática de dados precisos, relativos ao estado nutricional de uma população humana em uma determinada área geográfica, o consumo médio estimado de vitamina A nos Estados Unidos é de 744 a 811 µg RAE/dia para homens e de 530 a 716 µg RAE/dia para mulheres. Cerca de 25 a 50% dos adultos da maioria das faixas etárias consomem uma quantidade menor de vitamina A que a EAR, não representando estágios iniciais de deficiência clínica que leva a má adaptação visual em ambientes pouco iluminados. Aproximadamente 26 a 34% da vitamina A consumida é proveniente de carotenóides pró-vitamina A, visto que a conversão destes carotenóides é mais efetiva em frutas e tubérculos alaranjados do que em hortaliças verde-escuras. A ingestão alimentar destes carotenóides deve ser realizada em grande quantidade para que o requerimento diário de vitamina A seja alcançado (IOM, 2001).

Dados do HNANES III indicam que para homens de 31 a 50 anos, a ingestão média de carotenóides pró-vitamina A, como o α-caroteno, β-caroteno e β-criptoxantina, foi de 51 (2 µg RAE), 1.942 (162 µg RAE) e 39 (1,6µg RAE) µg/dia, respectivamente. Usando o fator de conversão RAE, a ingestão de β-caroteno contribuiu com 21% da ingestão total de vitamina A. Todos os carotenóides pró-vitamina A contribuíram para 26 e 34% da vitamina consumida por homens e mulheres, respectivamente. A ingestão média de outros carotenóides, luteína e zeaxantina foi de 1.353 µg/dia e 1.966 µg/dia em homens e mulheres, respectivamente, sendo que a média de ingestão de licopeno foi de 842 e 5.079 µg/dia nos mesmos gêneros (IOM, 2001).

Em contrapartida, outro estudo mostrou que a ingestão total de vitamina A por indivíduos americanos com dieta onívora e rica em frutas e vegetais fonte de β-caroteno é de 1.168 µg RAE/dia, o que excede a RDA, sendo que esta ingestão também é alcançada em dietas vegetarianas com a mesma característica, exceto pela não consumo de carnes em geral (IOM, 2001). O consumo médio de vitamina A por americanos derivada de suplementos é de 1.430 µg RAE/dia em ambos os sexos, visto que uma parcela representativa da população utiliza suplementação de micronutrientes diariamente (Moss, 1989).

Baixas ingestões de vitamina A também são observadas em sociedades ocidentais. No Reino Unido, 15% de indivíduos jovens, com idade entre 19 a 24 anos têm uma baixa ingestão de vitamina A, muito abaixo do nível de ingestão de nutriente recomendado (Henderson et al., 2003).

No Brasil, desde 1970 estudos populacionais sobre o consumo de vitamina A têm sido realizados apontando uma inadequação alimentar. Estudo publicado em 1974 mostrou que o consumo vitamina A em 197 indivíduos moradores de Ribeira (SP) é insuficiente, mesmo sendo uma região produtora de mamão, fruta considerada boa fonte de β -caroteno (Bon, 1974). Coelho et al. (1995) identificaram inadequação de consumo de vitamina A entre 12% das gestantes avaliadas, segundo o método frequência de consumo semiquantitativo, atendidas em maternidade pública do município do Rio de Janeiro.

Estudo realizado na região metropolitana de São Paulo com 548 indivíduos entre 20 e 88 anos de idade mostrou uma baixa ingestão de vitamina A em todos os gêneros e faixa etárias, sendo que os idosos apresentaram menor consumo deste nutriente quando comparados aos mais jovens (Velásquez-Meléndez, 1997). Em Recife, Fernandes et al. (2005) identificaram que aproximadamente 22% das 311 crianças menores de 5 anos avaliadas apresentaram consumo insuficiente desta vitamina.

Em um estudo realizado por Albuquerque (2009) com 279 idosos de 60 a 64 anos moradores da área metropolitana de Recife, foi avaliado o consumo de grupos de alimentos com significativo teor de vitamina A (>100 ER/100 g de alimento) nos últimos seis meses por questionário de frequência alimentar. Verificou-se que o consumo habitual de alimentos de origem animal, numa frequência >3 x/semana foi de 30,5%, inferior ao observado para os alimentos de origem vegetal que foi de 69,5%, contribuindo para o índice de 26% de DVA nesta população, considerando, assim, que o baixo poder de bioconversão da pró-vitamina A em retinol afeta a bioeficácia desse nutriente.

Estudo realizado por Pinheiro et al. (2011) em uma amostra representativa e probabilística da população rural e urbana de 150 cidades do Brasil (2344 indivíduos), 92,4% dos indivíduos com idade igual ou superior a quarenta anos apresentaram consumo inadequado de vitamina A, sendo mais prevalente em indivíduos com sobrepeso e obesidade. Não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas nas prevalências de inadequação em relação às diferentes regiões estudadas, áreas metropolitanas e interior do país e os diferentes estratos socioeconômicos estudados. Estudo realizado em 30 crianças e adolescentes obesos com idades entre 7 e 14 anos de Minas Gerais observou baixa ingestão de

vitamina A em 80% dos indivíduos, sendo que baixas concentrações séricas de β -caroteno foram encontrados em 83,3% da amostra (Ued, 2014).

1.6. Biodisponibilidade

A biodisponibilidade de vitamina A pode ser definida como a quantidade de carotenóide que é absorvida pelo intestino e torna-se disponível aos tecidos-alvo (Rodrigues-Amaya, 2008). Uma adequada absorção de carotenóides da dieta requer digestão da matriz alimentar, formação de micelas lipídicas no trato gastrointestinal, captação dos carotenóides pelas células da mucosa intestinal, além do transporte dos carotenóides e seus produtos metabólicos até a linfa e a circulação portal (Castenmiller, 1998).

O estudo da biodisponibilidade destes compostos é complexo devido à influência de diversos fatores. Os fatores que influenciam a biodisponibilidade de carotenóides e a bioconversão destes em retinol estão relacionados ao alimento e ao indivíduo. Os relacionados ao alimento são a quantidade e natureza do carotenóide, a natureza da matriz e estado físico do carotenóide, o método de preparo ou processamento, a competição/interação com outros carotenóides e a presença de outros componentes na dieta, sendo que a fibra diminui a biodisponibilidade (Castenmiller, 1998; Yeum, 2002). Já com relação ao indivíduo, os fatores são o estado nutricional, visto que a DVA aumenta a biodisponibilidade, enquanto a deficiência proteica a diminui, além da baixa capacidade de absorção dos lipídios, infecções, infestações parasitárias e fatores genéticos (Rodrigues-Amaya, 2008).

No que se refere ao estado nutricional, a deficiência de zinco pode ocasionar DVA, pois esse micronutriente é necessário para a síntese proteica, incluindo a síntese hepática e a secreção da proteína transportadora de retinol (*Retinol Binding Protein* - RBP) e da transtiretina; sendo assim, a deficiência de zinco influencia a mobilização da vitamina A do fígado e seu transporte para os tecidos-alvos (Smith, 1974; Omenn et al., 1996). Além disso, o zinco influencia a conversão do β -caroteno em vitamina A por meio da enzima retinol redutase (Yuyama, 2005).

Durante processos infecciosos e inflamatórios, mesmo após o desaparecimento dos sintomas clínicos, há alteração na concentração de nutrientes séricos, dentre eles a vitamina A. Para detectar a inflamação em pessoas aparentemente saudáveis é realizada a dosagem da proteína C-reativa (PCR) e da α -1-glicoproteína ácida (AGP). A PCR tem meia-vida de 2 dias e se eleva entre 24 a 48h, sendo que a AGP tem meia-vida de 5,2 dias e se eleva entre 3 a 5 dias. De acordo com a severidade do processo traumático ocorre vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, excreção de retinol e RBP, inibição da síntese de RBP, diminuição

da transtirretina, afetando, assim, a concentração sérica de retinol, mesmo quando há reservas hepáticas adequadas (Christian et al., 1998; WHO, 2012). Dá-se então a importância em dosar ambos marcadores inflamatórios para uma correta avaliação do status de vitamina A sérico.

A parasitose intestinal pode diminuir a absorção da vitamina A por alterar a morfologia da mucosa intestinal, sobretudo em casos de giardíase, ascaridíase e estrogiloidíase, particularmente em pacientes com uma alta carga parasitária (Mahalanabis, 1979).

A biodisponibilidade da vitamina A é limitada devido à variabilidade da absorção e conversão em retinol e pela ligação dos carotenóides a proteínas, o que pode ser superado pelo cozimento que dissocia as proteínas e libera o carotenóide. O retinol livre é relativamente estável ao calor e à luz, porém, pode ser destruído pela oxidação. Portanto, sua biopotência pode ser reduzida pela presença de elementos de transição (ferro, cobre) e protegida pelo uso de vitamina E ou antioxidantes sintéticos ou estabilizada pela esterificação (García-Casal et al., 1998; Mahan, 2000).

Os lipídios da dieta auxiliam a captação dos carotenóides, aumentando a absorção destes e do retinol no intestino. Os carotenóides são incorporados a quilomícrons para transporte no soro, melhorando o estado nutricional em relação à vitamina A (Edwards, 2001; Yuyama, 2005). A quantidade de gordura na dieta para assegurar a absorção de carotenóides parece ser baixa (3-5g por refeição), entretanto, isto depende das características físico-químicas dos carotenóides consumidos (van Het Hof, 2000).

Nas folhas verdes, os carotenóides se apresentam nos cloroplastos como complexos de pigmento-proteína e para sua liberação requerem a desintegração do carotenóide. Em outras hortaliças e frutas, os carotenóides, às vezes, se encontram em gotículas de gordura, das quais podem liberar-se facilmente (Saunders, 2000).

Devido sua importância na biossíntese de RBP, a ingestão de zinco afeta positivamente o status de vitamina A somente em indivíduos com desnutrição proteico-energética (DPE) moderada ou severa (Shingwekar, 1979). Entretanto, indivíduos com deficiência de zinco, e suplementados com 220mg/dia deste micronutriente, tiveram melhora na adaptação visual no escuro, pois a deficiência deste está relacionada à redução na síntese de rodopsina, um fotopigmento visual dos bastonetes na retina que atua na transdução do sinal luminoso (Morrison, 1978; Dorea, 1986).

O álcool diminui a captação e mobilização hepática da vitamina A e aumenta a transformação desta em metabólitos não ativos (Ferrini, 2002). O consumo crônico de álcool induz enzimas do citocromo P450 resultando em redução das concentrações hepáticas de

ácido retinóico, além de depletar as reservas hepáticas de vitamina A, que também é causada pela redução no consumo de alimentos fonte em indivíduos alcoólatras (Leo, 1985; Wang, 1999). Devido o etanol e o retinol serem classificados quimicamente como alcoóis, há sobreposição das vias metabólicas destes dois compostos, gerando competição por vias enzimáticas semelhantes (Leo, 1999).

A parasitose intestinal pode diminuir a absorção da vitamina A por alterar a morfologia da mucosa intestinal, sobretudo em casos de giardíase, ascaridíase e estrogiloidíase, particularmente em pacientes com uma alta carga parasitária (Mahalanabis, 1979). Há associação entre o *Schistosoma mansoni* e baixas concentrações séricas de retinol. É importante considerar que o estado nutricional em relação à vitamina A pode estar de alguma forma associado à presença de parasitas intestinais, não devendo ser descartada a possibilidade dos baixas concentrações séricas de retinol aumentarem a susceptibilidade dos indivíduos à infestação (Friis et al., 1997). Na região Norte do Brasil foi observado que o tratamento de parasitoses intestinais como a ascaridíase e giardíase, levou ao aumento dos níveis de retinol pós-suplementação (Marinho, 1991).

Indivíduos portadores de Polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphism* - SNPs) da BCMO1, tais como R267S: rs12934922 no éxon 6 e A379V: rs7501331 no éxon 8, com frequência da variante com, pelo menos, um alelo T de 42 e 24%, apresentam redução da habilidade na conversão do β -caroteno à vitamina A, acompanhada de uma maior concentração de β -caroteno medida em jejum (Leung et al. 2009). Em estudos populacionais, 27-45% de voluntários foram classificados como conversores deficientes do β -caroteno a vitamina A (Hickenbottom et al., 2002; Lin, 2000; Wang, 2004), devido ao comprometimento da função da enzima BCMO1.

1.7. Método de dosagem

A concentração sérica de retinol é um dos indicadores bioquímicos mais utilizados no diagnóstico do estado nutricional de vitamina A e para identificar populações em risco de DVA (WHO, 1996; West, 2002). As prevalências observadas com a aplicação desse método, geralmente, são empregadas no cálculo das estimativas mundiais, revelando a magnitude da DVA em diferentes países. Além disso, tal dosagem tem sido empregada na validação de outros indicadores do estado nutricional de vitamina A, como os indicadores funcional e dietético (Saunders et al., 2005).

Do ponto de vista bioquímico, a determinação das concentrações séricas de vitamina A não apresenta dificuldades, inclusive quando se trata de avaliação ao nível pré-patológico

ou subclínico. No entanto, as concentrações séricas de retinol não refletem diretamente a reserva hepática devido à existência desse controle homeostático, que mantém as concentrações séricas adequadas mesmo quando as reservas já se encontram insuficientes. Quando as reservas hepáticas de vitamina A apresentam uma concentração crítica, em valor de 20mg/g de tecido hepático, as concentrações séricas de retinol diminuem. Tais adaptações servem para manter relativamente constantes os níveis sanguíneos até que as reservas orgânicas sejam depletadas a um ponto em que a adaptação já não possa ser compensada. Assim, não é possível, por intermédio deste indicador convencional, diagnosticar a DVA em seus estágios mais precoces (Underwood, 1984; Olson, 1987).

O teste de dose-resposta relativa (RDR) é utilizado para avaliar as reservas hepáticas da vitamina A, no qual há administração de pequena dose de éster de retinol e posterior coleta de uma amostra de sangue nos momentos zero e cinco horas após a dose, calculando-se o aumento percentual (Flores, 1984). O teste RDR baseia-se no princípio de que, durante a depleção da vitamina A, a proteína apo-RBP se acumula no fígado e, ao receber uma dose de desafio de éster de retinol, este irá se ligar ao excesso RBP e será secretado no soro, como o complexo de holo-RBP-vitamina A. Se as reservas corporais de retinol são adequadas, a concentração de retinol plasmático é pouco afetada, mas quando as reservas são baixas, os níveis de retinol plasmático se elevam acima dos níveis basais (Tanumihardjo, 2004). A OMS indica o ponto de corte de elevação dos níveis basais 20% como indicação da redução de estoques corporais (WHO, 1996).

A partir de análise do National Health and Nutrition Examinations Survey, realizada nos Estados Unidos entre os anos de 1988 a 1994, foi verificado que as concentrações séricas de retinol $<1,05 \mu\text{M/L}$ foram mais prevalentes em crianças de 4 a 13 anos e que esses casos foram considerados como estado nutricional de vitamina A subótimo, pois houve aumento das concentrações séricas de retinol após a suplementação com vitamina A. Reforçando tal afirmativa, observa-se em populações bem nutridas que os níveis de reserva hepática adequada de vitamina A estão associados aas concentrações séricas de retinol maiores que $1,05 \mu\text{M/L}$ (Ballew, 2001).

De acordo com a tabela 2, as concentrações séricas de retinol têm valores de corte de $0,7 \mu\text{M/L}$ e de $0,35 \mu\text{M/L}$ para deficiência moderada e severa de vitamina A, respectivamente (WHO, 1996; Sommer, 2002). Níveis séricos de $1,05 \mu\text{M/L}$ têm sido sugeridos como baixas concentrações séricas em gestantes e lactantes (West, 2002). Já para as concentrações séricas de β -caroteno os valores de normalidade são de $0,9 - 4,6 \mu\text{M/L}$ (Blass et al., 2013).

Tabela 2: Classificação das concentrações séricas de retinol

Classificação	Concentrações sérica de retinol	
	$\mu\text{g/dL}$	$\mu\text{M/L}$
Normal	$>30,0$	$\geq 1,05$
Aceitável	20,0 – 29,9	0,70 – 1,04
Baixo	10,0 – 19,9	0,35 – 0,69
Deficiente	$<10,0$	$< 0,35$

Fonte: WHO, 1996

Do ponto de vista bioquímico, a DVA é considerada um problema de saúde pública quando 15% ou mais dos indivíduos apresentam concentrações séricas de retinol menores que $0,70 \mu\text{M/L}$ ou quando 5% ou mais da população tem concentrações menores que $0,35 \mu\text{M/L}$ (Arroyave, 1982).

Em populações com desnutrição, cerca de 25% dos indivíduos apresentam concentrações séricas de retinol menores que $0,7 \mu\text{M/L}$, um nível que reflete a DVA na população. Nos Estados Unidos, menos de 5% da população adulta apresenta concentrações séricas menores que $1,05 \mu\text{M/L}$, tendo em média 1,7 a $2,2 \mu\text{M/L}$ de retinol (Underwood, 1994).

1.8. Deficiência

A hipovitaminose A é a DVA em nível dietético, bioquímico ou clínico, com repercussões sistêmicas que afetam as estruturas epiteliais de diferentes órgãos, sendo, nos olhos, os efeitos mais evidentes. O termo mais atual usado em substituição a hipovitaminose A é deficiência de vitamina A (Brasil, 2002).

Segundo Programa Nacional de Alimentação e Nutrição (2014), a DVA pode ser causada por:

- Falta de amamentação, desmame precoce ou descarte do colostro: o leite materno é rico em vitamina A e é o alimento ideal para crianças até seis meses de idade (WHO, 2009).
- Consumo insuficiente de alimentos ricos em vitamina A.
- Consumo insuficiente de alimentos que contêm gordura: o organismo humano necessita de uma quantidade de gordura proveniente dos alimentos para manter diversas funções essenciais ao seu bom funcionamento. Uma delas é permitir a absorção de algumas vitaminas, chamadas lipossolúveis (Vitaminas A, D, E e K).
- DPE.
- Infecções frequentes: as infecções que acometem as crianças levam a uma diminuição do apetite, sendo que a criança passa a ingerir menos alimentos podendo surgir uma DVA.

