



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**



ISABELLA VALOIS PEDROSA PORTO

**NÍVEIS DE HOMOCISTEÍNA EM MULHERES EM IDADE REPRODUTIVA NA
CIDADE DO RECIFE/PE.**

**RECIFE
2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO
DOUTORADO EM NUTRIÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA**

ISABELLA VALOIS PEDROSA PORTO

**NÍVEIS DE HOMOCISTEÍNA EM MULHERES EM IDADE REPRODUTIVA NA
CIDADE DO RECIFE/PE.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutora em Nutrição, na área de concentração em Saúde Pública.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ilma Kruze Grande de Arruda.

Co-orientador: Prof^o Dr^o Alcides da Silva Diniz.

RECIFE

2017

Catálogo na fonte:
Bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4:1895

P839n Porto, Isabella Valois Pedrosa.
Níveis de homocisteína em mulheres em idade reprodutiva na cidade do Recife-PE / , Isabella Valois Pedrosa Porto. – Recife: o autor, 2017.
153 f.; il.; 30 cm.

Orientadora: Ilma Kruse Grande de Arruda.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em nutrição.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Homocisteína. 2. Fatores epidemiológicos. 3. Deficiência de vitamina B. 4. Obesidade. 5. Doenças cardiovasculares. I. Arruda, Ilma Kruse Grande de (orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2018 - 051)

ISABELLA VALOIS PEDROSA PORTO

**NÍVEIS DE HOMOCISTEÍNA EM MULHERES EM IDADE REPRODUTIVA NA
CIDADE DO RECIFE/PE.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutora em Nutrição, na área de concentração em Saúde Pública.

Tese aprovada em 29 de novembro de 2017.

Banca examinadora:

Profª Drª Poliana Coelho Cabral
Departamento de Nutrição/UFPE

Profª Drª Mª Goretti Pessoa de Araújo Burgos
Departamento de Nutrição/UFPE

Profª Drª Keila Fernandes Dourado
Departamento de Nutrição/UFPE/CAV

Profª Drª Maria Lúcia Diniz Araújo
Centro Universitário Guararapes

Profª Drª Rebecca Peixoto Paes Silva
Departamento de Nutrição/UFPE/CAV

Dedico este trabalho à minha família, em especial ao meu filho Bernardo, meu esposo Henrique e meus pais. Para eles todo meu amor, carinho e dedicação!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela presença constante em minha vida, conduzindo-a com muito amor e renovando minha fé a cada instante. “Tudo posso naquele que me fortalece”.

À minha orientadora, **Professora Ilma Kruze Grande de Arruda**, pela disponibilidade e confiança em me orientar e por não me deixar desistir nos momentos mais difíceis do doutorado.

Ao co-orientador, **Professor Alcides da Silva Diniz**, por compartilhar seu conhecimento.

Ao **meu filho Bernardo**, que a cada dia me mostra que os verdadeiros valores da vida estão nas coisas mais simples. Vê-lo sorrindo me faz extremamente feliz! Por ele e para ele todo meu esforço e todo meu amor!! Te amo meu filho.

Ao meu esposo, **Henrique**, meu profundo agradecimento pela paciência e compreensão nos momentos difíceis e pela dedicação com nosso filho, especialmente nos meus momentos de ausência. Por todo apoio e amor dedicados a nossa família. Te amo meu amor.

À **minha mãe**, que sempre foi meu exemplo de superação e de amor incondicional. Minha fortaleza, referência de perseverança. Ao **meu pai**, pelo amor e confiança, apesar das poucas palavras. Obrigada por sempre acreditarem e apoiarem minhas escolhas. Obrigada por todo amor e carinho com o nosso Bernardo. Espero um dia poder retribuir todo amor que recebo de vocês. Aos meus irmãos, **Silvio e Fábio**, meus verdadeiros amigos, amo vocês!

Aos meus sogros, **Vera e Paulo**, pelo amor e cuidado com meu filho Bernardo, especialmente nos momentos que precisei me ausentar.

À **Patrícia Calado**, minha amiga, minha irmã. Sua contribuição foi fundamental para que eu pudesse concluir o doutorado. Agradeço imensamente por todo apoio e palavras de incentivo. Serei eternamente grata.

À **Cláudia Sabino**, pela imensa disponibilidade em me ajudar e por sempre transmitir calma, tranquilidade e sabedoria nos momentos mais difíceis. Sem a sua ajuda provavelmente eu não teria conseguido. Serei eternamente grata.

À **Cláudia Campelo**, obrigada pela agradável convivência diária, por nossas conversas fortalecedoras e apoio me dado especialmente na etapa final do doutorado.

Ao **Serviço de Nutrição do Hospital das Clínicas**, a todas as amigas e colegas do serviço, pelo apoio quando precisei me ausentar para me dedicar a esta tese.

À **Pós Graduação em Nutrição da UFPE**, pela qualidade do programa oferecido e a todos os professores que de alguma forma contribuíram para minha formação.

A **Cecília** pela delicadeza que sempre me atendeu.

Aos membros da **banca examinadora**, por dedicarem seu tempo para contribuir com a minha tese.

“Esperançar é se levantar, esperançar é ir atrás, esperançar é construir, esperançar é não desistir! Esperançar é levar adiante, esperançar é juntar-se com outros para fazer.”

Paulo Freire

RESUMO

Concentrações elevadas de homocisteína, frequentemente definida como concentrações acima de $15\mu\text{mol/L}$ é uma condição patológica conhecida como hiperhomocisteinemia e tem sido associada ao risco aumentado de doenças cardiovasculares na população saudável. O objetivo foi analisar os possíveis fatores associados as concentrações plasmáticas elevadas de homocisteína em mulheres em idade reprodutiva, atendidas nas unidades básicas de saúde do Nordeste do Brasil/PE. Estudo transversal desenvolvido na rede municipal de saúde de Recife, com 620 mulheres na faixa etária de 20 a 45 anos. As variáveis independentes analisadas foram condições sócio demográficas, comportamentais, estado nutricional, consumo alimentar, folato eritrocitário e concentrações séricas de vitamina B₁₂. A concentração plasmática de homocisteína foi considerada elevada $>15\mu\text{mol/l}$. Correlações de Pearson ou Spearman foram utilizadas para avaliar os fatores que melhor se correlacionaram com a homocisteína. Foi adotado o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese de nulidade ($p<0,05$). A hiperhomocisteinemia esteve presente em 12,6% das mulheres. As obesas apresentaram probabilidade 2,34 vezes maior de hiperhomocisteinemia (RP e IC95%: 2,34 (1,46-3,75); $p=0,001$). Idade ($r=0,102$; $p=0,011$), peso ($r=0,136$; $p<0,011$) e IMC ($r=0,109$; $p=0,007$) foram correlacionados positivamente, enquanto o folato eritrocitário ($r=-0,130$; $p=0,001$) correlacionado negativamente com as concentrações plasmáticas de homocisteína. A obesidade, idade e níveis reduzidos de folato eritrocitário podem ser considerados fatores associados importantes para a hiperhomocisteinemia em mulheres jovens. Indicando a necessidade de políticas públicas direcionadas para prevenção e/ou tratamento, especialmente do excesso de peso, por ser um fator modificável para a hiperhomocisteinemia.

Descritores: Homocisteína. Fatores epidemiológicos. Deficiência de vitamina B. Obesidade. Doenças cardiovasculares.

ABSTRACT

Hyperhomocysteinemia is a pathological condition characterized by high concentration of homocysteine (often above 15 μ mol/L) and has been associated with increased risk of cardiovascular disease in the healthy population. To analyze the possible factors associated with high plasma homocysteine concentrations in women of reproductive age, treated at the basic health units of Northeast Brazil/PE. A cross-sectional study developed in the Recife municipal health network, with 620 women aged between 20 and 45 years. The independent variables analyzed were socio-demographic and behavioral conditions nutritional status, dietary intake, erythrocyte folate and serum vitamin B₁₂ concentrations. The plasma concentration of homocysteine was considered high when > 15 μ mol/L. Pearson or Spearman correlations were used to assess the factors that best correlated with homocysteine. The significance level of 5% was used for rejecting the null hypothesis ($p < 0.05$). Hyperhomocysteinemia was present in 12.6% of the women. Obese women showed 2.34-fold higher probability of hyperhomocysteinemia (OR and 95% CI: 2.34 (1.46-3.75), $p = 0.001$). Age ($r=0.102$; $p=0.011$), weight ($r=0.136$; $p<0.011$) and BMI ($r=0.109$; $p=0.007$) were positively correlated, whereas erythrocyte folate ($r = -0.130$, $p = 0.001$) was negatively correlated with plasma homocysteine concentrations. Obesity, age, and reduced erythrocyte folate may be considered important associated factors for hyperhomocysteinemia in young women, indicating the need for public policies aimed at prevention and/or treatment, especially overweight, as they are modifiable factors for hyperhomocysteinemia.

Descriptors: Homocysteine. Epidemiological factors. Vitamin B deficiency. Obesity. Cardiovascular diseases.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVC - Acidentes vasculares cerebrais

BHMT - Betaína-homocisteína metiltransferase

CAAE- Certificado de apresentação para apreciação ética

CC – Circunferência da cintura

CONEP- Conselho Nacional de Ética e Pesquisa

DAP- Doença arterial periférica

DCNT - Doenças crônicas não transmissíveis

DCV- Doença cardiovascular

EAR - *Estimated Average Requirement*

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

FBP – *Folate binding protein*

HDLc- *High Density Lipoprotein*

IMC- Índice de massa corpórea

IMIP- Instituto de Medicina Integral Profº Fernando Figueira

LDLc- *Low Density Lipoprotein*

MTHFR – Metilenotetraidrofolato redutase

METIL-THF - Metiltetraidrofolato

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR- Proteína C reativa

RCQ- Razão Cintura Quadril

RP- Razão de prevalência

SAH- S - adenosil-homocisteína

SAM – S - adenosilmetionina

SM- Salário mínimo

SUS- Sistema Único de Saúde

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UL - *Tolerable Upper Intake Level*

VIGITEL- Vigilância de doenças crônicas por inquérito telefônico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1	Homocisteína: conceito e metabolismo.....	16
2.2	Hiperhomocisteinemia e doenças cardiovasculares.....	17
2.3	Fatores de risco da hiperhomocisteinemia	19
2.3.1	<i>Fatores fisiológicos</i>	20
2.3.2	<i>Fatores sociais e estilo de vida</i>	22
2.3.3	<i>Indicadores antropométricos e bioquímicos.....</i>	26
3	HIPOTÉSES.....	31
4	OBJETIVOS	32
4.1	Objetivo geral.....	32
4.2	Objetivos específicos.....	32
5	MÉTODOS.....	33
5.1	Desenho e local do estudo.....	33
5.2	População de estudo.....	33
5.3	Cálculo amostral.....	34
5.4	Procedimentos e técnicas de avaliação.....	34
5.4.1	<i>Condições sócio demográficas.....</i>	34
5.4.2	<i>Avaliação antropométrica.....</i>	35
5.4.3	<i>Avaliação laboratorial.....</i>	36
5.4.4	<i>Variáveis comportamentais.....</i>	38
5.5	Análise estatística.....	39

5.6	Aspectos éticos.....	39
6	RESULTADOS	41
7	DISCUSSÃO	46
8	CONCLUSÃO	52
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
	REFERÊNCIAS.....	54
	APÊNDICES.....	70
	APÊNDICE A- Artigo de Revisão Sistemática enviado para a Revista Ciência e Saúde Coletiva	70
	APÊNDICE B- Artigo original enviado para revista BMC Public Health	97
	ANEXOS.....	129
	ANEXO A - Questionário para coleta de dados.....	129
	ANEXO B- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	131
	ANEXO C- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	132
	ANEXO D- Normas para publicação da revista Ciência e Saúde Coletiva	133
	ANEXO E- Normas para publicação da revista BMC Public Health.....	141
	ANEXO F- Confirmação de submissão do artigo de Revisão Sistemática	152
	ANEXO G - Confirmação de submissão do Artigo Original	153

1 INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são as principais causas de morte no mundo, consideradas atualmente um importante problema de saúde pública. Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 60% das mortes são ocasionadas pelas DCNT e de forma prematura, acometendo indivíduos com idade inferior a 60 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Atingem indivíduos de todas as camadas socioeconômicas e, de forma mais intensa, as camadas pobres da população e grupos vulneráveis (idosos e os de baixa escolaridade e renda) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

No Brasil, as DCNT são causa de aproximadamente 74% das mortes, dessas praticamente um terço são representados pelas doenças cardiovasculares, configurando o problema de maior magnitude no país. Em contrapartida, as doenças transmissíveis (infecciosas e parasitárias), distúrbios materno-infantis e nutricionais representam apenas 13% da mortalidade (WHO, 2014). Na década de 30 essa distribuição apresentava-se de forma inversa, quando as doenças infecciosas respondiam por quase 50% das mortes nas capitais brasileiras (SILVA-JUNIOR, 2009).

Paralelo a essa transição epidemiológica ocorreram outras mudanças significativas, como na estrutura de ocupações e empregos (sobretudo para os setores secundário e terciário da economia), industrialização e mecanização da produção, urbanização, maior acesso a alimentos em geral, incluindo os processados (carboidratos simples, gorduras saturadas, pobre em fibras, vitaminas e minerais), e globalização de hábitos não saudáveis (sedentarismo, uso abusivo do álcool e fumo), contribuindo para o processo de transição nutricional. Essas transformações foram importantes, no que se refere à geração de renda, estilos de vida e, especificamente, demandas nutricionais, expondo a população cada vez mais ao risco de doenças crônicas (BATISTA FILHO; RISSIN; 2003; SCHMIDT et al, 2011).

As DCNT geram consequências importantes tanto para os indivíduos, como para a sociedade de maneira geral tais como: morte prematura, perda na qualidade de vida,

com limitação para as atividades de trabalho e lazer e impactos econômicos, que agravam as desigualdades e a pobreza (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Dentre as DCNT se destacam as doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e doenças respiratórias crônicas (ALWAN et al, 2010; WHO, 2014). Alguns fatores de risco bem conhecidos são o tabagismo, sedentarismo, alimentação inadequada, consumo nocivo de álcool, excesso de peso, obesidade e dislipidemia (BHATT et al, 2006; MALTA et al, 2006).

Nos últimos anos, foram identificados fatores de risco adicionais, principalmente para as doenças cardiovasculares, como a hiperhomocisteinemia. Alguns estudos sugerem que este seja um fator de risco cardiovascular independente (DURAND et al, 2001; TAVARES et al, 2002; NEVES, MACEDO, LOPES, 2004; NERBASS; DRAIBE; CUPPARI, 2005; UEHARA; BALUZ; ROSA, 2005). Contudo, os mecanismos pelos quais a hiperhomocisteinemia participa da aterogênese e trombogênese ainda não estão totalmente esclarecidos (VENÂNCIO; BURINI; YOSHIDA, 2010).

Na população geral, a prevalência da hiperhomocisteinemia foi descrita inicialmente em torno de 5 a 7%, enquanto níveis intermediários de hiperhomocisteinemia foram encontrados em 13 a 60% em portadores de doença vascular aterosclerótica sintomática (UELAND; REFSUM, 1989; NAIR et al, 2000; VENÂNCIO; BURINI; YOSHIDA, 2010). Contudo, estudos realizados no Brasil e em outros países descreveram prevalências mais elevadas em populações saudáveis, entre 20 e 70% (FAKHRZADEH et al, 2006; ALMEIDA et al, 2008; LOPES et al, 2015), a depender o sexo, idade, localização geográfica, ponto de corte estabelecidos para diagnóstico, adoção de políticas de fortificação de alimentos com ácido fólico e diversos fatores ambientais (QU; GAO; LIU, 2010; MOON et al, 2011; TANAKA et al, 2014; LOPES et al, 2015; YANG et al, 2015).

Considerando a hiperhomocisteinemia um fator de risco independente para as doenças cardiovasculares, torna-se relevante a realização do presente estudo, a fim de contribuir para a identificação precoce dos fatores associados aos níveis de homocisteína em mulheres saudáveis.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Homocisteína: conceito e metabolismo

A homocisteína é um aminoácido sulfurado sintetizado exclusivamente como produto intermediário do metabolismo intracelular da metionina, aminoácido essencial proveniente da dieta (VENÂCIO; BURINI; YOSHIDA, 2010). Cerca de 70 a 80% da homocisteína plasmática encontram-se ligadas a proteínas, como albumina. Apenas 2 a 5% encontram-se livres no plasma na forma reduzida e o restante é encontrada na forma oxidada, formando dímeros de homocisteína e dissulfetos mistos como homocisteína-cisteína (NEVES, 2004).

As concentrações de homocisteína são controladas por vias metabólicas complexas, transmetilação, remetilação e transulfuração (LOPES; LOPES; VANNUCCHI, 2010). Na via de síntese da homocisteína, transmetilação, a metionina é catabolizada a S-adenosilmetionina (SAM), S-adenosil-homocisteína (SAH) e homocisteína (LOPES; LOPES; VANNUCCHI, 2010). Na via de remetilação, que ocorre preferencialmente em jejum, a homocisteína adquire um grupamento metil do N5-metiltetraidrofolato (metil-THF) ou da betaína e é convertida a metionina. A reação com o metil-THF é catalisada pela enzima metionina sintase, e tem a cobalamina (vitamina B₁₂) como coenzima. O metil-THF, doador do grupo metil, é sintetizado no organismo a partir do ácido fólico sob o controle da enzima N^{5,10}-metileno-tetraidrofolato redutase (MTHFR) (NEVES, 2004; LOPES; LOPES; VANNUCCHI, 2010; SCHALINSKE; SMAZAL, 2012). Na disponibilidade de folato reduzida pelo organismo a atividade da enzima betaína-homocisteína metiltransferase (BHMT) torna-se fundamental na reação de remetilação, na qual a betaína passa a ser o doador de grupo metil para homocisteína (LOPES et al, 2015).

Quando ocorre sobrecarga de metionina na dieta, a homocisteína é direcionada para a via de transulfuração, sendo convertida sequencialmente em cisteína e α -acetobutirato, por uma reação irreversível e catalisada pela enzima cistationa β sintetase, na presença da piridoxina (vitamina B₆). Essa via metabólica é responsável por degradar cerca de 50% da homocisteína circulante (NEVES, 2004; LOPES; LOPES; VANNUCCHI, 2010; SCHALINSKE; SMAZAL, 2012). (Figura 1)

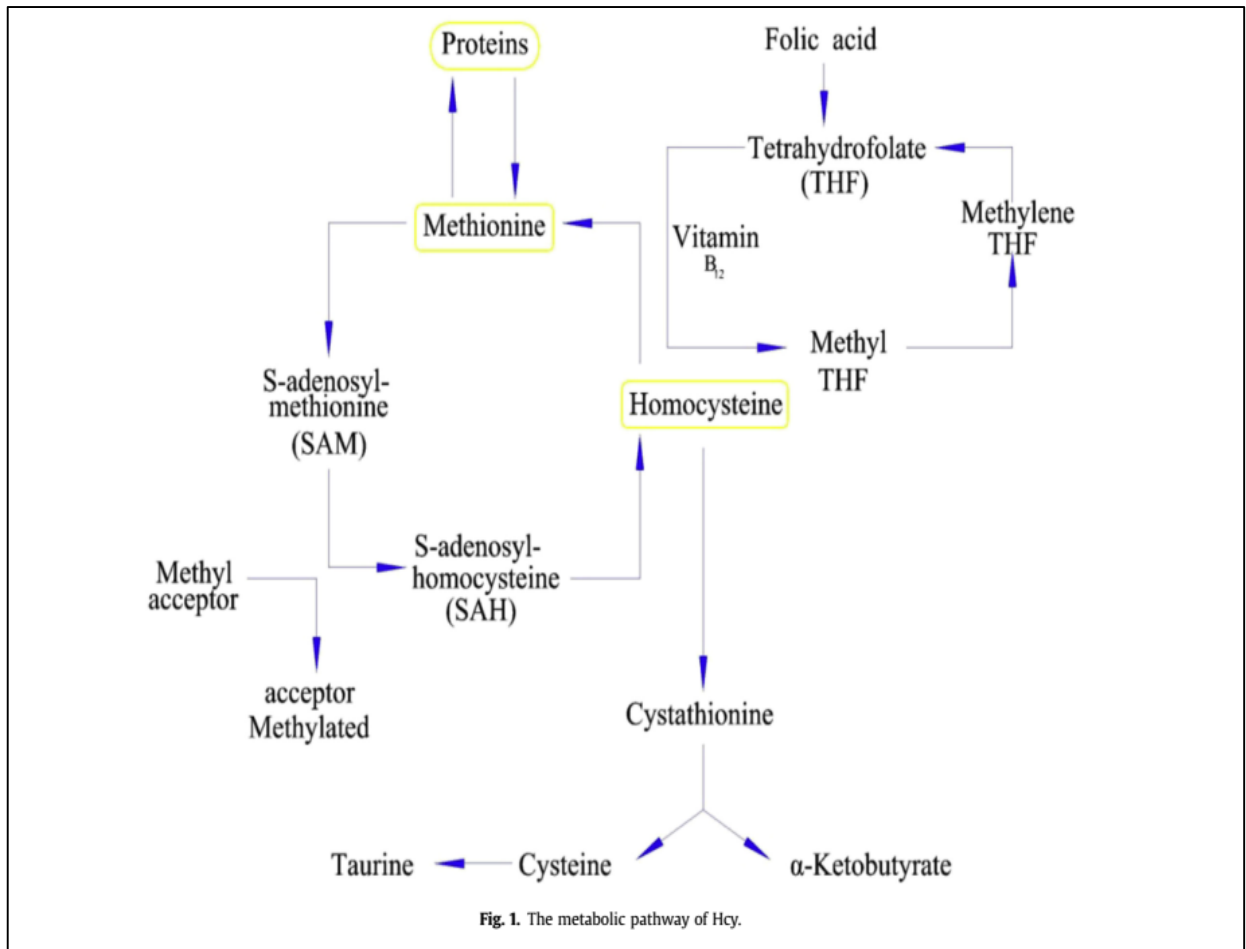


Figura 1: Metabolismo da homocisteína. Fonte: L. Han et al. Clinical Nutrition, 2017.

Neste contexto, possíveis alterações nas vias do metabolismo da homocisteína por deficiências vitamínicas de ácido fólico, B₆ e B₁₂ ou defeitos enzimáticos parecem influenciar as concentrações plasmáticas da homocisteína (HENRIQUEZ et al, 2007; HOEY et al, 2007; STEA et al, 2009; LOPES et al, 2015; HAN et al, 2017).

2.2 Hiperhomocisteinemia e doenças cardiovasculares

A homocisteína foi descoberta por volta dos anos de 1950 (DE VIGNEAUD, 1962), contudo apenas em 1969 foram descritas as primeiras relações entre hiperhomocisteinemia e doenças vasculares (McCULLY, 1969) e um pouco mais tarde determinada em indivíduos saudáveis (GUPTA; WILCKEN, 1978).

As concentrações plasmáticas de homocisteína em condições fisiológicas encontram-se entre 5 -15µmol/L (UELAND et al, 1993). A hiperhomocisteinemia é uma

condição patológica frequentemente definida como concentrações acima de $15\mu\text{mol/L}$ (REFSUM et al, 2006; ALMEIDA et al, 2008; MEERTENS et al, 2011; YANG et al, 2015), uma vez que na literatura ainda não existe um consenso quanto ao ponto de corte. Recentemente, em revisão sistemática com 71 estudos, foi observado que o ponto de corte adotado por 19 estudos para determinar a hiperhomocisteinemia em populações saudáveis foram níveis acima de $15\mu\text{mol/L}$, variando entre 10 e $16\mu\text{mol/L}$ nos demais estudos (HAN et al, 2017). Na população de hipertensos os pontos de corte mais utilizados foram um pouco inferiores, entre 7 e $14\mu\text{mol/L}$, apenas dois dos estudos analisados adotaram o ponto de corte acima de $15\mu\text{mol/L}$ (HAN et al, 2017).

A hiperhomocisteinemia pode ser classificada em leve (16 a $30\mu\text{mol/L}$), moderada (31 e $100\mu\text{mol/L}$) e grave ($>100\mu\text{mol/L}$), sendo a presença da homocisteinemia moderadas ou graves sugestivas de alterações genéticas e metabólicas (UELAND et al, 1993; KANG, 1996).

Concentrações plasmáticas elevadas de homocisteína têm sido amplamente aceitas como fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (DEN HEIJER; LEWINGTON; CLARKE, 2005). Em ensaio clínico caso-controle com indivíduos portadores de doença arterial periférica (DAP), 30% dos indivíduos do grupo controle e 50% dos portadores de DAP apresentaram a forma leve de hiperhomocisteinemia. Os indivíduos controles com homocisteína superior a $15\mu\text{mol/L}$ apresentaram 3,5 vezes mais chance de desenvolver DAP quando comparado aqueles com níveis inferiores a $15\mu\text{mol/L}$ (OR: 3,5; IC95%: 1,45-8,57; $p=0,003$) (VENÂNCIO; BURINI; YOSHIDA, 2009).

Estudo realizado na China com 348 indivíduos, hiperhomocisteinemia foi significativamente correlacionada com os subtipos de acidentes vasculares cerebrais (AVC) isquêmicos, aterosclerose de artéria de grande calibre (OR: 1,126; IC95%: 1,051-1,206; $p = 0,001$) e oclusão de artérias pequenas (OR: 1,105; IC 95%: 1,023-1,193; $p = 0,012$). As concentrações séricas de vitamina B_{12} estiveram inversamente correlacionadas com os dois tipos de AVC acima descritos, porém no subgrupo com deficiência de vitaminas (ácido fólico e vitamina B_{12}), o que possivelmente contribuiu para a incidência de hiperhomocisteinemia nessa população (WU et al, 2017).

Corte transversal conduzido na China, com amostra representativa de 6529 adultos (idade ≥ 35 anos), descreveu prevalência elevada de hipertensão acompanhada por hiperhomocisteinemia que atingiu 45,1% da população estudada e

representou 86,8% do total de participantes com hipertensão arterial. Após análise de regressão múltipla os fatores de risco modificáveis da hipertensão acompanhada por hiperhomocisteinemia foram a obesidade, diabetes, dislipidemia e sedentarismo. (CHANG et al, 2017).

Dados consistentes sobre tendência de queda na taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e nos Estados Unidos vinham sendo descritos (FORD et al, 2007; MANSUR et al, 2009). No entanto, em estudo recente, Mansur e Favarato (2016) observaram que nos anos de 2007 a 2012 as mudanças na mortalidade por doenças isquêmicas do coração não foram significativas no Brasil (MANSUR; FAVARATO, 2016). A hiperhomocisteinemia destaca-se do ponto de vista da saúde pública pelas associações com esse grupo de doenças crônicas (cardiovasculares e cerebrovasculares), as quais são responsáveis por pelo menos 20% das mortes em nossa população com mais de 30 anos de idade e representam as principais causas de morte no Brasil (MANSUR; FAVARATO, 2012) e no mundo (WHO, 2013).

A homocisteína plasmática elevada apresenta características aterogênicas e trombogênicas, entretando os mecanismos ainda não estão totalmente esclarecidos. Possivelmente, um dos mecanismos para o efeito aterotrombótico refere-se à auto-oxidação da homocisteína com subsequente geração de peróxido de hidrogênio, que causa dano às células endoteliais e proliferação das células musculares lisas dos vasos. Além disso, a hiperhomocisteinemia pode ativar respostas inflamatórias envolvidas na etiologia da aterosclerose (HANKEY; EIKELBOOM, 2000; DURAND, 2001; DEN HEIJER; LEWINGTON; CLARKE, 2005).

2.3 Fatores de risco da hiperhomocisteinemia

Os fatores de risco para hiperhomocisteinemia em indivíduos saudáveis tem sido investigados, por esta condição está amplamente reconhecida como um importante fator de risco independente para DCV (KIM et al, 2010; OBERSBY et al, 2013; HUANG et al, 2013; LIU et al, 2015; HAN et al, 2017).

As concentrações plasmáticas de homocisteína podem ser influenciadas por diversos fatores: fisiológicos e clínicos, estados de doença, fatores hormonais, estilo de vida, uso de drogas e variações genéticas (REFSUM et al, 1998; NYGARD et al, 1999; LIU et al, 2015; SCORSSATTO et al, 2015; HAN et al, 2017).