Além disso, a infecção faz com que as necessidades orgânicas de Vitamina A sejam mais altas, levando a redução dos estoques no organismo e desencadeando ou agravando o estado nutricional.

- Colestase: quando a colestase é prolongada e/ou grave, ocorre supressão total ou quase total da secreção de bile; sendo esta, devido à sua composição característica, essencial para a solubilização de lipídios e vitaminas lipossolúveis de modo a que estes possam ser absorvidos, a vitamina A não poderá ser absorvida, resultando em déficit deste micronutriente.

O diagnóstico da DVA só pode ser confirmado por profissionais de saúde, pois muitos dos sinais são comuns a outras doenças, como a pele seca e fadiga, embora outros sejam mais característicos da Hipovitaminose A. Um epitélio severamente afetado é o do revestimento ocular, levando à xeroftalmia. A xeroftalmia é o nome genérico dado aos diversos sinais e sintomas oculares da hipovitaminose A. A forma clínica mais precoce da xeroftalmia é a cegueira noturna, também chamada de nictalopia, na qual a criança não consegue boa adaptação visual em ambientes pouco iluminados. Manifestações mais acentuadas da xeroftalmia são a mancha de Bitot, normalmente localizada na parte exposta da conjuntiva, e a xerose, sendo que nos estágios mais avançados a córnea também está afetada constituindo a xerose corneal, caracterizada pela perda do brilho, assumindo aspecto granular e ulceração da córnea. A ulceração progressiva pode levar à necrose e destruição do globo ocular provocando a cegueira irreversível, o que é chamado de ceratomalácia (PNAN, 2014).

A DVA tem sido associada com uma redução no número de linfócitos e das células natural killer, diminuição do peso dos órgãos linfóides, além da diminuição da resistência aos tumores imunogênicos (Cantorna et al., 1995). A anemia é resultante da DVA em crianças e mulheres, pois a vitamina A atua na hematopoiese e na mobilização e transporte do ferro (WHO, 2009).

Em 1995, foi estimado que em países em desenvolvimento, cerca de 3 a 10 milhões de crianças em idade escolar apresentaram xeroftalmia, sendo que 250 a 500 mil apresentaram cerotomalácia por ano (Sommer, 1996; WHO, 2009). Estima-se que a DVA afete cerca de 75 a 140 milhões de crianças em idade pré-escolar por ano em países em desenvolvimento, principalmente na África, no sul e sudeste Asiático, causando altos índices no mortalidade nestes continentes (West, 2002; WHO, 2009). Em 2004 o projeto Micronutrient Initiative e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) estimaram que para o ano de 2000 e DVA clínica e bioquímica afetava 7 e 210 milhões de crianças pré-escolares, respectivamente (Micronutrient Initiative, 2004).

Baixas concentrações séricas de vitamina A afetava 19,8 milhões de mulheres gestantes, sendo que 7,2 milhões apresentavam DVA, com níveis $<0,70 \mu\text{M/l}$ e que 6,2 milhões apresentaram cegueira noturna durante a gestação, afetando cerca de 2/3 das mulheres do sul e sudeste asiático (West, 2002).

A DVA é um problema sério de saúde pública que afeta principalmente mulheres grávidas ou lactantes e crianças na idade pré-escolar, com uma estimativa de 250 milhões de pessoas em risco de desenvolver as desordens resultantes da DVA no mundo (Underwood, 2004). O Brasil foi classificado pela Organização Mundial da Saúde e pela Organização Pan-Americana de Saúde como área de carência sub-clínica grave (WHO, 1995; McLaren, 1999), onde cerca de 70% das crianças em idade pré-escolar apresentam DVA, segundo estudo realizado na periferia de Ribeirão Preto (Fonseca, 2008). A deficiência nestes grupos vulneráveis ocorre devido ao aumento em requerimentos fisiológicos, juntamente com uma baixa ingestão de dieta rica em vitamina A (Miller, 2002).

No Brasil, no ano de 2000, 23% das mortes por diarreia em crianças, estava associada com a hipovitaminose A e essa carência nutricional era a principal causa de cegueira evitável no mundo (Brasil, 2000). A população infantil do Nordeste é a mais vulnerável ao problema, uma vez que 16% a 55% das crianças apresentaram dosagem de vitamina A abaixo de $0,7 \mu\text{M/L}$, caracterizando situações carenciais endêmicas. Existem igualmente indicações da ocorrência da hipovitaminose A em bolsões de pobreza de Minas Gerais e São Paulo, além de áreas da Região Norte. Nestas áreas, mais de 15% das amostras de sangue examinadas comprovaram que a dosagem de vitamina A estava abaixo do limite de normalidade (Brasil, 2002).

Dados da Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (PNDS) realizado com 3.499 crianças menores de cinco anos e 5.669 e 5.698 mulheres grávidas e não grávidas, respectivamente mostrou que 17,4% das crianças e 12,3% das mulheres em geral apresentavam níveis séricos inadequados de retinol. Em crianças, as maiores prevalências dessa inadequação foram encontradas no Nordeste (19,0%) e Sudeste (21,6%) do país. Morar na zona urbana foi uma variável associada à maior prevalência de níveis deficientes quando comparada com a zona rural. A maior idade materna (>35 anos) também foi associada à maior ocorrência de crianças com níveis deficientes de vitamina A. A prevalência de níveis baixos e marginais da vitamina A entre crianças e mulheres, apresenta-se muito acima das observadas em países desenvolvidos (Brasil, 2009).

Com o objetivo de combater a DVA, vários esforços estão sendo desenvolvidos para aumentar a ingestão da vitamina A pelo aumento do conteúdo e da biodisponibilidade de

fontes de pró-vitamina A (De Pee, 2007). Devido aos efeitos adversos do excesso de suplementação com vitamina A pré-formada, a suplementação com pró-vitamina A tem sido considerada como a intervenção mais apropriada para satisfazer o aumento da demanda de mulheres grávidas e lactantes deficientes em vitamina A nos países ocidentais (Strobel, 2007).

A deficiência aguda de vitamina A é tratada com grandes doses orais da mesma e correção da DPE, concomitantemente. Os sintomas de deficiência respondem à dieta e suplementação vitamínica na mesma ordem em que eles aparecem. Por exemplo, a cegueira noturna responde rapidamente, enquanto as anormalidades cutâneas podem levar diversas semanas para desaparecer (Ross, 2002).

Em países em desenvolvimento, a suplementação de vitamina A diminui o risco de mortalidade em crianças (Humphrey, 1996) e mulheres grávidas e no pós-parto (West et al., 1999), com redução de 23 a 30% na mortalidade de crianças (Beaton et al., 1993). A Organização Mundial da Saúde recomenda a suplementação profilática em populações com DVA e o tratamento de crianças com xerofthalmia, sarampo, diarreia prolongada e desnutrição (WHO, 1997).

No Brasil, o Programa Nacional de Alimentação e Nutrição estabeleceu medidas importantes de prevenção da DVA (PNAN, 2014):

1. Promoção do aleitamento materno exclusivo até o 6º mês e complementar até 2 anos de idade ou mais com a introdução dos alimentos complementares em tempo oportuno e de qualidade.
2. Promoção da alimentação adequada e saudável, assegurando informações para incentivar o consumo de alimentos fontes em vitamina A pela população.
3. Suplementação profilática periódica e regular das crianças de 6 a 59 meses de idade, com megadoses de vitamina A.
4. Suplementação profilática com megadoses de vitamina A para mulheres no pós-parto imediato (puérpera), antes da alta hospitalar. A suplementação de mulheres no pós-parto imediato acontece somente na Região Nordeste e em alguns municípios localizados na Região Norte, Estado de Minas Gerais e Mato Grosso.

Desde 1980, o Ministério da Saúde (MS) vem atuando nos estados do Nordeste e posteriormente nas demais regiões do Brasil com ações de intervenções visando à redução da DVA no país. Desde 2005, em parceria com as secretarias estaduais e municipais de Saúde, o MS realiza o “Vitamina A Mais - Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A”. As estratégias de intervenções são estabelecidas via suplementação de megadoses de vitamina A

as crianças de 6 a 59 meses de idade residentes em áreas consideradas de risco, associadas a ações educativas implementadas pelos Agentes Comunitários de Saúde e também por intermédio dos meios de comunicação de massa, disponibilizando informações à população que visem à seleção de alimentos ricos em retinol e carotenóides na composição de sua alimentação diária. No Brasil, são consideradas áreas de risco a região Nordeste, Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais e Vale do Ribeira em São Paulo (PNAN, 2014).

1.9. Metabolismo

O β -caroteno é a mais abundante fonte de pró-vitamina A presente nos alimentos, como relatado anteriormente. Cerca de 10 a 50% do total de β -caroteno consumido é absorvido pelo trato gastrointestinal. Dentro da parede do intestino, é parcialmente convertido em vitamina A (Layrisse et al., 2000), processo este denominado bioconversão (Rodrigues-Amaya, 2008), o qual é regulado para que quantidades excessivas de vitamina A não sejam absorvidas das fontes de β -caroteno (García-Casal et al., 1998).

Já a absorção do retinol, proveniente de fontes alimentares de origem animal, é realizada quase que integralmente em condições de normalidade do aparelho gastrointestinal, sendo que sua absorção e de seus ésteres de retinil é mais completa em jejum e quando administrados com soluções aquosas. Na presença de anormalidades da absorção das gorduras, a absorção do retinol também sofre redução (Mahan, 2000).

Após ingeridos, os carotenóides são incorporados em micelas mistas constituídas de ácidos biliares, ácidos graxos livres, monoglicerídios e fosfolipídios. A quantidade de carotenóides incorporada nas micelas depende da polaridade do carotenóide e da composição e saturação dos ácidos graxos micelares (Ambrosio, 2006).

Nas células da mucosa intestinal o β -caroteno é clivado em duas moléculas de retinal, as quais são reduzidas e esterificadas para formar ésteres de retinil. No intestino delgado os ésteres de retinil, provenientes da dieta, são hidrolisados a retinol, que é a principal forma de transporte e armazenamento e, que conjuntamente com os carotenóides dietéticos, são absorvidos pela mucosa intestinal e transportados no plasma pelos quilomícrons sob a forma de ésteres de retinol pela circulação entero-hepática para seu armazenamento no fígado (Olson, 1999; Allen, 2002; Souza, 2002). Esta absorção é mais lenta em indivíduos idosos (Borel et al., 1998a).

O retinol é metabolizado no fígado em diversos produtos, sendo alguns conjugados com o ácido glicurônico ou taurina para serem excretados na bile (Sporn, 1984). O retinol armazenado no fígado é liberado para a circulação por meio de sua ligação com a RBP, ou

seja, o retinol é acoplado à RBP e é transportado a determinados tecidos num complexo com as pré-albuminas séricas. As RBPs transportam o retinol e a albumina transporta o ácido retinóico na circulação até atingirem as células-alvo (Olson, 1999; Allen, 2002; Souza, 2002; Ross, 2003a). A partir de estudos cinéticos, foi estabelecido que o retinol ligado à RBP se recicla até 12 vezes no trajeto entre o fígado, plasma e tecidos extra-hepáticos antes de sua utilização irreversível, processo chamado de reciclagem do retinol (Blomhoff et al., 1994).

Os ácidos retinóicos, uma vez no núcleo, atuam na ativação do receptor de ácido retinóico (RAR) e do receptor X de retinóides (RXR). Esses receptores apresentam afinidade específica, sendo que o RAR é responsivo para o ácido *all-trans*-retinóico, sendo que o ácido *9-cis*-retinóico possui maior afinidade pelo RXR. Quando ativadas pela ácido retinóico, estas proteínas formam o complexo ligante-receptor, formando dímeros do tipo RAR/RXR ou RXR/RXR, atuando como fatores de transcrição ligando-se às sequências alvo específicas do DNA levando a ativação ou inibição de genes que mediam efeitos biológicos (Ross, 2003b).

O fígado é o principal órgão responsável pelo armazenamento, metabolismo e distribuição da vitamina A para os tecidos periféricos (Dawson et al., 2000). Aproximadamente 90% da vitamina A do organismo é armazenada no fígado, sendo também armazenada no tecido adiposo, pulmões e rins (Ferrini, 2002). De acordo com Roenigk (1982) o fígado, além de funcionar como sítio de depósito de vitamina A, pode utilizar retinol para seu funcionamento normal, como proliferação e diferenciação de suas células. Este órgão é composto por vários tipos de células, dos quais dois tipos – células parenquimatosas (ou hepatócitos) e células estreladas (ou células de Ito) – estão diretamente envolvidos no metabolismo de vitamina A (Blomhoff et al., 1994).

O retinol não é eliminado na urina e sob a forma inalterada é excretado somente em casos de nefrite crônica. Quando altas doses de vitamina A são administradas uma parte do retinol sofre excreção sob a forma inalterada nas fezes (Mahan, 2000).

1.10. Enzima e gene β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1 (BCMO1)

Os carotenóides são clivados dentro das células absorptivas da mucosa intestinal. Existem duas vias para descrever a clivagem do β -caroteno em vitamina A: a simétrica e assimétrica. A principal via é a clivagem simétrica catalisada pela enzima citossólica β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1 (BCMO1). Ela cliva o β -caroteno em sua dupla ligação central (15-15'), obtendo duas moléculas de *all-trans*-retinal, que pode ser convertido de forma reversível a retinol (vitamina A) e irreversível a ácido retinóico. Já a via de clivagem

assimétrica é realizada pela enzima mitocondrial β -caroteno 9',10'-dioxigenase (BCDO2) nas outras ligações duplas, exceto na central, formando β -apocarotenos (8'-, 10'- e 12'-apocarotenóides) com tamanhos diferentes de cadeia, que podem ser convertidos a retinal (Lindqvist, 2002; Ho, 2007) (Figura 2). A enzima BCDO2 pode metabolizar compostos sem atividade pró-vitamina A com as xantofilas (Mein, 2011).

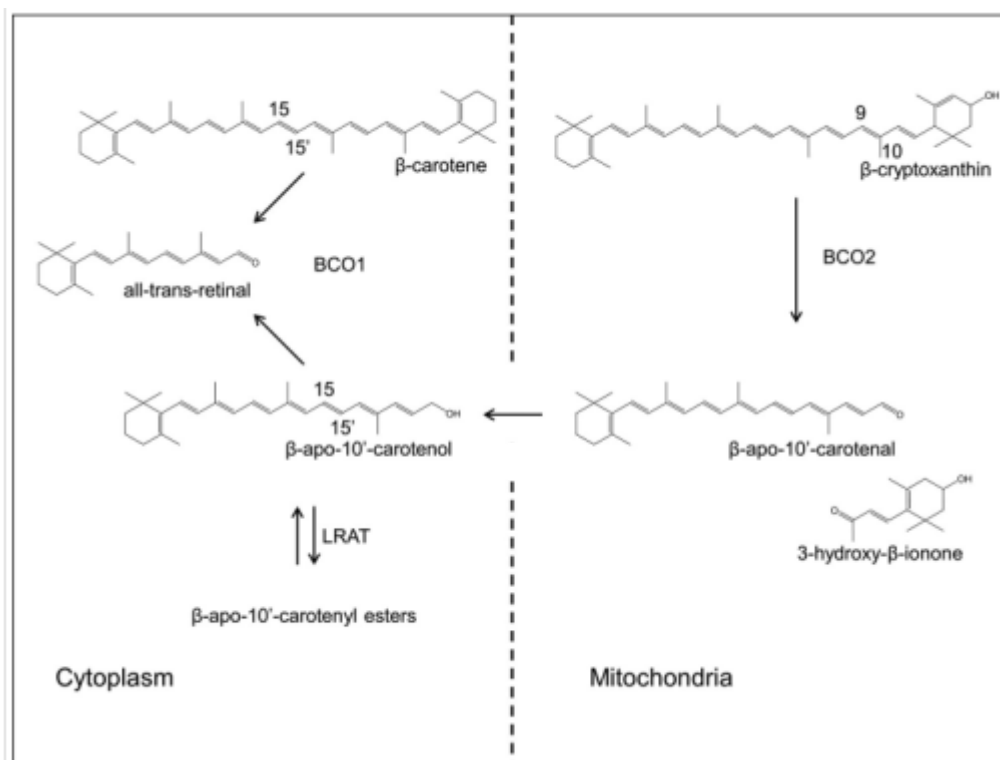


Figura 2: Esquema do metabolismo dos carotenóides pró-vitamina A: clivagens simétrica (à esquerda) e assimétrica (à direita) (Amengual, 2013). LRAT: lecithin-retinol acyltransferase.

A presença de pelo menos um anel β -ionona não substituído é fundamental para a clivagem da enzima BCO1 (Lindqvist, 2002). Sendo assim este processo ocorre somente no α e β -caroteno, β -apocarotenóides e β -criptoxantina, não ocorrendo no licopeno e zeaxantina (Redmond et al., 2001, Lietz 2012).

A atividade da enzima BCO1 é determinada pela composição lipídica, proteica, de antioxidantes, polifenóis e carotenóides na dieta (Lietz, 2010). A quantidade de vitamina é o fator que exerce maior influência na atividade da enzima, sendo que a produção excessiva de vitamina A e do ácido retinóico via BCO1 pode ser inibida quando os estoques hepáticos estão adequados (van Vliet, 1996).

Em humanos, cerca de 35 a 88% do β -caroteno absorvido é clivado oxidativamente pela enzima BCO1 (Lietz, 2010). A enzima BCO1 é solúvel em citosol, com alta atividade na mucosa intestinal, especificamente em enterócitos do jejuno (During et al.,

1996). O gene que codifica esta proteína é expresso em tecidos extra-intestinais, sendo que a enzima BCMO1 presente nestes tecidos converte os carotenóides em vitamina A (Lindqvist, 2004).

O gene BCMO1 foi identificado em diversas espécies, incluindo *Drosophila*, frango, rato e humano (Lindqvist, 2002). A expressão do gene BCMO1 em tecidos humanos ocorre em níveis elevados no fígado e nos rins e os níveis mais baixos na próstata, testículos, ovários e cólon. A enzima BCMO1 foi predominantemente encontrada em células epiteliais de vários tecidos, incluindo o estômago, intestino delgado, cólon, próstata e endométrio. No rim, a enzima foi localizada nas estruturas tubulares distais e proximais. Além disso, a análise imunohistoquímica revelou a expressão do gene BCMO1 na porção exócrina do pâncreas, na epiderme da pele e no corpo ciliar do olho. Expressão moderada do gene BCMO1 foi encontrada em células de Leydig e Sertoli produtoras de androgênio do testículos. O ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) do gene BCMO1 também foi encontrado no córtex das glândulas supra-renais, nos músculos esqueléticos, bem como em células granulosas produtoras de estrógeno do ovário (Lindqvist, 2004).

Em modelos animais, foram encontradas evidências (Wyss, 2004) de que a expressão intestinal do gene BCMO1 é regulada por um mecanismo de “feedback” negativo, uma vez que o ácido retinóico derivado vitamina A regula os níveis de RNAm do gene BCMO1 para além de 90%. Esta regulação por “feedback” pode envolver o fator de transcrição intestino-específico, *Isx* (Seino et al., 2008). No fígado e em tecidos periféricos, outros fatores influenciam a expressão do RNAm, provavelmente via interação com dois elementos regulatórios *myocyte enhancer factor-2* e *Peroxisome proliferator-activated receptor γ* (MEF2/PPAR γ) na região promotora do gene BCMO1 (Bachmann et al., 2002; Gong, 2006).

A maioria das variações genéticas no genoma humano ocorrem na forma de alterações de bases únicas chamadas de SNPs. Esses polimorfismos são simplesmente pontos no genoma que diferem na sequência nucleotídica entre uma porção da população e outra – posições onde uma grande fração da população possui um par de nucleotídeos C-G, por exemplo, e a outra possui um A-T. Dois genomas escolhidos na população mundial, ao acaso, diferirão por aproximadamente $2,5 \times 10^6$ SNPs que são dispersos pelo genoma. Visto que os SNPs estão presentes nesta alta densidade, eles podem fornecer marcadores úteis para a condução de análises genéticas nas quais se pode tentar ligar um traço específico, como uma susceptibilidade a doenças, com um padrão particular de SNPs. Esse tipo de análise pode levar a avanços em cuidados com saúde, por permitir que profissionais da área determinem se um indivíduo é susceptível a uma doença muito antes que este apresente seus sintomas. A

mudança de estilo de vida poderá auxiliar na prevenção de determinada patologia (Alberts, 2011).

A atividade do β -caroteno como vitamina A, mesmo quando medida sob condições controladas, é altamente variável e surpreendentemente baixa (Borel et al., 1998b; Lin, 2000; Edwards, 2001; Hickenbottom et al., 2002; Wang, 2004). Em estudos populacionais, 27-45% dos voluntários foram classificados como conversores deficientes do β -caroteno a vitamina A (Lin, 2000; Hickenbottom et al., 2002; Wang, 2004). Estes indivíduos têm a capacidade de formar somente 9% de vitamina A, a partir do β -caroteno, quando comparados com aqueles classificados como conversores normais (Wang, 2004). Esta ampla diferença inter-individual pode ser causada por redução da atividade enzimática, como consequência de SNPs no gene BCMO1.

Um estudo com mulheres Caucásicas do Reino Unido mostrou que o alelo T do SNP R267S: rs12934922 esteve significativamente associado com altos níveis de β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina e luteína/zeaxantina. O alelo T do SNP A379V: rs7501331 esteve associado com baixas concentrações séricas de β -caroteno e α -caroteno (Hendrickson et al., 2012).

Outro estudo com uma amostra de adultos americanos saudáveis que tinham ingerido suco de melancia mostrou que o genótipo AT do SNP R267S: rs12934922 teve uma resposta aumentada ao β -caroteno sérico, assim como indivíduos com o genótipo CC do SNP A379V: rs7501331 e a combinação AT/CC, sugerindo haver uma correlação positiva entre estes genótipos e a biodisponibilidade do β -caroteno. Os autores concluíram que indivíduos com concentrações plasmáticas de carotenóides similares no momento inicial podem ter uma resposta aumentada ou diminuída após a intervenção dietética (Wang, 2013).

Uma mutação é definida como qualquer alteração na sequência de bases ou rearranjo do DNA genômico (Passos-Bueno, 2004). A mutação T170M no gene BCMO1 causa um enorme decréscimo na atividade da enzima *in vitro*, e está associada com hiperquerotenemia e hipovitaminose A em um portador heterozigoto. No entanto, considerando a sua frequência muito baixa, esta mutação não poderia explicar a frequência alta de fenótipos conversores deficientes observados na população humana (Lindqvist, 2007).

Um estudo de Leung et al. (2009) mostrou a existência de dois SNPs, R267S: rs12934922 e A379V: rs7501331 com frequência da variante alélica de 42 e 24%, respectivamente, no gene BCMO1 que ocorrem em frequências similares às frequências da característica conversor deficiente observada em estudos de intervenção humana, e que comprometem a função da enzima BCMO1. O gene BCMO1 está localizado no cromossomo

16, sendo que o SNP R267S: rs12934922 está localizado no éxon 6 e SNP alélico A/T alterando a trinca de aminoácidos de AGA (Arginina) para AGT (Serina), na posição 267. Já o SNP A379V: rs7501331 está localizado no éxon 8 e SNP alélico C/T alterando a trinca de aminoácidos de GCA (Alanina) para GTA (Valina), na posição 379 (Leung et al., 2009).

Mulheres voluntárias Caucasianas do Reino Unido portadoras da variação R267S/A379V mostraram redução na habilidade em converter β -caroteno em 69%, enquanto aquelas portadoras da variante A379V mostraram uma redução na habilidade em converter o β -caroteno em 32%. Conforme o esperado, a redução da habilidade na conversão do β -caroteno à vitamina A foi acompanhada de uma maior concentração de β -caroteno medida em jejum (Leung et al., 2009). Estes dados mostram que existe variabilidade genética no metabolismo do β -caroteno e podem fornecer uma explicação para a base molecular dos conversores deficientes da população.

Populações com DVA e portadoras da variante A379V com elevada frequência podem se beneficiar mais da suplementação da vitamina A, ao invés do aumento na ingestão de alimentos fonte de pró-vitamina A para aumentar os níveis de vitamina A (Leung et al., 2009).

As frequências das variantes alélicas de R267S e A379V encontradas foram de 42% e 24%, respectivamente (Leung et al., 2009). O The International HapMap Project (2001), organização que desenvolveu o *haplotype map* (HapMap) do genoma humano, encontrou frequências semelhantes para uma população Caucasiana Europeia ocidental, com 48% para a variante R267S e 26% para a variante A379V. A variante R267S/A379V foi encontrada em 24% e 36%, em uma população Caucasiana no Reino Unido (Leung et al., 2009) e numa população Caucasiana Europeia ocidental do banco de dados HapMap, respectivamente.

As variantes A379V e R267S/A379V foram detectadas também em populações Chinesa e Japonesa no banco de dados HapMap, mas com grande diferença entre os grupos étnicos. A variante A379V foi encontrada a uma frequência de 31% e 24% na população Chinesa e Japonesa, respectivamente, enquanto a variante R267S/A379V foi observada em 9% e 2% da população Chinesa e Japonesa, respectivamente. É importante notar que o alelo 379V não foi encontrado na população Yoruba na Nigéria, analisada pelo International HapMap Project.

Os objetivos deste estudo foram identificar a frequência das variantes polimórficas A379V e R267S/A379V do gene BCMO1 em três grupos populacionais brasileiros (brancos, negros e japoneses) e avaliar a relação entre os SNPs com as concentrações séricas de β -caroteno e retinol entre os três diferentes grupos étnicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al. Fundamentos da Biologia Celular, 3ª ed. Editora Artmed; 2011. p. 297-321.
- Albuquerque MNL, Diniz AS, Arruda IKG. Retinolemia, consumo de vitamina A e pressão arterial em idosos. Arch Latinoam Nutr. 2009;59(4):396-401.
- Allen L H, Haskell M. Estimating the potential for vitamin A toxicity in women and young children. J Nutr. 2002;132(9):2907S-19S.
- Ambrosio CLB, Campos FACS, Faro ZP. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. Rev Nutr. 2006;19(2):233-43.
- Amengual J, Widjaja-Adhi MAK, Rodriguez-Santiago S, Hessel S, Golczak M, Palczewski K, et al. Two Carotenoid Oxygenases Contribute to Mammalian Provitamin A Metabolism. J Biol Chem. 2013;288(46):34081-96.
- Arroyave G, Chichester CO, Flores H, Glover JG, Mejía LA, Olson JA, et al. Biochemical methodology for the assessment of vitamin A status. Washington DC: IVACG; 1982. 88p.
- Bachmann H, Desbarats A, Pattison P, Sedgewick M, Riss G, Wyss A, et al. Feedback regulation of beta,beta-carotene 15,15'-monooxygenase by retinoic acid in rats and chickens. J Nutr. 2002;132(12):3616-22.
- Ballew C, Bowman BA, Sowell AL, Gillespie C. Serum retinol distributions in residents of the United States: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. Am J Clin Nutr. 2001;73(3):586-93.
- Beaton GH, Martorell R, Aronson KJ, Edmonston B, McCabe G, Ross AC, et al. Effectiveness of Vitamin A Supplementation in the Control of Young Child Morbidity and Mortality in Developing Countries. Geneva: Subcommittee on Nutrition, Administrative Committee on Coordination, World Health Organization. 1993
- Biesalski HK, Grimm P. Vitaminas lipossolúveis - Vitamina A. In: Biesalski, HK; Grimm, P. Nutrição - Texto e Atlas. 1 ed; 2007. p. 152-161.
- Blass SC, Goost H, Burger C, Tolba RH, Stoffel-Wagner B, Stehle P, et al. Extracellular micronutrient levels and pro-/antioxidant status in trauma patients with wound healing disorders: results of a cross-sectional study. Nutr J. 2013;12:157.
- Blomhoff R, Green MH, Berg T, Norun KR. Transport and storage of vitamin A. Science. 1994;250:404.
- Bon AMX, Miguel M. O consumo de vitamina A em Ribeira, São Paulo (Brasil). Rev Saúde Públ. 1974;8(1):87-92.
- Borel P, Mekki N, Boirie Y, Partier A, Grolier P, Alexandre-Gouabau MC, et al. Comparison of the post-prandial plasma vitamin A response in young and older adults. J Gerontol. 1998a;53(1):B33-40.

Borel P, Grolier P, Mekki N, Boirie Y, Rochette Y, LeRoy B, et al. Low and high responders to pharmacological doses of beta-carotene: proportion in the population, mechanisms involved and consequences on beta-carotene metabolism. *J Lipid Res.* 1998b;39(11):2250-60.

Brasil. Ministério da Saúde. Área técnica de alimentação e nutrição. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/carencias/index/html>>. Acesso em: 3 fev. 2002.

Brasil. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2006: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança/ Ministério da Saúde, Centro Brasileiro de Análise e Planejamento. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 300p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Política nacional de alimentação e nutrição. Brasília: Ministério da Saúde, 2000.

Cantorna MT, Nashold FE, Hayes CE. Vitamin A deficiency results in a priming environment conducive for TH1 cell development. *Eur J Immunol.* 1995;25(6):1673-9.

Castenmiller JJM, West CE. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Ann Rev Nutr.* 1998;18:19-38.

Christian P, Schulze K, Stoltzfus RJ, West KP Jr. Hyporetinolemia, illness symptoms, and acute phase protein response in pregnant women with and without night blindness. *Am J Clin Nutr.* 1998;67(6):1237-43.

Coelho CSP. Inquérito dietético na avaliação do estado nutricional de vitamina A em gestantes (Dissertação). Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1995.

Combs, GF Jr. Vitaminas. In: Manhan M, Escott-Stump S. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. São Paulo: Roca; 2002. p. 65-105.

Dawson HD, Yamamoto Y, Zolfaghari R, Rosales FJ, Dietz J, Shimada T, et al. Regulation of hepatic vitamin A storage in a rat model of controlled vitamin A status during aging. *J Nutr.* 2000;130(5):1280-6.

De Pee, S, Bloem MW. The bioavailability of (pro) vitamin A carotenoids and maximizing the contribution of homestead food production to combating vitamin A deficiency. *Int J Vitamin Nutr Res.* 2007;77(3):182-92.

di Mascio, P.; Kaiser, S.; Sies, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Bioph.* 1989;274(2):532-8.

Dorea JG, Olson JA. The rate of rhodopsin regeneration in the bleached eyes of zinc-deficient rats in the dark. *J Nutr.* 1986;116(1):121-7.

During A, Nagao A, Hoshino C, Terao J. Assay of beta-carotene 15,15 β -dioxygenase activity by reverse-phase high-pressure liquid chromatography. *Anal Biochem.* 1996; 241(2):199-205.

Edwards AJ, You CS, Swanson JE, Parker RS. A novel extrinsic reference method for assessing the vitamin A value of plant foods. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(3):348-55.

Epler KS, Zeigler RG, Craft NE. Liquid chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in foods. *J Chromat.* 1993; 619(1):37-48.

Fernandes TFS, Diniz AS, Cabral PC, Oliveira RS, Lola MMS, Silva SMM, Kolsteren P. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. *Rev Nutr Campinas.* 2005;18(4):471-80.

Ferrini MT, Borges VC, Maco D, Aguiar JE, Bottoni A, Waitzberg DL. Vitaminas. In: Waitzberg, D. L. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica.* São Paulo: Atheneu; 2002. p. 95-115.

Flores H, Campos F, Araújo CRC, Underwood BA. Assessment of marginal vitamin A deficiency in Brazilian children using the relative dose response procedure. *Am J Clin Nutr.* 1984; 40(6):1281-9.

Fonseca, ABBL. Vitamina A. In: Paschoal V, Marques N, Brimberg P, Diniz S. *Suplementação Funcional Magistral: dos nutrientes aos compostos bioativos.* São Paulo: Valéria Paschoal Editora Ltda.; 2008. p. 287-98.

Footo CS, Chang YC, Denny RW. Chemistry of singlet oxygen. X. Carotenoid quenching parallels biological protection. *J Am Chem Soc.* 1970;92(17):5216-8.

Friis H, Mwananiki D, Omondi B, Muniv E, Magnussen P, Geissler, et al. Serum retinol concentrations and schistosoma mansoni, intestinal helminths and malarial parasitemia: a cross-sectional study in Kenya preschool and primary school children. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(3):665-71.

García-Casal MN, Layrisse M, Solano L, Beron MA, Arguello F, Llovera D, et al. Vitamin A and β -carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by human. *J Nutr.* 1998;128(3):646-50.

Gaziano JM, Hennekens CH. The role of beta-carotene in the prevention of cardiovascular disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;691(1):148-55.

Germano RMA, Canniatti Brazaca SG. Vitamina A – importância na nutrição humana. *J Brazilian Soc Food Nutr.* 2004;27:55-68.

Goldberg J, Flowerdew GE, Smith E, Brody J, Tso M. Factors associated with age-related macular degeneration. An analysis of data from the first National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol.* 1988;128(4):700-10.

Gong X, Tsai SW, Yan B, Rubin LP. Cooperation between MEF2 and PPAR gamma in human intestinal β,β -carotene 15,15'-monooxygenase gene expression. *BMC Mol Biol.* 2006;7:7.

Hankinson SE, Stampfer MJ, Seddon JM, et al. Nutrient intake and cataract extraction in women: a prospective study. *B Med J.* 1992;305(6849):335-9.

Henderson L, Irving K, Gregory J, Bates CJ, Prentice A, Perks J, et al. *The National Diet and Nutrition Survey: adults aged 19 to 64 years. Vol 3: Vitamin and mineral intake and urinary analytes.* London: The Stationery Office; 2003.

Hendrickson SJ, Hazra A, Chen C, Eliassen AH, Kraft P, Rosner BA, et al. β -Carotene 15,15'-monooxygenase 1 single nucleotide polymorphisms in relation to plasma carotenoid and retinol concentrations in women of European descent. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(6):1379-89.

Hennekens CH, Buring UE, Peto R. Antioxidant vitamins-benefits not yet proved. *N Engl J Med.* 1994;330(15):1080-1.

Hickenbottom SJ, Follett JR, Lin Y, Dueker SR, Burri BJ, Neidlinger TR, et al. Variability in conversion of beta-carotene to vitamin A in men as measured by using a double-tracer study design. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(5):900-7.

Ho CC; Moura FF; Kim SH; Clifford AJ. Excentral cleavage of β -carotene in vivo in a healthy man. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(3):770-7.

Humphrey JH, Agoestina T, Wu L, Usman A, Nurachim M, Subardja D, et al. Impact of neonatal vitamin A supplementation on infant morbidity and mortality. *J Pediatr.* 1996;128(4):489-96.

IOM (Institute of Medicine). Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Nova York, National Academy Press. 2001:442-501. Disponível em: http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=10026&page=93

Jacques PF, Chylack LT, McGandy RB, Hartz SC. Antioxidant status in persons with and without senile cataract. *Arch Ophthalmol.* 1988;106(3):337-40.

Krinsky NI, Landrum JT, Bone RA. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Ann Rev Nutr.* 2003;23:171-201.

Kull D, Pfander H. Appendix: List of new carotenoids. In: Britton G, Liaaenjenen S, Pfander H. (Eds.). *Carotenoids Volume 1A: Isolation and Analysis.* Basel: Birkhäuser Verlag; 1995. p. 295-317.

Kurilich AC, et al. Carotene, tocopherol and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem.* 1999;47(4):1576-81.

Landrum JT, Bone RA. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Arch Bioph.* 2001;385(1):28-40.

Layrisse M, Garcia-Casal MN, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, et al. New property of vitamin A and β -carotene an human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption. *Arch Latinoam Nutr.* 2000;50(3):243-8.

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. *Princípios de bioquímica.* 2.ed. São Paulo: Sarvier; 2000. 839 p.

Lemke SL, Dueker SR, Follett JR, Lin Y, Carkeet C, Buchholz BA, et al. Absorption and retinol equivalence of β -carotene in humans is influenced by dietary vitamin A intake. *J Lipid Res.* 2003; 44(8):1591-600.