2.3.1 Fatores fisiológicos

Inúmeras investigações descreveram prevalência de hiperhomocisteinemia mais elevada em indivíduos com idade mais avançada e correlações positivas das concentrações de homocisteína com a idade (HENRIQUEZ et al, 2007; ALMEIDA et al, 2008; ELSHORBAGY et al, 2008; GANJI; KAFAI, 2009; KIM et al, 2010; CHEN et al, 2011; HUANG et al, 2011; NAKAZATO et al, 2011; TANAKA et al, 2014; LOPES et al, 2015). Estudo de base populacional, realizado na China com 1586 indivíduos saudáveis verificaram que a idade (OR: 1,586; IC95%: 1,407,1-1,787) foi um fator de risco importante nesta população (HAN et al, 2017). Entretanto, esse efeito da progressão da idade sobre os níveis de homocisteína foi limitado às mulheres em algumas investigações (ZHANG et al. 2014; LIU et al, 2015).

Os motivos para os aumentos nas concentrações da homocisteína em função da idade ainda não estão bem compreendidos (JACQUES et al, 1999; MUST et al, 2003). Uma das possíveis causas é a diminuição fisiológica da função renal (NORLUND et al, 1998; REFSUM et al, 2004), uma vez que nos rins ocorrem as reações de transulfuração, na qual a homocisteína é hidrolisada a cisteína e α -cetobutirato, principal via metabólica de degradação da homocisteína (LOPES; LOPES; VANNUCCHI, 2010).

Outro fator que possivelmente contribui para o aumento das concentrações de homocisteína em idades mais avançadas é a deficiência de cobalamina, pela má absorção decorrentes do processo de envelhecimento (VAN ASSELT et al, 1998; REFSUM et al, 2004) e mais raramente, diminuição das atividades enzimáticas que metabolizam a homocisteína (GARTLER; HORNUNG; MOTULSKY, 1981; REFSUM et al, 2004).

Estudos sugerem influência dos hormônios nas concentrações de homocisteína, uma vez que concentrações superiores de homocisteína foram encontradas em mulheres pós-menopáusicas em comparação com mulheres pré-menopáusicas (MORRIS et al, 2000, RASMUSSEN et al, 2000). Além disso, as concentrações de homocisteína foram reduzidas em resposta à reposição de terapia hormonal (MIJATOVIC et al, 1998; MIJATOVIC et al, 1998; MIJATOVIC; van der MOOREN, 2001). Em mulheres pré-menopáusicas também foi descrito a existência de maior

remetilação da metionina, o que contribuiria para manter os valores de homocisteína mais baixos em mulheres mais jovens (BLOM et al, 1988).

O sexo está entre os principais fatores fisiológicos determinantes das concentrações de homocisteína, sendo descrito que homens saudáveis apresentam, em média, concentrações 21% superiores quando comparados às mulheres (NEVES; MACEDO; LOPES, 2004; HENRIQUEZ et, 2007). Corroborando com esses achados, inúmeras investigações descreveram concentrações de homocisteína superiores nos homens (HENRIQUEZ et al, 2007; CHEN et al, 2008; ELSHORBAGY et al, 2008; GANJI; KAFAI, 2009; NABIPOUR et al, 2009; QU; GAO; LIU, 2010; KIM et al, 2010; YE et al, 2010; CHEW; KHOR; LOH, 2011; MOON et al, 2011; NAKAZATO et al, 2011; HUANG et al, 2011; ZANG et al, 2014; LIU et al, 2015).

Em estudo longitudinal foi observada esta diferença entre os sexos nos dois períodos do estudo, com os homens apresentando maiores médias de homocisteína no período basal e após 10 anos de seguimento (VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007). Prevalências mais elevadas de hiperhomocisteinemia também foram observadas nos homens (KIM et al, 2010; CHEN et al, 2011; ZANG et al, 2014; LOPES et al, 2015) e após análise de regressão múltipla os homens apresentaram 2,39 (QU; GAO; LIU, 2010) a 5,70 (MOON et al, 2011) vezes maiores chances de ter hiperhomocisteinemia.

Essa diferença entre os sexos pode ser explicada em parte pelas concentrações significativamente mais baixas de folato sérico (KIM et al, 2010; HUANG et al, 2011) e vitamina B₁₂ nos homens (KIM et al, 2010). No entanto, fatores genéticos podem estar envolvidos, uma vez que a literatura descreve diferenças nas concentrações de homocisteína entre homens e mulheres mesmo após o controle dos níveis séricos (KIM et al, 2010) e ingestão de folato e vitamina B₁₂ (HENRIQUEZ et al, 2007).

Outros fatores, como os hormônios sexuais, massa muscular e síntese de creatina fosfato também podem contribuir para a diferença entre os sexos nas concentrações de homocisteína (REFSUM et al, 2006). Mecanismos adicionais sugerem atividade reduzida da enzima cistationina β sintetase nos homens, levando a concentrações mais elevadas de homocisteína por conversão diminuída desta para cisteína na via de transulfuração (VITVITSKY et al, 2007).

No que se refere à raça, poucos estudos buscaram avaliar a influência da etnia na concentração de homocisteína (GANJI; KAFAI, 2009; VAN DRIEL et al, 2009, CHEW; KHOR; LOH, 2011). Ganji e Kafai, demonstraram maiores concentrações de homocisteína em brancos não hispânicos comparado a negros não hispânicos, apesar da deficiência de folato ter sido maior entre os negros. Em contrapartida, os brancos apresentaram além de maior deficiência de cobalamina, ajustada para sexo e idade, maiores prevalências de polimorfismos genéticos da MTHFR (GANJI; KAFAI, 2009). Os polimorfismos genéticos reduzem a atividade da enzima MTHFR, responsável por converter N5 N10 metileno-tetra-hidrofolato em 5-metil-tetra-hidrofolato, que é um doador de metilo para remetilação de homocisteína para metionina. Ainda na via de remetilação a cobalamina atua como cofator (GANJI; KAFAI, 2009; LOPES; LOPES; VANNUCCHI, 2010).

2.3.2 Fatores sociais e estilo de vida

Determinantes sociais das concentrações de homocisteína veem sendo estudados, tais como escolaridade e renda familiar (QU; GAO; LIU, 2010; LIU, et al, 2015; LOPES et al, 2015), sendo reportado que indivíduos com baixo nível educacional apresentaram menores médias de homocisteína comparados aos indivíduos com mais anos de estudo, na região Sul da China (QU; GAO; LIU, 2010). Em contrapartida, em Shaanxi, China, indivíduos de menor escolaridade apresentaram maiores riscos para hiperhomocisteinemia (LIU et al, 2015). Em relação a renda, indivíduos do menor estrato de renda familiar *per capita*, inferior a um salário mínimo, apresentaram maiores prevalências de hiperhomocisteinemia em estudo de base populacional em São Paulo, Brasil (LOPES et al, 2015).

Os fatores socioeconômicos são importantes e consistentes preditores de morbimortalidade, de acordo com a literatura (LANTZ et al, 2001). No entanto, ainda são poucos e conflitantes os estudos que investigaram a influência de variáveis socioeconômicas na concentração de homocisteína. Liu et al. sugerem que maiores níveis educacionais e socioeconômicos implicam em mais conhecimentos sobre os cuidados com a saúde, contribuindo para menores concentrações de homocisteína (LIU et al, 2015).

Evidências anteriores demonstram que os fatores de estilo de vida, como tabagismo, o consumo excessivo de álcool, inatividade física, consumo excessivo de café e baixa ingestão de folato e de vitamina B, podem ser modificadores importantes das concentrações plasmáticas de homocisteína (VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007; KIM et al, 2010; HUANG et al, 2011).

O tabagismo foi associado à hiperhomocisteinemia em alguns estudos (VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007; VAN DRIEL et al, 2009, HUANG et al, 2011; TANAKA et al, 2014; LIU et al, 2015), mas não em outros (KIM et al, 2010; LOPES et al, 2015). Os mecanismos que conectam o fumo a níveis mais elevados de homocisteína não estão totalmente compreendidos, mas possivelmente estão relacionados a menores níveis circulantes de vitaminas B₆, B₁₂ e folato, nutrientes envolvidos em seu metabolismo (MANSOOR et al, 1997; McCARTY, 2000), além da menor atividade da metionina sintase (KONDO et al, 1981; FRASCA; RIAZZI; MATTHEWS, 1986). Postula-se que o tabagismo pode reduzir a disponibilidade de folato para remetilação da homocisteína para metionina (De BREE et al, 2002). Outra hipótese proposta indica que o tabagismo induz efeitos locais nas células expostas à fumaça do cigarro, podendo influenciar as concentrações de homocisteína ao mudar o estado de redox do tiol plasmático ou inibir enzimas no metabolismo da homocisteína (De BREE et al, 2002).

No que se refere ao consumo de bebidas alcoólicas, a literatura demonstra variação metodológica relativa à quantificação e frequência da ingestão de álcool e ao tipo de bebida alcoólica consumida, além de metodologias inadequadas que não avaliaram fatores de confusão como café, ingestão de proteínas, estado de piridoxina ou betaína e variações genéticas (VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007). Alguns estudos têm demonstrado que o consumo de álcool apresentou associação com a hiperhomocisteinemia (VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007; HUANG et al, 2011; LOPES et al, 2015; LIU et al, 2015), sendo descrito ainda uma associação positiva em bebedores frequentes de destilados e vinho, o que não foi evidenciado entre os bebedores frequentes de cerveja (VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007).

Essa possível relação tem sido explicada pela interferência do álcool no ciclo da metionina (HALSTED, 1996) e pela ação antagônica no metabolismo do folato (KOEHLER et al, 2001). Mecanismos adicionais propostos sugerem que o consumo

de álcool pode estar relacionado com alterações no metabolismo do 5-metiltetra-hidrofolato e da via de remetilação associada a polimorfismos genéticos (VINUKONDA et al, 2009) ou depleção de vitamina B induzida pelo etanol e interferência do álcool na absorção intestinal de folato (DeBREE et al, 2002; HALSTED et al, 2002).

Alguns estudos, no entanto, não mostraram efeito da ingestão de álcool sobre a homocisteinemia (LOPES et al, 2015; TANAKA et al, 2014; KIM et al, 2010; HENRIQUEZ et al, 2007) e um resultado apontou associação inversa entre os níveis de homocisteína e o consumo de álcool (QU; GAO; LIU, 2010). Alguns autores discutem ainda um efeito ambíguo do álcool em relação à homocisteína, exercendo efeito protetor quando ingerido moderadamente e efeito prejudicial quando consumido em excesso (LAI et al, 2008).

A atividade física também tem sido descrita como um possível determinante indireto dos níveis de homocisteína produzindo efeitos benéficos, embora essa relação tenha sido pouco explorada. As concentrações de homocisteína seriam inversamente relacionadas ao nível de atividade física (LIU et al, 2015). Contudo, o mecanismo biológico através do qual a atividade física diminui os níveis de homocisteína continua a ser estudado, mas é possível que essa relação seja modulada por fatores genéticos (HUANG et al, 2011) ou que os indivíduos mais fisicamente ativos acumulem mais hábitos saudáveis, associados a uma melhor nutrição e menor exposição ao estresse oxidativo (LIU et al, 2015). O efeito protetor da atividade física sobre a hiperhomocisteinemia não foi encontrado por alguns autores (KIM et al, 2010; HUANG et al, 2011).

Os estudos projetados para examinar a relação entre a ingestão de café e as concentrações de homocisteína diferem consideravelmente em relação ao tipo de café consumido, à forma de preparação, às quantidades ingeridas, ao tipo de estudo e o tempo de intervenção. Embora alguns autores tenham reportado elevação nos níveis de homocisteína em associação ao consumo de café (ULVIK et al, 2008), outros estudos demonstraram que seu consumo não representou risco para alterações da homocisteinemia (HENRIQUEZ et al, 2007; AGUDELO et al, 2008; KIM et al, 2010).

A associação da hiperhomocisteinemia com o consumo de café tem sido atribuída ao teor de cafeína, no entanto, já foi demonstrado que este pode não ser o único composto responsável e que outras substâncias, como o ácido clorogênico e diterpenos, também podem participar desse aumento (OLTHOF et al, 2001;

AGUDELO et al, 2008). Outra hipótese postulada para explicar o incremento nos níveis de homocisteína decorrente do consumo de café seria a diminuição no folato plasmático, possivelmente causada por efeitos da cafeína na excreção renal (ULVIK et al, 2008).

Inúmeras investigações veem demonstrando que fatores dietéticos como ingestão insuficiente de folato, vitaminas B₆ e B₁₂ podem contribuir para a elevação das concentrações plasmáticas da homocisteína (HENRIQUEZ et al, 2007; HOEY et al, 2007; STEA et al, 2009; LOPES et al, 2015; HAN et al, 2017).

Em estudo realizado na Espanha, as mulheres apresentaram correlação inversa entre a ingestão de folato e as concentrações de homocisteína e os homens apresentaram prevalência de hiperhomocisteinemia maior nos menores quartis de ingestão de folato (HENRIQUEZ et al, 2007). Corroborando com esses achados, foram descritas concentrações plasmáticas de homocisteína de 2 µmol/L mais baixas em indivíduos com ingestão mais alta de alimentos fortificados com ácido fólico do que em não-consumidores (HOEY et al, 2007). Em população de adultos jovens (18-26 anos) foi verificado que o aumento no consumo de folato a partir do pão integral foi inversamente associado as concentrações de homocisteína (STEA et al, 2009). Possíveis explicações para estas associações referem-se a compostos inter-relacionados no ciclo metabólico da homocisteína (LOPES et al, 2015).

Entretanto, algumas investigações não apresentaram associação significativa entre a ingestão das vitaminas B₆, após ajuste para fatores de confusão e vitamina B₁₂ ou apresentaram correlação fraca entre ingestão das vitaminas e as concentrações de homocisteína (HENRIQUEZ et al, 2007; YE et al, 2010; YOSHINO et al, 2010).

Alguns estudos buscaram avaliar a associação entre o consumo de frutas e vegetais e risco de doença cardiovasculares utilizando a homocisteína como indicador de risco (BERMEJO et al, 2007; APARICIO et al, 2010) e descreveram correlação negativa entre consumo de frutas e vegetais e as concentrações de homocisteína naqueles com consumo superior a 400g/dia (BERMEJO et al, 2007; APARICIO et al, 2010). Também foram observadas maiores concentrações de folato sérico e eritrocitário nos indivíduos de maior consumo de frutas e vegetais, sugerindo a importância da intervenção nutricional no sentido de estimular o consumo deste grupo de alimentos.

Lopes et al (2015) sugerem que maiores ingestões de colina e betaína dietéticas estejam relacionadas a menores concentrações de homocisteína. Na Grécia, em estudo com mais de 3000 adultos de ambos os sexos foi verificado comportamento semelhante com concentrações de homocisteína 10% inferior nos indivíduos que consumiam mais de 360 mg/d de betaína (DETOPOLOU et al, 2008). Uma vez que a via de remetilação da homocisteína à metionina, na condição de deficiência de folato, pode ficar dependente de betaína como doadora do grupo metil, esta relação seria esperada. A betaína é obtida pela ingestão de alimentos fontes (pães, cereais, massas, beterraba, carne bovina, outros) ou a partir da oxidação de seu precursor, a colina, que pode remetilizar a homocisteína por reação catalisada pela enzima BHMT (LOPES et al, 2015).

2.3.3. Indicadores antropométricos e bioquímicos

A relação entre o estado nutricional e as concentrações de homocisteína ainda permanece controversa. Alguns estudos descreveram correlações positivas entre as concentrações de homocisteína e as variáveis antropométricas, como o IMC e circunferência da cintura (CC), além de verificar após análise de regressão logística um risco 3,2 vezes maior de hiperhomocisteinemia nos indivíduos com obesidade abdominal (VAYÁ et al, 2012). Mehmetoglu et al. (2012) em estudo caso-controle encontraram correlação positiva entre as concentrações de homocisteína e IMC, CC, Razão cintura quadril (RCQ) e peso, apenas no grupo controle (indivíduos de peso normal) (MEHMETOGLU et al, 2012). No entanto, muitas investigações não demonstraram associação entre diferentes variáveis antropométricas analisadas e as concentrações de homocisteína (HENRIQUEZ et al, 2007; ELSHORBAGY et al, 2008; GANJI; KAFAI, 2009; MOTA et al, 2009; LOPES et al, 2015; KIM et al, 2010; MEERTENS et al, 2011; NAKAZATO et al, 2011), ou demonstraram fraca correlação entre as concentrações de homocisteína e alguns parâmetros antropométricos, IMC e CC (LIU et al, 2015).

Uma possível explicação para maiores concentrações de homocisteína em indivíduos com excesso de peso, que pressupõem desequilíbrios alimentares, seria atribuída a ingestões insuficientes de ácido fólico (TUNGTRONGCHITR et al, 2003). Em estudo realizado com mulheres em idade reprodutiva o IMC associou-se

positivamente com as concentrações de SAM (VAN DRIEL et al, 2009), um intermediário da via de transmetilação, principal via de síntese da homocisteína (LOPES; LOPES; VANNUCCHI, 2010), entretanto os autores não encontraram explicações para estes achados. Estudos adicionais sobre a associação entre variáveis antropométricas e metabolismo da homocisteína tornam-se necessários para elucidar essa possível relação.

O folato sérico, folato eritrocitário e a vitamina B₁₂ sérica veem sendo demonstrados como bons preditores de homocisteinemia (HOEY et al, 2007; VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007; ALMEIDA et al, 2008; VAN DRIEL et al, 2009; KIM et al, 2010; QU; GAO; LIU, 2010; CHEW; KHOR; LOH, 2011; MOON et al, 2011; ABBENHARDT et al, 2014; ZANG et al, 2014, LOPES et al, 2015), embora muitas vezes divergentes quando analisados por gênero (HENRIQUEZ et al, 2007).

Em estudo longitudinal realizado com idosos na Europa, até 12% da variação observada na concentração plasmática de homocisteína foram explicadas pelas baixas concentrações de folato sérico e vitamina B₁₂ (VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007). Evidências semelhantes foram descritas em outras populações com concentrações médias de homocisteína e presença de hiperhomocisteinemia mais elevadas nos menores quartis de folato sérico em ambos os sexos, sendo este considerado um dos melhores preditores de homocisteína no estudo. Em relação a vitamina B₁₂, apenas entre os homens foi verificado maior prevalência de hiperhomocisteinemia nos menores quartis da vitamina. As concentrações plasmáticas de homocisteína foram significativamente mais elevadas nos menores quartis de folato eritrocitário apenas no sexo feminino, enquanto as prevalências de hiperhomocisteinemia estiveram mais elevadas nos menores quartis de folato eritrocitário em ambos os sexos (HENRIQUEZ et al, 2007).

Em estudo desenvolvido na Coreia, as deficiências tanto de folato quanto da vitamina B₁₂ estiveram significativamente associadas à hiperhomocisteinemia em ambos os sexos (KIM et al, 2010). Além disso, o risco de hiperhomocisteinemia foi significativamente aumentada quando o folato sérico e a vitamina B₁₂ eram simultaneamente deficientes, com risco de hiperhomocisteinemia de 31,7 vezes maior quando comparado a indivíduos sem deficiência dessas vitaminas, ajustado para sexo, idade e creatinina sérica (KIM et al, 2010). Corroborando com esses achados,

investigação em adultos coreanos revelaram após análise de regressão logística multivariada, risco de hiperhomocisteinemia significativamente associada a baixos níveis de folato sérico (OR ajustado: 10,41; IC 95%: 2,33-46,61; $p=0,002$)(MOON et al, 2011).

O metabolismo da homocisteína é regulado por enzimas que utilizam ácido fólico e vitamina B₁₂ como cofatores (SELHUB, 1999), por isso uma relação inversa é esperada entre as concentrações da homocisteína e estas vitaminas. Como demonstrado no estudo de Kim et al (2010), as concentrações séricas das vitaminas parecem ser fortes determinantes, entretanto o risco de hiperhomocisteinemia não pode ser explicado por um único fator. A homocisteína aumentou com a idade, independentemente dos níveis séricos de folato e vitamina B₁₂ e as diferenças nas concentrações de homocisteína entre os sexos permaneceram após o controle de folato e vitamina B₁₂ séricos (KIM et al, 2010).

Em contrapartida, estudo de intervenção com diferentes doses de café, não verificou mudanças significativas nas concentrações de homocisteína após intervenção naqueles com folato eritrocitário normal ou deficiente no período basal. Entretanto, o estudo apresentou limitações metodológicas como o tempo da intervenção, tamanho da amostra e doses do café (AGUDELO et al, 2008).

Outros estudos descreveram correlações muito fracas da homocisteína com os níveis séricos de folato (BERMEJO et al, 2007; GANJI; KAFAI, 2009; YOSHINO et al, 2010; NAKAZATO et al, 2011; MEHMETOGLU et al, 2012; VAYÁ et al, 2012), vitamina B₁₂ (BERMEJO et al, 2007; GANJI; KAFAI, 2009; YOSHINO et al, 2010; MEHMETOGLU et al, 2012; TANAKA et al, 2014), vitamina B₆ (HOEY et al, 2007; VARELA-MOREIRAS; ESCUDERO; ALONSO, 2007; ALMEIDA et al, 2008; YOSHINO et al, 2010) e folato eritrocitário (GANJI; KAFAI, 2009; NAKAZATO et al, 2011). A fraca correlação entre o folato sérico e a homocisteinemia possivelmente estaria justificada pela baixa frequência de deficiência do folato nas populações estudadas, após política de obrigatoriedade de fortificação dos alimentos com ácido fólico, o que contribuiu para o estado da vitamina B₁₂ emergir como fator determinante da hiperhomocisteinemia (GREEN; MILLER, 2005; GANJI; KAFAI, 2009). Estudos sugerem as concentrações plasmáticas de homocisteína como um marcador bioquímico na avaliação do impacto da fortificação do ácido fólico em nível populacional (PFEIFFER et al, 2008; GANJI; KAFAI, 2009).

Poucos estudos buscaram investigar outros possíveis fatores determinantes para as concentrações de homocisteína (CHEN et al, 2008; ELSHORTBAGY et al, 2008; GANJI; KAFAI, 2009; KIM et al, 2010; MEHMETOGLU et al, 2012; VAYÁ et al, 2012; DELISLE et al, 2013; SENGWAYO; MORABA; MOTAUNG, 2013; HUANG et al, 2013; ABBENHARDT et al, 2014; TANAKA et al, 2014). A proteína C reativa (PCR), perfil lipídico e creatinina (GANJI, KAFAI, 2009; KIM et al, 2010; VAYÁ et al, 2012) foram os mais estudados em indivíduos saudáveis.

A PCR apresentou associação positiva com a concentração de homocisteína em análises multivariadas, além disso, também foi descrita a associação inversa significativa entre cisteína e PCR, um achado interessante, uma vez que a cisteína é sintetizada na via de transulfuração da homocisteína (ABBENHARDT et al, 2014). Corroborando com esses achados, maiores médias de PCR nos tercis mais altos de homocisteína foram verificadas em mulheres com idade média > 65 anos (TANAKA et al, 2014). Em estudo de caso-controle com obesos mórbidos as concentrações de homocisteína apresentaram correlação direta e significativa com a PCR (VAYÁ et al, 2012).

Sabidamente a PCR é descrita como um marcador inflamatório e a homocisteína vem sendo descrita como um preditor importante para DCV, uma condição conhecida por estar associada com um processo inflamatório crônico (ROSS, 1999), por isso esta relação direta era esperada. Entretanto, em estudo realizado em adultos jovens taiwaneses essa tendência não foi observada (CHEN et al, 2008).

Quanto ao perfil lipídico os estudos ainda são controversos, com resultados que demonstraram tendência decrescente do HDL-c nos maiores tercis de homocisteína em mulheres idosas (TANAKA et al, 2014) e correlações positivas significativas entre a homocisteína e o colesterol total, LDL-c, ácidos graxos w-6 em adultos obesos (MEHMETOGLU et al, 2012), além de maiores médias de homocisteína em indivíduos com níveis baixos de HDL-c (NABIPOUR et al, 2009).

Contudo, investigações realizadas na África em adultos de ambos os sexos não verificaram associação da homocisteína e componentes do perfil lipídico como HDL-c (DESLILE et al, 2013), colesterol total e triglicerídeos (SENGWAYO; MORABA; MOTAUNG, 2013). Em estudo de caso-controle, na Turquia foi encontrada fraca

correlação inversa entre o HDL-c e w-3 com as concentrações de homocisteína no grupo controle (MEHMETOGLU et al, 2012).

Estudos tem buscado investigar as associações entre ácidos graxos com marcadores de inflamação uma vez que estes tem se associado ao desenvolvimento e progressão da aterosclerose (KALOGEROPOULOS et al, 2010). Estas investigações sugerem a hipótese de que o efeito do w-3 no metabolismo da homocisteína esteja relacionado à modulação da expressão gênica de enzimas envolvidas na síntese da homocisteína (BERSTAD et al, 2007), contribuindo para diminuição das concentrações plasmáticas. Kalogeropoulos et al. (2010) descobriram que a proporção w-6/w-3 do plasma estava positivamente associada aos níveis de homocisteína em indivíduos saudáveis.

Em relação a creatinina o estudo de Kim et al. (2010) merece atenção por descreverem risco de hiperhomocisteinemia aproximadamente 20 vezes maior em indivíduos com creatinina elevada quando comparado a indivíduos com níveis normais (KIM et al, 2010). Recentemente, em estudo de base populacional realizado na China, a creatinina sérica (OR: 2,093; IC95%: 1,336-3,278) foi descrita como importante fator de risco para hiperhomocisteinemia (HAN et al, 2017).

Indicadores como taxa de filtração glomerular (TANAKA et al, 2014), cisteína (ELSHORTBAGY et al, 2008; ABBENHARDT et al, 2014), ácido úrico (TANAKA et al, 2014), ácido metilmalônico (marcador sensível da deficiência da vitamina B₁₂) (GANJI; KAFAI, 2009), glicemia (NABIPOUR et al, 2009; MOTA et al, 2009; VAYÁ et al, 2012; SENGWAYO; MORABA; MOTAUNG, 2013), hemoglobina glicada (TANAKA et al, 2014), vitamina D (TANAKA et al, 2014), hormônio de paratireoide (TANAKA et al, 2014), cálcio sérico (TANAKA et al, 2014), amiloide A sérico (ABBENHARDT et al, 2014) tem sido sugeridos como possíveis determinantes das concentrações de homocisteína, no entanto necessitam de mais evidências para explicar essa relação.

Por fim, estudos reforçam a importância da identificação precoce dos fatores de risco para hiperhomocisteinemia, compreendendo que muitos desses são fatores considerados modificáveis a partir da adoção de estilos de vida mais saudáveis (HAN et al, 2017). Han et al (2017) descreveram a ingestão de frutas e a prática de atividade física como fatores protetores da hiperhomocisteinemia (HAN et al, 2017). E em perspectiva mais abrangente, a hiperhomocisteinemia é sugerida como fator de risco modificável para as DCV e cerebrovasculares (REFSUM et al, 1999; HAN et al, 2017).

3 HIPÓTESES

O excesso de peso, maior idade e condições socioeconômicas desfavoráveis são fatores de risco para concentrações plasmáticas aumentadas de homocisteína.

A hiperhomocisteinemia está associada ao consumo inadequado de folato e vitamina B₆ e aos níveis séricos diminuídos de vitamina B₁₂ e concentrações de folato eritrocitário em mulheres em idade reprodutiva.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os fatores associados à hiperhomocisteinemia em mulheres em idade reprodutiva atendidas nas unidades básicas de saúde da cidade do Recife/PE.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a população de estudo segundo as variáveis sócio demográficas, estado nutricional e comportamentais;
- Determinar a prevalência da hiperhomocisteinemia;
- Determinar a frequência de inadequação da concentração sérica da vitamina B₁₂, folato eritrocitário e do consumo de folato e vitamina B₆;
- Avaliar a razão de prevalência entre as concentrações plasmáticas de homocisteína e variáveis sócio demográficas, comportamentais, estado nutricional e bioquímicas;
- Investigar a correlação entre as concentrações plasmáticas de homocisteína e as variáveis sócio demográficas, comportamentais e estado nutricional.