- Leo MA, Lieber CS. Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: Adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(6):1071-85.
- Leo MA, Lieber CS. New pathway for retinol metabolism in liver microsomes. *J Biol Chem.* 1985;260(9):5228-31.
- Leung WC, Hessel S, Me'plan C, Flint J, Oberhauser V, Tourniaire F, et al. Two common single nucleotide polymorphisms in the gene encoding b-carotene 15,15'-monooxygenase alter β -carotene metabolism in female volunteers. *FASEB J.* 2009;23(4):1041-53.
- Lietz G, Lange J, Rimbach G. Molecular and dietary regulation of β , β -carotene 15, 15'-monooxygenase 1 (BCMO1). *Arch Biochem Biophys.* 2010;502(1):8-16.
- Lietz G, Oxley A, Leung W, Hesketh J. Single Nucleotide Polymorphisms Upstream from the β -Carotene 15,15'-Monooxygenase Gene Influence Provitamin A Conversion Efficiency in Female Volunteers. *J Nutr.* 2012;142(2):161S-5S.
- Lin Y, Dueker SR, Burri BJ, Neidlinger TR, Clifford AJ. Variability of the conversion of beta-carotene to vitamin A in women measured by using a double-tracer study design. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(6):1545-54.
- Lindqvist A, Andersson S. Biochemical properties of purified recombinant human β -carotene 15,15'-monooxygenase. *J Biol Chem.* 2002;277(26):23942-8.
- Lindqvist A, Andersson S. Cell type-specific expression of beta-carotene 15,15'-monooxygenase in human tissues. *J Histochem Cytochem.* 2004;52(4):491-9.
- Lindqvist A, Sharvill J, Sharvill DE, Andersson S. Loss-of-function mutation in carotenoid 15,15'-monooxygenase identified in a patient with hypercarotenemia and hypovitaminosis A *J Nutr.* 2007;137(11):2346-50.
- Mahalanabis D, Simpson TW, Chakraborty ML, Ganguli C, Bhattacharjee AK, Mukherjee KL. Malabsorption of water miscible vitamin A in children with giardiasis and ascariasis. *Am J Clin Nutr.* 1979;32(2):313-8.
- Mahan LK, Stump SE. What is a vitamin? In: Krause's. *Food Nutrition, & Diet Therapy.* W.B. 10^a edição, Saunders Company; 2000. p. 68-109.
- Marinho HA, Shrimpton R, Giugliano R, Burini RC. Influence of enteral parasites on the blood vitamin A levels in pre-school children orally with retinol and/or zinc. *Eur J Clin Nutr.* 1991;45(11):539-44.
- Mein JR, Dolnikowski GG, Ernst H, Russell RM, Wang XD. Enzymatic formation of apo-carotenoids from the xanthophylls carotenoids lutein, zeaxanthin, and β -cryptoxanthin by ferret carotene- 9,10'-monooxygenase. *Arch Biochem Biophys.* 2011;506(1):109-21.
- Micronutrient Initiative, United Nations Children's Fund. Vitamin and mineral deficiency: a global progress report. Ottawa, Micronutrient Initiative and New York, UNICEF, 2004 (<http://www.micronutrient.org/pdfs/VMD.pdf>).
- Miller M, Humphrey J, Johnson E, Marinda E, Brookmeyer R, Katz J. Why do children become vitamin A deficient? *J Nutr.* 2002;132(9):2867S-80S.

Morrison SA, Russell RM, Carney EA, Oaks EV. Zinc deficiency: A cause of abnormal dark adaptation in cirrhotics. *Am J Clin Nutr.* 1978;31(2):276-81.

Moss AJ, Levy AS, Kim I, Park YK. Use of Vitamin and Mineral Supplements in the United States: Current Users, Types of Products, and Nutrients. *Advance Data, Vital and Health Statistics of the National Center for Health Statistics.* 1989; 174. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics.

Olson JA. Bioavailability of carotenoids. *Arch Latinoam Nutr.* 1999;49(1S):21S-5S.

Olson JA. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. *Am J Clin Nutr.* 1987;45(2):704-16.

Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 1996;334(18):1150-5.

Palozza P, Krinsky NI. Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: An overview. *Method Enzymol.* 1992;213:403-420.

Passos-Bueno MRS, Moreira ES. Ferramentas básicas na Genética Molecular Humana. In: Mir L. *Genômica.* São Paulo: Editora Atheneu; 2004. p. 43-69.

Pinheiro MM, Ciconelli RM, Chaves V, Aquino L, Juzwiak CR, Genaro OS, et al. Antioxidant intake among Brazilian adults - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS): a cross-sectional study. *Nutr J.* 2011;10(1):39.

PNAN: Programa Nacional de Alimentação e Nutrição. Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A. Acesso em: 4 jun. 2014. Disponível em: <http://nutricao.saude.gov.br/vita.php>.

Press Conference of the State Council Information Office. The Nutrition and Health Status of the Chinese People; 2004 (cited 22 February 2010). Available from: http://www.chinacdc.net.cn/n272442/n272530/n273736/n273812/n293881/n293888/3748_2.html

Redmond TM, Gentleman S, Duncan T, Yu S, Wiggert B, Gantt E, et al. Identification, expression and substrate specificity of a mammalian beta-carotene 15, 15'-dioxygenase. *J Biol Chem.* 2001;276(9):6560-5.

Rodrigues-Amaya, DB; Kimura M; Amaya-Farfan J. Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: MMA/SBF; 2008.

Rodriguez-Amaya, DB. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: Charalambous G. (Ed.). *Shelf-life Studies of Foods and Beverages: Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects.* Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1993. p. 547-89.

Roenigk HH, Auerbach R, Mailbach HI, Weinstein GD. Methatrexate Guidelines, revised. *J Am Acad Dermatol.* 1982;6(2):145-55.

Roncada, M. J. Vitaminas lipossolúveis. In: Dutra-de-Oliveira JE, Marchini JS. *Ciências nutricionais.* São Paulo: Sarvier; 1998. p. 167-77.

- Ross AC. Retinoid production and catabolism: role of diet in regulating retinol esterification and retinoic Acid oxidation. *J Nutr.* 2003a.133(1):291S-6S.
- Ross AC. Vitamina A e Retinóides. In: Shils ME, Osolon JA, Shike M, Ross AC. *Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença.* Barueri: Editora Manole; 2003b. p. 325-50.
- Ross DA. Recommendations for vitamin A supplementation. *J Nutr.* 2002;132(9): 2902S-6S.
- Saunders C, Ramalho RA, Accioly E, Paiva F. Utilização de tabelas de composição de alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A. *Arch Latinoam Nutr.* 2000;50(3):237-42.
- Saunders C, Ramalho RA, Pereira Thiapó de Lima AP, Martins Gomes M, Ferreira Campos L, Amaral dos Santos Silva B, et al. Association between gestational night blindness and serum retinol in mother/newborn pairs in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Nutrition.* 2005;21(4):456-61.
- Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, Hiller R, Blair N, Burton TC, et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *J Am Med Ass.* 1994;272(18):1413-20.
- Seino Y, Seino Y, Miki T, Kiyonari H, Abe T, Fujimoto W, et al. Isx participates in the maintenance of vitamin A metabolism by regulation of beta-carotene 15,15'-monooxygenase (BCMO1) expression. *J Biol Chem.* 2008;283(8):4905-11.
- Shingwekar AG, Mohanram M, Reddy V. Effect of zinc supplementation on plasma levels of vitamin A and retinol-binding protein in malnourished children. *Clin Chim Acta.* 1979;93(1):97-100.
- Smith JE, Brown ED, Smith Jr JC. The effect of zinc deficiency on the metabolism of retinol-binding protein in the rat. *J Lab Clin Med.* 1974;84(5):692-7.
- Sommer A, Davidson FR. Assessment and control of vitamin A deficiency: the Annecy Accords. *J Nutr.* 2002;132(2):284S-50S.
- Sommer A, West KP Jr. *Vitamin A Deficiency: Health, Survival, and Vision.* New York: Oxford University Press; 1996. p. 19-250.
- Souza WA, Boas OMG da C. A deficiência de vitamina A no Brasil: um panorama. *Rev Panam Salud Publ.* 2002;12(3):173-9.
- Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS. *The Retinoids.* Orlando: Academic Press; 1984.
- Strobel M, Tinz J, Biesalski HK. The importance of β -carotene as a source of vitamin A with special regard to pregnant and breastfeeding women. *Eur J Nutr.* 2007; 46(Suppl 1): I1-I20.
- Tanumihardjo SA. Assessing vitamin A status: past, present and future. *J Nutr.* 2004; 134(1): 290S-3S.
- The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med.* 1994;330(15):1029-35.

The International HapMap Project. Acesso em 10/02/2011. Disponível em: <http://www.hapmap.org/>

Ued FV, Cruz FCS, Luz SAB, Portari GV, Maluf ÂRL, Weffort VRS. Food intake and plasma levels of antioxidant vitamins in obese children and adolescents with and without non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr clin diet hosp*. 2014;34(1):56-66.

Underwood BA, Arthur P. The contribution of vitamin A to public health. *FASEB J* 1996;10(9):1040-8.

Underwood BA. Hypovitaminosis A: International programmatic issues. *J Nutr*. 1994;124(Suppl 8):1467S-72S.

Underwood BA. Vitamin A deficiency disorders: international efforts to control a preventable "pox." *J Nutr*. 2004;134(1):231S-6S.

Underwood BA. Vitamin A in animal and human nutrition. In: Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS, eds. *The Retinoids*, Vol. 1. New York: Academic Press; 1984. p. 281-392.

van Het Hof KH, West CE, Weststrate JA, Hautvast. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr*. 2000;130(3):503-6.

van Poppel G, Goldbohm G. Epidemiologic evidence for beta-carotene and cancer prevention. *Am J Clin Nutr*. 1995; 62(6):1393S-402S.

van Vliet, T. Absorption of b-carotene and other carotenóides in humans and animal models. *Eur J Clin Nutr*. 1996;50(Suppl 3):S32-S7.

Velásquez-Meléndez G, Martins IS, Cervato AM, Fornés NS, Marucci MDeFN. Consumo alimentar de vitaminas e minerais em adultos residentes em área metropolitana de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública, São Paulo*. 1997;31(2):157-62.

Wang TTY; Edwards AJ; Clevidence BA. Strong and weak plasma response to dietary carotenoids identified by cluster analysis and linked to beta-carotene 15,15'-monooxygenase 1 single nucleotide polymorphisms. *J Nutr Biochem*. 2013;24(8):1538-46.

Wang XD. Chronic alcohol intake interferes with retinoid metabolism and signaling. *Nutr Rev*. 1999;57(2):51-9.

Wang Z, Yin S, Zhao X, Russell R M, Tang G. beta-Carotene-vitamin A equivalence in Chinese adults assessed by an isotope dilution technique. *Br J Nutr*. 2004;91(1):121-31.

West KP Jr, Katz J, Khattry SK, LeClerq SC, Pradhan EK, Shrestha SR, et al. Double blind, cluster randomized trial of low dose supplementation with vitamin A or beta carotene on mortality related to pregnancy in Nepal. *Br Med J*. 1999;318(7183):570-5.

West JRKP. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr*. 2002;132(9):2857S-66S.

WHO. WHO Expert Committee on Biological Standardization Eighteenth Report. Technical Report Series, No. 329. Geneva: WHO; 1966

WHO. Global Prevalence of Vitamin A Deficiency. Micronutrient Deficiency Information System Working Paper, No. 2. Geneva: WHO; 1995.

WHO. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. WHO/NUT/96.10. Geneva: WHO; 1996

WHO. Indicators for assessing Vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Micronutrient series, Geneva, Who/Nut/96.10, 1996.

WHO. Vitamin A Supplements: A Guide to Their Use in the Treatment of Vitamin A Deficiency and Xerophthalmia. Geneva: WHO; 1997

World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Vitamin and mineral requirements in human nutrition. Second edition; 2004.

WHO. Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency. Geneva: WHO; 2009.

WHO. Report: Priorities in the assessment of vitamin A and iron status in populations, Panama City, Panama, 15–17 September 2010. Geneva: WHO; 2012.

Wyss A. Carotene oxygenases: a new family of double bond cleavage enzymes. *J Nutr.* 2004; 134(1):246S–50S.

Yeum KJ, Russell RM. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annu Rev Nutr.* 2002;22:483-504.

Yuyama LKO, Marinho HA, Alencar FH, Yonekura L, Cozzolino SM. Vitamina A (Retinol) e Carotenóides. In: Cozzolino SMF. Biodisponibilidade de nutrientes. Barueri: Manole; 2005. p. 215-57.

Capítulo II

Artigo Científico

ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS DO GENE BCMO1 (β -CAROTENO 15,15'-MONOOXIGENASE 1) E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE β -CAROTENO E RETINOL EM DIFERENTES ETNIAS BRASILEIRAS

SANTOS VLP¹, FELICIDADE I¹, SANTOS DA², SILVA GN³,
SALVADORI DMF¹, RIBEIRO LR¹

1- Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil; 2- Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brasil; 3- Departamento de Análises Clínicas, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

Correspondência:

Vanessa Lorenço Peresi dos Santos

Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Departamento de Patologia

Rua Bento Lopes, s/n - Distrito de Rubião Jr.

Botucatu, SP, CEP 18618-970, Brasil

Tel.: +55 (14) 3880-7210 (Ramal 220)

Apresentado conforme instruções da revista *The Journal of Nutrition*.

1 **ABSTRACT**

2
3 Vitamin A is important in human nutrition, since deficiency is considered a serious public
4 health and child mortality. Provitamin A carotenoids, particularly β -carotene from certain
5 plant foods are important sources of vitamin A for many populations. During the
6 bioconversion process carotenoids are cleaved by cytosolic enzyme β -carotene 15,15'-
7 monooxygenase 1 (BCMO1). Two polymorphisms (Single Nucleotide Polymorphisms -
8 SNPs) in BCMO1 gene, R267S: rs12934922 and A379V: rs7501331, were identified in ethnic
9 populations of Caucasian, Japanese and Chinese, and it may cause reduced enzyme activity
10 BCMO1 and justify the wide inter-individual differences in bioconversion of β -carotene into
11 vitamin A. The aims of this study were to identify the frequency of polymorphic variants
12 A379V and R267S/A379V of BCMO1 gene in three population groups (whites, blacks and
13 Japanese) and evaluate the relationship between SNPs with serum β -carotene and retinol
14 among three different ethnic groups. Each group was composed of 100 volunteers, with
15 European, African and Japanese ancestry, and 50% were female and 50% male. Were
16 evaluated plasmatic concentrations of β -carotene, retinol, zinc erythrocyte, lymphocytes, C-
17 reactive protein, α -1-acid glycoprotein and dietary intake of Vitamin A. Samples of saliva and
18 oral mucosa exfoliated cells were collected for DNA extraction with subsequent genotyping
19 of SNPs R267S: rs12934922 and A379V: rs7501331 by RT-PCR. The frequencies of allelic
20 variants R267S and A379V at least one T allele for individuals with European ancestry were
21 63.0% and 44.0%, respectively, African ancestry, 48.0% and 18.0%, respectively, and
22 Japanese ancestry, 21.0 % and 27.0%, respectively. The results show, so unique, that the
23 frequencies of polymorphic variants of the polymorphic variants A379V and R267S BCMO1
24 gene in Brazilian population groups evaluated depend on ethnicity for both SNPs. The
25 polymorphic variants observed do not seem to influence on serum concentrations of beta-
26 carotene and retinol, which can be explained by the influence of other factors associated with
27 BCMO1 gene and high miscegenation of the Brazilian population. Genetic variability should
28 be considered for future provitamin A supplementation recommendations in Brazil.

29 **Keywords:** Polymorphism, Single Nucleotide; BCMO1; beta Carotene; Vitamin A; Ethnic
30 Groups.

1. INTRODUÇÃO

A vitamina A foi a primeira vitamina lipossolúvel a ser descoberta em 1913. Desde então, a importância desta vitamina na nutrição humana tem aumentado, uma vez que sua deficiência é considerada um sério problema de saúde pública e de morbimortalidade infantil (1). A vitamina A atua no desenvolvimento dos ossos e dentes, exerce ação protetora na pele e mucosa, participa do fortalecimento do sistema imunológico, das transformações no metabolismo da corticoesterona, do colesterol e dos hormônios sexuais, e atua na estabilidade de membranas celulares, na adiposidade corporal (2, 3, 4, 5).

Mais de 650 diferentes carotenóides naturais já foram isolados e caracterizados (6), desses, cerca de cem carotenóides têm sido relatados em alimentos e, aproximadamente, 50 são precursores da vitamina A (4,7). Carotenóides pró-vitamina A, particularmente o β -caroteno, proveniente de plantas, são importantes fontes de vitamina A para muitas populações, principalmente em países onde a deficiência de vitamina A (DVA) é prevalente e fontes pré-formadas deste micronutriente são consumidas ocasionalmente (8).

A vitamina A pré-formada pode ser obtida a partir de fontes alimentares de origem animal como ovos, leite integral e seus derivados, peixes e fígado. Já o β -caroteno está presente em frutas e hortaliças, tais como mamão, manga, caqui, acerola, goiaba, nêspera, cenoura, abóbora, couve, brócolis, rúcula, agrião e espinafre (9, 7,10).

O β -caroteno é a mais abundante fonte de pró-vitamina A presente nos alimentos, sendo que cerca de 10 a 50% do total consumido é absorvido pelo trato gastrointestinal, havendo incorporação deste em micelas com os componentes lipídicos e biliares (11). A entrada no enterócito é realizada por difusão passiva ou transporte ativo via SR-B1 (cholesterol transporter scavenger receptor) (12). Já no interior da mucosa intestinal, é parcialmente convertido em vitamina A (13), por células absortivas, processo este denominado bioconversão (7), o qual é regulado para que quantidades excessivas de vitamina A não sejam absorvidas das fontes de β -caroteno (14).

A ingestão diária mínima (EAR) de vitamina A para garantir uma concentração sérica adequada e prevenir sintomas de deficiência em indivíduos adultos, é de 500 a 625 $\mu\text{g}/\text{dia}$ Equivalentes de Atividade de Retinol (RAE) (15). Dentre os fatores que interferem com a biodisponibilidade da vitamina A destacamos o estado nutricional, infecções, infestações parasitárias e fatores genéticos (7).

Durante o processo de bioconversão os carotenóides são clivados pela enzima citossólica β -caroteno 15,15'-monooxigenase 1 (BCMO1). No mecanismo monooxigenase da

1 BCMO1 há transferência de um átomo de oxigênio para o oxigênio molecular (O₂) e um
2 segundo átomo de oxigênio da água, via um intermediário epóxido (16). A BCMO1 requer ao
3 menos um anel β-ionona não substituído para a clivagem de substratos carotenóides, porém a
4 presença e a posição dos grupamentos metila na cadeia poliênica são importantes (17).
5 Portanto, a atividade é limitada principalmente para α e β-caroteno, apo-β carotenóides e β-
6 criptoxantina (18).

7 A BCMO1 cliva simetricamente o β-caroteno em sua dupla ligação central (15-15'),
8 obtendo duas moléculas de all-*trans*-retinal, que pode ser convertido de forma reversível a
9 retinol (vitamina A) e irreversível a ácido retinóico. Em humanos, cerca de 35 a 88% do β-
10 caroteno absorvido é clivado oxidativamente pela enzima BCMO1 (19). A enzima BCMO1 é
11 solúvel em citosol, com alta atividade na mucosa intestinal, especificamente em enterócitos
12 do jejuno (20). A via de clivagem assimétrica é realizada pela enzima mitocondrial β-caroteno
13 9',10'-dioxigenase (BCDO2) nas outras ligações duplas, exceto na central, formando β-
14 apocarotenos (8'-, 10'- e 12'-apocarotenóides) com tamanhos diferentes de cadeia, que podem
15 ser convertidos a retinal (21, 22).

16 O status da vitamina A é possivelmente o fator mais importante que influencia a
17 atividade da BCMO1 por fatores regulatórios responsivos a dieta. Isto é comprovado pela
18 relação inversa entre os estoques de vitamina A hepáticos e a atividade intestinal da BCMO1
19 (23), indicando que a produção excessiva de vitamina A e ácido retinóico via BCMO1 pode
20 ser suprimida quando os estoques de vitamina A estão adequados.

21 Estudo realizado numa população do Reino Unido revelou a existência de dois
22 polimorfismos (*Single Nucleotide Polymorphisms* - SNPs), R267S: rs12934922 no éxon 6 e
23 A379V: rs7501331 no éxon 8, cuja frequência da variante com, pelo menos, um alelo T foi
24 de 42 e 24%, respectivamente, no gene BCMO1 que está localizado no cromossomo 16 (24).
25 Em estudos populacionais, 27 a 45% de voluntários foram classificados como conversores
26 deficientes do β-caroteno a vitamina A (25, 26, 27), devido ao comprometimento da função
27 da enzima BCMO1.

28 A combinação das variantes R267S+A379V reduz a atividade catalítica da BCMO1 *in*
29 *vitro* em 57%, sendo que portadores desta variante alélica possuem redução de 69% na
30 habilidade de conversão do β-caroteno dietético em vitamina A, com aumento em 240% na
31 concentração sérica de β-caroteno (24).

32 Assim, os objetivos deste estudo foram identificar a frequência das variantes
33 polimórficas A379V e R267S/A379V do gene BCMO1 em três grupos populacionais

1 brasileiros (brancos, negros e japoneses) e avaliar a relação entre os SNPs com as
2 concentrações séricas de β -caroteno e retinol entre os três diferentes grupos étnicos.

3 4 **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

5 6 **2.1. Indivíduos da amostra**

7 A amostra foi constituída por 300 indivíduos de 3 grupos étnicos (brancos, negros e
8 japoneses), sendo 100 indivíduos voluntários e saudáveis não aparentados em cada grupo, de
9 ambos os sexos (50 homens e 50 mulheres), com idade entre 18 a 75 anos e Índice de Massa
10 Corporal (IMC) $\geq 17,0 \text{ kg/m}^2$ e $\leq 34,9 \text{ kg/m}^2$ para adultos e (IMC) $\geq 20,0 \text{ kg/m}^2$ e $\leq 30,0 \text{ kg/m}^2$ e
11 para idosos, moradores do Estado de São Paulo (Botucatu) e Paraná (Londrina). A coleta da
12 amostra foi realizada no Hemocentro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
13 UNESP de Botucatu - São Paulo e na cidade de Londrina - Paraná.

14 Os seguintes critérios de exclusão foram adotados para a coleta de dados: presença de
15 doenças crônicas descompensadas como hipertensão, diabetes, cirrose hepática, doenças
16 cardíacas, doença pulmonar obstrutiva crônica, insuficiência renal aguda e crônica,
17 hipotireoidismo ou hipertireoidismo em uso de medicamentos, indivíduos com processo
18 infeccioso agudo clinicamente detectável, alcoólatras (consumo diário acima de 60g de álcool
19 para homens e 40g para mulheres), mulheres grávidas ou lactantes, portadores de gastrite
20 atrófica e indivíduos com deficiência de zinco. Foram também excluídos aqueles indivíduos
21 que tinham realizado suplementação com vitaminas A, C, E, β -caroteno e isotretinoína seis
22 meses anteriores à coleta de dados. Indivíduos que utilizaram medicamentos que interferem
23 com a absorção de vitamina lipossolúvel (hormônios de terapia de reposição hormonal,
24 hormônios tireoidianos, óleo mineral usado como laxante, hipolipemiantes, colestiramina,
25 colestipol, neomicina, orlistate) nos 3 meses anteriores ao início do estudo também foram
26 excluídos.

27 O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da
28 Faculdade de Medicina da UNESP – Campus de Botucatu/SP, segundo protocolo n.º
29 3799/2011 (Anexo A). Todos indivíduos assinaram o Termo de Consentimento Livre e
30 Esclarecido (TCLE) (Apêndice A). A pesquisa obedeceu aos princípios de ética em pesquisa
31 estabelecido pela Declaração de Helsinque e está de acordo com a Resolução 196/96 do
32 Conselho Nacional de Saúde.

1 Durante a realização da entrevista com os indivíduos, foi utilizada uma ficha de
2 avaliação (Apêndice B) para a coleta dos dados gerais, antropométricos e avaliação da
3 ingestão alimentar.

4 5 **2.2. Indicadores Antropométricos**

6 Foi realizada a avaliação antropométrica com aferição de peso e estatura utilizando-se
7 balança digital com estadiômetro Filizola[®], com capacidade para 150 kg e 100 gramas de
8 precisão, de acordo com Lohman, 1988 (28). Posteriormente, o índice de massa corporal
9 (IMC [kg/m^2]) foi calculado. O IMC foi calculado dividindo-se o valor do peso pela estatura
10 ao quadrado, sendo que os indivíduos adultos e idosos foram classificados em baixo peso,
11 eutróficos, sobrepeso ou obesidade grau I.

12 Para os indivíduos adultos, com idades entre 18 a 59 anos, a classificação do IMC foi
13 realizada segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO) (29): Baixo peso $< 18,5 \text{ kg}/\text{m}^2$,
14 Eutrofia $\geq 18,5$ e $< 25 \text{ kg}/\text{m}^2$, Sobrepeso ≥ 25 e $< 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ e obesidade $\geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$.

15 Já para os indivíduos idosos, com 60 ou mais anos de idade, a classificação do IMC foi
16 realizada de acordo com a recomendação da Organização Pan-Americana de Saúde (30):
17 Baixo Peso $\leq 23 \text{ kg}/\text{m}^2$, Peso Adequado > 23 e $< 28 \text{ kg}/\text{m}^2$, Excesso de Peso $\geq 28 \text{ kg}/\text{m}^2$,
18 sendo considerados com risco para obesidade os indivíduos com IMC $\geq 28 \text{ kg}/\text{m}^2$ e < 30
19 kg/m^2 e com obesidade aqueles com IMC $\geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$.

20 21 **2.3. Coleta de sangue**

22 Amostras de sangue (20 ml) foram coletadas no momento da entrevista inicial. As
23 amostras para dosagem de retinol, β -caroteno, PCR e AGP foram coletadas em tubos a vácuo
24 de sorologia de 4 ml; amostras para dosagem de zinco eritrocitário foram coletadas em tubo à
25 vácuo de heparina de 9 ml, sendo que a para a análise de linfócitos totais as amostras foram
26 coletadas em tubo à vácuo de EDTA de 4 ml. Durante todo procedimento (coleta, transporte,
27 estocagem e análise) as amostras para dosagem de β -caroteno e retinol foram protegidas da
28 luz. Para obtenção do soro, as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos (2500 RPM,
29 4°C), sendo posteriormente armazenadas a -80°C até a análise.

30 31 **2.3.1. Avaliação das concentrações séricas de β -caroteno e retinol**

32 A determinação das concentrações séricas de β -caroteno e retinol nos indivíduos foi
33 realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquide*

1 *Chromatography*, HPLC) de fase reversa (Waters Alliance 2695 Separation Module, Waters,
2 Wilmington, MA, EUA). A coluna analítica utilizada correspondeu a C30 (Waters –YMC
3 carotenoid: 4,6 x 150 mm; 3,0 µm). As dosagens foram realizadas conforme metodologia
4 estabelecida por Yeum (31). Todo o processamento das amostras foi realizado sob luz
5 vermelha. Os valores de referência foram de 0,9 – 4,6 µM/L (32) e de 1,05 – 4,2 µM/L (33)
6 para β-caroteno e retinol, respectivamente.

7 8 **2.3.2. Avaliação das concentrações de zinco eritrocitário**

9 As análises de zinco eritrocitário foram realizadas mediante prévia mineralização (34
10 das amostras por intermédio de forno de micro-ondas (marca Provecto® modelo DGT 100
11 plus). As leituras foram realizadas pela técnica de espectrometria por absorção atômica (GBC,
12 modelo AA 930) (35, 36). Os valores de referência de zinco eritrocitário foram de 440 a 860
13 µg/dl (37).

14 15 **2.3.3. Avaliação do processo infeccioso**

16 Para a devida interpretação e caracterização do *status* de vitamina A foi avaliada a
17 existência de processo infeccioso agudo por meio dos seguintes exames: contagem total de
18 linfócitos, PCR e AGP. A avaliação do hemograma para aferição do valor de contagem total
19 de linfócitos foi realizada por citometria de fluxo (CELL-DYN Ruby) de acordo com
20 metodologia de Dacie and Lewis (38). O valor de referência para os linfócitos foram de 23 a
21 33%.

22 A dosagem da PCR foi realizada no soro pelo método Slide CRP (Vitros FS 5.1,
23 Johnson & Johnson Company®). O valor de referência foi <1,0mg/dL (39). A AGP foi dosada
24 no soro por medição da reação antígeno-anticorpo pelo método de ponto final (Vitros FS 5.1
25 da Johnson & Johnson Company®). Os valores de referência foram de 50-130 mg/dL para
26 homens e 40-120 mg/dL para mulheres de acordo com Schmid (40).

27 28 **2.4. Avaliação da ingestão alimentar**

29 A análise do consumo alimentar foi realizada durante a realização da entrevista inicial
30 por meio de um recordatório de 24 horas, de acordo com metodologia estabelecida por Gibson
31 (41) e Fisberg (42). A avaliação da ingestão alimentar de β-caroteno e retinol foi calculada no
32 programa Nutrition Data System for Research (NDS-R), (version 2.91), Nutrition
33 Coordinating Centre (NCC), University of Minnesota (43).

1 **2.5. Extração de DNA e Genotipagem dos SNPs**

2 Para coleta de saliva e esfoliado de células da mucosa oral foi utilizado o kit *DNA-SAL*
3 *Collection Device* (Oasis Diagnostics Corporation[®]), de acordo com as instruções do
4 fabricante, sendo posteriormente armazenado a -20°C. Para extração do DNA genômico foi
5 utilizado o kit *Illustra tissue & cells genomic Prep Mini Spin Kit* (GE Healthcare[®]) a partir de
6 1 ml do material coletado, seguindo a metodologia descrita, segundo o fabricante.

7 A qualidade do DNA extraído foi avaliada em gel de agarose 1,5% corado com
8 brometo de etídio, e a quantidade de DNA genômico foi avaliada por meio espectrofotometria
9 no comprimento de onda de 260 nm e a pureza foi avaliada por meio da razão de A_{260}/A_{280} no
10 equipamento NanoVue (GE Healthcare[®]). As amostras de DNA foram armazenadas a -80°C. A
11 genotipagem das variantes polimórficas A379V: rs7501331 e R267S: rs12934922 foram
12 realizadas por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real – RT-PCR (Real-Time
13 Polymerase Chain Reaction) (7500 FAST, Applied Biosystems) utilizando sondas específicas
14 marcadas com fluoróforos do ensaio Taqman (Assay ID C__25772261_20 e C__25745282_10,
15 respectivamente; Applied Biosystems).

16

17 **2.6. Análise Estatística**

18 As análises estatísticas foram realizadas usando o software SPSS 20.0 (SPSS,
19 Chicago, IL, USA) (44). Resultados são expressos como média \pm SE. Retinol e β -caroteno
20 séricos foram transformados em ln para promover a normalidade. Coeficientes de correlação e
21 seus respectivos *p*-valores foram obtidos a partir de análises de correlação bivariada.
22 ANOVA, seguida do teste de Tukey, foi realizada para comparar as diferenças entre as
23 médias das características e hábitos alimentares dos voluntários do estudo, de acordo com as
24 etnias. Teste *t* de Student foi realizado para comparar as diferenças entre as médias do retinol
25 e β -caroteno séricos entre os genótipos homozigotos dominantes e a associação dos genótipos
26 heterozigotos e homozigotos recessivos, de acordo com as etnias, e teste χ^2 , também, entre as
27 frequências dos genótipos, de acordo com a etnia e SNP. Regressão de Poisson foi realizada
28 entre os níveis de retinol sérico (variável independente) e etnia e gênero (variáveis
29 dependentes). Foi aceito como significativo $p < 0,05$.

30

31

32

33

3. RESULTADOS

O presente estudo foi realizado com indivíduos de três grupos étnicos residentes no Brasil, das regiões Sul e Sudeste. Cada grupo foi composto de 100 indivíduos voluntários, com ancestralidades Europeia, Africana e Japonesa, sendo 50% do gênero feminino e 50% do gênero masculino. Os dados antropométricos, bioquímicos e de ingestão alimentar dos voluntários do estudo, bem como as diferenças entre os grupos étnicos estão apresentados na Tabela 1.

Foram avaliados 27 indivíduos idosos, sendo que 1 era de ancestralidade Europeia (IMC = 24,8 kg/m²), 7 de ancestralidade Africana (IMC = 24,8±1,0 kg/m²) e 15 de ancestralidade japonesa (IMC = 23,1±0,8 kg/m²).

1 **Tabela 1** - Características e hábitos alimentares dos voluntários do estudo, de acordo com os
 2 grupos étnicos (n=100/grupo).
 3

Variável	Média ± SE	Range	95% CI	SD	CV (%)
<i>Ancestralidade Europeia</i>					
Idade (anos)	33,33 ± 1,02 ^b	17 - 61	31,31 - 35,34	10,15	30,46
Peso (kg)	72,29 ± 1,17 ^a	43,00 - 100,00	69,96 - 74,62	11,73	16,22
Altura (cm)	1,68 ± 0,01 ^a	1,50 - 1,87	1,67 - 1,70	0,09	5,30
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	25,42 ± 0,30 ^a	18,61 - 31,44	24,82 - 26,03	3,04	11,97
Zinco (µg/dL)	550,00 ± 109,0 ^b	337 - 831	528 - 571	109,00	19,82
Linfócitos totais (mm ³)	31,18 ± 0,67 ^b	16,3 - 53,1	29,85 - 32,51	6,71	21,50
α-1 glicoproteína ácida (mg/dL)	86,32 ± 2,14 ^a	26,37 - 156,29	82,08 - 90,56	21,37	24,75
Proteína C Reativa (mg/dL)	0,61 ± 0,03 ^b	0,50 - 2,10	0,55 - 0,66	0,27	44,06
β-caroteno sérico (µM/L)	0,32 ± 0,03 ^b	0,03 - 1,79	0,27 - 0,38	0,29	88,62
Retinol sérico (µM/L)	2,02 ± 0,10 ^a	0,13 - 6,93	1,82 - 2,23	1,02	50,46
Ingestão alimentar					
β-Caroteno (µg/dia)	5.568,85 ± 300,84 ^a	0,00 - 15.631,14	4.971,92 - 6.165,79	3008,43	54,02
Retinol (µg/dia)	356,15 ± 95,95 ^a	0,00 - 9.690,95	165,76 - 54,54	959,54	269,42
<i>Ancestralidade Negra</i>					
Idade (anos)	35,41 ± 1,49 ^b	17 - 75	32,45 - 38,37	14,90	42,09
Peso (kg)	71,34 ± 1,22 ^a	48,50 - 110,00	68,93 - 73,76	12,15	17,03
Altura (cm)	1,69 ± 0,01 ^a	1,50 - 1,99	1,67 - 1,71	0,10	5,79
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	25,08 ± 0,37 ^a	16,78 - 33,98	24,34 - 25,82	3,73	14,88
Zinco (µg/dL)	555 ± 172,0 ^b	109 - 971	521 - 589	172,00	30,99
Linfócitos totais (mm ³)	35,38 ± 0,91 ^a	14,6 - 61,7	33,58 - 37,18	9,07	25,65
α-1 glicoproteína ácida (mg/dL)	90,03 ± 2,11 ^a	53,06 - 171,82	85,85 - 94,21	21,07	23,41
Proteína C Reativa (mg/dL)	0,80 ± 0,08 ^a	0,50 - 5,5	0,65 - 0,96	0,77	95,84
β-caroteno sérico (µM/L)	0,24 ± 0,02 ^b	0,02 - 0,80	0,11 - 0,27	0,19	78,70
Retinol sérico (µM/L)	1,86 ± 0,11 ^a	0,24 - 6,59	1,63 - 2,09	1,14	61,26
Ingestão alimentar					
β-Caroteno (µg/dia)	3.738,83 ± 313,73 ^b	0,00 - 22.866,41	3.116,32 - 4.361,34	3137,31	83,91
Retinol (µg/dia)	223,95 ± 16,95 ^a	0,00 - 991,23	190,31 - 257,59	169,53	75,70
<i>Ancestralidade Japonesa</i>					
Idade (anos)	42,31 ± 1,66 ^a	19 - 79	39,02 - 45,60	16,57	39,16
Peso (kg)	64,41 ± 1,35 ^b	61,72 - 67,09	41,00 - 100,00	13,53	21,00
Altura (cm)	1,62 ± 0,01 ^b	1,45 - 1,81	1,61 - 1,64	0,08	5,08
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	24,28 ± 0,39 ^a	17,2 - 34,0	23,50 - 25,05	3,91	16,10
Zinco (µg/dL)	633 ± 121,0 ^a	412 - 887	609 - 657	120,60	19,05
Linfócitos totais (mm ³)	34,31 ± 0,68 ^a	15,9 - 58,4	32,97 - 34,24	6,76	19,69
α-1 glicoproteína ácida (mg/dL)	75,18 ± 1,35 ^b	51,02 - 114,02	72,51 - 77,86	13,48	17,93
Proteína C Reativa (mg/dL)	0,59 ± 0,02 ^b	0,50 - 1,60	0,55 - 0,63	0,21	36,21
β-caroteno sérico (µM/L)	0,69 ± 0,06 ^a	0,04 - 4,09	0,57 - 0,80	0,58	84,04
Retinol sérico (µM/L)	1,95 ± 0,09 ^a	0,31 - 5,49	1,78 - 2,13	0,88	45,06
Ingestão alimentar					
β-Caroteno (µg/dia)	4.411,20 ± 301,31 ^b	29,87 - 21.994,99	3.813,33 - 5.009,07	3013,14	68,31
Retinol (µg/dia)	297,79 ± 73,35 ^a	0,00 - 7.201,36	152,25 - 443,33	733,50	246,32