5 MÉTODOS

5.1 Desenho e local do estudo

O estudo foi parte integrante do projeto denominado “Impacto do consumo de farinhas de trigo e milho fortificadas com ácido fólico sobre as concentrações de folato intra-eritrocitário de mulheres em idade reprodutiva e na incidência de defeitos de fechamento do tubo neural em recém-nascidos na cidade do Recife”, viabilizado mediante convênio com o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), submetido ao edital 051/2005 e aprovado sob o nº 401893/2005-7.

Trata-se de um estudo transversal desenvolvido nas unidades básicas de saúde da rede municipal do Sistema Único de Saúde (SUS) de Recife, onde foram avaliadas mulheres em idade reprodutiva no ano de 2008.

5.2 População do estudo

Participaram do estudo mulheres com idade entre 20 e 45 anos, que residiam na região metropolitana do Recife.

Foram considerados os seguintes critérios de exclusão: alterações menstruais do tipo hipermenorragia (>80 ml de perdas menstruais por ciclo) ou hipermenorréia (>8 dias de perdas menstruais por ciclo); portadoras de patologias hematológicas (anemia falciforme, ferruginosa ou folicopriva conhecida), endócrinas (diabetes, ou distúrbios hormonais de crescimento) ou auto-imunes (lúpus e outras doenças que requerem dieta especial e/ou uso de drogas para controle da patologia); usuárias de drogas que interferem no metabolismo dos folatos: anti-epilépticos, aminopterina, metotrexate, trimetopim, pirimetamina e sulfasalazina e outras (nos últimos 3 meses); usuárias de suplementos vitamínicos contendo ácido fólico ou vitamina B nos últimos 3 meses; pacientes que tiveram o último parto ou abortamento nos últimos 12 meses, gestantes e lactantes; pacientes com neoplasias nos últimos 12 meses e pacientes portadoras de doenças renais.

5.3 Cálculo amostral

Para determinação do tamanho amostral foi considerada a prevalência de concentrações plasmáticas alteradas de homocisteína ($>15\mu\text{mol/L}$), encontrada em estudo realizado com mulheres de baixa renda, São Paulo, Brasil, estimada em 20% (ALMEIDA et al., 2008). O cálculo da amostra foi realizado no *software* Epi Info, versão 6.04 (*Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Estados Unidos*), mediante a utilização da seguinte equação: $z^2 \times p \times (100-p) \times c / d^2$ (HENDERSON & SUNDERRESAN, 1982), onde foi considerado a prevalência de 20% (p), erro de estimação de 5% (d), confiabilidade de 95% (z) e a correção do efeito do desenho de 2,1 (c). Desta forma, o valor estimado mínimo da amostra foi de 517 mulheres. No sentido de corrigir eventuais perdas, fez-se um acréscimo de 20%, totalizando uma amostra final de 620 mulheres.

O processo de seleção da amostra foi do tipo probabilística por conglomerados em dupla etapa: (1) das 104 unidades básicas de saúde do município foram selecionadas nove unidades por sorteio aleatório; (2) foram escolhidas as mulheres cadastradas das respectivas unidades básicas de saúde mediante o uso de uma tabela de números aleatórios, gerada pelo pacote estatístico Epi Info, versão 6.04.

5.4 Procedimentos e técnicas de avaliação

Inicialmente foram dadas as informações sobre os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa às participantes. Na sequência foi aplicado um questionário pré-codificado (ANEXO A) que abordava variáveis sócio demográficas, comportamentais, estado nutricional e bioquímicas. Os responsáveis pelo preenchimento dos questionários foram previamente treinados, a fim de obter padronização na coleta dos dados.

5.4.1 Condições sócio demográficas

Dentre as variáveis biossociais foram coletados dados de idade (variável contínua em anos e categorizada nos intervalos de 20-34 anos e 35-45 anos), escolaridade, coletada em anos completos de estudo e categorizadas em < 9 anos e ≥ 9 anos

(Dantas; Diniz; Arruda, 2010), raça, categorizados em brancos e não brancos, número de indivíduos no domicílio e a renda familiar. A renda familiar foi obtida como variável contínua, representada pela renda de todos os membros da família que trabalhavam e residia no mesmo domicílio. Posteriormente para fins de análise estatística a renda familiar *per capita* em salários mínimos foi estabelecida em tercís de renda levando-se em conta o salário mínimo vigente no período da entrevista (R\$ 415,00).

5.4.2 Avaliação antropométrica

Os métodos adotados para determinar as medidas antropométricas foram de acordo com os propostos por Jelliffe (1968). No momento da entrevista cada indivíduo teve suas medidas (peso e altura) aferidas duas vezes por dois examinadores diferentes e aleatoriamente os dados foram replicados por um dos pesquisadores com a finalidade de garantir a fidedignidade das medidas intra e interavaliadores, segundo as recomendações de Frisancho (1990). Quando a diferença entre as medidas excediam 0,5 cm para altura e 100 g para o peso, repetia-se a mensuração e anotavam-se as duas medições com valores mais próximos, utilizando a média destas para efeito de registro.

O peso foi obtido utilizando-se balança digital (Modelo MEA-03200/Plenna), com capacidade de 150Kg e escala de 100 gramas, com as mulheres descalças e vestimentas mínimas. A altura foi determinada com estadiômetro portátil (Alturaexata, Ltda) milimetrado, com precisão de até 1 mm em toda a sua extensão. As mulheres eram colocadas em posição ereta, descalças, com membros superiores pendentes ao longo do corpo, os calcanhares, o dorso e a cabeça tocando a coluna de madeira.

O estado nutricional foi classificado de acordo com o Índice de Massa Corpórea (IMC) determinado pela razão entre o peso em quilogramas e a altura ao quadrado em metros. Foram utilizados os pontos de corte recomendados pela OMS (1998), baixo peso: $IMC < 18,5 \text{ Kg/m}^2$; eutrofia: $IMC \geq 18,5 \text{ Kg/m}^2$ e $\leq 24,9 \text{ Kg/m}^2$; sobrepeso $\geq 25,0 \text{ Kg/m}^2$ e $\leq 29,9 \text{ Kg/m}^2$ e obesidade $\geq 30,0 \text{ Kg/m}^2$ (WHO, 1998).

5.4.3 Avaliação laboratorial

As participantes do estudo foram encaminhadas para coleta da amostra de sangue, em jejum de 12 horas, no Laboratório Dalmo Oliveira, em Recife/PE. O profissional técnico habilitado procedeu à coleta de sangue em tubo adequado contendo anticoagulante (heparina ou EDTA). As amostras de 5 mL de sangue venoso periférico do antebraço foram devidamente protegidas da luz e adequadamente processadas e armazenadas a -70°C até a realização da avaliação hematológica.

5.4.3.1 Homocisteína

A determinação da homocisteína plasmática total foi realizada por ensaio imunoenzimático por fluorescência de luz polarizada da Abbott Diagnostics. As formas oxidadas da homocisteína como dissulfetos mistos, dímeros de homocisteína, homocisteína ligada a proteínas plasmáticas foram reduzidas pelo ditioneitol a homocisteína livres. Estas por sua vez, foram enzimaticamente convertidas em SAH, na presença de excesso de adenosina. Sob condições fisiológicas, a SAH hidrolase converte SAH em homocisteína. O excesso de adenosina na solução de pré-tratamento conduz à conversão de homocisteína em SAH. Nas etapas subsequentes, o anticorpo monoclonal específico e o marcador de análogo de SAH fluoresceinado constituíram o sistema de detecção de fluorescência de luz polarizada.

As concentrações plasmáticas de homocisteína total foram calculadas pelo Abbott AxSYM® e os valores elevados foram considerados aqueles > 15 µmol/L, de acordo com valores propostos em metanálise recente (YANG et al, 2015).

5.4.3.2 Folato eritrocitário

A técnica de eletroquimioiluminescência, em equipamento Elecsys® 2010 System (Roche Diagnóstica do Brasil) foi utilizada para a determinação da concentração de folato eritrocitário, mediante Imunoensaio Elecsys® RBC Folate. A primeira etapa na quantificação de folatos eritrocitários foi a determinação do

hematócrito e preparação do hemolisado da amostra, o que se obteve com o auxílio de uma solução lisante de ácido ascórbico que libera o folato intracelular. Em seguida o hemolisado foi submetido à análise da concentração de folatos. O teste Elecsys® RBC Folate utiliza o princípio de competição através da proteína específica de fixação natural do folato (FBP – folate binding protein). O folato contido na amostra compete com o folato adicionado marcado com biotina pelos sítios de fixação no complexo FBP marcado com rutênio. O Elecsys® 2010 System calcula automaticamente a concentração de folato eritrocitário.

A deficiência de folato foi considerada nas mulheres que apresentaram valores inferiores a 140 ng/mL (CDC, 2012).

5.4.3.3 Vitamina B₁₂

Assim como o folato eritrocitário, as dosagens de vitamina B₁₂ foram determinadas no sistema automático Elecsys®2010 System (Roche Diagnóstica do Brasil) pelo método de imunoenensaio de eletroquimioluminescência, utilizando o kit de teste Elecsys and cobas analyzers, Roche Diagnostics. Este ensaio emprega o princípio de teste competitivo usando fator intrínseco específico para vitamina B₁₂, com duração total de 27 minutos. A amostra passou por duas seções de pré-tratamento para liberar a vitamina B₁₂ ligada.

Em seguida foi adicionado o fator intrínseco marcado com rutênio à amostra pré-tratada, fazendo com que se formasse um complexo de proteína de ligação à vitamina B₁₂. Na etapa seguinte, micropartículas revestidas com estreptavidina e a vitamina B₁₂ marcada com biotina foram adicionadas e os sítios ainda vazios do fator intrínseco marcado com rutênio foram ocupados formando um complexo de biotina de vitamina B₁₂ com fator intrínseco marcado com rutênio.

Os resultados foram determinados através de uma curva de calibração e foram consideradas com deficiência de vitamina B₁₂, mulheres que apresentaram valores inferiores a 200 ng/ml (CDC, 2012).

5.4.4 Variáveis comportamentais

Quanto ao tabagismo foram consideradas as categorias: fumante (aquelas que referiram o hábito de fumar), não fumante (aquelas que referiram nunca ter fumado) e ex-fumante (aquelas que referiram ter fumado em algum momento da vida, mas que não o praticava na ocasião da entrevista) (ALMEIDA et al, 2008).

O consumo alimentar foi avaliado mediante aplicação de um Questionário de Frequência Alimentar Semiquantitativo previamente validado por Salas et al (2003), em mulheres em idade reprodutiva no México, a fim de avaliar o consumo de folato (SALAS et al, 2003).

O instrumento incluiu uma relação de diversos alimentos fontes de folato, assim como farinhas fortificadas com ácido fólico e seus produtos. O questionário foi aplicado com o auxílio de um álbum com fotos coloridas de utensílios e alimentos, elaborados para a pesquisa, a fim de obter melhor precisão das quantidades ingeridas.

Os resultados foram transformados em gramas utilizando a tabela de Pinheiro et al (2004), Fisberg et al (2002) e Martins (1982). Para analisar consumo médio dos micronutrientes (ácido fólico e vitamina B₆) foi utilizado o programa DietSys *software* versão 4.01 (*National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA*).

Para estimar a percentagem de inadequação das dietas em relação ao consumo dos micronutrientes foram considerados valores mínimos de ingestão dos nutrientes, os valores das necessidades médias estimadas (*estimated average requirement* - EAR), considerando-se com ingestão insuficiente as mulheres que não alcançaram a EAR. A fim de avaliar a possibilidade de efeito adverso por ingestão elevada dos nutrientes, foi utilizado o nível máximo de ingestão tolerável (*tolerable upper intake level* –UL), conforme quadro abaixo (IOM, 1998).

Quadro 1. Valores de ingestão dietética de referência de vitaminas hidrossolúveis para mulheres.

Idade (anos)	Folato (µg/dia)		Vitamina B ₆ (mg/dia)	
	EAR	UL	EAR	UL
19-30	320	1000	1,1	100
31-50	320	1000	1,1	100

EAR - *estimated average requirement*; UL- *tolerable upper intake level* Fonte: IOM, 1998.

Dentre as variáveis comportamentais foi coletado o uso de anticoncepcional (oral ou injetável), com resposta dicotômica sim ou não.

5.5 Análise estatística

Os dados foram digitados com dupla entrada e verificados com o modo *validate*, módulo do programa Epi-Info, versão 6.04d (WHO/CDC; Atlanta, GE, USA) para checar a consistência e validação dos mesmos. As análises foram executadas pelo programa *Statistical Package for the Social Science* versão 13.0 (SPSS Inc; Chicago, IL, USA).

Procedeu-se uma análise descritiva para caracterizar a distribuição da ocorrência dos eventos, incluindo a frequência das variáveis do estudo. As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade da distribuição, pelo teste de Kolmogorov Smirnov e aplicadas transformações logarítmicas ($\log_{\text{neperiano}}$) quando necessário. As variáveis com distribuição normal foram apresentadas na forma de média e desvio padrão. As variáveis que após transformação logarítmica apresentaram distribuição normal, foram apresentadas na forma de média geométrica e intervalo de confiança de 95% e as que obtiveram distribuição não Gaussiana foram apresentadas na forma de mediana e intervalos interquartílicos.

Na descrição das proporções, a distribuição binomial foi aproximada à distribuição normal pelo intervalo de confiança de 95% (IC95%). Em seguida, foi realizada uma análise univariada entre a variável dependente (homocisteína) e as variáveis independentes para determinação da razão de prevalência (RP) e seu respectivo IC95%. As correlações de Pearson ou Spearman foram utilizadas para avaliar os fatores de risco que melhor se correlacionaram com as concentrações plasmáticas da homocisteína. Foi adotado o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese de nulidade ($p < 0,05$).

5.6 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), de acordo com as normas contidas na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (Brasil/MS,1996) e registrado no Conselho

Nacional de Ética e Pesquisa – CONEP, sob o Certificado de apresentação para apreciação ética (CAAE) nº 907, em 15 de dezembro de 2006 (ANEXO B). As mulheres assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido após a explicação dos objetivos da pesquisa e concordância em participar do estudo (ANEXO C).

6 RESULTADOS

Foram incluídas 634 mulheres e depois de eliminadas as perdas, por inadequação do material biológico coletado (n=14), 620 indivíduos compuseram a amostra final do estudo. Contudo dentre estes ocorreram perdas por inconsistência de informações nos questionários das respectivas variáveis estudadas: raça (n=7), escolaridade (n=5), estado nutricional (n=6), renda familiar (n=5), uso de anticoncepcional (n=5) e tabagismo (n=2).

A amostra foi constituída por mulheres predominantemente de baixa escolaridade e renda e com mediana de idade de 32 anos (intervalo interquartil: 26-38). As características sócio demográficas, do estado nutricional e comportamentais estudadas estão descritas na tabela 1. Cerca de 50% das mulheres estudadas apresentaram excesso de peso, incluindo aquelas com diagnóstico de sobrepeso e obesidade.

Com relação às concentrações plasmáticas de homocisteína, o estudo revelou percentuais de hiperhomocisteinemia entre as mulheres de 12,6%. As prevalências das concentrações inadequadas de vitamina B₁₂ sérica e do folato eritrocitário foram baixas, da ordem de 5,3 e 0,2%, respectivamente (Tabela 2).

Do ponto de vista dos nutrientes analisados, a partir dos dados de consumo alimentar, foi verificado baixa frequência (5,0%) de mulheres com risco de ingestão insuficiente de folato, abaixo da EAR. Outro fato evidenciado foi a elevada frequência (12,3%) de mulheres com risco de efeito adverso a saúde, por apresentar consumo de folato acima da UL. Os valores das médias e medianas dos consumos de folato e vitamina B₆ podem ser observadas na tabela 3.

As mulheres obesas apresentaram prevalência de hiperhomocisteinemia 2,34 vezes maior do que as mulheres eutróficas (RP: 2,34; IC95%: 1,46-3,75; p=0,001), tabela 4.

Na tabela 5 estão descritas as correlações positivas entre as concentrações plasmáticas de homocisteína com a idade (r = 0,102; p = 0,011), peso corporal (r =

0,136; $p < 0,001$), IMC ($r = 0,109$; $p = 0,007$) e a correlação negativa com o folato eritrocitário ($r = -0,130$; $p = 0,001$). Não foi observado correlação com a concentração de homocisteína e as variáveis renda familiar *per capita*, vitamina B₁₂ sérica e consumo de vitamina B₆.

Tabela 1. Características sócio demográficas, estado nutricional e comportamentais de mulheres. Recife/Nordeste do Brasil, 2008.

Variáveis	N	%	IC95%
Raça			
Brancos	122	19,9	16,8-23,3
Não Brancos	491	80,1	76,7- 83,2
Escolaridade			
< 9 anos de estudo	381	62,0	58,0-65,8
≥ 9 anos de estudo	234	38,0	34,2-42,0
Renda familiar <i>per capita</i> em SM			
< 0,27	208	33,8	30,1-37,7
0,27-0,44	202	32,8	29,1-36,7
>0,44	205	33,3	29,6-37,2
Estado Nutricional #			
Baixo peso	26	4,2	2,8-6,1
Eutrofia	305	49,7	45,6-53,7
Sobrepeso	181	29,5	25,9-33,3
Obesidade	102	16,6	13,7-19,8
Uso de anticoncepcional			
Sim	169	27,5	24,0-31,2
Não	446	72,5	68,8-76,0
Tabagismo			
Fumante	64	10,4	8,1-13,0
Ex-fumante	85	13,7	11,1-16,7
Nunca fumou	469	75,9	72,3-79,2

IC95%: Intervalo de 95% de confiança. #Estado nutricional, segundo índice de massa corpórea (IMC): baixo peso: IMC < 18,5 Kg/m²; eutrofia: IMC ≥ 18,5 Kg/m² e ≤ 24,9 Kg/m²; sobrepeso: IMC ≥ 25,0 Kg/m² e ≤ 29,9 Kg/m²; obesidade: IMC ≥ 30,0 Kg/m² (OMS, 1998). SM: Salário mínimo (R\$ 415,00).

Tabela 2. Concentrações de homocisteína, vitamina B₁₂ e folato eritrocitário de mulheres. Recife/Nordeste do Brasil, 2008.

Variáveis	Média geométrica (IC 95%)	Valores alterados	
		n	%
Homocisteína (µmol/L)	11,1 (10,9-11,4)	174	12,6
Vitamina B ₁₂ (pg/mL)	395,4 (382,9-408,6)	33	5,3
	Média ± DP		
Folato eritrocitário (ng/mL)	721,6±188,3	1	0,2

DP: desvio padrão. IC95%: Intervalo de confiança de 95%.

Tabela 3. Consumo alimentar de folato e vitamina B₆ em mulheres. Recife/Nordeste do Brasil, 2008.

Variáveis	Mediana (IQ)	% alterados
Consumo de folato (µg/dia)	619,9 (468,3-798,5)	
Insuficiente*		5,0(n=31)
Adequado*		82,7 (n=513)
Elevado*		12,3(n=76)
	Média geométrica (IC 95%)	
Consumo de vitamina B₆ (mg/dia)	2,0 (1,9- 2,1)	
Insuficiente*		11,0 (n=68)
Adequado*		89,0 (n=552)

IQ: Intervalo Interquartilico. IC95%: Intervalo de confiança de 95%. *EAR- *estimated average requirement* e UL - *tolerable upper intake level* (IOM, 1998).

Tabela 4. Razão de prevalência da hiperhomocisteïnemia e fatores associados em mulheres. Recife/Nordeste do Brasil, 2008.

Variáveis	Homocisteína		RP	IC 95%	p-valor*
	n	elevada %			
Idade					
20-34	43	11,3	1	-	0,22
35-45	35	14,6	1,30	0,86-1,97	
Raça					
Branco	16	13,1	1	-	0,84
Não branco	61	12,4	0,95	0,57-1,58	
Escolaridade					
< 9 anos de estudo	51	13,4	1,20	0,77-1,88	0,41
≥ 9 anos de estudo	26	11,1	1	-	
Renda familiar per capita em SM					
< 0,27	29	13,9	0,92	0,58-1,47	0,13
0,27-0,44	18	8,9	0,59	0,34-1,02	
> 0,44	31	15,1	1	-	
Tabagismo					
Sim	12	18,8	1,57	0,90-2,75	0,12
Não	66	11,9	1	-	
Uso de anticoncepcional					
Sim	20	11,8	1,08	0,67-1,74	0,75
Não	57	12,8	1	-	
Estado Nutricional[#]					
Baixo peso	1	3,8	0,37	0,05-2,58	0,001*
Eutrofia	32	10,5	1	-	
Sobrepeso	18	9,9	0,95	0,55-1,64	
Obesidade	25	24,5	2,34	1,46-3,75	
Vitamina B₁₂					
Normal	75	12,8	1	-	0,38
Deficiente	3	9,1	0,71	0,24-2,14	
Folato eritrocitário					
Normal	77	12,4	1	-	0,13
Deficiente	1	100	8,04	6,52-9,91	
Consumo de folato					
Insuficiente	5	16,1	1,29	0,56-2,98	0,82
Adequado	64	12,5	1	-	
Elevado	9	11,8	0,95	0,49-1,83	
Consumo de vitamina B₆					
Insuficiente	9	13,2	1,06	0,55-2,02	0,86
Adequado	69	12,5	1	-	

RP: Razão de prevalência. IC95%: Intervalo de 95% de confiança. [#]Estado nutricional, segundo índice de massa corporal (IMC): baixo peso: IMC < 18,5 Kg/m²; eutrofia: IMC ≥ 18,5 Kg/m² e ≤ 24,9 Kg/m²; sobrepeso: IMC ≥ 25,0 Kg/m² e ≤ 29,9 Kg/m²; obesidade: IMC ≥ 30,0 Kg/m² (OMS, 1998). SM: Salário mínimo. *Qui Quadrado de Pearson.

Tabela 5. Correlação de Pearson ou Spearman* entre homocisteína e fatores de risco em mulheres. Recife/Nordeste/Brasil, 2008.

Variáveis	r	p-valor
Idade	0,102	0,011*
Renda familiar <i>per capita</i> em SM	0,007	0,856*
Peso	0,136	<0,001*
IMC	0,109	0,007*
Vitamina B ₁₂ log	-0,072	0,072
Folato eritrocitário	-0,130	0,001
Consumo Folato	-0,036	0,377
Consumo vitamina B ₆ log	0,044	0,271

SM: Salário mínimo. IMC: índice de massa corpórea. Correlação de Pearson ou Spearman* (r). Log: logaritmo neperiano.

7 DISCUSSÃO

A prevalência de mulheres de baixa renda e escolaridade já era esperada, uma vez que se trata de uma população atendida no SUS. O excesso de peso acometeu quase metade das mulheres estudadas, 29,5% com diagnóstico de sobrepeso e 16,6% com obesidade, achados semelhantes aos encontradas por Almeida et al (2008) em mulheres com idade média 38 anos. O percentual de obesidade encontrado também corrobora com dados da pesquisa de Vigilância de doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL), que revelaram nos últimos dez anos o aumento na prevalência da obesidade ($IMC \geq 30\text{kg/m}^2$), atingindo 18,9% da população brasileira, com distribuição semelhante entre os sexos (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2017).

Quanto à hiperhomocisteinemia, a prevalência observada no presente estudo foi semelhante à descrita no estudo realizado com dados da *Nutritional Survey of the Canary Islands* (1996-1998) de 13,4% entre mulheres saudáveis (HENRIQUEZ et al, 2007). Holst Schumacher et al (2005), em estudo transversal com 399 homens e mulheres jovens da Costa Rica, com 20 a 40 anos de idade, descreveram prevalência de hiperhomocisteinemia menor, cerca de 6%. No mesmo estudo, quando avaliado apenas nas mulheres a prevalência foi bastante inferior (1%).

Em contrapartida, meta-análise recente, descreveu prevalência mais alta de hiperhomocisteinemia, aproximadamente 18%, naqueles com idade inferior a 45 anos. Ainda nesta meta-análise quando verificado a prevalência de hiperhomocisteinemia na população estudada (adultos e idosos), as mulheres apresentaram prevalência de 18,7%, enquanto os homens 34,8%, com diferença estatística entre os sexos ($p < 0,001$) (YANG et al, 2015). Prevalência ainda maior foi descrita em estudo de base hospitalar realizado com 1434 mulheres com idade média de 38 anos, de baixa renda e escolaridade, que residiam na região metropolitana de São Paulo, da ordem de 20,1% (ALMEIDA et al, 2008).

A literatura aponta prevalência de hiperhomocisteinemia variando de 13 a 50% em portadores de doenças cardiovasculares (UELAND, REFSUN, 1989; NAIR et al, 2000; STANGER et al, 2003). Dessa forma, esperava-se encontrar menor prevalência nas

mulheres estudadas devido a uma baixa mediana da idade e do efeito protetor do estrogênio nas concentrações plasmáticas de homocisteína (FONSECA, GUBA, FINK, 1999; HAK, POLDERMAN, WESTENDORP, 2000).

Os estrógenos circulantes estimulam a via de transaminação da metionina e por conseguinte o catabolismo da homocisteína (MEERTENS et al, 2011). Dessa forma, a diminuição de estrógenos aumenta as concentrações de homocisteína, especialmente nas mulheres pós-menopausa (NEVES, MACEDO, LOPES, 2004). No entanto, as mulheres ainda não se encontravam neste estágio de vida, sugerindo que a associação de outros fatores de risco podem ter contribuído positivamente no surgimento da hiperhomocisteinemia nesta população.

No presente estudo, a média da homocisteína esteve dentro dos valores normais, contudo na faixa considerada de risco, uma vez que a literatura sugere concentrações entre 10-15 $\mu\text{mol/l}$ como uma faixa de risco associado a doença arterial coronariana (MEERTENS et al, 2011; JACOBSEN, 1998). Alguns estudos descreveram médias de homocisteína abaixo da faixa de risco ($<10 \mu\text{mol/l}$)] (HOLST SCHUMACHER et al, 2005; QUIN et al, 2017; SENGWAYO, MORABA, MOTAUNG, 2013; GANJI, KAFI, 2009) em adultos saudáveis. Por outro lado, no Peru foram descritas médias de homocisteína em mulheres jovens de $12,67 \pm 6,19 \mu\text{mol/l}$, semelhantes aos resultados verificados neste estudo (NABIPOUR et al, 2009).

Entre 80 a 90% das mulheres estudadas apresentaram consumo de folato e vitamina B₆ dentro das recomendações da EAR para idade e sexo. A baixa frequência de mulheres com risco de ingestão de folato inadequado pode ser justificada pela obrigatoriedade da fortificação das farinhas na legislação brasileira vigente e pelo alto consumo de produtos à base dessas farinhas fortificadas como pães, macarrão, bolos por serem alimentos de custo mais acessível, uma vez que a população estudada era de baixa renda.

Além disso, não foi observada correlação entre as variáveis de consumo e as concentrações plasmáticas de homocisteína, assim como encontrado por Henriquez et al (2007) e Ye et al (2010), que observaram maior ingestão de vitamina B₆ associada a menores concentrações de homocisteína ($p < 0,001$). No entanto, após ajuste para ingestão de folato e vitamina B₁₂ essa associação não permaneceu ($p = 0,17$). Em

contrapartida, no Japão foi verificada correlação inversa entre o consumo de folato ($p=0,02$), vitamina B₁₂ ($p=0,01$) e vitamina B₆ ($p=0,009$) e as concentrações de homocisteína. Contudo, quando estas variáveis foram analisadas separadamente por sexo, a correlação inversa permaneceu apenas entre a vitamina B₆ e as concentrações de homocisteína no sexo masculino (YOSHINO et al, 2010).

Em relação a ingestão de folato, Chew et al (2011) descreveram correlação inversa com concentrações de homocisteína ($r=-0,143$; $p=0,016$) em adultos, na Malásia. Outra investigação descreveu que concentrações plasmáticas de homocisteína foram 2 $\mu\text{mol/l}$ menor em indivíduos com ingestão mais alta de alimentos fortificados ($\geq 99\mu\text{g}/\text{dia}$) do que em não consumidores (HOEY et al, 2007). Vale salientar, que os estudos acima citados, foram realizados em adultos de ambos os sexos, sugerindo que a presença do sexo masculino na amostra pode ter interferido na associação da variável consumo com a homocisteína. No entanto, no presente estudo avaliamos apenas mulheres.