4
 5 Os dados estão apresentados como médias ± S.E, em que: S.E. é o erro padrão; Range é a amplitude; 95% CI é o
 6 intervalo de confiança de 95%; SD é o desvio padrão e CV(%) é o coeficiente de variação. As análises de
 7 diferenças estatísticas entre as etnias foram realizadas por meio da ANOVA, seguido pelo teste de Tukey ao
 8 nível de significância de 5%. Letras diferentes significam diferenças entre as médias.
 9

1 Um total de 54% dos indivíduos voluntários do estudo tiveram a ingestão de vitamina
2 A em Equivalentes de Atividade de Retinol (RAE) acima da ingestão nutricional
3 recomendada que é de 625 µg/dia para homens e 500 µg/dia para mulheres. O grupo de
4 ancestralidade Europeia foi o que apresentou uma maior porcentagem de indivíduos acima da
5 ingestão nutricional recomendada, ou seja, 71% (84% dentre as mulheres e 58% dentre os
6 homens), seguido pelo grupo formado por indivíduos com ancestralidade Africana com 46%
7 dos voluntários (58% dentre as mulheres e 34% dos homens) e dos indivíduos de
8 ancestralidade Japonesa com 45% (56% das mulheres e 34% dos homens).

9 A menor ingestão recomendada de vitamina A em Equivalentes de Atividade de
10 Retinol (RAE) é de 300 µg/dia para homens e de 250 µg/dia para mulheres (45). No grupo
11 avaliado no presente estudo observou-se que 13% dos indivíduos estavam abaixo desse limite,
12 sendo o grupo de ancestralidade Africana com maior percentual, 22% (12% das mulheres e
13 32% dos homens), seguido pelo grupo de ancestralidade Japonesa com 12% (12% das
14 mulheres e 12% dos homens), enquanto no grupo com ancestralidade Europeia o percentual
15 foi de 5%, onde nenhuma das mulheres apresentou a ingestão inferior ao recomendado e 10%
16 dos homens desse grupo apresentaram ingestão de vitamina A em RAE inferior à
17 recomendada.

18 A maioria dos voluntários (81%) apresentaram concentrações adequadas de vitamina
19 A (retinol) sérico > 1,05 µM/L, já os 19% que apresentaram níveis deficientes (< 1,05 µM/L)
20 de vitamina A (retinol) sérico encontram-se divididos da seguinte forma: 28% de
21 ancestralidade Africana (38% mulheres e 18% homens); 16% de ancestralidade Japonesa
22 (22% mulheres e 10% homens) e 13% de ancestralidade Europeia (22% mulheres e 4%
23 homens).

24 De acordo com o teste de correlação bivariada, nos indivíduos de ancestralidade
25 Europeia, as concentrações séricas de β-caroteno estão positivamente correlacionadas com a
26 idade ($r = 0,250$; $p = 0,012$), assim como nos indivíduos de ancestralidade Japonesa ($r =$
27 $0,368$; $p < 0,001$), enquanto nos indivíduos de ancestralidade Africana essa correlação é
28 observada tanto com as concentrações séricas de β-caroteno ($r = 0,293$; $p = 0,03$) quanto para
29 as concentrações séricas de retinol ($r = 0,270$; $p = 0,007$). Essa correlação positiva também é
30 encontrada entre as concentrações séricas de β-caroteno e a ingestão de vitamina A ($r = 0,230$;
31 $p = 0,022$), nos indivíduos de ancestralidade Africana. Já nos indivíduos de ancestralidade
32 Japonesa, para as concentrações séricas de β-caroteno há uma correlação negativa com
33 relação ao peso ($r = -0,328$; $p = 0,001$), estatura ($r = -0,232$; $p = 0,020$), IMC ($r = -0,271$; $p =$

1 0,006) e circunferência abdominal ($r = -0,236$; $p = 0,108$), enquanto o zinco apresenta uma
2 correlação positiva com as concentrações séricas de retinol ($r = 0,215$; $p = 0,032$).

3 No presente estudo foram determinadas as frequências genóticas para R267S
4 (rs12934922) e A379V (rs7501331) (Tabela 2 e Figura 1), e as frequências das variáveis
5 alélicas R267S, A379V e R267S+A379V nos 3 diferentes grupos étnicos. Observou-se que o
6 grupo de ancestralidade Japonesa apresentou maior frequência estatisticamente significativa
7 ($P < 0,05$) do genótipo homozigoto dominante A/A (79%) do SNP R267S, enquanto que os
8 grupos com ancestralidades Europeia e Africana apresentaram maior frequência da associação
9 dos genótipos heterozigoto e homozigoto recessivo A/T + T/T com 63% e 48%,
10 respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre eles.
11 Para a variante alélica A379V, os grupos de ancestralidades Africana e Japonesa apresentaram
12 as maiores frequências do genótipo homozigoto dominante C/C, com 82% e 73%,
13 respectivamente, enquanto os indivíduos de ancestralidade Européia apresentaram a menor
14 frequência (56%), diferindo estatisticamente dos demais ($p < 0,05$). Já para a associação dos
15 genótipos heterozigoto e homozigoto recessivo C/T + T/T, o grupo de ancestralidade
16 Europeia apresentou a maior frequência estatisticamente significativa ($p < 0,05$), com 44%.

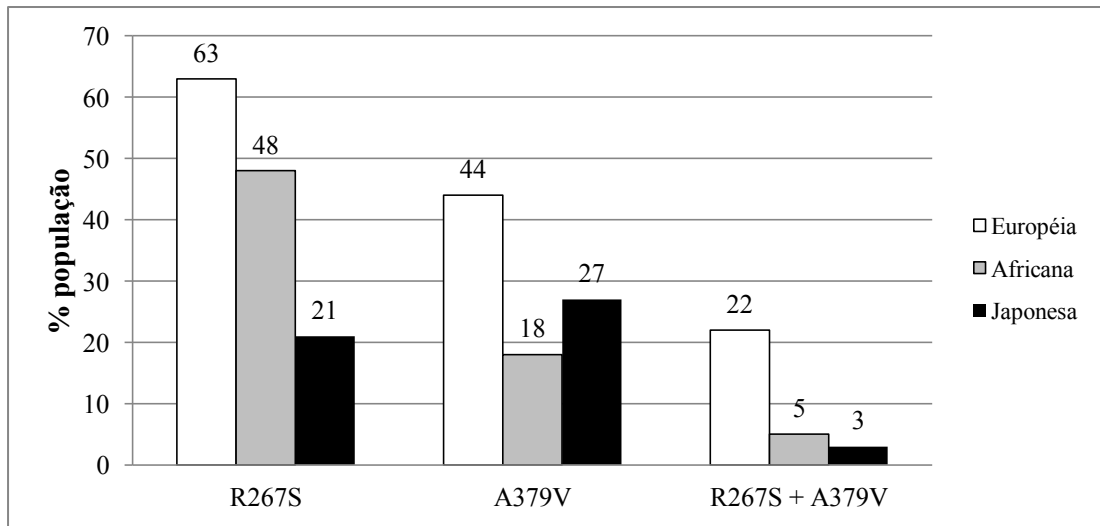
1 **Tabela 2** - Frequência do SNP BCMO1 R267S e A379V (n=100), em indivíduos de
 2 diferentes etnias.

3

SNP	Genótipo	n / %
<i>Ancestralidade Europeia</i>		
R267S (rs12934922)	A/A	37 ^b
	A/T + T/T	63 ^a
A379V (rs7501331)	C/C	56 ^b
	C/T + T/T	44 ^a
<i>Ancestralidade Africana</i>		
R267S (rs12934922)	A/A	52 ^b
	A/T + T/T	48 ^a
A379V (rs7501331)	C/C	82 ^a
	C/T + T/T	18 ^b
<i>Ancestralidade Japonesa</i>		
R267S (rs12934922)	A/A	79 ^a
	A/T + T/T	21 ^b
A379V (rs7501331)	C/C	73 ^a
	C/T + T/T	27 ^b

4
 5 As frequências de indivíduos com os seus correspondentes genótipos estão apresentadas por seus valores
 6 absolutos (n) e a porcentagem (%), de acordo com a etnia. As análises de diferenças estatísticas entre as
 7 frequências dos SNPs e as etnias foram realizadas por meio do teste χ^2 , ao nível de significância de 5%. Letras
 8 diferentes significam diferenças entre as frequências.

9
 10
 11 A Figura 1 apresenta as frequências da variante alélica R267S (Europeia 63,0%,
 12 Africana 48,0%, Japonesa 21,0%), da variante alélica A379V (Europeia 44,0%, Africana
 13 18,0%, Japonesa 27,0%) e das variáveis R267S+A379V (Europeia 22,0%, Africana 5,0%,
 14 Japonesa 3,0%) com, pelo menos, um alelo T, para os três diferentes grupos étnicos.



1 **Figura 1** – Frequências das variáveis alélicas R267S, A379V e R267S+A379V, em três
 2 diferentes grupos étnicos, com pelo menos um alelo T, nas ancestralidades Europeia, Africana
 3 e Japonesa.

4
 5 As Figuras 2 e 3 apresentam os níveis séricos de β -caroteno e retinol, respectivamente.
 6 De acordo com a análise de variância, os níveis de β -caroteno sérico mensurados foram
 7 diferentes entre as etnias, de acordo com o genótipo, em especial no grupo com ancestralidade
 8 Japonesa que apresentou os maiores níveis séricos em todos os genótipos analisados, embora,
 9 estatisticamente, para a combinação das variantes R267S + A379V o resultado tenha se
 10 apresentado como tendência ($p = 0,09$). Para o genótipo R267S o grupo de ancestralidade
 11 Africana apresentou menores níveis de β -caroteno ($p < 0,001$), enquanto para o genótipo
 12 A379V, os níveis séricos de β -caroteno não apresentaram diferenças estatísticas significativas
 13 com o grupo de ancestralidade Europeia. No entanto, ao se analisar os níveis de retinol séricos
 14 nos grupos étnicos de interesse, não foi possível encontrar nenhuma diferença estatisticamente
 15 significativa.

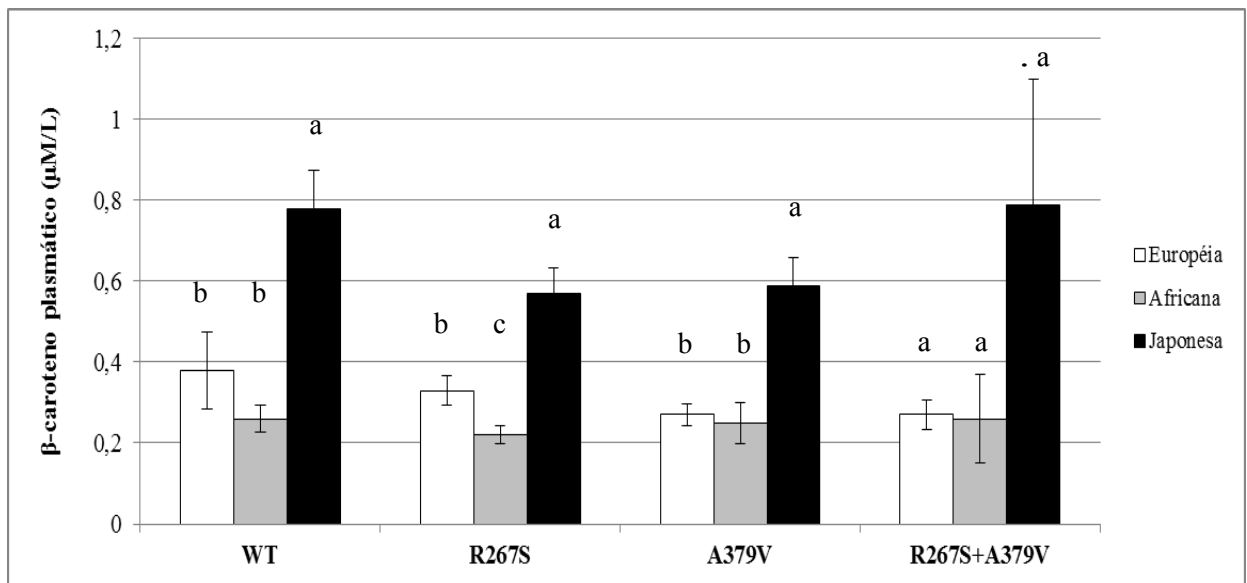


Figura 2 – Níveis de β -caroteno sérico nas etnias de ancestralidade Europeia, Africana e Japonesa. WT refere-se ao genótipo selvagem (AA/CC) para ambos os alelos; R267S e A379V com, pelo menos, um alelo T; R267S + A379V com, pelo menos, um alelo T em R267S e A379V. Análise de diferenças entre as etnias foram realizadas através do teste ANOVA, seguido pelo teste de Tukey, onde as letras diferentes significam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% de probabilidade e pontos significam tendência. Os dados estão representados como média \pm SE.

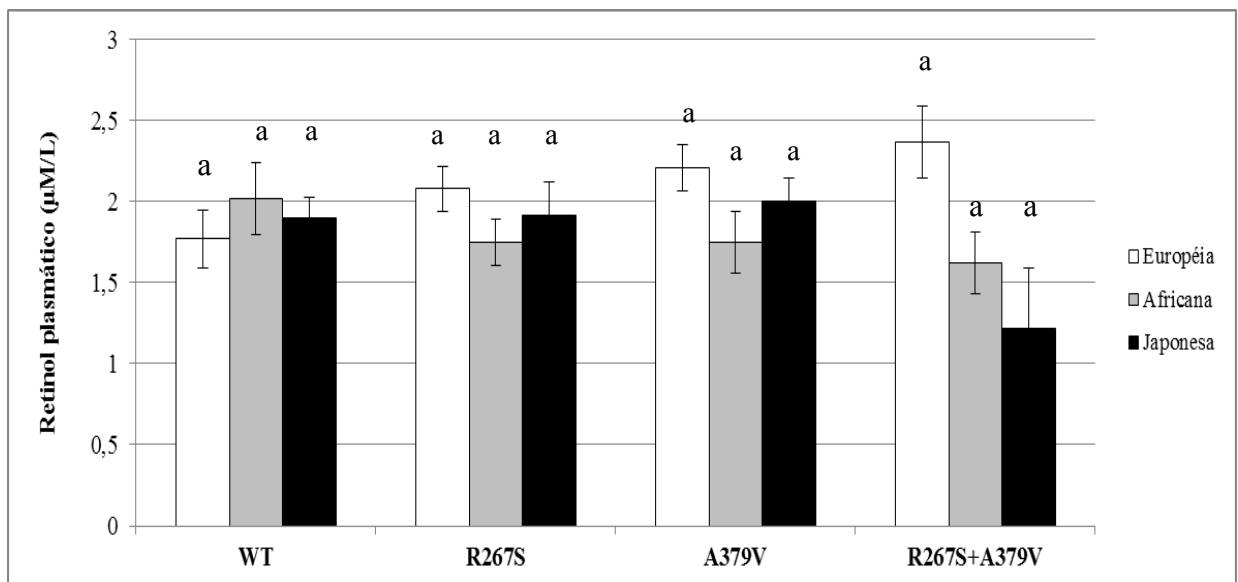


Figura 3 – Níveis de retinol sérico nas etnias de ancestralidade Europeia, Africana e Japonesa. WT refere-se ao genótipo selvagem (AA/CC) para ambos os alelos; R267S e A379V com, pelo menos, um alelo T; R267S + A379V com, pelo menos, um alelo T em R267S e A379V. Análise de diferenças entre as etnias foram realizadas através do teste ANOVA, seguido pelo teste de Tukey, onde as letras diferentes significam diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% de probabilidade. Os dados estão representados como média \pm SE.

1 As Tabelas 3 e 4 mostram os resultados do teste *t* de Student para as concentrações
2 séricas de β-caroteno e retinol, respectivamente, de acordo com as variáveis alélicas R267S e
3 A379V e seus respectivos genótipos selvagens (AA/CC), comparando a associação dos
4 genótipos heterozigotos aos homozigotos recessivos, A/T + T/T e C/T + T/T, em todos os
5 indivíduos avaliados no estudo, para os 3 diferentes grupos étnicos de ancestralidades
6 Europeia, Africana e Japonesa. Para a variante alélica R267S as médias das concentrações
7 séricas de β-caroteno foram significativamente maiores ($p = 0,01$) para o genótipo selvagem
8 A/A quando comparados à associação dos genótipos heterozigotos e homozigotos recessivos
9 A/T + T/T em todos os indivíduos avaliados no estudo. Para a variante alélica A379V não
10 houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,51$) para as concentrações séricas de β-
11 caroteno comparando o genótipo selvagem (C/C) com a associação dos genótipos
12 heterozigotos e homozigotos recessivos (C/T + T/T).