Apesar dos nossos achados não terem mostrado associação entre ingestão de folato e homocisteína, estudo de intervenção com mulheres jovens e saudáveis mostrou que as concentrações de homocisteína reduziram significativamente em 11%, após 4 semanas de suplementação com 250 mg/dia de ácido fólico (BROUWER et al, 1999).

O indicador de avaliação nutricional utilizado neste estudo foi o IMC, o qual apresentou associação significativa com os níveis elevados de homocisteína, especialmente nas mulheres obesas ($RP= 2,34$; $p=0,001$). Além disso, foram observadas correlações positivas entre as concentrações plasmáticas de homocisteína com o peso e o IMC. Entretanto, a literatura é bastante divergente quanto à associação desta variável com as concentrações de homocisteína.

Os estudos que mostraram correlação positiva entre o IMC e as concentrações de homocisteína foram realizados em mulheres no período pós-menopausa (TANAKA et al, 2014) e estudos de caso controle com obesos graves na Espanha (VAYÁ et al, 2012) e na Turquia (MEHMETOGLU et al, 2012). Por outro lado, alguns estudos não encontraram associação do IMC e as concentrações plasmáticas de homocisteína (GANJI, KAFAI, 2009; LOPES et al, 2015; QU, GAO, LIU, 2010). O mecanismo pelo

qual o excesso de peso pode levar ao aumento das concentrações de homocisteína ainda não estão esclarecidos. Estudo realizado com mulheres obesas, descrevem a presença de polimorfismos genéticos de uma enzima chave no metabolismo da homocisteína, a MTHFR, neste grupo (SCORSATTO et al, 2015). Sugerindo o fator genético como preditor importante a ser considerado entre mulheres obesas. Entretanto, esta condição não foi avaliada no presente estudo.

No presente estudo foi observado correlação positiva da idade com as concentrações da homocisteína, corroborando com dados da literatura (ALMEIDA et al, 2008; GANJI, KAFAI, 2009; LIU et al, 2015). As diferenças nas concentrações de homocisteína chegam a ser 64,5% maior em indivíduos de idade mais avançada (≥ 60 anos) quando comparado aqueles com idade <20 anos, como descrito em estudo de base populacional nos EUA (GANJI, KAFAI, 2009). A hiperhomocisteinemia foi mais prevalente, chegando a ser quase duas vezes maior em indivíduos mais velhos em estudos transversais desenvolvidos no Brasil (LOPES et al, 2015) e Espanha (HENRIQUEZ et al, 2007).

Idade e sexo estão entre os determinantes fisiológicos mais consistentes das concentrações plasmáticas de homocisteína (NEVES, MACEDO, LOPES, 2004). Embora não tenha sido incluído idosos na amostra, a relação da idade com as concentrações de homocisteína também foram observadas. As possíveis causas relacionadas ao incremento da idade são a má absorção de vitamina B₁₂, estilo de vida não saudáveis, baixo consumo de folato, declínio da função renal e uso de medicamentos como metotrexato e anticonvulsivantes, anestésicos e teofilina que reduzem os níveis de folato, vitamina B₁₂ e vitamina B₆, respectivamente, cofatores do metabolismo da homocisteína (TANAKA et al, 2014; REFSUM et al, 2004).

Em nossos achados o folato eritrocitário esteve inversamente correlacionado com as concentrações plasmáticas da homocisteína concordando com a maioria dos estudos encontrados (HENRIQUEZ et al, 2007; GANJI, KAFAI, 2009; HOEY et al, 2007; ABBENHARDT et al, 2014; NAKAZATO et al, 2011; VAN DRIEL et al, 2009). Na pesquisa de Ganji e Kafai (2009), na análise de regressão linear múltipla, o folato eritrocitário mostrou-se inversamente correlacionado ($p=0,0002$) às concentrações plasmáticas de homocisteína. A prevalência de concentrações deficientes de folato

eritrocitário também foi baixa, como descrita em nossos achados, apenas 0,2% (GANJI, KAFAL, 2009). Ambos os estudos foram realizados no período de pós fortificação dos alimentos com ácido fólico, o que possivelmente justifica os baixos percentuais de deficiência do folato eritrocitário nas populações estudadas.

O folato é um cofator importante no metabolismo da homocisteína, e atua na conversão de homocisteína em metionina, dessa forma concentrações elevadas de homocisteína são consideradas marcador sensível de deficiência de folato (STANGER et al, 2003; FARREL, KIRSCH, HERRMANN, 2013). Importante registrar que a maioria dos estudos utilizaram o folato sérico como marcador do status nutricional de folato, que reflete a ingestão recente de folato (INSTITUTE OF MEDICINA, 1998), entretanto o presente estudo utilizou o folato eritrocitário como marcador do status nutricional de folato. Este por sua vez reflete mudanças na ingestão de folato de forma mais lenta, no período de até 35 semanas (FARREL, KIRSCH, HERRMANN, 2013).

No presente estudo não foi evidenciado correlação dos níveis séricos de vitamina B₁₂ com as concentrações plasmáticas de homocisteína. No entanto, estudos sugerem que além do folato eritrocitário e folato sérico, a vitamina B₁₂ sérica também seja bom preditor das concentrações de homocisteína (SAW et al, 2001; REFSUM et al, 2004). Isso porque a vitamina B₁₂ é uma coenzima da metionina sintase, enzima responsável pela remetilação da homocisteína em metionina (STABLER et al, 1999). Estudos recentes verificaram correlações inversas entre a vitamina B₁₂ e concentrações de homocisteína em diferentes populações de adultos e idosos (LOPES et al, 2015; ABBENHARDT et al, 2014; ZHANG et al, 2014).

No presente estudo, as variáveis sócio demográficas e comportamentais estudadas como a raça, escolaridade, renda familiar *per capita*, tabagismo e uso de anticoncepcional não mostraram associação significativa com as concentrações de homocisteína, assim como verificado em outros estudos (SAW et al, 2001; HENRIQUEZ et al, 2007). Poucos estudos avaliaram as condições sócio demográficas, ainda assim foram verificadas maiores concentrações de homocisteína em brancos não hispânicos (GANJI, KAFAL, 2009) maiores prevalências de hiperhomocisteinemia naqueles de menor renda (LOPES et al, 2015), menor

escolaridade e risco de hiperhomocisteinemia de 1,95 em fumantes (OR:1,95 IC95%: 1,41-1,70) (LIU et al, 2015).

O delineamento transversal deste estudo constitui uma limitação, por tanto deve-se ter cautela nas análises das relações de causa e efeito entre as variáveis de exposição estudadas e a hiperhomocisteinemia. Além disso, não há dados sobre consumo de vitamina B₁₂, concentrações sérica de vitamina B₆ e polimorfismos genéticos que possivelmente influenciam nas concentrações de homocisteína plasmática.

Ressalta-se entretanto a importância dos nossos achados por se tratar de uma amostra representativa de mulheres jovens e saudáveis, nas quais ainda são poucos os estudos relacionados ao assunto.

8 CONCLUSÃO

Na população estudada, mulheres jovens de baixa renda e escolaridade, as concentrações de homocisteína apresentaram correlação com fatores de risco como a idade, peso, IMC e folato eritrocitário. Além disso, a obesidade mostrou ser um fator de risco importante para a hiperhomocisteinemia. Esses achados sugerem que estes fatores podem contribuir para hiperhomocisteinemia a luz de algumas limitações por se tratar de um estudo transversal e de um grupo específico de indivíduos.

Nesse contexto, os resultados tornam-se especialmente importantes para a saúde pública, indicando a necessidade de políticas públicas direcionadas para prevenção e/ou tratamento, especialmente do excesso de peso, por ser um fator de risco modificável para a hiperhomocisteinemia.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A população estudada foi composta por mulheres jovens, de baixa renda e escolaridade que apresentaram prevalência de hiperhomocisteinemia dentro do esperado, considerando que o estudo foi desenvolvido após implementação da política de fortificação dos alimentos com ácido fólico. No entanto, tendo em vista que a hiperhomocisteinemia é um importante fator de risco cardiovascular e que a morbimortalidade desta condição ainda encontra-se elevada no Brasil e no mundo, reforça-se a importância de reduzir a prevalência deste evento.

Os resultados da pesquisa também evidenciaram possíveis fatores de risco para hiperhomocisteinemia em populações saudáveis, especialmente nas mulheres, como maior idade, obesidade e concentrações reduzidas de folato eritrocitário. A frequência da deficiência de folato eritrocitário foi muito baixa nesta população, possivelmente pelo impacto da política de fortificação de alimentos com ácido fólico. Esses achados sugerem que estes fatores podem contribuir para hiperhomocisteinemia a luz de algumas limitações por se tratar de um de um grupo específico de indivíduos e de um estudo transversal, o que torna difícil a análise da causalidade.

Neste contexto, os resultados sugerem a necessidade de avaliação da efetividade de políticas existentes e/ou elaboração de novas políticas de saúde que visem o declínio da prevalência de obesidade na população geral, visto que este foi um importante fator de risco para hiperhomocisteinemia na população estudada.

A revisão sistemática da literatura permitiu verificar que o aumento da idade, sexo masculino, deficiência de folato sérico, deficiência de vitamina B₁₂ e aumento da creatinina sérica parecem ser determinantes importantes das concentrações de homocisteína em indivíduos saudáveis.

Entretanto, a comparação entre os estudos requer cautela por apresentarem limitações como desenhos transversais, tamanhos amostrais, diferentes métodos utilizados para determinar a concentração de homocisteína, não uniformidade nos pontos de corte, controle de variáveis de confusão, indicando que para uma melhor compreensão das relações entre os possíveis determinantes e a concentração de homocisteína serão necessários estudos adicionais para alcançar evidências mais conclusivas.

REFERÊNCIAS

ABBENHARDT, C.; MILLER, J.W.; SONG, X.; BROWN, E.C.; CHENG, T.Y.; WENER, M.H.; et al. Biomarkers of one-carbon metabolism are associated with biomarkers of inflammation in women. **Journal of Nutrition**, v. 144, n. 5, p. 714-21, 2014.

AGUDELO, G.M.O.; DUQUE, M.R.; VELÁSQUEZ, C.M.R.; CARDONA, O.L.H.; POSADA, M.J.; PINEDA, V.S.; et al. Efecto del consumo de diferentes dosis de café filtrado sobre los niveles plasmáticos de homocisteína y presión arterial en un grupo de voluntarios sanos. **Revista Colombiana de Cardiología**, v.15, n.2, p.65-74, 2008.

ALMEIDA, L.C.; TOMITA, L.Y.; D'ALMEIDA, V.; CARDOSO, M.A. Preditores sócio-demográficos, de estilo de vida e ginecoobstétricos das concentrações séricas ou plasmáticas de homocisteína, ácido fólico e vitaminas B12 e B6 em mulheres de baixa renda de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n.3, p. 587-59, 2008.

ALWAN, A.; MACLEAN, D.R.; RILEY, L.M.; D'ESPAIGNET, E.T.; MATHERS, C.D.; STEVENS, G.A. et al. Monitoring and surveillance of chronic noncommunicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. **The Lancet**, v. 376, p. 1861-68, 2010.

APARICIO, A.; ANDRÉS, P.; PEREA, J.M.; LÓPEZ-SOBALER, A.M.; ORTEGA, R.M. Influence of the consumption of fruits and vegetables on the nutritional status of a group of institutionalized elderly persons in the Madrid region. **The Journal of Nutrition, Health and Aging**, v.14, n.8, p.615-20, 2010.

BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.1, p. S181-S191, 2003.

BERMEJO, L.M.; APARICIO, A.; ANDRÉS, P.; LÓPEZ-SOBALER, A.M.; ORTEGA, R.M. The influence of fruit and vegetable intake on the nutritional status and plasma homocysteine levels of institutionalised elderly people. **Public Health Nutrition**, v.10, n.3, p.266-72, 2007.

BERSTAD, P.; KONSTANTINOVA, S.V.; REFSUM, H.; NURK, E.; VOLLSET, S.E.; TELL, G.S.; et al. Dietary fat and plasma total homocysteine concentrations in 2 adult age groups: the Hordaland homocysteine study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.85, p.1598-605, 2007.

BHATT, D.L.; STEG, P.G.; OHMAN, E.M, HIRSCH, A.T.; YKEDA, Y.; MAS, J.L. et al. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. **Journal of the American Medical Association**, v. 295, p.180-189, 2006.

BLOM, H.J.; BOERS, G.H.; VAN DEN ELZEN, J.P.; VAN ROESSEL, J.J.; TRIJBELS, J.M.; TANGERMAN, A. Differences between premenopausal women and young men in the transamination pathway of methionine catabolism, and the protection against vascular disease. **European Journal of Clinical Investigation**, v.18, p.633-638, 1988.

BROUWER, I.A.; VAN DUSSELDORP, M.; THOMAS, C.M.; DURAN, M.; HAUTVAST, J.G.; ESKES, T.K.; STEEGERS-THEUNISSEN, R.P. Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n.1, p. 99-104, 1999.

CHANG, Y.; LI, Y.; GUO, X.; CHEN, Y.; DAI, D.; SUN, Y. The Prevalence of Hypertension Accompanied by High Homocysteine and its Risk Factors in a Rural Population: A Cross-Sectional Study from Northeast China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.14, n. 376, 16p, 2017.

CHEN, C.W.; LIN, Y.L.; LIN, T.K.; LIN, C.T.; CHEN, B.C.; LIN, C.L. Total cardiovascular risk profile of Taiwanese vegetarians. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.1, p.138-44, 2008.

CHEN, K.J.; PAN, W.H.; LIN, Y.C.; LIN, B.F. Trends in folate status in the Taiwanese population aged 19 years and older from the Nutrition and Health Survey in Taiwan 1993-1996 to 2005-2008. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.20, n.2, p.275-82, 2011.

CHEW, S.C.; KHOR, G.L.; LOH, S.P. Association between dietary folate intake and blood status of folate and homocysteine in Malaysian adults. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)**, v.57, n.2, p.150-155, 2011.

DANTAS, J.A.; DINIZ, A.S.; ARRUDA, I.K.G. Consumo alimentar e concentrações intra-eritrocitárias de folato em mulheres do Recife, Nordeste do Brasil. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.60, n.3, p. 227-234, 2010.

DE BREE, A.; VERSCHUREN, W.M.; KROMHOUT, D.; KLUIJTMANS, L.A.; BLOM, H.J. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. **Pharmacological Reviews**, v.54, p.599-618, 2002.

DE VIGNEAUD, V.E. Trail of research in sulfur chemistry and metabolism, and related fields. Ithaca, N.Y: Cornell University Press, 1952. In: CARSON, N.A.J.; NEIL, D.W. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. **Archives of Disease in Childhood**, v. 37, p. 505-13, 1962.

DELISLE, H.; NTANDOU, G.; SODJINOU, R.; COUILLARD, C.; DESPRÉS, J.P. At-risk serum cholesterol profile at both ends of the nutrition spectrum in West African adults? The Benin study. **Nutrients**, v.19, p.1366-1383, 2013.

DEN HEIJER, M.; LEWINGTON, S.; CLARKE, R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v.3, p.292-299, 2005.

DETOPOULOU, P.; PANAGIOTAKOS, D.B.; ANTONOPOULOU, S.; PITSAVOS, C.; STEFANADIS, C. Dietary choline and betaine intakes in relation to concentrations of inflammatory markers in healthy adults: the ATTICA study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.87, n.2, p.424-30, 2008.

DIVISION OF LABORATORY SCIENCES IN THE NATIONAL CENTER FOR ENVIRONMENTAL HEALTH (CDC). **Second National Report on biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population**, 2012.

DURAND, P.; PROST, M.; LOREAU, N.; LUSSIER-CACAN, S.; BLACHE, D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. **Laboratory Investigation**, v. 81, n. 5, p. 645-72, 2001.

ELSHORBAGY, A.K.; NURK, E.; GJESDAL, C.G.; TELL, G.S.; UELAND, P.M.; NYGÅRD, O.; et al. Homocysteine, cysteine, and body composition in the Hordaland Homocysteine Study: does cysteine link amino acid and lipid metabolism? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.88, n.3, p.738-46, 2008.

PORTO, I.V.P. Tese de Doutorado. UFPE, 2017

FAKHRZADEH, H.; GHOTBI, S.; POUREBRAHIM, R.; NOURI, M.; HESHMAT, R.; BANDARIAN, F. et al. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 status in healthy Iranian adults: the Tehran homocysteine survey (2003-2004)/a cross-sectional population based study. **BMC Public Health**, v.6, n.29, 2006.

FARRELL, C.J.; KIRSCH, S.H.; HERRMANN, M. Red cell or serum folate: what to do in clinical practice? **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.51, n.3, p.555-69, 2013.

FISBERG, R.M.; VILLAR, B.S. **Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares**. 1 ed., São Paulo: Signus, 2002.

FONSECA, V.; GUBA, S.C.; FINK, L.M. Hyperhomocysteinemia and endocrine system: implications of atherosclerosis and thrombosis. **Endocrine Reviews**, v. 20, n.5, p.738-59, 1999.

FORD, E.S.; AJANI, U.A.; CROFT, J.B.; CRITCHLEY, J.A.; LABARTHE, D.R.; KOTTKE, T.E. et al. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. **New England Journal of Medicine**, v.356, p.2388-98, 2007.

FRASCA, V.; RIAZZI, B.S.; MATTHEWS, R.G. In vitro inactivation of methionine synthase by nitrous oxide. **Journal of Biological Chemistry**, v.261, p.15823-6, 1986.

FRISANCHO, A.R. Methods and materials. In: *The American J. of Clinical Nutrition. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status*. Michigan: The University of Michigan Press. cap. 2, p.9-30, 1990.

GANJI, V.; KAFAI, M.R. Demographic, lifestyle, and health characteristics and serum B vitamin status are determinants of plasma total homocysteine concentration in the post-folic acid fortification period, 1999-2004. **Journal of Nutrition**, v.139, n.2, p.345-52, 2009.

GARTLER, S.M.; HORNUNG, S.K.; MOTULSKY, A.G. Effect of chronologic age on induction of cystathione synthase, uroporphyrinogen I synthase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in lymphocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.78, p.1916-9, 1981.

GREEN, R.; MILLER, J.W. Vitamin B-12 deficiency is the dominant nutritional cause of hyperhomocysteinemia in a folic acid-fortified population. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.43, p.1048-51, 2005.

GUPTA, V.J.; WILCKEN, D.E.L. The detection of cysteinehomocysteine mixed disulphide in plasma of normal fasting man. **European Journal of Clinical Investigation**, n. 8, p. 205-7, 1978.

HAK, A.E.; POLDERMAN, K.H.; WESTENDORP, I.C. Increased plasma homocysteine after menopause. **Atherosclerosis**, v.149, p.163–8, 2000.

HALSTED, C.H.; VILLANUEVA, J.A.; DEVLIN, A.M.; CHANDLER, C.J. Metabolic interactions of alcohol and folate. **Journal of Nutrition**, v.132, n. Suppl 8, p.2367S-72S, 2002.

HALSTED, C.H. Alcohol: medical and nutritional effects. In: ZIEGLER, E.E.; FILER, L.J. JUNIOR, E.D.S. **Present knowledge in nutrition**. 7th ed. Washington, DC: International Life Sciences Institute; 1996. p.547-56.

HAN, L.; LIU, Y.; WANG, C.; TANG, L.; FENG, X.; ASTELL-BURT; et al. Determinants of hyperhomocysteinemia in healthy and hypertensive subjects: A population-based study and systematic review. **Clinical Nutrition**, v.36, p.1215-1230, 2017.

HANKEY, G.J.; EIKELBOOM, J.W. Homocysteine and vascular disease. **Indian Heart Journal**, v. 52, p. S18-26, 2000.

HENDERSON, R.H; SUNDERESAN, T. Cluster sampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 60, n. 2, p. 253-60, 1982.

HENRÍQUEZ, P.; DORESTE, J.; DEULOFEU, R.; FIUZA, M.D.; SERRA-MAJEM, L. Nutritional determinants of plasma total homocysteine distribution in the Canary Islands. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.61, n.1, p. 111-8, 2007.

HOEY, L.; MCNULTY, H.; ASKIN, N.; DUNNE, A.; WARD, M.; PENTIEVA, K. et al. Effect of voluntary food fortification policy on folate, related B vitamin status, and homocysteine in healthy adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.85, n.5, p.1405-13, 2007.

HOLST-SCHUMACHER, I.; MONGE-ROJAS, R.; CAMBRONERO-GUTIÉRREZ, P.; BRENES, G. Genetic, dietary, and other lifestyle determinants of serum homocysteine levels in young adults in Costa Rica. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v.17, n. 4, p.263-70, 2005.

HUANG, T.; TUCKER, K.L.; LEE, Y.C.; CROTT, J.W.; PARNELL, L.D.; SHEN, J. et al. Interactions between genetic variants of folate metabolism genes and lifestyle affect plasma homocysteine concentrations in the Boston Puerto Rican population. **Public Health Nutrition**, v.14, n.10, p.1805-12, 2011.

HUANG, T.; YU, X.; SHOU, T.; WAHLQVIST, M.L.; LI, D. Associations of plasma phospholipid fatty acids with plasma homocysteine in Chinese vegetarians. **British Journal of Nutrition**, v.109, n.9, p.1688-94, 2013.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Food and drug administration dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin b6, folate, vitamin b12, pantothenic acid, biotin, and coline**. Washington: National Academy Press, 1998, 592p.

JACOBSEN, D.W. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. **Clinical Chemistry**, v. 44, n. 8(B), p. 1833–43, 1998

JACQUES, P.F.; ROSENBERG, I.H.; ROGERS, G.; SELHUB, J.; BOWMAN, B.A.; GUNTER, E.W. et al. Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.482-9, 1999.

JELLIFFE, D.B. **Evaluación del estado de nutrición de la comunidad**. Organización Mundial de la salud, n. 53, 1968, 291p.

KALOGEROPOULOS, N.; PANAGIOTAKOS, D.B.; PITSAVOS, C.; CHRYSOHOOU, C.; ROUSINO, G.; TOUTOUZA, M. et al. Unsaturated acids are inversely associated and n-6/n-3 ratios are positively related to inflammation and coagulation markers in plasma of apparently healthy adults. **Clínica Chimica Acta**, v.411, p.584-91, 2010.

PORTO, I.V.P. **Tese de Doutorado. UFPE, 2017**

KANG, S.S. Treatment of hyperhomocysteinemia: physiological basis. **Journal of Nutrition**, v.126, n. Suppl 4, p. 1273-1275, 1996.

KIM, H.J.; KIM, M.K.; KIM, J.U.; HA, H.Y.; CHOI, B.Y. Major determinants of serum homocysteine concentrations in a Korean population. **Journal of Korean Medical Science**, v.25, n.4, p.509-16, 2010.

KOEHLER, K.M.; BAUMGARTNER, R.N.; GARRY, P.J.; ALLEN, R.H.; STABLER, S.P.; RIMM, E.B. Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.3, p.628-37, 2001.

KONDO, H.; OSBORNE, M.L.; KOLHOUSE, I.F.; BINDER, M.J.; PODELL, E.R.; UTLEY, C.S. et al. Nitrous oxide has multiple deleterious effects on cobalamin metabolism and causes decreases in activities of both mammalian cobalamin-dependent enzymes in rats. **The Journal of Clinical Investigation**, v.67, p.1270-83, 1981.

LAI, C.Q.; TUCKER, K.L.; PARNELL, L.D.; ADICONIS, X.; GARCÍA-BAILO, B.; GRIFFITH, J. et al. PPARGC1A variation associated with DNA damage, diabetes, and cardiovascular diseases: the Boston Puerto Rican Health Study. **Diabetes**, v.57, 809-16, 2008.

LANTZ, P.M.; LYNCH, J.W.; HOUSE, J.S.; LEPKOWSKI, J.M.; MERO, R.P.; MUSICK, M.A. et al. Socioeconomic disparities in health change in a longitudinal study of US adults: the role of health-risk behaviors. **Social Science & Medicine**, v.53, n.1, p.29-40, 2001.

LIU, X.D.; GAO, B.; SUN, D.; SHI, M.; MA, Y.Y.; LIU, Z.R. et al. Prevalence of hyperhomocysteinemia and some of its major determinants in Shaanxi Province, China: a cross-sectional study. **British Journal of Nutrition**, v.113, n.4, p.691-8, 2015.

LOPES, S.L.B.; LOPES, H.H.M.C.; VANNUCCHI, H. A hiperhomocisteinemia como fator de risco cardiovascular: perspectivas atuais. **Revista Medica (São Paulo)**, v.89, n.1, p.1-11, 2010.

LOPES, R.V.C.; CASTRO, M.A.; BALTAR, V.T.; MARCHIONI, D.M.L.; FISBERG, R.M. Betaína e Colina Dietéticas Relacionadas à Homocisteína Plasmática: Estudo de Base Populacional, São Paulo, Brasil. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v.28, n.1, p.61-9, 2015.

LOPES, S.L.B.; LOPES, H.H.M.C.; VANNUCCHI, H. A hiperhomocisteinemia como fator de risco cardiovascular: perspectivas atuais. **Revista Medica São Paulo**, v. 89, n. 1, p. 1-11, 2010.

MALTA, D.C.; CEZÁRIO, A.C.; MOURA, L.; MORAIS NETO, O.L.; SILVA JÚNIOR, J.B. Construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do sistema único de saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, n. 15, p. 47-64, 2006.

MANSOOR, M.A.; KRISTENSEN, O.; HERVIG, T.; DRABLØS, P.A.; STAKKESTAD, J.A.; WOIE, L. et al. Low concentrations of folate in serum and erythrocytes of smokers: methionine loading decreases folate concentrations in serum of smokers and nonsmokers. **Clinical Chemistry**, v.43, n.11, p.2192-4, 1997.

MANSUR, A.P.; FAVARATO, D. Mortality due to cardiovascular diseases in Brazil and in the metropolitan region of São Paulo: a 2011 update. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 99, n. 2, p.75-61, 2012.

MANSUR, A.P.; FAVARATO, D. Tendências da Taxa de Mortalidade por Doenças Cardiovasculares no Brasil, 1980-2012. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2016. [online]

MANSUR, A.P.; LOPES, A.I.; FAVARATO, D.; AVAKIAN, S.D.; CÉSAR, L.A.; RAMIRES, J.A. Epidemiologic transition in mortality rate from circulatory diseases in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, n. 5, p.506-10, 2009.

MARTINS, M.H.S. **Valor Nutritivo de Alimentos Definidos por Pesos Médios, Frações e Medidas Caseiras**. Recife: UFPE; 1982.

MCCARTY, M.F. Increased homocysteine associated with smoking, chronic inflammation and aging may reflect acute-phase induction of pyridoxal phosphatase activity. **Medical Hypotheses**, v.55, n.4, p.289-93, 2000.

McCULLY, K.S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. **American Journal of Pathology**, n. 56, p. 111-28, 1969.

MEERTENS, L.; DÍAZ, N.; FRAILE, C.; RIERA, M.; RODRÍGUEZ, A.; RODRÍGUEZ, L. et al. Estado nutricional, indicadores antropométricos y homocisteína sérica en mujeres posmenopáusicas venezolanas. **Revista Chilena de Nutrición**, v.38, n.3, p.278-84, 2011.

MEHMETOGLU, I.; YERLIKAYA, F.H.; KURBAN, S.; POLAT, H. Plasma ω -3 fatty acid levels negatively and ω -6 fatty acid levels positively associated with other cardiovascular risk factors including homocysteine in severe obese subjects. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.21, n.4, p.519-25, 2012.

MIJATOVIC, V.; KENEMANS, P.; JACOBS, C.; VAN BAAL, W.M.; PETERS-MULLER, E.R.; VAN DER MOOREN, M.J. A randomized controlled study of the effects of 17 β -o estradiol-dydrogesterone on plasma homocysteine in postmenopausal women. **Obstetrics & Gynecology**, v.91, p.432-6, 1998.

MIJATOVIC, V.; NETELENBOS, J.C.; VAN DER MOOREN, M.J.; DE VALKDE R.G.; JAKOBS, C. KENEMANS, P. Randomized, doubleblind, placebo-controlled study of the effects of raloxifene and conjugated equine estrogen on plasma homocysteine in healthy postmenopausal women. **Fertility and Sterility**, v.70, p.1085-9, 1998.

MIJATOVIC, V.; VAN DER MOOREN, M.J. Homocysteine in postmenopausal women and the importance of hormone replacement therapy. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.39, p.764-7, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. **Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022**. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Estimativas sobre frequência e distribuição sócio demográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no distrito federal em 2016**. Brasília, 2017.

MOON, H.W.; WHANG, D.H.; KO, Y.J.; JOO, S.Y.; YUN, Y.M.; HUR, M.; KIM, J.Q. Reference interval and determinants of the serum homocysteine level in a Korean population. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v.25, n.5, p.317-23, 2011.

MORRIS, M.S.; JACQUES, P.F.; SELHUB, J.; ROSENBERG, I.H. Total homocysteine and estrogen status indicators in the third National Health and Nutrition Examination Survey. **American Journal of Epidemiology**, v.152, p.140–148, 2000.

MOTA, J.F.; MEDINA, W.L.; MORETO, F.; BURINI, R.C. Influência da adiposidade sobre o risco inflamatório em pacientes com glicemia de jejum alterada. **Revista de Nutrição**, v.22, n.3, p.351-7, 2009.

MUST, A.; JACQUES, P.F.; ROGERS, G.; ROSENBERG, I.H.; SELHUB, J. Serum total homocysteine concentrations in children and adolescents: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). **Journal of Nutrition**, v.133, p.2643-9, 2003.

NABIPOUR, I.; EBRAHIMI, A.; JAFARI, S.M.; VAHDAT, K.; ASSADI, M. MOVAHED, A. et al. The metabolic syndrome is not associated with homocysteinemia: The Persian Gulf Healthy Heart Study. **Journal of Endocrinology**, v.32, p.406-410, 2009.

NAIR, K.G.; ASHAVID, T.F.; NAIR, S.R.; EGHLM, F.F. The genetic basis of hyperhomocysteinemia. **Indian Heart Journal**, v. 52, n. Suppl 7, p. S16-7, 2000.

NAKAZATO, M.; MAEDA, T.; TAKAMURA, N.; WADA, M.; YAMASAKI, H.; JOHNSTON, K.E. et al. Relation of body mass index to blood folate and total homocysteine concentrations in Japanese adults. **European Journal of Nutrition**, v.50, n.7, p.581-5, 2011.

NERBASS, F.B.; DRAIBE, S.A.; CUPPARI, L. Hyperhomocysteinemia in chronic renal failure. **Revista de Nutrição**, v.18, p. 239-40, 2005.

NEVES, L.B.; MACEDO, D.M.; LOPES, A.C. Homocisteína. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, p. 311-20, 2004.

NORLUND, L.; GRUBBB, A.; FLEX, G.; LEKSELL, H.; NILSSON, J.E.; SCHENCK, H. et al. The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.36, p.175-8, 1998.

NYGARD, O.; VOLLSET, S.E.; REFSUM, H.; BRATTSTROM, L.; UELAND, P.M. Total homocysteine and cardiovascular disease. **Journal of Internal Medicine**, v.246, p.425-54, 1999.

OBERSBY D, CHAPPELL DC, DUNNETT A, TSIAMI AA. Plasma total homocysteine status of vegetarians compared with omnivores: a systematic review and meta-analysis. **British Journal of Nutrition**, v.109, n.5, p.785-94, 2013.

OLTHOF, M.R.; HOLLMAN, P.C.; ZOCK, P.L.; KATAN, M.B. Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.532-8, 2001.

PFEIFFER, C.M.; OSTERLOH, J.D.; KENNEDY-STEPHENSON, J.; PICCIANO, M.F.; RADER, J.I.; JOHNSON, C.L. Trends in circulating concentrations of total homocysteine among US adolescents and adults: findings from the 1991–1994 and 1999–2004 National Health and Nutrition Examination Surveys. **Clinical Chemistry**, v.54, p.801-13, 2008.

PINHEIRO, A.B.V.; BENZECRY, E.H.; LACERDA, E.M.A.; GOMES, M.C.S.; COSTA, V.M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar e medidas caseiras**. 5 ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2004.

QIN, G.; CHEN, Z.; SU, W.; GENG, X.; CHEN, X.; XU, X.; PAN, W. Clinical usefulness of metabolic risk factors to identify young asymptomatic women adults with subclinical atherosclerosis. **Medicine**, v. 96, n.11, p. 2-5, 2017.

QU, Q.G.; GAO, J.J.; LIU, J.M. Prevalence of hyperhomocysteinaemia in a Chinese elderly population. **Public Health Nutrition**, v.13, n.12, p.1974-81, 2010.

RASMUSSEN, LB.; OVESEN, L.; BULOW, I.; KNUDSEN, N.; LAURBERG P.; PERRILD, H. Folate intake, lifestyle factors, and homocysteine concentrations in younger and older women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, p.1156–1163, 2000.

REFSUM, H.; NURK, E.; SMITH A.D.; UELAND, P.M.; GJESDAL, C.G.; BJELLAND, I. et al. The Hordaland Homocysteine Study: A community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. **Journal of Nutrition**, v.136, p.1731S-1740S, 2006.

REFSUM, H.; SMITH, A.D.; UELAND, P.M.; NEXO, E.; CLARKE, R.; MCPARTLIN, J. et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. **Clinical Chemistry**, v.50, p.3-32, 2004.

REFSUM, H.; UELAND, P.M.; NYGARD, O.; VOLLSET, S.E. Homocysteine and cardiovascular disease. **Annual Review of Medicine**, v.49, p.31-62, 1998.

ROSS, R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. **New England Journal of Medicine**, v.340, p.115-26, 1999.

SALAS, Z.J, FAZ-CEPEDA, F.; CASTAÑÓN, L.N.B.; MARTÍNEZ, P.C.C.; OBREGON, M.C.M.; TORRES, M.S.C. et al. Consumo de folatos de mujeres em edad fértil de Apocada, N.L.México. **Revista Salud Pública y Nutricion**, v. 4, 2003.

SAW, S.M.; YUAN, J.M.; ONG, C.N.; ARAKAWA, K.; LEE, H.P.; COETZEE, G.A.; YU, M.C. Dietary and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and older Chinese men and women in Singapore. **American Journal Clinical Nutrition**, v.73, n. 2, p. 232-39, 2001.

SCHALINSKE, K.L.; SMAZAL, A.L. Homocysteine imbalance: a pathological metabolic marker. **Advances in Nutrition**, v. 3, p. 755-62, 2012.

SCHMIDT M.I.; DUNCAN, B.B.; SILVA, G.A.; MENEZES, A.M.; MONTEIRO, C.A.; BARRETO, S.M. et al. **Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais**. Saúde no Brasil 4, v. 6736, p. 60135-60139, 2011.

SCORSATTO, M.; LUIZ, R.R.; OLIVEIRA, G.M.M.; SANTOS-REBOUÇAS, C.B.; MÁRCIA PIMENTEL, M.G.; ROSA, G. Associação entre a Homocisteína e os Polimorfismos do Gene da MTHFR em Mulheres Brasileiras Obesas. **Internacional Journal of Cardiovascular Sciences**, v.28, n.1, p.16-24, 2015.

SELHUB, J. Homocysteine metabolism, **Annual Review of Nutrition**, v.19, p.217-246, 1999.

SENGWAYO, D.; MORABA, M.; MOTAUNG, S. Association of homocysteinaemia with hyperglycemia, dyslipidaemia, hypertension and obesity. **Cardiovascular Journal of Africa**, v.24, n.7, p.265-9, 2013.

SILVA-JUNIOR, J.B. **As doenças transmissíveis no Brasil: tendências e novos desafios para o Sistema Único de Saúde.** In: Ministério da Saúde, ed. Saúde Brasil 2008: 20 anos de Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

STABLER, S.P.; ALLEN, R.H; FRIED, L.P.; PAHOR, M.; KITNER, S.J.; PENNIX, B.W.; GURALNIK, J.M. Racial differences in prevalence of cobalamin and folate deficiencies in disabled elderly women. **American Journal Clinical Nutrition**, v.70, p.911-9, 1999.

STANGER, O.; HERRMANN, W.; PIETRZIK, K.; FOWLER, B.; GEISEL, I.; DIERKES, J.; WEGER, M.; DACH-LIGA. Homocystein (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 41, n. 11, p.1392-1403, 2003.

STEA, T.H.; UGLEM, S.; WANDEL, M.; MANSOOR, M.A.; FROLICH, W. Association between folate intake from different food sources in Norway and homocysteinestatus in a dietary intervention among young male adults. **British Journal of Nutrition**, v.102, n.6, p.899-906, 2009.

TANAKA, S.; UENISHI, K.; YAMAZAKI, Y.; KURODA, T.; SHIRAKI, M. Low calcium intake is associated with high plasma homocysteine levels in postmenopausal women. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v.32, n.3, p.317-23, 2014.

TAVARES, J.R.; D'ALMEIDA, V.; DINIZ, D.C.; TERZI, C.A.; CRUZ, E.M.; STEFANINI, E. et al. Análise dos níveis de homocisteína plasmática em pacientes com angina instável. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, p. 161-6, 2002.

TUNGTRONGCHITR R, PONGPAEW P, TONGBOONCHOO C, VUDHIVAI N, CHANGBUMRUNG S, TUNGTRONGCHITR A et al. Serum homocysteine, B12 and folic acid concentration in Thai overweight and obese subjects. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, v.73, n. 1, p.8-14, 2003.

UEHARA, S.K.; BALUZ, K.; ROSA, G. Possíveis mecanismos trombogênicos da hiper-homocisteinemia e o seu tratamento nutricional. **Revista de Nutrição**, v. 18, p. 743-51, 2005.

UELAND, P.M.; REFSUM, H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and drug therapy. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, n. 114, v. 5, p. 473-501, 1989.

UELAND, P.M.; REFSUM, H.; STABLER, S.P.; MALINOW, M.R.; ANDERSSON, A.; ALLEN, R.H. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. **Clinical Chemistry**, v. 39, p. 1764-79, 1993.

ULVIK, A.; VOLLSET, S.E.; HOFF, G.; UELAND, P.M. Coffee consumption and circulating B-vitamins in healthy middle-aged men and women. **Clinical Chemistry**, v.54, n.9, p.1489-96, 2008.

VAN ASSELT, D.Z.; DE GROOT, L.C.; VAN STAVEREN, W.A.; BLOM, H.J.; WEVERS, R.A.; BIEMOND, I. et al. Role of cobalamin intake and atrophic gastritis in mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, p.328-34, 1998.

VAN DRIEL, L.M.; EIJKEMANS, M.J.; DE JONGE, R.; DE VRIES, J.H.; VAN MEURS, J.B.; STEEGERS, E.A. et al. Body mass index is an important determinant of methylation biomarkers in women of reproductive age. **Journal of Nutrition**, v.139, n.12, p.2315-21, 2009.

VARELA-MOREIRAS, G.; ESCUDERO, J.M.; ALONSO-APERTE, E. Homocisteína, vitaminas relacionadas y estilos de vida en personas de edad avanzada: estudio SÉNECA. **Nutrición. Hospitalaria**, v.22, n.3, p.363-70, 2007.

VARELA-MOREIRAS, G.; MURPHY, M.M.; SCOTT, J.M. Cobalamin, folic acid and homocysteine, **Nutrition Reviews**, v. 67, n. Suppl 1, p.S69-S72, 2009.

VAYÁ, A.; RIVERA, L.; HERNÁNDEZ-MIJARES, A.; DE LA FUENTE, M.; SOLÁ, E.; ROMAGNOLI, M. et al. Homocysteine levels in morbidly obese patients: its association with waist circumference and insulin resistance. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v.52, n.1, p.49-56, 2012.

VENÂNCIO, L.S.; BURINI, R.C.; YOSHIDA, W.B. Concentração de homocisteína em pacientes portadores de doença arterial periférica atendidos em um serviço público de saúde. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.8, n.4, p.318-326, 2009.

VENÂNCIO, L.S.; BURINI, R.C.; YOSHIDA, W.B. Tratamento dietético da hiperhomocisteinemia na doença arterial periférica. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.9, n.1, p.28-41, 2010.

VINUKONDA, G.; SHAIK, M.N.; NURUL, M.D.; JAIN, J.; PRASAD, C.K.; RAMA, D.A.R. Genetic and environmental influences on total plasma homocysteine and coronary artery disease (CAD) risk among South Indians. **Clinica Chimica Acta**, v.405, p.127-31, 2009.

VITVITSKY, V.; PRUDOVA, A.; STABLER, S.; DAYAL, S.; LENTZ, S.R.; BANERJEE, R. Testosterone regulation of renal cystathionine b-synthase: implications for sex-dependent differences in plasma homocysteine levels. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 293, p.F594–F600, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020**. World Health Organization, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Noncommunicable diseases country profiles 2014**. World Health Organization, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: Preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva; 1998.

WU, G.H.; KNG, F.Z.; DONG, X.F.; WU, D.F.; GUO, Q.Z.; SHEN, A.R. et al. Association between hyperhomocysteinemia and stroke with atherosclerosis and small artery occlusion depends on homocysteine metabolism-related vitamin levels in Chinese patients with normal renal function. **Metabolic Brain Disease**, v. 32, n.3, p. 859-865, 2017.

YANG, B.; FAN, S.; ZHI, X.; WANG, Y.; WANG, Y.; ZHENG, Q.; SUN, G. Prevalence of Hyperhomocysteinemia in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v.7, n.1, p.74–90, 2015.

YE, X.; MARAS, J.E.; BAKUN, P.J.; TUCKER, K.L. Dietary intake of vitamin B-6, plasma pyridoxal 5'-phosphate, and homocysteine in Puerto Rican adults. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 110, n. 11, p.1660-8, 2010.

YOSHINO, K.; NISHIDE, M.; INAGAWA, M.; YOKOTA, K.; MORIYAMA, Y. et al. Validity of brief food frequency questionnaire for estimation of dietary intakes of

folate, vitamins B6 and B12, and their associations with plasma homocysteine concentrations. **International Journal of Foods Sciences and Nutrition**, v.61, n.1, p.61-7, 2010.

ZHANG, W.; LI, Y.; WANG, T.D.; MENG, H.X.; MIN, G.W.; FANG, Y.L. et al. Nutritional status of the elderly in rural North China: a cross-sectional study. **The Journal of Nutrition Health and Aging**, v.18, n.8, p.730-6, 2014.

APÊNDICE A- Artigo de Revisão Sistemática enviado para a Revista Ciência e Saúde Coletiva

**Fatores de risco associados à hipermocisteinemia em indivíduos saudáveis:
revisão sistemática da literatura.**

Isabella Valois Pedrosa Porto¹; Cláudia Porto Sabino Pinho¹; Patrícia Calado Ferreira Pinheiro Gadelha²; Alcides da Silva Diniz³; Ilma Kruze Grande de Arruda³

¹ Hospital das Clínicas - HC/UFPE.

² Hospital da Restauração – Secretaria Estadual de Saúde /PE.

³ Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil.

Autor para correspondência:

Isabella Valois Pedrosa Porto.

Email: isabella_valois@hotmail.com

Hospital das Clínicas - HC/UFPE.

Telefone: 55 81 2126 3634

Resumo

Objetivo: Hiperhomocisteinemia é amplamente aceita como fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O objetivo foi relatar as principais evidências acerca dos fatores associados a hiperhomocisteinemia em indivíduos saudáveis, sem doença cardiovascular estabelecida. **Métodos:** Realizou-se um levantamento bibliográfico durante o período de janeiro a maio de 2017, nas bases de dados Pubmed, Lilacs e Scielo. Foram incluídos estudos originais com indivíduos saudáveis, idade ≥ 18 anos, de ambos os sexos (homens e mulheres não grávidas), escritos em português, inglês ou espanhol, com tamanho amostral superior a 100 indivíduos. **Resultados:** 41 estudos atenderam aos critérios de elegibilidade e 85% tratavam-se de delineamentos transversais. Os fatores de risco mais frequentemente avaliados em indivíduos saudáveis foram os sócio demográficos, antropométricos, bioquímicos e comportamentais. **Conclusões:** Esta revisão indica que para uma melhor compreensão das relações complexas entre os possíveis determinantes e a concentração de homocisteína exigirá estudos adicionais para alcançar evidências mais conclusivas. No entanto, maior idade, sexo masculino, deficiência de folato sérico, deficiência de vitamina B₁₂ e aumento da creatinina sérica parecem ser determinantes importantes da hiperhomocisteinemia em indivíduos saudáveis.

Palavras-chaves: Homocisteína. Fatores epidemiológicos. Deficiência de vitamina B, Obesidade. Doenças cardiovasculares.

Introdução

A hiperhomocisteinemia é uma condição patológica frequentemente definida como concentrações acima de $15\mu\text{mol/L}$ (Meertens et al. 2011; Yang et al. 2015), amplamente aceita como fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), ainda consideradas as principais causas de morte no mundo (Refsum et al. 2006; Lopes et al. 2010; WHO, 2014).

Estudos realizados no Brasil e em outros países descreveram prevalências importantes em populações saudáveis, variando entre 20 a 70% (Almeida et al, 2008; Lopes et al. 2015), a depender o sexo, idade, localização geográfica, ponto de corte estabelecido para diagnóstico, adoção de políticas de fortificação de alimentos (ácido fólico) e diversos fatores ambientais (Qu et al. 2010; Moon et al. 2011; Tanaka et al. 2014; Lopes et al. 2015; Yang et al. 2015).

As concentrações de homocisteína são controladas por vias metabólicas complexas, transmetilação, remetilação e transulfuração e dependentes de vitaminas como ácido fólico, B₆ e B₁₂ (Lopes et al. 2010). Alterações no metabolismo da homocisteína seja por deficiências de vitaminas ou defeitos enzimáticos (mutações genéticas) parecem influenciar a hiperhomocisteinemia (Henriquez et al. 2007; Hoey et al. 2007; Stea et al. 2009; Lopes et al. 2015).

Apesar dos inúmeros fatores associados à hiperhomocisteinemia, o perfil de pacientes em maior risco de apresentar elevadas concentrações não está completamente definido, sobretudo em indivíduos saudáveis, sem DCV estabelecida. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi relatar as principais evidências acerca dos fatores associados a hiperhomocisteinemia em indivíduos saudáveis, a partir de uma revisão sistemática da literatura.

Métodos

Estudo de revisão sistemática baseado no seguinte questionamento: Quais os fatores associados a hiperhomocisteinemia em indivíduos saudáveis?

Realizou-se um levantamento bibliográfico durante o período de janeiro a maio de 2017, nas bases de dados: Publisher Medline (Pubmed), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs) e Scientific Electronic Library Online (Scielo). Para a estratégia de busca foram utilizadas as seguintes expressões combinadas através do operador lógico AND: “Homocysteine AND Epidemiologic

factors”, “Homocysteine AND folic acid”, “Homocysteine AND vitamin B₁₂”, “Homocysteine AND vitamin B₆”, “Homocysteine AND risk factors”, “Homocysteine AND Obesity”, “Homocysteine AND diet”, “Homocysteine AND cardiovascular diseases”, Homocysteine AND life style”, Homocysteine AND nutritional status”. Para a busca no Lilacs e Scielo, os descritores foram identificados nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), disponível no portal da Biblioteca Virtual em Saúde (<http://decs.bvs.br>). Para a busca no Pubmed, os descritores foram identificados no Medical Subject Headings (Mesh), disponível no U.S. National Library of Medicine (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>), e foi utilizada a seguinte expressão de busca: “Homocysteine” [MeSH Terms] AND “Epidemiologic factors” [MeSH Terms]) AND “folic acid deficiencies” [MeSH Terms] AND “vitamin B₁₂ deficiencies” [MeSH Terms] AND “vitamin B₆ deficiencies” [MeSH Terms]) AND “risk factors” [MeSH Terms] AND “Obesity” [MeSH Terms] AND “diet” [MeSH Terms]) AND “life style” [MeSH Terms] AND “nutritional status” [MeSH Terms].

Para inclusão dos artigos foram empregados os seguintes critérios: estudos originais com indivíduos saudáveis, idade ≥ 18 anos, de ambos os sexos (homens e mulheres não grávidas), escritos em português, inglês ou espanhol, com tamanho amostral superior a 100 indivíduos e publicados nos últimos dez anos (janeiro de 2007 a maio de 2017). Após a consulta às bases de dados e a aplicação das estratégias de busca, foram identificados estudos que apresentavam duplicidade entre as bases. A seleção dos artigos foi realizada por dois pesquisadores independentes, e seguiu três etapas: leitura do título, leitura do resumo e leitura dos artigos completos. Após a leitura dos títulos e resumos, procedeu-se com a leitura dos textos na íntegra, identificando aqueles que atendiam aos critérios de inclusão. As discordâncias foram resolvidas através de consenso entre os dois pesquisadores. Após a seleção dos artigos realizou-se a extração de dados.

Resultados

Inicialmente foram encontrados 1280 artigos, sendo 1074 no Pubmed, 135 no Scielo e 71 no Lilacs. Dos artigos encontrados 6 foram excluídos por repetição nas bases de dados. Foram avaliados os títulos e resumos, dos quais foram excluídos 1196 artigos por não atenderem os critérios previamente estabelecidos. Após a leitura

completa dos 78 artigos restantes, 41 estudos atenderam aos critérios de elegibilidade e foram selecionados por ambos os pesquisadores (Figura 1).

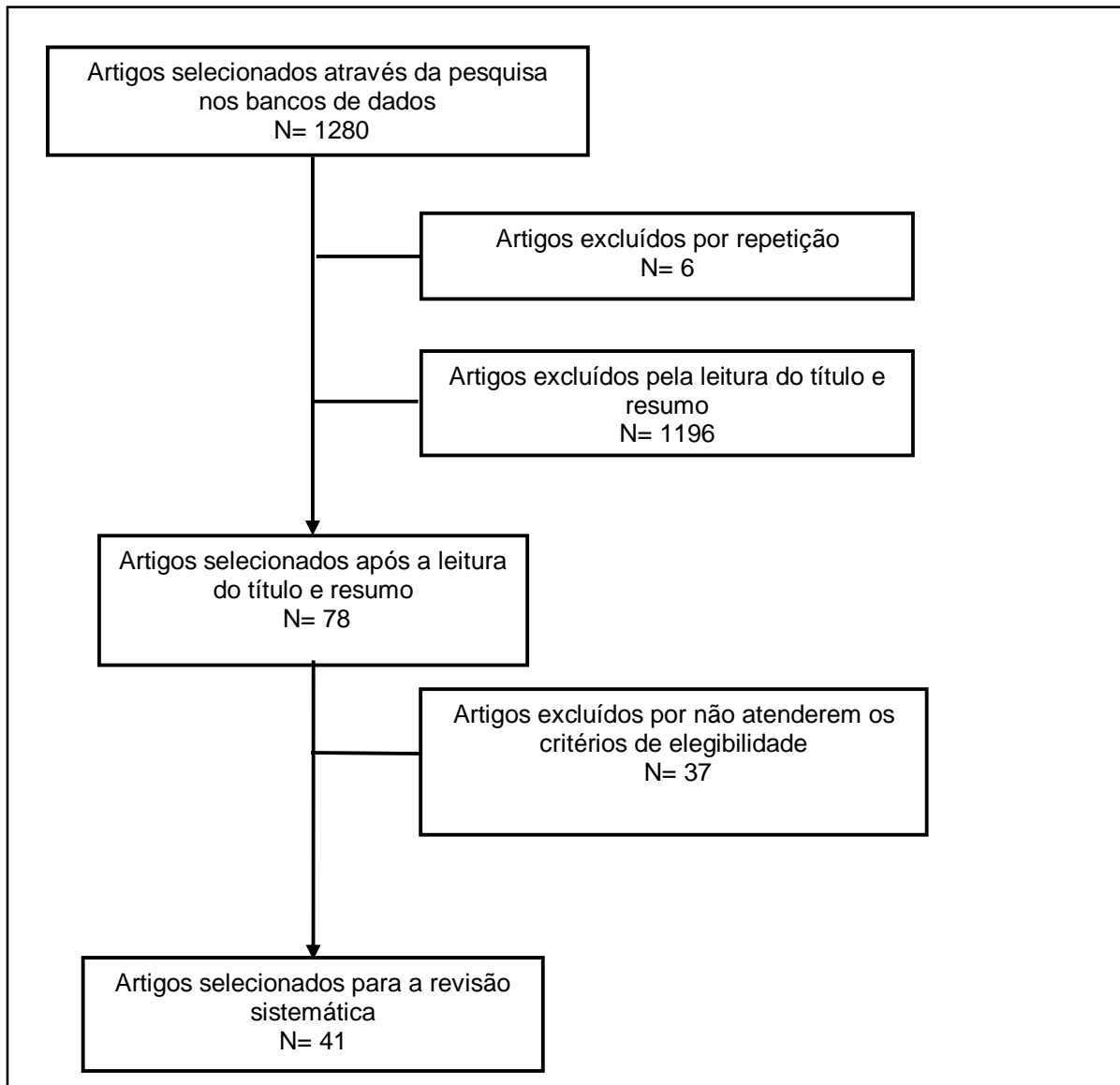


Figura 1. Fluxograma do processo de identificação e seleção dos artigos incluídos na revisão sistemática sobre os fatores de risco associados a hiperhomocisteinemia em indivíduos saudáveis, no período de 2007 a 2017.

A Tabela 1 apresenta as principais características e objetivos dos 41 artigos selecionados para esta revisão, os quais estão dispostos por ordem decrescente do ano de publicação.

A maioria dos estudos foi realizado no continente Asiático e na Europa, seguidos da América do Sul, América do Norte e África e todos foram publicados do ano de 2007 a 2015. O tamanho amostral variou de 100 a 10 601 indivíduos e dentre

os trabalhos selecionados, 85% tratavam-se de delineamentos transversais, dois estudos de intervenção, dois de caso-controle, um longitudinal e uma metanálise. Foram realizados com indivíduos de ambos os sexos, com exceção de sete artigos que avaliaram apenas mulheres e dois apenas homens (Tabela 1).

Foram avaliados como fatores de risco mais frequentemente associados às concentrações de homocisteína em indivíduos saudáveis as variáveis sócio demográficas, antropométricas, bioquímicas e comportamentais.

Discussão

A hiperhomocisteinemia é uma condição complexa e multifatorial e seus contribuintes ambientais e genéticos continuam a ser identificados.

A prevalência de hiperhomocisteinemia é mais elevada nos indivíduos com idade mais avançada (Henriquez et al. 2007; Lopes et al. 2015) e concentrações de homocisteína foram positivamente correlacionadas com a idade (Almeida et al. 2008; Ganji e Kafai 2009; Tanaka et al 2014; Nakazato et al. 2011; Huang et al. 2011; Kim et al. 2010; Chen et al. 2011; Elshorbagy et al. 2008). Entretanto, esse efeito da progressão da idade sobre os níveis de homocisteína foi limitado às mulheres em algumas investigações (Zhang et al. 2014; Liu et al. 2015).

Estudo de coorte mostrou que ao longo da vida ocorreram aumentos graduais nas concentrações de homocisteína, embora os motivos para esses aumentos em função da idade ainda não sejam bem compreendidos (Must et al. 2003). Uma das possíveis causas que explica essa relação é a diminuição fisiológica da função renal (Norlund et al. 1998), uma vez que nos rins ocorrem as reações de transulfuração, na qual a homocisteína é hidrolisada a cisteína e α -cetobutirato, principal via metabólica de degradação da homocisteína (Lopes et al. 2010).

Além disso, a deficiência de cobalamina possivelmente contribui para o aumento das concentrações de homocisteína, devido à má absorção desta vitamina pelo envelhecimento (Van Asselt et al. 1998) e mais raramente a diminuição das atividades enzimáticas que metabolizam a homocisteína (Gartler et al. 1981).

Como citado anteriormente, alguns estudos descreveram o aumento na prevalência de hiperhomocisteinemia relacionado a idade somente entre mulheres (Zhang et al. 2014; Liu et al. 2015), sendo sugerida a influência dos hormônios nas

concentrações de homocisteína ocasionadas pela menopausa, uma vez que concentrações superiores foram encontradas em mulheres pós-menopáusicas em comparação com mulheres pré-menopáusicas (Morris et al. 2000) e estas concentrações foram reduzidas em resposta à reposição de terapia hormonal (Mijatovic et al. 1998; Mijatovic et al. 1998). Contudo, os mecanismos ainda não são totalmente conhecidos, em mulheres pré-menopáusicas foi descrito a existência de maior transaminação da metionina, o que contribuiria para manter os valores de homocisteína mais baixos (Blom et al. 1988).