13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

1 **Tabela 3** – Concentrações séricas de β -caroteno de acordo com as variáveis alélicas R267S e
 2 A379V comparando o genótipo selvagem com a associação dos genótipos heterozigotos e
 3 homozigotos recessivos.

SNP	Genótipo	Média	<i>p</i>
<i>Geral (n=300)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	0,49	0,01
	A/T + T/T	0,33	
A379V (rs7501331)	C/C	0,40	0,51
	C/T + T/T	0,44	
<i>Ancestralidade Europeia (n=100)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	0,31	0,78
	A/T + T/T	0,33	
A379V (rs7501331)	C/C	0,36	0,37
	C/T + T/T	0,27	
<i>Ancestralidade Africana (n=100)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	0,26	0,30
	A/T + T/T	0,22	
A379V (rs7501331)	C/C	0,24	0,91
	C/T + T/T	0,25	
<i>Ancestralidade Japonesa (n=100)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	0,71	0,83
	A/T + T/T	0,57	
A379V (rs7501331)	C/C	0,72	0,88
	C/T + T/T	0,59	

4
 5 Os dados estão apresentados como médias. Teste *t* de Student não pareado entre genótipo selvagem e genótipo
 6 heterozigoto associado ao homozigoto. Considerou-se diferença estatisticamente significativa quando $p < 0,05$.
 7
 8

9 Para a variante alélica A379V as médias das concentrações séricas de retinol (Tabela
 10 4) foram significativamente menores ($p = 0,03$) para o genótipo selvagem C/C quando
 11 comparada a associação dos genótipos heterozigoto e homozigoto recessivo C/T + T/T em
 12 todos os indivíduos avaliados no estudo. Para a variante alélica R267S não houve diferença
 13 estatisticamente significativa ($p = 0,51$) para as concentrações séricas de retinol comparando o
 14 genótipo selvagem (A/A) com a associação dos genótipos heterozigotos e homozigotos
 15 recessivos (A/T + T/T).
 16

1 **Tabela 4** – Concentrações séricas de retinol de acordo com as variáveis alélicas R267S e
 2 A379V comparando o genótipo selvagem com a associação dos genótipos heterozigotos e
 3 homozigotos recessivos.

SNP	Genótipo	Média	<i>p</i>
<i>Geral (n=300)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	1,96	0,51
	A/T + T/T	1,93	
A379V (rs7501331)	C/C	1,84	0,03
	C/T + T/T	2,05	
<i>Ancestralidade Europeia (n=100)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	1,94	0,87
	A/T + T/T	2,08	
A379V (rs7501331)	C/C	1,88	0,05
	C/T + T/T	2,21	
<i>Ancestralidade Africana (n=100)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	1,97	0,54
	A/T + T/T	1,75	
A379V (rs7501331)	C/C	1,88	0,84
	C/T + T/T	1,75	
<i>Ancestralidade Japonesa (n=100)</i>			
R267S (rs12934922)	A/A	1,96	0,72
	A/T + T/T	1,92	
A379V (rs7501331)	C/C	1,93	0,44
	C/T + T/T	2,00	

4
 5 Os dados estão apresentados como médias. Teste *t* de Student não pareado entre genótipo selvagem e genótipo
 6 heterozigoto associado ao homozigoto. Considerou-se diferença estatisticamente significativa quando *p* <0,05.
 7

8 Uma análise de regressão de Poisson foi realizada para inferir a relação entre o
 9 desfecho (variável independente) e a concentração sérica de retinol < 1,05 μM/L e os fatores
 10 associados (variáveis dependentes), a etnia e o gênero, variáveis que foram individualmente
 11 associadas ao desfecho. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.
 12
 13
 14
 15
 16
 17

1 **Tabela 5** – Razão de prevalência entre etnia e gênero com níveis séricos de retinol
 2 < 1,05 µM/L.

Parâmetro	R.P.	IC 95%	<i>p</i>
Ancestralidade Africana	2,154	0,635 - 2,385	0,009
Ancestralidade Japonesa	1,231	1,207 - 3,843	0,538
Ancestralidade Europeia	1	-	-
Gênero Masculino	0,39	0,231 - 0,659	<0,001
Gênero Feminino	1	-	-

3
 4 A razão da prevalência foi calculada pela análise de Regressão de Poisson. Onde R.P. é a razão da prevalência; *p*
 5 o p-valor do teste; IC 95% o intervalo de confiança ao nível de 95% de probabilidade.
 6

7 Observou-se uma prevalência da concentração sérica de retinol < 1,05 µM/L maior em
 8 indivíduos com ancestralidade Africana em relação aos indivíduos com ancestralidade
 9 Europeia (*p* = 0,009), enquanto não se pode afirmar que a prevalência de retinol sérico < 1,05
 10 µM/L seja maior ou menor nos indivíduos com ancestralidade Japonesa em relação aos
 11 indivíduos com ancestralidade Europeia (*p* = 0,54). Ainda foi possível inferir que a
 12 prevalência de retinol sérico < 1,05 µM/L é menor nos homens em relação às mulheres (*p* <
 13 0,001).
 14

15 4. DISCUSSÃO

16
 17 O β-caroteno é precursor da vitamina A e desempenha papel importante na resposta
 18 imune, visão e diferenciação celular (1). O ser humano é incapaz de realizar a síntese de
 19 vitamina A *de novo* (19). Sendo assim, o consumo de alimentos fonte de vitamina A pré-
 20 formada, predominantemente de ésteres de retinil ou carotenóides pró-vitamina A, é
 21 fundamental (19). A quantidade de retinol, oriunda dos carotenóides, depende da
 22 biodisponibilidade dos carotenóides ingeridos e do metabolismo endógeno das enzimas (19).
 23 O β-caroteno, α-caroteno e a β-criptoxantina são carotenóides que possuem, pelo menos, um
 24 anel β-ionona não substituído, sendo que a clivagem simétrica oxidativa ocorre na posição 15,
 25 15' pela enzima BCMO1, a qual tem um papel fundamental na manutenção do metabolismo
 26 da vitamina A (48, 49).

27 O presente estudo identificou, de forma inédita, no Brasil, a presença das variantes
 28 alélicas dos SNPs R267S: rs12934922 e A379V: rs7501331 no gene BCMO1, para três
 29 diferentes grupos étnicos da população brasileira (com ancestralidade Europeia, Africana e
 30 Japonesa). As frequências das variantes alélicas R267S e A379V com, pelo menos, um alelo
 31 T para aqueles com ancestralidade Europeia foram 63,0% e 44,0%, respectivamente, com

1 ancestralidade Africana, 48,0% e 18,0%, respectivamente, e com ancestralidade Japonesa,
2 21,0% e 27,0%, respectivamente. Os resultados mostram uma grande diferença de frequências
3 entre os grupos étnicos, e que as frequências dos genótipos dependem da etnia da população
4 estudada, para ambos os SNPs.

5 Em estudo realizado no Reino Unido em uma população Caucasiana, as frequências
6 das variantes polimórficas R267S e A379V com, pelo menos, um alelo T foram de 42% e
7 24%, respectivamente (24). Frequências semelhantes foram observadas nos dados obtidos
8 pelo The International HapMap Project (48), para uma população Caucasiana Europeia
9 ocidental, com 48% para a variante R267S e 26% para a variante A379V. A combinação das
10 variantes R267S+A379V foi encontrada em 24% e 36%, em uma população Caucasiana no
11 Reino Unido (24) e em uma população Caucasiana Europeia ocidental (48), respectivamente.

12 Resultados semelhantes foram observados em populações Chinesa e Japonesa, mas
13 não na população Yoruba da Nigéria (48). A base de dados do projeto internacional HapMap
14 mostra que ambas as variantes alélicas A379V e R267S estão presentes em populações
15 Chinesa e Japonesa, mas indica grande diferença de frequências entre os grupos étnicos (48).
16 A variante A379V com, pelo menos, um alelo T foi encontrada a uma frequência de 31% e
17 24% na população Chinesa e Japonesa, respectivamente, enquanto que a combinação das
18 variantes R267S+A379V foi observada em 9% e 2% da população Chinesa e Japonesa,
19 respectivamente (48). É importante notar que a presença de pelo menos um alelo T do SNP
20 A379V não foi encontrado na população Yoruba na Nigéria (48).

21 Nos indivíduos avaliados em nosso estudo a frequência da variante polimórfica R267S
22 com, pelo menos, um alelo T na ancestralidade Africana (48%) foi similar a aquela
23 encontrada nas populações Caucasiana do Reino Unido (42%) e Caucasiana Europeia
24 ocidental (48%). Ainda no nosso estudo, a frequência da variante polimórfica A379V com,
25 pelo menos, um alelo T nos indivíduos de ancestralidade Japonesa (27%) foi similar a aquelas
26 encontradas em mulheres caucasianas do Reino Unido (24%), em população Caucasiana
27 Europeia ocidental (26%) e Japonesa (24%). Para a combinação das variantes
28 R267S+A379V, no nosso estudo, a frequência dos indivíduos de ancestralidade Europeia
29 (22%) foi similar à população Caucasiana do Reino Unido (24%), sendo que para a
30 ancestralidade Japonesa a frequência (3%) foi similar à encontrada na população Japonesa
31 (2%) analisada pelo The International Hapmap Project (48). Estes dois SNPs no gene
32 BCMO1 foram também identificados por outros autores (24, 25, 26, 49, 50, 51), em diferentes
33 populações, e foram relacionados ao decréscimo da atividade catalítica da enzima BCMO1.

1 Assim, a variabilidade genética do metabolismo do β -caroteno poderia proporcionar uma
2 explicação para a base molecular do fenótipo conversor deficiente em uma dada população.

3 No presente estudo, foi possível observar uma correlação positiva entre a idade e as
4 concentrações séricas de β -caroteno nos indivíduos de ancestralidades Europeia e Japonesa
5 avaliados. Já para os indivíduos de ancestralidade Africana, houve uma correlação positiva
6 entre a idade e as concentrações séricas de β -caroteno e retinol. Sabe-se que os níveis médios
7 de retinol sérico aumentam gradativamente e linearmente com a idade (52), uma vez que no
8 processo de envelhecimento há mudanças na camada não agitada de água do intestino, fato
9 que facilitaria a absorção de vitaminas lipossolúveis pelos enterócitos (53).

10 No presente estudo, observou-se que os indivíduos de ancestralidade Africana
11 apresentaram menores concentrações séricas de β -caroteno para a variante alélica R267S com,
12 pelo menos, um alelo T, sendo que os indivíduos deste grupo étnico apresentaram menores
13 concentrações séricas de retinol ($<1,05 \mu\text{M/L}$) em relação aos indivíduos de ancestralidade
14 Europeia. Já os indivíduos de ancestralidade Japonesa apresentaram maiores concentrações
15 séricas de β -caroteno em todos os genótipos avaliados e uma tendência de baixas
16 concentração séricas de retinol para a combinação das variantes R267S+A379V, quando
17 comparados com os demais grupos do estudo. Foi constatado que as mulheres apresentaram
18 maior prevalência de baixos níveis de retinol sérico em relação aos homens. Mulheres
19 puérperas são mais vulneráveis à DVA de vitamina A, sendo que a prevalência desta em
20 mulheres em idade fértil na região Sudeste do país é de 14% (54). Há necessidade de um
21 aporte maior desta vitamina via suplementação medicamentosa (200.000 UI de vitamina A)
22 para a manutenção da sua saúde da mulher puérpera, garantindo, assim, as necessidades
23 nutricionais do lactente (55). Todavia, estudo recente mostrou que a suplementação de
24 megadoses não é eficaz para o tratamento desta deficiência nutricional e novas estratégias
25 devem ser adotadas para garantir a avaliação do estado nutricional e concentrações séricas
26 adequados de vitamina A em mulheres na idade fértil (56).

27 Em todos os indivíduos avaliados as médias das concentrações séricas de β -caroteno
28 para a variante alélica R267S foram maiores para o genótipo selvagem A/A quando
29 comparados à associação dos genótipos heterozigotos e homozigotos A/T + T/T, o que
30 corrobora com os dados encontrados por Wang (51), no qual os portadores do alelo T do
31 R267S apresentaram níveis normais de β -caroteno. Já para a variante alélica A379V as
32 médias das concentrações séricas de retinol foram menores para o genótipo selvagem C/C
33 quando comparada a associação dos genótipos heterozigoto e homozigoto C/T + T/T.

1 A extensão pela qual o β -caroteno é convertido em vitamina A é altamente variável
2 entre indivíduos saudáveis e bem nutridos (8, 25, 26, 57). Esta resposta variável ao β -caroteno
3 conduziu à caracterização do fenótipo conversor deficiente do β -caroteno à vitamina A,
4 quando comparado ao conversor normal, em alguns estudos (24, 25, 26, 27, 49, 51). Esta
5 ampla diferença inter-individual pode ser causada pela redução da atividade catalítica, como
6 consequência de SNPs não sinônimos e intrônicos do gene BCMO1 em indivíduos portadores
7 dos alelos A (rs6420424), G (rs11645428) e G (rs6564851) (50), ocasionado elevadas
8 concentrações séricas de β -caroteno (27).

9 Alguns pesquisadores demonstraram, ainda, que o gene humano BCMO1 pode sofrer
10 mutação na região T381L, aumentando em 75% a atividade catalítica da enzima BCMO1
11 (58). De acordo com os trabalhos citados, a avaliação de determinados SNPs pode influenciar
12 na análise dos níveis de carotenóides plasmáticos, visto que há variação da frequência de
13 alelos em SNPs do gene BCMO1 em diferentes grupos étnicos. O fenótipo conversor
14 deficiente não foi encontrado nos grupos étnicos avaliados no presente estudo.

15 Sabe-se que os carotenóides séricos devem estar em baixos níveis em indivíduos que
16 convertem eficientemente o β -caroteno em retinol, sendo este processo facilitado por
17 genótipos de enzimas de clivagem de carotenóides (51). As concentrações de retinol
18 circulante são mantidas homeostaticamente na ausência de baixos níveis de vitamina A
19 hepática (59). A não correlação com os níveis séricos de retinol e a baixa correlação entre os
20 carotenóides séricos e o retinol é esperada (59). Em um recente estudo de Associação
21 Genômica Ampla (GWAS) sobre os níveis circulantes de retinol, não houve nenhuma
22 associação genômica estatisticamente significativa com os SNPs do gene BCMO1 (60).
23 Mesmo que o intestino humano expresse abundantemente a BCMO1, a principal enzima de
24 clivagem, a conversão intestinal completa de todo o β -caroteno alimentar em vitamina A
25 praticamente não ocorre. Assim, cerca de 17% a 45% do β -caroteno ingerido é libertado na
26 circulação humana na sua forma intacta, não clivada (25, 61).

27 Vale ressaltar que a eficiência de conversão do β -caroteno em resposta a alimentação
28 sofre variação individual, mesmo em estudos realizados em grupos homogêneos (8, 25, 26,
29 27, 57). Esta variabilidade na resposta está associada a fatores genéticos, como os SNPs ou
30 outras características como a matriz celular do alimento, o conteúdo e tipo de lipídio na dieta,
31 a digestibilidade dos componentes solúveis em lipídios na dieta, ácidos biliares, interações
32 com outros carotenóides e variações individuais devido à atividade endógena das enzimas
33 digestivas (49, 62).

1 **CONCLUSÕES**

2
3 Os resultados do presente estudo mostram, de modo inédito que as frequências das
4 variantes polimórficas do gene BCMO1 R267S e A379V nos grupos populacionais brasileiros
5 de ancestralidades Caucasiana, Africana e Japonesa dependem da etnia para ambos os SNPs.
6 Os resultados mostram, ainda, que as variantes polimórficas observadas não parecem exercer
7 influência nas concentrações séricas de β -caroteno e retinol. Embora as frequências sejam
8 semelhantes a aquelas observadas em estudos com outros grupos populacionais, a influência
9 destes SNPs não se mostrou definitiva, uma vez que não houve a caracterização do fenótipo
10 conversor deficiente na população avaliada, o que pode ser explicado pela influência de
11 outros fatores associados ao gene BCMO1, conforme relatado no item Discussão, e pela alta
12 miscigenação da população brasileira.

13 A importância para recomendações e políticas personalizadas de nutrição e saúde é
14 reforçada pela observação de diferenças claras nas frequências dos SNPs em diferentes grupos
15 étnicos brasileiros. O metabolismo da vitamina A pode ser influenciado por diversos SNPs,
16 sendo necessárias futuras pesquisas avaliando SNPs alternativos, associados ao BCMO1, que
17 potencializariam a deficiência de conversão do β -caroteno em retinol. Sendo assim, a
18 variabilidade genética deve ser considerada para as futuras recomendações de suplementação
19 de provitamina A na população brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roncada, M. J. Vitaminas lipossolúveis. In: Dutra-de-Oliveira JE, Marchini JS. Ciências nutricionais. São Paulo: Sarvier; 1998. p. 167-77.
2. Underwood BA, Arthur P. The contribution of vitamin A to public health. *FASEB J* 1996;10(9):1040-8.
3. Press Conference of the State Council Information Office. The Nutrition and Health Status of the Chinese People (cited 2010 February 22). Available from: http://www.chinacdc.net.cn/n272442/n272530/n273736/n273812/n293881/n293888/3748_2.html
4. Ambrosio CLB, Campos FACS, Faro ZP. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. *Rev Nutr.* 2006;19(2):233-43.
5. Fonseca, ABBL. Vitamina A. In: Paschoal V, Marques N, Brimberg P, Diniz S. Suplementação Funcional Magistral: dos nutrientes aos compostos bioativos. São Paulo: Valéria Paschoal Editora Ltda.; 2008. p. 287-98.
6. Kull D, Pfander H. Appendix: List of new carotenoids. In: Britton G, Liaaenjenzen S, Pfander H. (Eds.). *Carotenoids Volume 1A: Isolation and Analysis*. Basel: Birkhäuser Verlag; 1995. p. 295-317.
7. Rodrigues-Amaya, DB, Kimura, Amaya-Farfan J. Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília: MMA/SBF; 2008.
8. Edwards AJ, You CS, Swanson JE, Parker RS. A novel extrinsic reference method for assessing the vitamin A value of plant foods. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(3):348-55.
9. Combs, GF Jr. Vitaminas. In: Manhan M, Escott-Stump S. *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. São Paulo: Roca; 2002. p. 65-105.
10. PNAN: Programa Nacional de Alimentação e Nutrição. Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A. Acesso em: 4 jun. 2014. Disponível em: <http://nutricao.saude.gov.br/vita.php>.
11. Parker RS. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB J.* 1996;10(5):542-51.
12. Biesalski HK, Frank J, Beck SC, Heinrich F, Illek B, Reifen R, et al. Biochemical but not clinical vitamin A deficiency results from mutations in the gene for retinol binding protein. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(5):931-6.
13. Layrisse M, Garcia-Casal MN, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, et al. New property of vitamin A and β -carotene an human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption. *Arch Latinoam Nutr.* 2000;50(3):243-8.
14. García-Casal MN, Layrisse M, Solano L, Beron MA, Arguello F, Llovera D, et al. Vitamin A and β -carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by human. *J Nutr.* 1998;128(3):646-50.