Em praticamente todos os estudos analisados, as concentrações da homocisteína foram superiores no sexo masculino quando comparado ao sexo feminino (Henriquez et al. 2007; Ganji e Kafai 2009; Nabipour et al. 2009; Chew et al. 2011; Nakazato et al. 2011; Huang et al. 2011; Ye et al. 2010; Elshorbagy et al. 2008; Zang et al. 2014; Kim et al. 2010; Moon, 2011, Qu, 2010, Liu, 2015; Chen CW, 2008). Em estudo longitudinal foi observada esta diferença entre os sexos nos dois períodos do estudo, com os homens apresentando maiores médias de homocisteína no período basal e após 10 anos de seguimento (Varela-Moreiras et al. 2007). Prevalências mais elevadas de hiperhomocisteinemia também foram observadas nos homens em relação as mulheres (Lopes et al. 2015; Zang et al. 2014; Kim et al. 2010; Chen et al. 2011) e após análise de regressão múltipla os homens apresentaram 2,39 (Qu et al. 2010) a 5,70 (Moon et al. 2011) vezes maiores chances de ter hiperhomocisteinemia.

O sexo está entre os principais fatores fisiológicos determinantes das concentrações de homocisteína, sendo descrito que homens saudáveis apresentam, em média, concentrações 21% superiores quando comparados às mulheres (Henriquez et al. 2007). Essa diferença entre os sexos pode ser explicada em parte pelas concentrações significativamente mais baixas de folato sérico (Huang et al. 2011; Kim et al. 2010) e vitamina B₁₂ em homens em comparação com as mulheres (Kim et al. 2010). No entanto, as diferenças nas concentrações de homocisteína de homens e mulheres permaneceram significativas mesmo após o controle dos níveis séricos (Kim et al. 2010) e ingestão (Henriquez, 2007) de folato e vitamina B₁₂, dessa forma fatores genéticos também podem está envolvidos (Henriquez et al. 2007). Outros fatores, como os hormônios sexuais, massa muscular e síntese de creatina fosfato também podem contribuir para a diferença entre os sexos nas concentrações de homocisteína (Refsum et al. 2006). Mecanismos adicionais sugerem atividade

reduzida da enzima cistationina β sintetase nos homens, levando a concentrações mais elevadas de homocisteína por conversão diminuída desta para cisteína na via de transulfuração (Vitvitsky et al. 2007).

No que se referem à raça os resultados ainda não são conclusivos uma vez que poucos estudos buscaram avaliar a influência da etnia na concentração de homocisteína (Ganji e Kafai 2009; Van Driel et al. 2009, Chew et al. 2011). Ganji e Kafai (2009) demonstraram maiores concentrações de homocisteína em brancos não hispânicos comparado a negros não hispânicos, apesar da deficiência de folato ter sido maior entre os negros. Em contra partida, os brancos apresentaram além de maior deficiência de cobalamina, ajustada para sexo e idade, maiores prevalências de polimorfismos genéticos da MTHFR. Os polimorfismos genéticos reduzem a atividade da enzima MTHFR, responsável por converter N5 N10 metilenetetra-hidrofolato em 5-metiltetra-hidrofolato, que é um doador de metilo para remetilação de homocisteína para metionina. Ainda na via de remetilação a cobalamina atua como cofator (Ganji e Kafai 2009; Lopes et al. 2010).

Determinantes sociais da concentração de homocisteína veem sendo estudados, tais como escolaridade e renda familiar (Lopes et al. 2010; Qu et al. 2010; Liu et al. 2015), sendo reportado que indivíduos com baixo nível educacional apresentaram menores médias de homocisteína comparados aos indivíduos com mais anos de estudo, na região Sul da China (Qu et al. 2010), conflitando com outros achados que demonstraram que os indivíduos de menor escolaridade apresentaram maiores riscos para hiperhomocisteinemia (Liu et al. 2015). Em relação a renda, indivíduos do menor estrato de renda familiar per capita, inferior a um salário mínimo, apresentaram maiores prevalências de hiperhomocisteinemia em estudo de base populacional em São Paulo, Brasil (Lopes et al. 2015).

Os fatores socioeconômicos são importantes e consistentes preditores de morbimortalidade, de acordo com a literatura (Lantz et al. 2001). No entanto, ainda são poucos e conflitantes os estudos que investigaram a influência de variáveis socioeconômicas na concentração de homocisteína, dificultando assim a interpretação dos resultados. Liu et al. (2015) sugerem que maiores níveis educacionais e socioeconômicos implicam em mais conhecimentos sobre os cuidados com a saúde, contribuindo de forma positiva para as concentrações de homocisteína.

Evidências anteriores demonstram que os fatores de estilo de vida, como tabagismo, o consumo excessivo de álcool, inatividade física, consumo excessivo de café e baixa ingestão de folato e de vitamina B, podem ser modificadores importantes das concentrações plasmáticas de homocisteína (Varela-Moreiras et al. 2007; Kim et al. 2010; Huang et al. 2011).

O tabagismo foi associado à hiperhomocisteinemia em alguns estudos (Varela-Moreiras et al. 2007; Van Driel et al. 2009; Huang et al. 2011; Tanaka et al. 2014; Liu et al. 2015), mas não em outros (Kim et al. 2010; Lopes et al. 2015). Os mecanismos que conectam o fumo a níveis mais elevados de homocisteína não estão totalmente compreendidos, mas possivelmente estão relacionados a menores níveis circulantes de vitaminas B₆, B₁₂ e folato, nutrientes envolvidos em seu metabolismo (McCarty et al. 2000), além da menor atividade da metionina sintase (Frasca et al. 1986). Postula-se que o tabagismo pode reduzir a disponibilidade de folato para remetilação da homocisteína para metionina (DeBree et al. 2002). Outra hipótese proposta indica que o tabagismo induz efeitos locais nas células expostas à fumaça do cigarro, podendo influenciar as concentrações de homocisteína ao mudar o estado de redox do tiol plasmático ou inibir enzimas no metabolismo da homocisteína (DeBree et al. 2002).

No que se refere ao consumo de bebidas alcoólicas, os resultados são pouco conclusivos, sobretudo pela variação metodológica relativa à quantificação e frequência da ingestão de álcool e ao tipo de bebida alcoólica consumida, além de metodologias inadequadas que não avaliaram fatores de confusão como café, ingestão de proteínas, estado de piridoxina ou betaína e variações genéticas (Varela-Moreiras et al. 2007). Alguns estudos têm demonstrado que o consumo de álcool apresentou associação com a hiperhomocisteinemia (Varela-Moreiras et al. 2007; Huang et al. 2011; Liu et al. 2015; Lopes et al. 2015), sendo descrito ainda uma associação positiva em bebedores frequentes de destilados e vinho, o que não foi evidenciado entre os bebedores frequentes de cerveja (Varela-Moreiras et al. 2007).

Essa possível relação tem sido explicada pela interferência do álcool no ciclo da metionina (Halsted et al. 1996) e pela ação antagônica no metabolismo do folato (Koehler et al. 2001). Mecanismos adicionais propostos sugerem que o consumo de álcool pode estar relacionada a 5-metiltetra-hidrofolato e alteração na via de remetilação associada a polimorfismos genéticos (Vinukonda et al. 2009) ou depleção

de vitamina B induzida pelo etanol e interferência do álcool na absorção intestinal de folato (DeBree et al. 2002; Halsted et al. 2002).

Alguns estudos, no entanto, não mostraram efeito do consumo de álcool sobre a homocisteinemia (Henriquez et al. 2007; Kim et al. 2010; Tanaka et al. 2014; Lopes et al. 2015) e um resultado apontou associação inversa entre os níveis de homocisteína e o consumo de álcool (Qu et al. 2010). Alguns autores discutem ainda um efeito ambíguo do álcool em relação à homocisteína, exercendo efeito protetor quando ingerido moderadamente e efeito prejudicial quando consumido em excesso (Lai et al. 2008).

Embora essa relação tenha sido pouco explorada e os resultados sejam inconsistentes, a atividade física também tem sido descrita como um possível determinante indireto dos níveis de homocisteína produzindo efeitos benéficos. As concentrações de homocisteína seriam inversamente relacionadas ao nível de atividade física (Liu et al. 2015). Contudo, o mecanismo biológico através do qual a atividade física diminui os níveis de homocisteína continua a ser determinado, mas é possível que essa relação seja modulada por fatores genéticos (Huang et al. 2011) ou que os indivíduos mais fisicamente ativos acumulem mais hábitos saudáveis, associados a uma melhor nutrição e menor exposição ao estresse oxidativo (Liu et al. 2015). O efeito protetor da atividade física sobre a hiperhomocisteinemia não foi encontrado por alguns autores (Kim et al, 2010; Huang et al. 2011).

Ainda não está claro o efeito do café sobre a homocisteinemia e os resultados disponíveis são controversos. Os estudos projetados para examinar essa relação diferem consideravelmente em relação ao tipo de café consumido, à forma de preparação, às quantidades ingeridas, ao tipo de estudo e o tempo de intervenção, fatores que dificultam análises comparativas e a emissão de conclusões mais definitivas. Embora alguns autores tenham reportado elevação nos níveis de homocisteína em associação ao consumo de café (Ulvik et al. 2008), outros estudos demonstraram que seu consumo não representou risco para alterações da homocisteinemia (Henriquez et al. 2007; Agudelo et al. 2008; Kim et al. 2010).

A associação da hiperhomocisteinemia com o consumo de café tem sido atribuída ao teor de cafeína, no entanto, já foi demonstrado que este pode não ser o único composto responsável e que outras substâncias, como o ácido clorogênico e diterpenos, também podem participar desse aumento (Olthof et al. 2001; Agudelo et

al. 2008). Outra hipótese postulada para explicar o incremento nos níveis de homocisteína decorrente do consumo de café seria a diminuição no folato plasmático, possivelmente causada por efeitos da cafeína na excreção renal (Ulvik et al. 2008).

Fatores dietéticos como ingestão insuficiente de folato, vitaminas B₆ e B₁₂ podem contribuir para a elevação das concentrações plasmáticas da homocisteína como verificado em vários estudos (Henriquez et al. 2007; Hoey et al. 2007; Stea et al. 2009; Lopes et al. 2015). Em estudo realizado na Espanha, mulheres apresentaram correlação inversa entre a ingestão de folato e as concentrações de homocisteína e nos homens a prevalência de hiperhomocisteinemia foi maior nos menores quartis de ingestão de folato (Henriquez et al. 2007). Corroborando com esses achados, foram descritas concentrações plasmáticas de homocisteína de 2 µmol/L mais baixas em indivíduos com ingestão mais alta de alimentos fortificados com ácido fólico do que em não-consumidores (Hoey et al. 2007). Em população de adultos jovens (18-26 anos) foi verificado que o aumento no consumo de folato a partir do pão integral foi inversamente associado as concentrações de homocisteína (Stea et al. 2009).

Possíveis explicações para estas associações referem-se a compostos inter-relacionados no ciclo metabólico da homocisteína (Lopes et al. 2015). A metilação de homocisteína em metionina tem o folato e vitamina B₁₂ como coenzimas, e a transulfuração da homocisteína para cisteína tem como coenzima a vitamina B₆ (Lopes et al. 2010).

Entretanto, algumas investigações não evidenciaram associação significativa entre a ingestão das vitaminas B₆ (Ye et al. 2010) após ajuste para fatores de confusão, vitamina B₁₂ (Henriquez et al. 2007) ou apresentaram correlação fraca entre ingestão das vitaminas e as concentrações plasmáticas de homocisteína (Yoshino et al. 2010).

Alguns estudos buscaram avaliar a associação entre o consumo de frutas e vegetais e risco de doença cardiovasculares a partir de indicadores como homocisteína (Bermejo et al. 2007; Aparicio et al. 2010) e descreveram correlação negativa entre o consumo de frutas e vegetais (> 400g/dia) e as concentrações de homocisteína (Bermejo et al. 2007; Aparicio et al. 2010), além de maiores médias de homocisteína terem sido descritas naqueles com consumo inferior a 400g/dia (Aparicio et al. 2010). Também foram observadas maiores concentrações de folato sérico e eritrocitário nos indivíduos de maior consumo de frutas e vegetais, sugerindo a

importância da intervenção nutricional no sentido de se estimular o consumo deste grupo de alimentos.

Além de confirmar os achados acima, com medianas de folato, vitamina B₆ e vitamina B₁₂ estatisticamente menores nos indivíduos com hiperhomocisteinemia, Lopes et al (2015) sugerem que maiores ingestões de colina e betaína dietéticas estejam relacionadas a menores concentrações de homocisteína. Na Grécia, em estudo com mais de 3000 adultos de ambos os sexos foi verificado comportamento semelhante com concentrações de homocisteína 10% inferior nos indivíduos que consumiam mais de 360 mg/d de betaína (Detopolou et al. 2008).

Uma vez que a via de remetilação da homocisteína à metionina, na condição de deficiência de folato, pode ficar dependente de betaína como doadora do grupo metil, esta relação seria esperada. A betaína é obtida pela ingestão de alimentos fontes ou a partir da oxidação de seu precursor, a colina, que pode remetilizar a homocisteína por reação catalisada pela enzima betaína-homocisteína-metiltransferase (Lopes et al. 2015). Contudo, mais estudos são necessários para confirmar o efeito protetor do consumo de alimentos fontes de betaína e colina.

Os resultados acerca da relação entre o estado nutricional e as concentrações de homocisteína ainda são controversos. Muitas investigações não demonstraram associação entre diferentes variáveis antropométricas analisadas e as concentrações de homocisteína (Henriquez et al. 2007; Elshorbagy et al. 2008; Ganji e Kafai 2009; Mota et al. 2009; Kim et al. 2010; Meertens et al. 2011; Nakazato et al. 2011; Lopes et al. 2015). Alguns estudos, no entanto, mostraram correlações positivas entre as concentrações de homocisteína e as variáveis antropométricas, como IMC e circunferência da cintura (CC), além de verificar após análise de regressão logística um risco 3,2 vezes maior de hiperhomocisteinemia nos indivíduos com obesidade abdominal (Vayá et al. 2012). Mehmetoglu et al. (2012) em estudo caso-controle encontraram correlação positiva entre as concentrações de homocisteína e IMC, CC, Razão cintura quadril (RCQ) e peso, apenas nos indivíduos de peso normal. Investigação na China demonstrou correlação fraca entre as concentrações de homocisteína e IMC e CC (Liu et al. 2015).

Uma possível explicação para maiores concentrações de homocisteína em indivíduos com excesso de peso ou acúmulo de gordura abdominal, que pressupõem desequilíbrios alimentares, seria atribuída a ingestões insuficientes de ácido fólico

(Tungtrongchitr et al. 2003). Em estudo realizado com mulheres em idade reprodutiva o IMC associou-se positivamente com as concentrações de SAM (van Driel et al. 2009), um intermediário da via de transmetilação, principal via de síntese da homocisteína (Lopes et al. 2010), entretanto os autores não encontraram explicações para estes achados. Estudos adicionais sobre a associação entre variáveis antropométricas e metabolismo da homocisteína tornam-se necessários para elucidar essa possível relação.

O folato sérico, folato eritrocitário e a vitamina B₁₂ sérica veem sendo demonstrados como bons preditores de homocisteinemia (Hoey et al. 2007; Varela-Moreiras et al. 2007; Almeida et al. 2008; Qu et al. 2010; Kim et al. 2010; Chew et al. 2011; Moon et al. 2011; Zang et al. 2014; van Driel, 2009; Abbenhardt et al. 2014; Lopes et al. 2015), embora muitas vezes divergentes quando analisados por gênero (Henriquez et al. 2007).

Em estudo longitudinal realizado com idosos na Europa, até 12% da variação observada na concentração plasmática de homocisteína foram explicadas pelas baixas concentrações de folato sérico e vitamina B₁₂ (Varela-Moreiras et al. 2007). Evidências semelhantes foram descritas em outras populações com concentrações médias de homocisteína e presença de hiperhomocisteinemia mais elevadas nos menores quartis de folato sérico em ambos os sexos, sendo este considerado um dos melhores preditores de homocisteína no estudo. Em relação a vitamina B₁₂, apenas entre os homens foi verificado maior prevalência de hiperhomocisteinemia nos menores quartis da vitamina. As concentrações plasmáticas de homocisteína foram significativamente mais elevadas nos menores quartis de folato eritrocitário apenas no sexo feminino, enquanto as prevalências de hiperhomocisteinemia estiveram mais elevadas nos menores quartis de folato eritrocitário em ambos os sexos (Henriquez et al. 2007).

Em estudo desenvolvido na Coréia, as deficiências tanto de folato quanto da vitamina B₁₂ estiveram significativamente associadas à hiperhomocisteinemia em ambos os sexos (Kim et al. 2010). Além disso, o risco de hiperhomocisteinemia foi significativamente aumentado quando o folato sérico e a vitamina B₁₂ eram simultaneamente deficientes, com risco de hiperhomocisteinemia de 31,7 vezes maior quando comparado a indivíduos sem deficiência dessas vitaminas, ajustado para sexo, idade e creatinina sérica (Kim et al. 2010). Corroborando com esses achados,

investigação em adultos coreanos revelaram após análise de regressão logística multivariada, risco de hiperhomocisteinemia significativamente associada a baixos níveis de folato sérico (OR: 10,41; IC95%: 2,33-46,61; $p=0,002$)(Moon et al. 2011).

O metabolismo da homocisteína é regulado por enzimas que utilizam ácido fólico e vitamina B₁₂ como cofatores (Selhub 1999), por isso uma relação inversa é esperada entre as concentrações da homocisteína e estas vitaminas. Como demonstrado no estudo de Kim et al (2010), as concentrações séricas das vitaminas parecem ser fortes determinantes, entretanto o risco de hiperhomocisteinemia não pode ser explicado por um único fator. A homocisteína aumentou com a idade, independentemente dos níveis séricos de folato e vitamina B₁₂ e as diferenças nas concentrações de homocisteína entre os sexos permaneceram após o controle de folato e vitamina B₁₂ séricos (Kim et al. 2010).

Em contrapartida, estudo de intervenção com diferentes doses de café, não verificou mudanças significativas nas concentrações de homocisteína após intervenção naqueles com folato eritrocitário normal ou deficiente no período basal. Entretanto, o estudo apresentou limitações metodológicas como o tempo da intervenção, tamanho da amostra e doses do café (Agudelo et al. 2008). Outros estudos descreveram correlações muito fracas da homocisteína com os níveis séricos de folato (Bermejo et al. 2007; Ganji e Kafai 2009; Yoshino et al. 2010; Nakazato et al. 2011; Mehmetoglu et al. 2012; Vayá et al. 2012), vitamina B₁₂ (Bermejo et al. 2007; Ganji e Kafai 2009; Mehmetoglu et al. 2012; Yoshino et al. 2010; Tanaka et al. 2014), vitamina B₆ (Almeida et al. 2008; Varela-Moreiras et al. 2007; Hoey et al. 2007; Yoshino et al. 2010;) e folato eritrocitário (Ganji e Kafai 2009; Nakazato et al. 2011). A fraca correlação entre o folato sérico e a homocisteinemia possivelmente estaria justificada pela baixa frequência de deficiência do folato nas populações estudadas, após política de obrigatoriedade de fortificação dos alimentos com ácido fólico, o que contribuiu para o estado da vitamina B₁₂ emergir como fator determinante da hiperhomocisteinemia (Ganji e Kafai 2009; Green e Miller 2005). Estudos sugerem as concentrações plasmáticas de homocisteína como um marcador bioquímico na avaliação do impacto da fortificação do ácido fólico em nível populacional (Ganji e Kafai 2009).

Poucos estudos buscaram investigar outros possíveis fatores determinantes para as concentrações de homocisteína (Chen et al. 2008; Elshorbagy et al. 2008;

Ganji e Kafai 2009; Kim et al. 2010; Mehmetoglu et al. 2012; Vayá et al. 2012; Delisle et al. 2013; Huang et al. 2013; Sengwayo et al. 2013; Abbenhardt et al. 2014; Tanaka et al. 2014). Dentre esses a proteína C reativa (PCR), perfil lipídico e creatinina (Ganji e Kafai 2009; Kim et al. 2010; Vayá et al. 2012) foram os mais estudados em indivíduos saudáveis. A PCR apresentou associação positiva com a concentração de homocisteína em análises multivariadas, além disso, também foi descrita a associação inversa significativa entre cisteína e PCR, um achado interessante, porque a cisteína é sintetizada na via de transulfuração da homocisteína (Abbenhardt et al. 2014). Em mulheres com idade mais avançada foram descritas maiores médias de PCR nos tercís mais altos de homocisteína (Tanaka et al. 2014). Em estudo de caso-controle com obesos mórbidos as concentrações de homocisteína apresentaram correlação direta e significativa com a PCR (Vayá et al. 2012).

Sabidamente a PCR é descrita como um marcador inflamatório e a homocisteína vem sendo descrita como um preditor importante para doença cardiovascular, uma condição conhecida por estar associada com um processo inflamatório crônico (Ross 1999), por isso esta relação direta era esperada. Entretanto, em estudo realizado em adultos jovens taiwaneses essa tendência não foi observada (Chen et al. 2008).

Quanto ao perfil lipídico os estudos ainda são controversos, com resultados que demonstraram tendência decrescente do HDLc nos maiores tercís de homocisteína em mulheres idosas (Tanaka et al. 2014) e correlações positivas significativas entre a homocisteína e o colesterol total, LDLc, ácidos graxos w-6 em adultos obesos (Mehmetoglu et al. 2012), além de maiores médias de homocisteína em indivíduos com níveis baixos de HDLc (Nabipour et al. 2009). Contudo, investigações realizadas na África em adultos de ambos os sexos não verificaram associação da homocisteína e componentes do perfil lipídico como HDLc (Deslile et al. 2013) e colesterol total e triglicerídeos (Sengwayo et al. 2013). Em estudo de caso-controle, na Turquia foi encontrada fraca correlação inversa entre o HDLc e w-3 com as concentrações de homocisteína no grupo controle (Mehmetoglu et al. 2012).

Estudos tem buscado investigar as associações entre ácidos graxos com marcadores de inflamação uma vez que estes tem se associado ao desenvolvimento e progressão da aterosclerose (Kalogeropoulos et al. 2010). Estas investigações sugerem a hipótese de que o efeito do ω -3 no metabolismo da homocisteína esteja

relacionado à modulação da expressão gênica de enzimas envolvidas na síntese da homocisteína (Berstad et al. 2007), contribuindo para diminuição da concentração de homocisteína. Kalogeropoulos et al. (2010) descobriram que a proporção ω -6/ ω -3 do plasma estava positivamente associada aos níveis de homocisteína em indivíduos saudáveis.

Em relação a creatinina o estudo de Kim et al. (2010) merece atenção por descreverem risco de hiperhomocisteinemia aproximadamente 20 vezes maior em indivíduos com creatinina elevada quando comparado a indivíduos com níveis normais.

Indicadores como taxa de filtração glomerular (Tanaka et al. 2014), cisteína (Elshorbagy et al. 2008; Abbenhardt et al. 2014), ácido úrico (Tanaka et al. 2014), ácido metilmalônico (marcador sensível da deficiência da vitamina B₁₂) (Ganji e Kafai 2009), glicemia (Nabipour et al. 2009; Mota et al. 2009; Vayá et al. 2012; Sengwayo et al. 2013), hemoglobina glicada, vitamina D, hormônio de paratireoide, cálcio sérico (Tanaka et al. 2014), amiloide A sérico (Abbenhardt et al. 2014) foram analisados por poucos dos estudos desta revisão, sendo insuficientes para uma discussão em torno destes possíveis fatores de risco para hiperhomocisteinemia.

A maioria dos estudos encontrados para esta revisão foram de desenho transversal, o que torna difícil a análise da causalidade. Outros pontos que limitaram as conclusões dos artigos foram os tamanhos amostrais, diferentes métodos utilizados para determinar a concentração de homocisteína, não uniformidade nos pontos de corte para hiperhomocisteinemia. Assim, a comparação entre os estudos parece difícil e requer cautela nas conclusões e recomendações acerca dos determinantes da homocisteína em indivíduos saudáveis.

Os resultados relativos à influência das variáveis de estilo de vida sobre os níveis de homocisteína são inconsistentes. Aumento da idade, sexo masculino, deficiência de folato sérico, deficiência de vitamina B₁₂ e aumento da creatinina sérica parecem ser determinantes importantes das concentrações de homocisteína em indivíduos saudáveis. Vale reforçar que quanto mais fatores de risco um indivíduo apresentar, maior será o risco de hiperhomocisteinemia.

Diante do exposto, esta revisão indica que para uma melhor compreensão das relações complexas entre os possíveis determinantes e a concentração de homocisteína exigirá estudos adicionais para alcançar evidências mais conclusivas.

No entanto, é evidente a importância da construção e ou manutenção de diretrizes políticas que visem mudanças no estilo de vida da sociedade tais como o estímulo ao consumo diário de frutas e verduras, prática de exercício físico regular, desencorajar o tabagismo e consumo excessivo de bebidas alcoólicas objetivado a prevenção de muitas doenças crônicas não transmissíveis.

Tabela 1. Características dos estudos sobre fatores de risco associados à hiperhomocisteinemia em indivíduos saudáveis, publicados no período de 2007 a 2017.

Referências	Local, ano	Delineamento	População (n)	Características da população	Variáveis analisadas	Objetivos
Liu XD et al.	China, 2015	Transversal	2645	Faixa etária: ≥ 20 anos Idade média: 43,57 ± 13,49 anos 60,6% F; 39,4% M	Sexo, idade, tabagismo, consumo de álcool, IMC, atividade física, escolaridade	Investigar a prevalência de hiperhomocisteinemia e seus principais determinantes em chineses saudáveis.
Lopes RVC et al.	Brasil, 2015	Transversal	584	Faixa etária: ≥ 20 anos Idade média: 55,0 ± 19, 0 anos 62% F; 38% M	Sexo, idade, tabagismo, consumo de álcool, IMC, escolaridade, renda, variáveis dietéticas, concentrações séricas: folato, vitamina B6, vitamina B12.	Avaliar a ingestão de betaina e colina e sua relação com a homocisteína em residentes do município de São Paulo.
Zhang W et al.	China, 2014	Transversal	1845	Faixa etária: ≥ 55 anos 53,7%F; 46,3%M	Sexo, Idade, concentrações séricas: folato e vitamina B12.	Descrever o estado nutricional de pessoas idosas que vivem em uma área rural do norte da China.
Abbenhardt C et al.	EUA, 2014	Transversal	1976	Faixa etária: 50-79anos Idade média: 67 ± 7 anos 100% F	Concentrações séricas: folato, vitamina B12, folato eritrocitário, PCR, amiloide A sérico, cisteína.	Explorar associações entre inflamação e biomarcadores de estado nutricional e metabolismo de um carbono.
Tanaka S et al.	Japão, 2014	Transversal	713	Idade média: 65,1 ± 9,8 anos 100%F	Idade, tabagismo, consumo de álcool, IMC, CC, concentrações séricas: folato, vitamina B12, cálcio, hemoglobina glicada, vitamina D, LDLc, HDLc, TG, TFG, hormônio de paratireóide, PCRus, ácido úrico, hipertensão, dislipidemia, diabetes tipo 2.	Identificar determinantes da homocisteína em mulheres japonesas pós-menopáusicas.
Murakami K et al.	Japão, 2014	Transversal	1050	Faixa etária: 18 a 22 anos Idade média: 19,6 ± 1,1 anos 100%F	Índice glicêmico e carga glicêmica da dieta	Investigar a associação entre o índice glicêmico e carga glicêmica da dieta com a concentração de homocisteína sérica em um grupo de jovens japonesas.
Delisle H et al.	África, 2013	Transversal	541	Faixa etária: 25 a 60 anos 49,9% F; 50,1% M	Sexo, HDLc	Avaliar a associação dos níveis de HDLc com variáveis dietéticas e outros fatores de risco cardiometabólicos (componentes da síndrome metabólica e hiperhomocisteinemia).
Sengwayo D et al.	África do Sul, 2013	Transversal	382	Idade média: 38,45 ± 17,28 anos 74,8%F; 25,1%M	Glicemia, TG, CT, PA sistólica, PA diastólica, obesidade.	Avaliar a associação da homocisteína com a síndrome metabólica e seus componentes em população sem doença cardiovascular.
Murakami K et al.	Japão, 2013	Transversal	1050	Faixa etária: 18 a 22 anos Idade média: 19,6 ± 1,1 anos 100%F	Vitaminas B, gorduras, alimentos	Avaliar a ingestão de nutrientes e a possível associação com a homocisteína sérica em um grupo de jovens japonesas.

Referências	Local, ano	Delineamento	População (n)	Características da população	Variáveis analisadas	Objetivos
Huang T et al.	China, 2013	Transversal	231 103 vegetarianos 128 onívoros	Idade média: vegetarianos: 40 ± 10anos onívoros: 44± 8anos 100% M	Dieta vegetariana e onívora, concentrações séricas: folato, vitamina B12, perfil plasmático dos ácidos graxos	Investigar o perfil dos ácidos graxos plasmáticos e sua associação com homocisteína em vegetarianos e onívoros chineses.
Obersby D. et al.	Reino Unido, 2013	Metanálise	3230	Faixa etária: 22 a 59 anos ambos os sexos	Dieta vegetariana, lactoovovegetariana e onívora	Compararam os níveis de homocisteína e vitamina B12 de vegetarianos e onívoros
Mehmetoglu I et al.	Konya, Turquia, 2012	Caso-controle	161 95 obesos graves 66 controles	Faixa etária: 21 a 60 anos ambos os sexos	IMC, CC, CC/CQ, concentrações séricas: folato, vitamina B12., w-3, w-6, w-3/w-6, CT, LDLc, HDLc	Avaliar a associação das concentrações plasmáticas de ω -3 e ω -6 com outros fatores de risco para doença arterial coronariana, incluindo concentrações séricas de homocisteína em obesos e indivíduos de peso normal.
Vaya A et al.	Espanha, 2012	Caso-controle	132 66 obesos graves 66 controles	Idade média obesos: 41 ± 12 anos/ controles: 45 ± 11 anos ambos os sexos	IMC, CC, folato sérico, glicemia, PCR, leptina, creatinina, fibrinogenio.	Investigar o efeito dos componentes da síndrome metabólica nas concentrações de homocisteína em obesos mórbidos e indivíduos com peso normal.
Meertens L et al.	Venezuela, 2011	Transversal	128	Faixa etária: 45-60 anos 100% F	IMC	Avaliar a associação dos níveis séricos de homocisteína com o estado nutricional, fatores de risco cardiometabólicos em mulheres pós menopausa.
Moon HW et al.	Coréia, 2011	Transversal	809	Faixa etária: 20 a 79 anos Idade média: 50,1 ± 13,4 anos 40,3% F; 59,7% M	Sexo, idade, tabagismo, uso de suplemento vitamínicos, atividade física, folato sérico.	Estimar o intervalo de referência da homocisteína por dois métodos de imunoensaio e demonstrar os efeitos de vários fatores nos níveis de homocisteína em uma população Coreana.
Chew SC et al.	Malásia, 2011	Transversal	100	Faixa etária: 20-45 anos Idade média: 28 anos 58%F; 42%M	Sexo, etnia, ingestão de folato, concentrações séricas: vitamina B6 e Vitamina B12.	Investigar ao efeito da ingestão do folato dietético nas concentrações sanguíneas de folato, vitamina B12, vitamina B6 e homocisteína.
Chen KJ et al.	Taiwan, 2011	Transversal	2229	Faixa etária: ≥ 65 anos 50,9% F; 49,1% M	Sexo, idade	Investigar as tendências de dez anos no estado de folato em indivíduos taiwaneses ≥19 anos por três Pesquisas de Nutrição e Saúde em Taiwan (NAHSIT) em 1993-1996, 1999-2000 e 2005-2008.
Nakazato M et al.	Japão, 2011	Transversal	434	Faixa etária: 23 a 88 anos Idade média: 63,8 ± 10,7 anos 79%F; 21%M	Sexo, idade, IMC, folato sérico, folato eritrocitário.	Avaliar a associação do índice de massa corpórea com as concentrações sanguíneas de folato e homocisteína.
Huang T et al.	Boston, 2011	Transversal	994	Faixa etária: 45 a 75 anos 70,6% F; 29,4% M	Sexo, idade, tabagismo, consumo de álcool, atividade física.	Investigar fatores genéticos e de estilo de vida e suas interações com as concentrações de homocisteína na população porto-riquenha de Boston.
Kim HJ et al.	Coréia, 2010	Transversal	871	Faixa etária: 19 a 87 anos 58,2% F; 41,8% M	Sexo, idade, IMC, tabagismo, consumo de álcool, consumo de café, atividade física, concentrações séricas: folato, vitamina B12, creatinina, , história familiar AVC, diabetes, menopausa, contraceptivo oral.	Identificar os fatores que determinam as concentrações séricas de homocisteína na população coreana.

Referências	Local, ano	Delineamento	População (n)	Características da população	Variáveis analisadas	Objetivos
Aparício A et al.	Espanha, 2010	Transversal	180	Faixa etária: ≥65 anos Idade média: 82,3±7,0 anos 65,6% F; 34,4% M	Consumo de frutas e vegetais	Determinar o estado nutricional em um grupo de idosos institucionalizados em Madrid, Espanha, em relação ao consumo de frutas e vegetais.
Qu CG et al.	China, 2010	Transversal	810	Faixa etária: 65-74 anos 50,2%F; 49,8% M	Sexo, idade, IMC, tabagismo, consumo de álcool, escolaridade, folato sérico, hipertensão, região (norte e sul da China).	Avaliar os níveis de homocisteína plasmática e as taxas de prevalência de hiperhomocisteinemia em indivíduos idosos chineses.
Ye X et al.	Boston, 2010	Transversal	1236	Faixa etária: 45-75 anos Idade média: 57,3±7,6 anos	Sexo, consumo de vitamina B6, piridoxal 5'-fosfato plasmático	Avaliar a ingestão dietética de vitamina B-6, fontes alimentares e piridoxa-5-fosfato sérico e suas associações com homocisteína.
Carter JS et al.	EUA, 2010	Transversal	13197	Faixa etária: 18 a 90 anos 44,9%F; 55,1%M	Idade, sexo, dieta mediterrânea	Avaliar associação da dieta mediterrânea com os níveis de biomarcadores aterotrombóticos na população dos EUA.
Yoshino K et al.	Japão, 2010	Transversal	579	Faixa etária: 38 a 69 anos 64,6%F; 35,4%M	Sexo, concentrações séricas: folato, vitamina B6, vitamina B12, ingestão: folato, vitamina B6, vitamina B12,	Desenvolver um breve questionário de frequência alimentar para a avaliação da ingestão de folato, vitamina B6 e vitamina B12.
Stea TH et al.	Noruega, 2009	Intervenção 5 meses	481 376 intervenção 105 controle	Faixa etária: 18 a 26 anos 100%M	Folato dietético	Estudar o efeito da intervenção dietética com alimentos fontes de folato na concentração plasmática de homocisteína.
Ganji and Kafai	EUA, 2009	Transversal	16254 NHANES 1999-2004	Faixa etária: 20 a 60 anos 48,8% F; 51,2% M	Sexo, idade, raça, IMC, tabagismo, PA, uso de suplementos vitamínicos, concentrações séricas: folato, vitamina B12, creatinina, cotinina, ácido metilmalônico, folato eritrocitário.	Investigar a relação entre a concentração plasmática da homocisteína e variáveis demográficas, estilo de vida e saúde, concentrações de vitaminas B e ácido metilmalônico no período pós fortificação com ácido fólico.
Nabipour I et al.	Peru 2009	Transversal	1754	Faixa etária: 25 a 66 anos 50,8% F; 49,2% M	Sexo, CC, glicemia, PA, TG, HDLc, síndrome metabólica.	Investigar a associação da síndrome metabólica e seus principais componentes com a homocisteína.
Mota JF et al.	Brasil, 2009	Transversal	125	Idade média: 56,0 ± 9,0 anos 72,8% F; 27,2% M	IMC, Glicemia	Investigar as associações entre estado glicêmico e as variações de indicadores pró-inflamatório e oxidante sob a influência da obesidade.
Van Driel LMJW et al.	Holanda, 2009	Transversal	336	Faixa etária: 20 a 48 anos Idade média: 32,7 (20,4-47,6) anos /100%F	Tabagismo, raça, concentrações séricas: vitamina B12, folato, folato eritrocitário, uso de suplemento, ingestão proteica.	Investigar associações entre fatores de estilo de vida, dieta e fatores genéticos e SAM, SAH, concentrações de homocisteína de mulheres em idade reprodutiva.
Almeida LC et al.	Brasil, 2008	Transversal	1434	Faixa etária: 21 a 66 anos Idade média: 38 ± 10,8 anos 100% F	Idade, tabagismo, concentrações séricas: folato, vitamina B6, vitamina B12, história de aborto, ciclo menstrual.	Analisar fatores sociodemográficos, de estilo de vida e gineco obstétricos associados às concentrações séricas das vitaminas B12, Vitamina B6, folato e da homocisteína em mulheres atendidas em serviço de referência em saúde da mulher.

Referências	Local, ano	Delineamento	População (n)	Características da população	Variáveis analisadas	Objetivos
Agudelo GM et al.	Colombia 2008	Intervenção 6 semanas	116 4 grupos de 29 indivíduos	Faixa etária: 25-55 anos Ambos os sexos	Sexo, folato eritrocitário, consumo de café.	Determinar a variação de concentrações plasmáticas de homocisteína e pressão sanguínea em um grupo de voluntários saudáveis, submetidos ao consumo de diferentes doses de café (200,400 e 600ml/dia).
Chen CW et al.	Taiwan, 2008	Transversal	198 99 vegetarianos 99 onívoros	Faixa etária: ≥ 20 anos ambos os sexos	Sexo, dieta vegetariana e onívora, PCRus	Avaliar o perfil de risco cardiovascular de vegetarianos Taiwaneses.
Detopoulou P. et al.	Grécia, 2008	Transversal	3042	Faixa etária: 18-89 anos 50,2% F; 49,8%M	Consumo de betaina e colina	Investigar as associações entre consumo de colina e betaina na dieta e vários marcadores de inflamação sistêmica de baixo grau.
Ulvik A et al.	Noruega, 2008	Transversal	10 601	Faixa etária: 50 a 64 anos Idade média: 56 anos 50,7%F ; 49,3%M	Folato sérico, consumo de café.	Avaliar a associação entre consumo de café e folato sérico, piridoxal-5-fosfato, ribiflavina, cobalamina, homocisteína.
Elshorbagy AK et al.	Noruega, 2008	Transversal	7038	Faixa etária: 47 a 73 anos 55,6%F; 44,4%M	Sexo, idade, IMC, massa gorda, massa magra, cisteína.	Estudar associações de cisteína e homocisteína com composição corporal na população em geral.
Varela-Moreiras G et al.	Europa 2007	Longitudinal prospectivo 10 anos	2100	Faixa etária: 80 a 85 anos Idade média: 73 ± 1,8 anos 52% F; 48% M	Sexo, tabagismo, quantidade e tipo de bebida alcoólica, concentrações séricas: folato , vitamina B6, vitamina B12.	Determinar a concentração de homocisteína do Estudo de SENECA basal e final (1989 vs 1999) e correlacionar com as níveis plasmáticos de folato, vitamina B12 e vitamina B6 e estilo de vida.
Henríquez P et al.	Espanha 2007	Transversal	557	Faixa etária: 18-75 anos 57,6% F; 42,4% M	Sexo, idade, tabagismo, consumo de álcool, IMC, atividade física, concentrações séricas: folato, vitamina B12, folato eritrocitário, ingestão: folato, vitamina B12, LDLc, HDLc., hipertensão.	Definir valores de referência para homocisteína plasmática e determinar suas relações com as ingestões e concentrações plasmáticas de folato e vitamina B12 em indivíduos saudáveis nas Ilhas Canárias.
Bermejo LM et al.	Espanha, 2007	Transversal	152	Faixa etária: ≥65 anos Idade média: 82 anos 64% F; 36% M	Consumo de frutas e vegetais, concentrações séricas: folato, vitamina B12.	Determinar o estado nutricional de idosos dependendo do consumo de frutas e vegetais e estudar a possível associação entre o consumo desses alimentos e diferentes fatores de risco cardiovascular, como os níveis de homocisteína.
Hoey L et al.	Reino Unido, 2007	Transversal	441	Faixa etária: 18 a 92 anos 66,7% F; 33,3% M	Sexo, concentrações séricas: folato, vitamina B6, vitamina B12, folato eritrocitário, ingestão de folato.	Avaliar o efeito da política de fortificação alimentar sobre a ingestão dietética e status de biomarcador de folato e outras vitaminas B relacionadas à homocisteína em população saudável.
Sanlier N e Yabanci N	Turquia, 2007	Transversal	355	Faixa etária: 19 a 23 anos 51,6%F; 48,4%M	IMC, CC/CQ, espessura da pele, massa livre de gordura, massa gorda, circunferência muscular do braço, área muscular do braço.	Determinar os efeitos da obesidade sobre os níveis de lípidios no sangue e homocisteína dos estudantes universitários.

Referências

- Abbenhardt C, Miller JW, Song X, Brown EC, Cheng TY, Wener MH, Zheng Y, Toriola AT, Neuhaus ML, Beresford SA, Makar KW, Bailey LB, Maneval DR, Green R, Manson JE, Van Horn L, Ulrich CM (2014) Biomarkers of one-carbon metabolism are associated with biomarkers of inflammation in women. *J Nutr.* 144(5):714-721.
- Agudelo GMO, Duque MR, Velásquez CMR, Cardona OLH, Posada MJ, Pineda VS, Orozco JMC, Suárez LEF, Echavarría EE (2008) Efecto del consumo de diferentes dosis de café filtrado sobre los niveles plasmáticos de homocisteína y presión arterial en un grupo de voluntarios sanos. *Rev. Col. Cardiol.* 15(2): 65-74.
- Almeida LC, Tomita LY, D' Almeida V, Cardoso MA (2008). Preditores sócio demográficos, de estilo de vida e gineco-obstétricos das concentrações séricas ou plasmáticas de homocisteína, ácido fólico e vitaminas B12 e B6 em mulheres de baixa renda de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública* 24 (3): 587-596.
- Aparicio A, Andrés P, Perea JM, López-Sobaler AM, Ortega RM (2010) Influence of the consumption of fruits and vegetables on the nutritional status of a group of institutionalized elderly persons in the Madrid region. *J Nutr Health Aging* 14 (8): 615-620.
- Bermejo LM, Aparicio A, Andrés P, López-Sobaler AM, Ortega RM (2007) The influence of fruit and vegetable intake on the nutritional status and plasma homocysteine levels of institutionalised elderly people. *Public Health Nutr.* 10 (3): 266-272.
- Berstad P, Konstantinova SV, Refsum H, Nurk E, Vollset SE, Tell GS, Ueland PM, Drevon CA, Ursin G (2007) Dietary fat and plasma total homocysteine concentrations in 2 adult age groups: the Hordaland homocysteine study. *Am J Clin Nutr* 85:1598-1605.
- Blom HJ, Boers GH, Van den Elzen JP, Van Roessel JJ, Trijbels JM, Tangerman A (1988) Differences between premenopausal women and young men in the transamination pathway of methionine catabolism, and the protection against vascular disease. *Eur J Clin Invest* 18: 633-638.
- Chen CW, Lin YL, Lin TK, Lin CT, Chen BC, Lin CL (2008) Total cardiovascular risk profile of Taiwanese vegetarians. *Eur J Clin Nutr.* 62 (1): 138-144.
- Chen KJ, Pan WH, Lin YC, Lin BF (2011) Trends in folate status in the Taiwanese population aged 19 years and older from the Nutrition and Health Survey in Taiwan 1993-1996 to 2005-2008. *Asia Pac J Clin Nutr.* 20 (2): 275-282.
- Chew SC, Khor GL, Loh SP (2011) Association between dietary folate intake and blood status of folate and homocysteine in Malaysian adults. *J Nutr Sci Vitaminol* 57 (2): 150-155.

- De Bree A, Verschuren WM, Kromhout D, Kluijtmans LA, Blom HJ. (2002) Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev* 54:599–618.
- Delisle H, Ntandou G, Sodjinou R, Couillard C, Després JP (2013). At-risk serum cholesterol profile at both ends of the nutrition spectrum in West African adults? The Benin study. *Nutrients* 19;5(4):1366-1383.
- Detopoulou P, Panagiotakos DB, Antonopoulou S, Pitsavos C, Stefanadis C (2008) Dietary choline and betaine intakes in relation to concentrations of inflammatory markers in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr* 87 (2): 424-430.
- Elshorbagy AK, Nurk E, Gjesdal CG, Tell GS, Ueland PM, Nygård O, Tverdal A, Vollset SE, Refsum H (2008) Homocysteine, cysteine, and body composition in the Hordaland Homocysteine Study: does cysteine link amino acid and lipid metabolism? *Am J Clin Nutr* 88 (3): 738-746.
- Frasca V, Riazzi BS, Matthews RG (1986) In vitro inactivation of methionine synthase by nitrous oxide. *J Biol Chem* 261:15823–15826.
- Ganji V, Kafai MR (2009). Demographic, lifestyle, and health characteristics and serum B vitamin status are determinants of plasma total homocysteine concentration in the post-folic acid fortification period, 1999-2004. *J Nutr* 139(2):345-352.
- Gartler SM, Hornung SK, Motulsky AG (1981). Effect of chronologic age on induction of cystathione synthase, uroporphyrinogen I synthase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 1916–1919.
- Green R, Miller JW (2005) Vitamin B-12 deficiency is the dominant nutritional cause of hyperhomocysteinemia in a folic acid-fortified population. *Clin Chem Lab Med* 43:1048–1051.
- Halsted CH (1996) Alcohol: medical and nutritional effects. In: Ziegler EE, Filer LJ Jr, eds. *Present knowledge in nutrition*. 7th ed. Washington, pp 547-556.
- Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, Chandler CJ. (2002) Metabolic interactions of alcohol and folate. *J Nutr* 132(8 Suppl): 2367S–72S.
- Henríquez P, Doreste J, Deulofeu R, Fiuza MD, Serra-Majem L (2007). Nutritional determinants of plasma total homocysteine distribution in the Canary Islands. *Eur J Clin Nutr*. 61(1):111-118.
- Hoey L, McNulty H, Askin N, Dunne A, Ward M, Pentieva K, Strain J, Molloy AM, Flynn CA, Scott JM (2007) Effect of voluntary food fortification policy on folate, related B vitamin status, and homocysteine in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 86 (5):1405-1413.
- Huang T, Tucker KL, Lee YC, Crott JW, Parnell LD, Shen J, Smith CE, Ordovas JM, Li D, Lai CQ (2011) Interactions

between genetic variants of folate metabolism genes and lifestyle affect plasma homocysteine concentrations in the Boston Puerto Rican population. *Public Health Nutr* 14 (10): 1805-1812.

Huang T, Yu X, Shou T, Wahlqvist ML, Li D (2013) Associations of plasma phospholipid fatty acids with plasma homocysteine in Chinese vegetarians. *Br J Nutr* 109(9):1688-1694.

Kalogeropoulos N, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Rousinou G, Toutouza M, Stefanadis C (2010) Unsaturated acids are inversely associated and n-6/n-3 ratios are positively related to inflammation and coagulation markers in plasma of apparently healthy adults. *Clin. Chim. Acta* 411:584-591.

Kim HJ, Kim MK, Kim JU, Ha HY, Choi BY (2010) Major determinants of serum homocysteine concentrations in a Korean population. *J Korean Med Sci.* 25(4):509-516.

Koehler KM, Baumgartner RN, Garry PJ, Allen RH, Stabler SP, Rimm EB (2001) Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. *Am J Clin Nutr* 73(3):628-637.

Lai CQ, Tucker KL, Parnell LD, Adiconis X, García-Bailo B, Griffith J, Meydani M, Ordovás JM (2008) PPARGC1A variation associated with DNA damage, diabetes, and cardiovascular diseases: the Boston Puerto Rican Health Study. *Diabetes* 57:809–816.

Lantz PM, Lynch JW, House JS, Lepkowski JM, Mero RP, Musick MA, et al (2001) Socioeconomic disparities in health change in a longitudinal study of US adults: the role of health-risk behaviors. *Soc Sci Med* 53(1):29-40.

Liu XD, Gao B, Sun D, Shi M, Ma YY, Liu ZR, Wang B, Xu X, Xu X, Ji QH, Zhao G (2015) Prevalence of hyperhomocysteinaemia and some of its major determinants in Shaanxi Province, China: a cross-sectional study. *Br J Nutr* 113 (4): 691-698.

Lopes SLB, Lopes HHMC, Vannucchi H (2010). A hiperhomocisteinemia como fator de risco cardiovascular: perspectivas atuais. *Rev Med* 89 (1):1-11.

Lopes RVC, Castro MA, Baltar VT, Marchioni DML, Fisberg RM (2015). Betaína e Colina Dietéticas Relacionadas à Homocisteína Plasmática: Estudo de Base Populacional, São Paulo, Brasil. *Int J Cardiovasc Sci* 28 (1): 61-69.

McCarty MF (2000) Increased homocysteine associated with smoking, chronic inflammation and aging may reflect acute-phase induction of pyridoxal phosphatase activity. *Med Hypotheses* 55(4): 289-293.

Meertens L, Díaz N, Fraile C, Riera M, Rodríguez A, Rodríguez L, Solano L (2011) Estado nutricional, indicadores antropométricos y homocisteína sérica en mujeres posmenopáusicas venezolanas. *Rev. chil. nutr* 38(3): 278-284.

- Mehmetoglu I, Yerlikaya FH, Kurban S, Polat H (2012) Plasma ω -3 fatty acid levels negatively and ω -6 fatty acid levels positively associated with other cardiovascular risk factors including homocysteine in severe obese subjects. *Asia Pac J Clin Nutr* 21(4):519-525.
- Mijatovic V, Kenemans P, Jacobs C, Van Baal WM, Peters-Muller ER, Van der Mooren MJ (1998) A randomized controlled study of the effects of 17 β -o estradiol-dydrogesterone on plasma homocysteine in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 91:432-436.
- Mijatovic V, Netelenbos JC, Van der Mooren MJ, De Valkde Roo G, Jakobs C, Kenemans P (1998) Randomized, doubleblind, placebo-controlled study of the effects of raloxifene and conjugated equine estrogen on plasma homocysteine in healthy postmenopausal women. *Fertil Steril* 70:1085-1089.
- Morris MS, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH (2000). Total homocysteine and estrogen status indicators in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 152:140-148.
- Moon HW, Whang DH, Ko YJ, Joo SY, Yun YM, Hur M, Kim JQ (2011) Reference interval and determinants of the serum homocysteine level in a Korean population. *J Clin Lab Anal* 25(5):317-323.
- Mota JF, Medina WL, Moreto F, Burini RC (2009) Influência da adiposidade sobre o risco inflamatório em pacientes com glicemia de jejum alterada. *Rev. Nutr* 22(3): 351-357.
- Murakami K, Sasaki S, Uenishi K; Japan Dietetic Students' Study for Nutrition Biomarkers Group (2013) Higher intake of vitamin B-6 and dairy products and lower intake of green and oolong tea are independently associated with lower serum homocysteine concentration in young Japanese women. *Nutr Res*.33(8): 653-660.
- Murakami K, Sasaki S, Uenishi K; Japan Dietetic Students' Study for Nutrition and Biomarkers Group (2014) Dietary glycemic index, but not glycemic load, is positively associated with serum homocysteine concentration in free-living young Japanese women. *Nutr Res* 34(1): 25-30.
- Must A, Jacques PF, Rogers G, Rosenberg IH, Selhub J (2003) Serum total homocysteine concentrations in children and adolescents: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Nutr* 133: 2643-2649.
- Nabipour I, Ebrahimi A, Jafari SM, Vahdat K, Assadi M, Movahed A, Moradhaseli F, Obeidi N, Sanjdideh Z (2009) The metabolic syndrome is not associated with homocysteinemia: The Persian Gulf Healthy Heart Study. *J. Endocrinol. Invest.* 32: 406-410.

- Nakazato M, Maeda T, Takamura N, Wada M, Yamasaki H, Johnston KE, Tamura T (2011) Relation of body mass index to blood folate and total homocysteine concentrations in Japanese adults. *Eur J Nutr* 50 (7): 581-585.
- Norlund L, Grubbb A, Flex G, Leksell H, Nilsson JE, Schenck H, Hultberg B (1998) The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 36:175–178.
- Obersby D, Chappell DC, Dunnett A, Tsiami AA (2013) Plasma total homocysteine status of vegetarians compared with omnivores: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 14;109 (5):785-794.
- Olthof MR, Hollman PC, Zock PL, Katan MB (2001) Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 73: 532-538.
- Qu QG, Gao JJ, Liu JM (2010) Prevalence of hyperhomocysteinaemia in a Chinese elderly population. *Public Health Nutr.* 13(12):1974-1981.
- Refsum H, Nurk E, Smith AD, Ueland PM, Gjesdal CG, Bjelland I, Tverdal A, Tell GS, Nygård O, Vollset SE (2006) The Hordaland Homocysteine Study: A community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. *J Nutr* 136:1731S–1740S.
- Ross R (1999) Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 340:115–126.
- Selhub J (1999) Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 19: 217–246.
- Sengwayo D, Moraba M, Motaung S (2013) Association of homocysteinaemia with hyperglycaemia, dyslipidaemia, hypertension and obesity. *Cardiovasc J Afr.* 24 (7): 265-269.
- Stea TH, Uglem S, Wandel M, Mansoor MA, Frølich W (2009) Association between folate intake from different food sources in Norway and homocysteine status in a dietary intervention among young male adults. *Br J Nutr.* 102(6):899-906.
- Tanaka S, Uenishi K, Yamazaki Y, Kuroda T, Shiraki M (2014) Low calcium intake is associated with high plasma homocysteine levels in postmenopausal women. *J Bone Miner Metab.*32(3):317-323.
- Tungtrongchitr R, Pongpaew P, Tongboonchoo C, Vudhivai N, Changbumrung S, Tungtrongchitr A, Phonrat B, Viroonudomphol D, Pooudong S, Schelp FP (2003) Serum homocysteine, B12 and folic acid concentration in Thai overweight and obese subjects. *Int J Vitam Nutr Res.* 73(1): 8-14.
- Ulvik A, Vollset SE, Hoff G, Ueland PM (2008) Coffee consumption and circulating B-vitamins in healthy middle-aged men and women. *Clin Chem.* 54 (9):1489-1496.

Van Asselt DZ, de Groot LC, van Staveren WA, Blom HJ, Wevers RA, Biemond I, Hoefnagels WH (1998) Role of cobalamin intake and atrophic gastritis in mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. *Am J Clin Nutr* 68:328–334.

van Driel LM, Eijkemans MJ, de Jonge R, de Vries JH, van Meurs JB, Steegers EA, Steegers-Theunissen RP (2009). Body mass index is an important determinant of methylation biomarkers in women of reproductive ages. *J Nutr.* 139 (12): 2315-2321.

Varela-Moreiras G., Escudero J. M.^a, Alonso-Apperte E (2007). Homocisteína, vitaminas relacionadas y estilos de vida en personas de edad avanzada: estudio SÉNECA. *Nutr. Hosp.* 22(3): 363-370.

Vayá A, Rivera L, Hernández-Mijares A, de la Fuente M, Solá E, Romagnoli M, Alis R, Laiz B (2012). Homocysteine levels in morbidly obese patients: its association with waist circumference and insulin resistance. *Clin Hemorheol Microcirc.* 52 (1): 49-56.

Vinukonda G, Shaik Mohammad N, Md Nurul Jain J, et al. (2009) Genetic and environmental influences on total plasma homocysteine and coronary artery disease (CAD) risk among South Indians. *Clin Chim Acta.* 405:127–131.

Vitvitsky V, Prudova A, Stabler S et al. (2007) Testosterone regulation of renal cystathionine b-synthase: implications for sex-dependent differences in plasma homocysteine levels. *Am J Physiol Renal Physiol* 293, F594–F600.

World Health Organization (2014) Noncommunicable diseases country profiles 2014.

Ye X, Maras JE, Bakun PJ, Tucker KL (2010). Dietary intake of vitamin B-6, plasma pyridoxal 5'-phosphate, and homocysteine in Puerto Rican adults. *J Am Diet Assoc.* 110 (11): 1660-1668.

Yoshino K, Nishide M, Sankai T, Inagawa M, Yokota K, Moriyama Y, Ikeda A, Noda H, Yamagishi K, Tanigawa T, Iso H (2010) Validity of brief food frequency questionnaire for estimation of dietary intakes of folate, vitamins B6 and B12, and their associations with plasma homocysteine concentrations. *Int J Food Sci Nutr* 61(1): 61-67.

Zhang W, Li Y, Wang TD, Meng HX, Min GW, Fang YL, Niu XY, Ma LS, Guo JH, Zhang J, Sun MZ, Li CX (2014) Nutritional status of the elderly in rural North China: a cross-sectional study. *J Nutr Health Aging.* 18(8):730-736.

APÊNDICE B - Artigo original enviado para revista BMC Public Health**Homocysteine and associated factors in Recife women, Brazilian Northeast
Region: a cross-sectional study.**

Isabella Valois Pedrosa Porto¹; Cláudia Porto Sabino Pinho¹; Patrícia Calado Ferreira Pinheiro Gadelha²; Alcides da Silva Diniz³; Ilma Kruze Grande de Arruda³

¹ Hospital das Clínicas - HC/UFPE, Brazil.

² Hospital da Restauração Governador Paulo Guerra – Secretaria Estadual de Saúde /PE, Brazil.

³ Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil.

Authors' e-mails:

Isabella Porto: isabella_valois@hotmail.com

Cláudia Pinho: claudiasabinopinho@hotmail.com

Patrícia Gadelha: pcaladofp@hotmail.com

Alcides Diniz: diniz.alcides@hotmail.com

Ilma Arruda: ilma_kruze@yahoo.com.br

Corresponding author:

Isabella Valois Pedrosa Porto.

Rua Evaristo da Veiga, 255. Casa Amarela, Recife, PE, Brazil. CEP: 52070-100.

ABSTRACT

Background: High plasma homocysteine concentrations have been associated with increased risk of cardiovascular diseases in healthy populations, affecting approximately 5-10% of the general population. This study aims to analyze possible risk factors associated with plasma homocysteine concentrations in women at a reproductive age treated at basic health units.

Methods: Cross-sectional study conducted in the municipal health network of Recife/Pernambuco (PE) state/Brazil with 620 women in the age group 20-45 years. The following variables were analyzed as independent variables: socio-demographic and behavioral conditions, nutritional status, food consumption, erythrocyte folate, and serum levels of vitamin B₁₂. The determination of plasma homocysteine was made by fluorescence polarization immunoassay. A plasma concentration > 15 µmol/l was considered high. Pearson or Spearman correlation tests were used to assess the risk factors that best correlated with plasma homocysteine concentrations. A 5% significance level was used to reject the null hypothesis.

Results: The sample comprised predominantly women with low schooling and income, with a median of 32 years of age. Approximately 30% were classified as overweight and 17% as obese. Hyperhomocysteinemia was present in 12.6% of women. Inadequate serum vitamin B₁₂ and erythrocyte folate concentrations were low: 5.3 and 0.2%, respectively. The frequency of women at risk of insufficient folate intake was only 5%; on the other hand, 12.3% presented an excessive folate intake. Obese women presented a 2.34-fold higher risk of hyperhomocysteinemia (OR and 95%CI: 2.34 (1.46-3.75), p = 0.001). Age (r=0.102; p=0.011), weight (r=0.136; p<0.011) and BMI (r=0.109, p = 0.007) were positively correlated, whereas erythrocyte folate (r = -0.130, p = 0.001) was negatively correlated with plasma homocysteine concentrations.

Conclusion: Obesity, age, and reduced levels of erythrocyte folate may be considered important risk factors for hyperhomocysteinemia in young women. Registration on the Ethics Committee under no. 907/2006.

Descriptors: Homocysteine, epidemiological factors, folic acid, vitamin B₁₂, vitamin B₆, obesity, cardiovascular disease, risk factors.

BACKGROUND

Non-communicable chronic diseases (NCDs) are considered a major public health problem, as they are the leading cause of death in the world. About 60% of deaths are caused by such diseases prematurely, affecting individuals under 60 [1]. In Brazil, NCDs cause approximately 74% of deaths, of which practically a third are cardiovascular diseases, making it the largest health problem in the country [2].

All socioeconomic strata, and more intensively the poorest sections of the population and vulnerable groups (the elderly and those with low schooling and income), are affected by NCDs [1]. In addition to such risk factors, other risks described in the literature are smoking, sedentary lifestyle, inadequate feeding, harmful alcohol consumption, overweight and obesity, dyslipidemia, among others [3,4].

In recent years, additional risk factors have been identified, especially for cardiovascular diseases, among which high plasma concentrations of homocysteine, described as hyperhomocysteinemia. Some studies suggest that this is an independent cardiovascular risk factor [5-9].

Among the general population, the prevalence of hyperhomocysteinemia is 5-10%, while intermediate levels are found in 13-47% of patients with symptomatic atherosclerotic vascular disease [10,11,12]. However, a prevalence of hyperhomocysteinemia ($> 15 \mu\text{mol/L}$) of 20.1% [13] was found by a study conducted in São Paulo/Brazil with low-income women at a reproductive age.

Hyperhomocysteinemia may develop from genetic polymorphisms of enzymes involved in methionine and cysteine metabolism, such as methionine synthetase, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and cystathionin β -synthase, which are considered as primary causes [14-16]. The presence of polymorphisms in the MTHFR gene associated with high homocysteine concentrations were observed in obese

women treated at the Nutrition Research Center of the Federal University of Rio de Janeiro, suggesting that this group is more susceptible to cardiovascular diseases [17].

Secondary risk factors that may influence homocysteine concentrations have been studied, among them gender, age, smoking, post-menopausal period, alcohol and coffee consumption, diabetes, renal failure, deficiency of folate and cyanocobalamin vitamins (B₁₂) and pyridoxine (B₆), which are participants in the methyl cycle, and the use of some folate antagonists [16,18,19,20].

However, there are still few epidemiological studies on risk factors for hyperhomocysteinemia in healthy populations. In view of the above, this study aims to analyze socio-demographic and behavior factors, nutritional status, food intake, serum vitamin B₁₂ and B₆, and erythrocyte folate concentrations associated with hyperhomocysteine in women at a reproductive age attended at basic health units in the city of Recife, Northeastern Brazil.

METHODS

This is a cross-sectional study developed at the basic health units of the municipal Unified Health System (SUS) of Recife involving women at a reproductive age, aged 20-45 years, residing in Recife. Pregnant and lactating women, women who used drugs that could interfere with the metabolism of homocysteine and folate, women who took vitamin supplements in the last three months, women with menstrual changes, sickle cell anemia, autoimmune diseases, and endocrine or renal pathologies were excluded because such conditions influence the concentration of homocysteine.

In order to determine the sample size, the prevalence of hyperhomocysteinemia (> 15 µmol/l) was found in a study with low-income women in São Paulo, Brazil. The value estimated was 20% [13]. The sample was calculated using the software Epi Info,

version 6.02 (*Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, United States*), following the equation $z^2 \times p \times (100-p) \times c/d^2$ [21], considering a prevalence of 20% (p), 5% estimation error (d), reliability of 95% (z), and correction of the design effect of 2.1 (c). Thus, the minimum estimated value of the sample was 517 women. In order to correct any losses, there was an increase by 20%, totaling a final sample of 620 women.

The sample selection process was probabilistic by double-stage conglomerates: (1) among the 104 basic health units of the municipality, nine units were selected randomly; (2) women registered in the respective basic health units were selected using a random number table generated by the statistical software Epi Info, version 6.04.

Among biosocial variables, age data were collected (continuous variable in years and categorized at intervals of 20-34 years and 35-45 years), schooling (years of study completed, categorized in ≤ 9 years and > 9 years) [22], race (categorized in white and non-white), and family income *per capita* (expressed in minimum wages, value in force in the period: R\$ 415.00). Subsequently, for statistical analysis purposes, the family income *per capita* was established in terms of income.

The weight was obtained using a digital scale (MEA-03200/Plenna) with a capacity of 150 kg and a scale of 100 grams. The height was determined using a portable stadiometer (Alturaexata, Ltda), with a precision of up to 1 mm in all its extension. The women were placed upright, barefoot, with minimal clothing, upper limbs hanging over the body, and heels, back and head touching the wooden pillar. The measurements (weight and height) were made twice by two different examiners. The data were replicated randomly by one of the researchers with the purpose of guaranteeing the reliability of intra- and inter-evaluator measurements [23]. When the difference

between measurements exceeded 0.5 cm of height and 100 g of weight, the measurement was repeated and measurements with the closest values were recorded using the mean between both for recording purposes.

Body mass index (BMI), determined by the ratio between weight in kilograms and height squared in meters, was used to assess nutritional status. Cut-off points recommended by the WHO (1998) were used: low weight: BMI < 18.5 kg/m², normal range: BMI ≥ 18.5 kg/m² and ≤ 24.9 kg/m², overweight ≥ 25.0 kg/m² and ≤ 29.9 kg/m², and obesity ≥ 30.0 kg/m² [24].

The study participants were referred for collection of blood samples after a 12-hour fast at the Clinical Analysis Laboratory of Recife (Dalmo Oliveira). The qualified technician proceeded to collect blood in a suitable tube containing anticoagulant (heparin or EDTA). 5 ml samples of peripheral venous blood from the forearm were adequately protected from light and suitably processed and stored at -70°C until the hematological evaluation was performed.

The determination of total plasma homocysteine was performed by Abbott Diagnostics fluorescence polarization immunoassay, and calculated by Abbott AxSYM[®]. High plasma homocysteine concentrations and hyperhomocysteinemia were thus considered when > 15 µmol/l [25]. Erythrocyte folate and vitamin B₁₂ were determined by electrochemiluminescence using an Elecsys[®] 2010 System (Roche Diagnóstica do Brasil) by immunoassay with the kits Elecsys[®] RBC Folat and Elecsys and Cobas analyzers. Values lower than 140 ng/ml meant vitamin B₁₂ deficiency and values below 200 ng/ml meant erythrocytic folate deficiency [26].

Food consumption was evaluated by applying a Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire previously validated by Salas *et al.* [27]. To prepare the food list, a sub-sample pre-test (n=30) was performed with women who presented the same

characteristics of the women included in the study. The instrument included a list of several food sources of folate, as well as fortified flour with folic acid and its products. The questionnaire was applied using an album with colored pictures of utensils and foods especially elaborated for the research in order to obtain a better precision of the quantities ingested. The results were transformed into grams using a table created by Pinheiro *et al.* [28], Fisberg *et al.* [29] and Martins [30]. The DietSys[®] software, version 4.01 (National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA), was used to analyze the mean intake of micronutrients (folic acid and Vitamin B₆).

In relation to micronutrient food consumption, we verified a percentage of women whose consumption was lower than the established for average needs (*estimated average requirement*, EAR), for age group and gender (folate = 320 µg/day; vitamin B₆ = 1.1 mg/day). Regarding the risk of adverse effects due to excessive intake, we calculated the percentage of women who had micronutrient values higher than the tolerable upper intake level (UL) for age group and gender (folate = 1,000 µg/day and vitamin B₆ = 100 mg/day) [31].

We considered the following categories: smokers (those who reported smoking at the time of the interview), non-smokers (those who reported never having smoked) and former smokers (those who reported smoking at some point in their lives, but did not smoke at the time of the interview) [13]. The use of contraceptives (oral or injectable) was evaluated using a dichotomous response (yes or no).

Data were entered twice and verified with Validate, a module of the Epi-Info software, version 6.0 (WHO/CDC, Atlanta, GE), to verify consistency. The analyses were performed using the *Statistical Package for the Social Sciences*, version 13.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

We conducted a descriptive analysis to characterize the distribution of occurrence of events, including the frequency of study variables. Continuous variables were tested for normality of distribution by the Kolmogorov Smirnov test, and logarithmic transformations were applied (\log_{neperian}) whenever necessary. The variables with a normal distribution were presented as mean and standard deviation. Variables that, after logarithmic transformation, presented a normal distribution, were presented as geometric mean and 95% confidence interval (95% CI). Variables that had a non-Gaussian distribution were presented as median and interquartile intervals.

In the description of proportions, the binomial distribution was approximated to the normal distribution by a 95% confidence interval. Subsequently, a univariate analysis was performed between the dependent variable (homocysteine) and the independent variables to determine the prevalence ratio (PR) and its respective 95% CI. Pearson or Spearman correlation tests were used to assess the risk factors that best correlated with plasma homocysteine concentrations. A 5% significance level was adopted to reject the null hypothesis.

The study was developed according to the ethical norms for research on human beings as provided for by the Resolution n° 196 of the National Health Council, approved by the Ethics Committee on Research on Human Beings of the Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) under no. 907/2006. The women who agreed to participate in the study signed an Informed Consent.

RESULTS

634 women were included. After elimination of losses due to the inadequacy of the collected biological material ($n = 14$), 620 individuals composed the final sample. However, in the final sample, there were losses due to inconsistency of information in

questionnaires of the areas race (n=7), schooling (n=5), nutritional status (n=6), family income (n=5), use of contraceptives (n=5) and smoking (n=2).

The sample comprised predominantly women with low education levels and income, with a median of 32 years (interquartile: 26-38). The socio-demographic conditions, nutritional and behavioral characteristics are shown in Table 1. About 50% of the women studied were overweight, including women diagnosed as overweight and obese.

Regarding plasma homocysteine concentrations, the study revealed a percentage of 12.6% of hyperhomocysteinemia among women. The prevalence of inadequate serum vitamin B₁₂ and erythrocyte folate concentrations were low: 5.3 and 0.2%, respectively (Table 2).

From the point of view of the nutrients analyzed based on food consumption data, there was a low frequency (5.0%) of women with a low folate intake risk, below EAR. Another fact evidenced was the high frequency (12.3%) of women at risk of adverse health effects, as they presented a folate consumption above the UL. The mean and median values of folate and vitamin B₆ intake can be observed in Table 3.

Obese women had a prevalence of hyperhomocysteinemia 2.34 times higher than eutrophic women (PR: 2.34, 95% CI: 1.46-3.75, p = 0.001) (Table 4).

Table 5 shows positive correlations between plasma homocysteine concentrations and age (r = 0.102, p = 0.011), body weight (r = 0.136, p <0.001), BMI (r = 0.109, p = 0.007), and a negative correlation with erythrocyte folate (r = -0.130, p = 0.001). No

correlation was observed between homocysteine concentrations and the variables household income *per capita*, serum vitamin B₁₂ and consumption of vitamin B₆.

DISCUSSION

The prevalence of low-income and low schooling women was already expected, since it is a population served by the public health system. Overweight accounted for almost half of the women studied, 29.5% diagnosed as overweight and 16.6% as obese. Such findings are similar to those found by Almeida *et al.* [13] for women with a mean age of 38 years. The percentage of obesity also corroborates data of the survey of chronic diseases surveillance by telephone (VIGITEL), which revealed an increase in the prevalence of obesity in the last ten years (BMI \geq 30 kg/m²), reaching 18.9% of the Brazilian population, with a similar distribution between genders [32].

As for hyperhomocysteinemia, the prevalence observed in this study was similar to that described in a study conducted with 13.4% of healthy women [13] based on data of the *Nutritional Survey of the Canary Islands* (1996-1998). Schumacher *et al.* [34], in a cross-sectional study with 399 Costa Rican men and young women (20-40 years old), reported a prevalence of hyperhomocysteinemia lower than 6%. In the same study, when evaluated only on women, the prevalence was lower (1%).

On the other hand, a recent meta-analysis described a higher prevalence of hyperhomocysteinemia, approximately 18%, in women younger than 45 years. In this meta-analysis, when the prevalence of hyperhomocysteinemia was verified in the studied population (adults and elderly), women presented a prevalence of 18.7%, while men presented a prevalence of 34.8%, with a statistical difference between genders ($p < 0.001$) [25]. An even higher prevalence was described by a hospital-based study

conducted with 1,434 women with a mean age of 38 years, low income and schooling, residing in the metropolitan region of São Paulo: 20.1% [13].

The literature indicates a prevalence of hyperhomocysteinemia varying from 13 to 50% in patients with cardiovascular diseases [10,11,12]. Therefore, we expected a lower prevalence among the women studied due to a median low age, and a protective effect of estrogen on plasma homocysteine concentrations [35,36].

Circulating estrogens stimulate the methionine transamination pathway, and hence the catabolism of homocysteine [37]. Thus, the decrease in estrogens increases homocysteine concentrations, especially in post-menopausal women [6]. However, women were not yet at this stage of life, suggesting that the association of other risk factors may have contributed positively to the onset of hyperhomocysteinemia among this population.

In this study, the mean homocysteine was within a normal range. However, they were within a range considered risky, since the literature suggests concentrations between 10-15 $\mu\text{mol/l}$ as a risk range associated with coronary disease [37, 38]. Some studies have reported averages of homocysteine below the risk range ($< 10 \mu\text{mol/l}$) [34, 39, 40, 41] for healthy adults. On the other hand, in Peru, an average homocysteine was described for young women: $12.67 \pm 6.19 \mu\text{mol/l}$, similar to the results verified in this study [42].

Between 80-90% of women had a folate and vitamin B₆ intake within EAR recommendations for this age and gender. The low frequency of women at risk of an inadequate folate intake may be justified by the fortification of flour as required by the Brazilian legislation and by the high consumption of products based on such fortified

flour products such as bread, pasta, cakes and couscous, because they are less expensive foods and the population studied had a low income.

In addition, no correlation was observed between consumption variables and plasma homocysteine concentrations, as found by Henriquez *et al.* [33]. Ye *et al.* [43] reported a higher intake of vitamin B₆ associated with low concentrations of homocysteine ($p < 0.001$). However, after adjusting folate and vitamin B₁₂ intakes, this association did not remain stable ($p = 0.17$). On the other hand, in Japan, there was an inverse correlation between folate intake ($p = 0.02$), vitamin B₁₂ ($p = 0.01$) and vitamin B₆ ($p = 0.009$) and concentrations of homocysteine. However, when these variables were analyzed separately by gender, there was an inverse correlation only between vitamin B₆ and homocysteine concentrations in males [44].

Concerning folate intake, Chew *et al.* [45] reported an inverse correlation with homocysteine concentrations ($r = -0.143$; $p = 0.016$) for adults in Malaysia. Other studies have described plasma homocysteine concentrations 2 $\mu\text{mol/l}$ lower in individuals with a high intake of fortified foods ($\geq 99 \mu\text{g/day}$) than in people who did not consume them [46]. It is worth noting that the studies mentioned above were conducted with adults of both genders, suggesting that the presence of males in the sample may have interfered with the association of the variable consumption with homocysteine. However, in this study, we evaluated only women.

Although our findings did not show an association between folate and homocysteine intake, an intervention study with healthy young women showed that homocysteine concentrations decreased significantly (11%) after 4 weeks of supplementation with 250 mg/day of folic acid [47].

The nutritional assessment indicator used in this study was the BMI, which was significantly associated with high homocysteine levels, especially in obese women (PR = 2.34, $p = 0.001$). In addition, positive correlations were observed between plasma homocysteine concentrations and weight and BMI. However, the literature is divergent regarding the association of this variable with homocysteine concentrations.

Studies showing a positive correlation between BMI and homocysteine concentrations were conducted with post-menopausal women [48], and case-control studies were also conducted showing severe obese individuals in Spain [49] and Turkey [50]. On the other hand, some studies found no association between BMI and plasma homocysteine concentrations [41, 51, 52]. The mechanism by which excess weight may lead to increased homocysteine concentrations has not yet been elucidated. A study conducted with obese women described the presence of genetic polymorphisms of a key enzyme in homocysteine metabolism in this group (MTHFR) [17]. This suggests that the genetic factor is an important predictor to be taken into account for obese women. However, this condition was not assessed in this study.

In this study, we observed a positive correlation between age and homocysteine concentrations, corroborating data from the literature [13, 41, 53]. The differences in homocysteine concentrations were $\geq 64.5\%$ higher in older individuals (≥ 60 years) when compared to individuals aged < 20 years, as described by a population-based study in the USA [41]. Hyperhomocysteinemia was more prevalent, almost twice as high in older individuals in cross-sectional studies developed in Brazil [51] and Spain [33].

Age and gender are among the most consistent physiological determinants of plasma homocysteine concentrations [6]. Although elderly subjects were not included

in the sample, we also observed a relation between age and homocysteine concentrations. Possible causes related to age are malabsorption of vitamin B₁₂, unhealthy lifestyle, low consumption of folate, decline of the renal function and use of drugs such as methotrexate, anticonvulsants, anesthetics and theophylline, which reduce levels of folate, vitamin B₁₂ and vitamin B₆, respectively, which are homocysteine metabolism cofactors [48, 54].

In our findings, erythrocyte folate was inversely correlated with plasma homocysteine concentrations, which is consistent with most studies [33, 41, 46, 55, 56, 57]. In a study conducted by Ganji *et al.* [41], erythrocyte folate was inversely correlated ($p = 0.0002$) with plasma homocysteine concentrations in the multiple linear regression analysis. The prevalence of deficient erythrocyte folate concentrations was also low, as described in our findings: only 0.2% [41]. Both studies were conducted during the post-fortification period of foods with folic acid, which possibly justifies the low percentages of erythrocyte folate deficiency in the studied populations.

Folate is an important cofactor in the metabolism of homocysteine and acts on the conversion of homocysteine into methionine. Therefore, high concentrations of homocysteine are considered a sensitive marker of folate deficiency [12, 58]. It is important to note that most studies use serum folate as a marker of folate nutritional status, which reflects a recent folate intake [59]. However, this study used erythrocyte folate as a marker of folate nutritional status. This, in turn, reflects changes in folate intake more slowly in a period of up to 35 weeks [58].

In this study, there was no evidence of an association of serum levels of vitamin B₁₂ with plasma homocysteine concentrations. However, studies suggest that, in addition to erythrocyte folate and serum folate, serum vitamin B₁₂ may be also a good

predictor of homocysteine concentrations [14, 54]. This is because vitamin B₁₂ is a coenzyme of methionine synthase, the enzyme responsible for the re-methylation of homocysteine into methionine [60]. Recent studies report inverse correlations between vitamin B₁₂ and homocysteine concentrations in different populations of adults and elderly [51, 55, 61].

In this study, socio-demographic and behavioral variables such as race, schooling, household income *per capita*, smoking and use of contraceptives showed no significant association with homocysteine concentrations, as reported by other studies [14, 33]. Few studies evaluated socio-demographic conditions. Despite this, homocysteine concentrations were higher in non-Hispanic whites [41], a higher prevalence of hyperhomocysteinemia were observed in people with low income [51] and low educational level, and a risk of hyperhomocysteinemia of 1.95 was found for smokers (OR: 1.95, 95% CI: 1.41-1.70) [53].

The cross-sectional design of this study is a limitation. Therefore, caution should be taken during the analysis of cause and effect relations between exposure variables and hyperhomocysteinemia. In addition, there is no data on vitamin B₁₂ intake, serum vitamin B₆ concentrations, and genetic polymorphisms which possibly influence plasma homocysteine concentrations.

However, there is importance in our findings because they comprise a representative sample of young and healthy women. There are still few studies related to this subject.

CONCLUSION

Among the studied population, young women with low income and schooling had homocysteine concentrations correlated with risk factors such as age, weight, BMI and erythrocyte folate. In addition, obesity was an important risk factor for hyperhomocysteinemia. These findings suggest that such factors may contribute to hyperhomocysteinemia in face of some limitations, specially a cross-sectional study and a specific group of individuals.

In this context, the results are especially important for the public health, indicating the need for public policies aiming to prevent and/or treat, especially, overweight as a modifiable risk factor for hyperhomocysteinemia.

List of abbreviations

NCD - non-communicable Chronic diseases; **EAR** - Estimated Average Requirement; **EDTA** - Ethylenediamine Tetra Acetic Acid; **BMI** - Body Mass Index; **95% CI**: 95% confidence interval. **IMIP** - Institute of Integral Medicine Professor Fernando Figueira; **MTHFR** - Metylenetetrahydrofolate reductase; **WHO** - World Health Organization; **PR** - Prevalence ratio; **MW** - Minimum wage; **SUS**- Unified Health System; **UFPE** - Federal University of Pernambuco; **UL** - Tolerable Upper Intake Level; **VIGITEL** - Surveillance of chronic diseases by telephone survey.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study was developed according to the ethical norms for research on human beings as provided for by the Resolution n° 196 of the National Health Council, approved by

the Ethics Committee on Research on Human Beings of the Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) under no. 907/2006. The women who agreed to participate in the study signed an Informed Consent.

Consent to publish

Not applicable

Availability of data and materials

The research database will be sent to the editors of the journal and will be available for consultation and analysis.

Funding

The present study received financial assistance from the National Council for Scientific and Technological Development - CNPq (case N° 302876/2007-3), through Universal Announcement N° 401893 / 2005-7.

Competing of interests

The authors declare no competing of interests.

Authors' Contributions

I.V.P. Porto contributed to the production of the study, analysis and interpretation of data, writing of the article. C. P. S. Pinho contributed to analysis, interpretation and critical review of the study's intellectual content. P.C.F.P. Gadelha contributed to the interpretation of data and writing of the article. A.S. Diniz and I.K.G. Arruda coordinated fieldwork and critically reviewed the study's intellectual content.

Acknowledgements

The authors are grateful to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) - Brazil, for the financial contribution and scholarship grant, to the Ministry of Science and Technology - Brazil, for the financial support to the Health Department of the city of Recife, for the logistic support. We are also grateful to the

support of the Postgraduate Program in Nutrition at the Federal University of Pernambuco (UFPE).

References

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.
2. World Health Organization. Noncommunicable diseases country profiles 2014. WHO, 2014.
3. Malta DC, Cezário AC, Moura L, Morais Neto OL, Silva Júnir JB. Construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do sistema único de saúde. *Epidemiol e Serv Saúde*. 2006; 15, 47-64.
4. Bhatt DL, Steg PG, Ohman EM, Hirsch AT, Ikeda Y, Mas JL, Goto S, Liao CS, Richard AJ, Röther J, Wilson PW. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA*. 2006; 295:180-9.
5. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest*. 2001, 81 (5):645-72.
6. Neves LB, Macedo DM, Lopes AC. Homocisteína. *J Bras Patol Med Lab*. 2004; 40:311-20.
7. Nerbass FB, Draibe SA, Cuppari L. Hyperhomocysteinemia in chronic renal failure. *Rev Nutr*. 2005, 18: 239-40.
8. Tavares JR, D'Almeida V, Diniz DC, Terzi CA, Cruz EM, Stefanini E, Andriollo A, Paola AAV, Carvalho AC. Análise dos níveis de homocisteína plasmática em pacientes com angina instável. *Arq Bras Cardiol*. 2002; 79:161-6.

9. Uehara SK, Baluz K, Rosa G. Possíveis mecanismos trombogênicos da hiperhomocisteinemia e o seu tratamento nutricional. *Rev Nutr* 2005, 18:743-51.
10. Ueland, PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and drug therapy. *J Lab Clin Med.* 1989; 114 (5): 473-501.
11. Nair KG, Ashavaid TF, Nair SR, Eghlim FF. The genetic basis of hyperhomocysteinemia. *Indian Heart J.* 2000; 52 (7 Suppl): S16-7.
12. Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel I, Dierkes J, Weger M. DACH-LIGA Homocystein (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med.* 2003; 41 (11): 1392-403.
13. Almeida LC, Tomita LY, D'Almeida V, Cardoso MA. Preditores sócio demográficos, de estilo de vida e gineco-obstétricos das concentrações séricas ou plasmáticas de homocisteína, ácido fólico e vitaminas B12 e B6 em mulheres de baixa renda de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2008; 24 (3): 587-96.
14. Saw SM, Yuan JM, Ong CN, Arakawa K, Lee HP, Coetzee GA, Yu MC. Dietary and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and older Chinese men and women in Singapore. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(2):232-9.
15. Andreassi MG, Botto N, Cocci F, Battaglia D, Antonioli E, Masetti S, Manfredi S, Colombo MG, Biagini A, Clerico A. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism, homocysteine, vitamin B12, and DNA damage in coronary artery disease. *Hum Genet.* 2003; 112(2):171-7.

16. Lopes SLB, Lopes HHMC, Vannucchi H. A hiperhomocisteinemia