15. IOM (Institute of Medicine). Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press. 2001:442-501. Disponível em: http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=10026&page=93
16. Leuenberger MG, Engeloch-Jarret C, Woggon WD. The reaction mechanism of the enzyme-catalyzed central cleavage of b-carotene to retinal. *Angew Chem.* 2001;40(14):2613-
17. Wirtz GM, Bornemann C, Giger A, Muller RK, Schneider H, Schlotterbeck G, et al. The substrate specificity of β,β -carotene 15,15'-monooxygenase. *Helv Chim Acta.* 2001;84(8):2301-15.
18. Lietz G, Oxley A, Boesch-Saadatmandi C, Kobayashi D. Importance of β,β -carotene 15,15'-monooxygenase 1 (BCMO1) and β,β -carotene 90,10'-dioxygenase 2 (BCDO2) in nutrition and health. *Mol Nutr Food Res.* 2011;55(2):241-50.
19. Lietz G, Lange J, Rimbach G. Molecular and dietary regulation of β,β -carotene 15, 15'-monooxygenase 1 (BCMO1). *Arch Biochem Biophys.* 2010;502(1):8-16.
20. During A, Nagao A, Hoshino C, Terao J. Assay of beta-carotene 15,15 β -dioxygenase activity by reverse-phase high-pressure liquid chromatography. *Anal Biochem.* 1996; 241(2):199-205.
21. Lindqvist A, Andersson S. Biochemical properties of purified recombinant human β -carotene 15,15'-monooxygenase. *J Biol Chem.* 2002;277(26):23942-8.
22. Ho CC, Moura FF, Kim SH, Clifford AJ. Excentral cleavage of β -carotene in vivo in a healthy man. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(3):770-7.
23. van Vliet, T. Absorption of b-carotene and other carotenóides in humans and animal models. *Eur J Clin Nutr.* 1996;50(Suppl 3):S32-S7.
24. Leung WC, Hessel S, Me'plan C, Flint J, Oberhauser V, Tourniaire F, et al. Two common single nucleotide polymorphisms in the gene encoding b-carotene 15,15'-monooxygenase alter β -carotene metabolism in female volunteers. *FASEB J.* 2009;23(4):1041-53.
25. Hickenbottom SJ, Follett JR, Lin Y, Dueker SR, Burri BJ, Neidlinger TR, et al. Variability in conversion of beta-carotene to vitamin A in men as measured by using a double-tracer study design. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(5):900-7.
26. Lin Y, Dueker SR, Burri BJ, Neidlinger TR, Clifford AJ. Variability of the conversion of beta-carotene to vitamin A in women measured by using a double-tracer study design. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(6):1545-54.
27. Wang Z, Yin S, Zhao X, Russell R M, Tang G. beta-Carotene-vitamin A equivalence in Chinese adults assessed by an isotope dilution technique. *Br J Nutr.* 2004;91(1):121-31.
28. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign: Human Kinetics; 1988.
29. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: WHO; 1998.

30. Organización Panamericana de la Salud (OPAS). Guía clínica para atención primaria a las personas mayores. Washington: OPAS; 2003.
31. Yeum KJ, Lee-Kim YC, Yoon S, Lee KY, Park IS, Lee KS, et al. Similar metabolites formed from beta-carotene by human gastric mucosal homogenates, lipoxygenase, or linoleic acid hydroperoxide. *Arch Biochem Biophys*. 1995;321(1):167-74.
32. Blass SC, Goost H, Burger C, Tolba RH, Stoffel-Wagner B, Stehle P, et al. Extracellular micronutrient levels and pro-/antioxidant status in trauma patients with wound healing disorders: results of a cross-sectional study. *Nutr J*. 2013;12(1):157.
33. WHO. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. WHO/NUT/96.10. Geneva: WHO; 1996.
34. Provecto Analítica. Manual de metodologias de mineralização de amostras. Provecto Analítica, Ltda, Campinas; 2000. p. 28.
35. Basset J, Denney RC, Jeffery GH, Mendhan. Vogel – Análise Inorgânica Quantitativa. 4o ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan; 1981. p. 80-1.
36. Athanasopoulos, N. Flame Methods Manual GBC for Atomic Absorption, Victoria, Australia; 1994. p. 1-11.
37. Iyengar V, Woittiez J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem*. 1988;34(3):474-81.
38. Dacie and Lewis. *Practical Haematology*, 10^aed. Churchill Livingstone, Edinburgh; 2006.
39. Tietz NW. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. Ed 3. Philadelphia: WB Saunders; Section I “General Clinical tests”;1995. p. 178.
40. Schmid, K. In FW putman, editor, *The Plasm Proteins*, Vol.1, 2^o ed., Academic Press, Nova York; 1973. p. 184-228.
41. Gibson RS. Principles of nutritional assessment. In: *Food consumption of individuals*. Oxford: Oxford University Press; 1990. p. 37-54.
42. Fisberg R, Slater B, Marchioni DML, Martin LA. Métodos de inquéritos alimentares. In: *Inquéritos Alimentares - Métodos e bases científicas*. Brasil: Manole; 2005. p. 1-32.
43. Nutrition Data System for Research (NDS-R), Version 2.91. Developed by the Nutrition Coordinating Centre, University of Minnesota, Minneapolis, MN. Food and Nutrient Database. 1996.
44. SPSS, Inc. (2011). *SPSS Statistics Base 20.0. User´s Guide*. Chicago, USA.
45. Scientific Committee for Food. Nutrient and energy intakes for the European Community. Reports of the Scientific Committee for Food, Thirty First Series. Luxembourg: European Commission; 1993 [cited 1992 11 Dec]. Available from: <http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out89.pdf>.

46. Olson JA, Hayaishi O. The enzymatic cleavage of β -carotene into vitamin A by soluble enzymes of rat liver and intestine. *Proc Natl Acad Sci*. 1965;54(5):1364-70.
47. Goodman DS, Huang HS. Biosynthesis of vitamin A with rat intestinal enzymes. *Science*. 1965;149(3686):879-80.
48. The International HapMap Project. Acesso em 10/02/2011. Disponível em: <http://www.hapmap.org/>
49. Hendrickson SJ, Hazra A, Chen C, Eliassen AH, Kraft P, Rosner BA, et al. β -Carotene 15,15'-monooxygenase 1 single nucleotide polymorphisms in relation to plasma carotenoid and retinol concentrations in women of European descent. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(6):1379-89.
50. Lietz G, Oxley A, Leung W, Hesketh J. Single Nucleotide Polymorphisms Upstream from the β -Carotene 15,15'-Monooxygenase Gene Influence Provitamin A Conversion Efficiency in Female Volunteers. *J Nutr*. 2012;142(2):161S-5S.
51. Wang TTY, Edwards AJ, Clevidence BA. Strong and weak plasma response to dietary carotenoids identified by cluster analysis and linked to beta-carotene 15,15'-monooxygenase 1 single nucleotide polymorphisms. *J Nutr Biochem*. 2013;24(8):1538-46.
52. Garry PJ, Hunt WC, Bandrofchcak JL, VanderJagt D, Goodwin JS. Vitamin A intake and plasma retinol levels in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 1987;46(6):989-94.
53. Alberico APM, Do Carmo T. Alterações nas funções do trato gastrointestinal no envelhecimento. *Arq Ger Gerontol* 1998;2(2):47-51.
54. Brasil. Hipovitaminose A em crianças e mulheres em idade fértil no Brasil. Coordenação-Geral de Alimentação e Nutrição. Departamento de Atenção Básica. Secretaria de Atenção à Saúde. 2012. Acesso em 18/01/2015. Link: http://brasil.evipnet.org/wp-content/uploads/2014/10/evipnet-brasil_tarefa_pre-oficina_apresentacao_3_2012-12-04-11.pdf
55. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Vitamina A Mais: Programa Nacional de Suplementação de Vitamina A: Condutas Gerais. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
56. Haider BA, Bhutta ZA. Neonatal vitamin A supplementation: time to move on. *The Lancet*. Available online 11 December 2014. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)62342-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62342-4).
57. Borel P, Grolier P, Mekki N, Boirie Y, Rochette Y, LeRoy B, et al. Low and high responders to pharmacological doses of beta-carotene: proportion in the population, mechanisms involved and consequences on beta-carotene metabolism. *J Lipid Res*. 1998;39(11):2250-60.
58. Park CS, Lee SW, Kim YS, Kim EJ, Sin HS, Oh DK, et al. Utilization of the recombinant human beta-carotene-15,15'-monooxygenase gene in *Escherichia coli* and mammalian cells. *Biotech Letters*. 2008;30(4):735-41.

59. Tanumihardjo SA. Assessing vitamin A status: past, present and future. Bethesda - USA, J Nutr 2004; 134(1), suppl 1:290S-293S.
60. Mondul AM, Yu K, Wheeler W, Zhang H, Weinstein SJ, Major JM, et al. Genome-wide association study of circulating retinol levels. Hum Mol Genet. 2011;20(23):4724-31.
61. Harrison EH. Mechanisms involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids. Biochim. Biophys Acta. 2012;1821(1):70-7.
62. Novotny JA, Dueker SR, Zech LA, Clifford AJ. Compartmental analysis of the dynamics of beta-carotene metabolism in an adult volunteer. J Lipid Res. 1995;36(8):1825-38.

APÊNDICES

Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

FACULDADE DE MEDICINA DA UNESP – BOTUCATU/SP
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA- CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

PROJETO: ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS E EXPRESSÃO DO GENE BCMO1 (B-CAROTENO 15,15'MONOOXIGENASE) E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE B-CAROTENO E RETINOL

Durante a leitura do documento abaixo fui informado (a) que posso interromper para fazer qualquer pergunta, com objetivo de tirar dúvidas, para o meu melhor esclarecimento.

Convidamos o Sr(a) a participar do estudo com o seguinte objetivo e etapas a serem realizadas:

Objetivo: O objetivo principal do estudo é estudar duas variantes polimórficas do gene BCMO1, que determina a expressão da enzima β -caroteno 15,15' monooxigenase, em grupos populacionais brasileiros, considerando as variáveis sexo e etnia (raça), além de avaliar as consequências deste polimorfismo nas concentrações séricas de β -caroteno e vitamina A.

Prezado Colaborador,

Esse termo de consentimento que você deverá assinar foi elaborado de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, sobre Pesquisa Envolvendo Seres Humanos.

A deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública no Brasil. A ela, estão associadas às doenças do coração, câncer, declínio do fortalecimento dos músculos, desabilidade física e cognitiva relacionados à idade. Além disso, uma alteração em um gene chamado β -caroteno 15,15' monooxigenase (BCMO1) pode levar à deficiência de vitamina A, pois esta não é convertida em retinol para ser absorvida pelo organismo. Sendo assim, a identificação da deficiência de vitamina A é importante na população.

Neste estudo você será submetido aos procedimentos listados abaixo:

- 1- Avaliação da composição corporal com mensuração do peso e estatura (cálculo de Índice de Massa Corporal) e circunferência abdominal.

Dosagens Laboratoriais – sangue: concentração de retinol, β -caroteno e zinco no plasma e avaliação do processo infeccioso agudo. Para a obtenção dos dados laboratoriais serão necessários 20 ml de sangue, a serem coletados no início da manhã, por punção venosa periférica com seringas descartáveis, podendo haver um pequeno hematoma (mancha roxa) na pele na região da coleta.

Coleta de 2 ml de saliva em tubo específico para análise da expressão gênica e polimorfismo da BCMO1.

Avaliação da ingestão alimentar com a aplicação de recordatório alimentar de 24 horas de 2 momentos com a duração de 10 minutos.

O participante terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas e liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência. Também não haverá qualquer remuneração ao voluntário.

Para seu esclarecimento informamos ainda, que serão mantidos em sigilo os dados pessoais dos voluntários (nome, endereço e telefone) e os resultados obtidos com o estudo serão apresentados em congressos, publicados em revistas científicas, e também estarão a disposição nos arquivos desta unidade. Ciente do teor e implicações desta pesquisa assino embaixo, meu consentimento em participar da mesma, com a liberdade de sair desse protocolo em qualquer momento da execução desse projeto sem penalização.

Agradecemos a sua colaboração.

Botucatu (SP), ____ de _____ de _____

Assinatura do Voluntário

Assinatura do pesquisador

VANESSA LORENÇO PERESI

Nutricionista CRN3 17401

Pesquisadora do Projeto

Endereço: Av. Camilo Mazoni, 1055 E33. Botucatu- SP

Telefone fixo: (14) 38143120

Celular: (14) 81134657

e-mail: vanperesi@yahoo.com.br

Profa. Dra LÚCIA REGINA RIBEIRO

Bióloga

Depto de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu

Pesquisadora Coordenadora do Projeto

Endereço: Alameda Casa Branca 1060/61 São Paulo

Telefone: (11) 30886302

e-mail: lribeiro@fmb.unesp.br

OBS. Este documento será elaborado em duas vias, sendo uma via entregue ao sujeito da pesquisa e a outra será mantida arquivada pela pesquisadora.

Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, pelo telefone: (14) 3811-6143.

Apêndice B – Ficha de avaliação



UNESP - FACULDADE DE MEDICINA

ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS E EXPRESSÃO DO GENE BCMO1 (B-CAROTENO 15,15'MONOOXIGENASE) E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE B-CAROTENO E RETINOL

Dados gerais

Identificação:

Data: _____

Nome: _____ **Etnia:** branco negro japonês

Idade: _____ Data nascimento: ____/____/____

Endereço: _____ Telefone: _____

Profissão: _____ Escolaridade: _____

Estado Civil: _____

Antecedentes pessoais:

Tratamento medicamentoso:

Tabagismo: S N Maços/dia: _____ Período: _____

Atividade física: S N Parou Tipo: _____ Frequência: _____

Hábito intestinal: Normal Obstipado Diarréico Diário Irregular ____x/dia

Avaliação Antropométrica

Data	/
Peso Atual	
Estatura	
IMC	
Circ. Abdominal	





Avaliação da Ingestão Alimentar

RECORDATÓRIO 24H

Refeição/Horário	Alimentos	Quantidades
Café-da-manhã		
Lanche		
Almoço		
Lanche		
Jantar		
Ceia		

ANEXO

Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa e Alteração do Título

	Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina de Botucatu		Comitê de Ética em Pesquisa Fls. nº 54
Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P. CEP: 18.618-970 Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143 e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br			Registrado no Ministério da Saúde em 30 de abril de 1997
Botucatu, 14 de Março de 2011.		Of. 85/11-CEP	
Ilustríssima Senhora Prof ^ª . Dr ^ª Lúcia Regina Ribeiro Alameda Casa Branca, 1060 - Apto. 61 - Jardins CEP: 01408000 - São Paulo - SP			
Prezada Dr ^ª . Lúcia,			
De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 3799-2011) Estudo de polimorfismos do gene BCMO1 (Betacaroteno 15,15' monooxigenase) em grupos populacionais brasileiros: associação com hipovitaminose A, a ser conduzido por Vanessa Lorenço Peresi, orientada por Vossa Senhoria, co-orientada pela Prof ^ª . Dr ^ª . Daisy Maria Fávero Salvadori, com a colaboração de Chris Evelo e George e Lietz, recebeu do relator parecer favorável com recomendação , aprovado em reunião de 14 de março de 2011.			
Recomendação: Que os indivíduos detectados com "hipovitaminose" sejam encaminhados para tratamento médico.			
Situação do Projeto: APROVADO COM RECOMENDAÇÃO . Ao final da execução deste Projeto, apresentar ao CEP " Relatório Final de Atividades ".			
Atenciosamente,			
			
Alberto Santos Capelluppi Secretário do CEP			



Botucatu, 10 de outubro de 2011.

Of. 471/2011

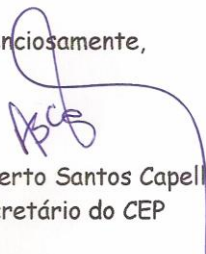
Ilustríssima Senhora
Prof^ª. Dr^ª Lúcia Regina Ribeiro
Departamento de Patologia
a/c da Prof^ª Daisy Salvadori

Prezada Prof^ª Lúcia Regina,

De ordem do Senhor Coordenador do CEP, informo que em 11/10/2011, foi autorizada a mudança do Título do Projeto de Pesquisa (**Protocolo CEP 3799-2011**) "**Estudo de polimorfismos do gene BCMO1 (Betacaroteno 15,15'monoxigenase) em grupos populacionais brasileiros: associação com hipovitaminose A**", conduzido por Vanessa Lorenço Peresi, orientada por Vossa Senhoria, co-orientada pela Prof^ª. Dr^ª. Daisy Maria Fávero Salvadori, com a colaboração de Chris Evelo e George e Lietz, para: **Associação entre os polimorfismos e expressão do gene BCMO1 (Betacaroteno 15,15'monoxigenase) e os níveis séricos de β -caroteno e retinol**".

A alteração da nomenclatura do estudo se deu ao fato de mudanças no objetivo do mesmo, as quais foram detalhadas de forma satisfatória na nova versão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido apresentado.

Atenciosamente,



Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP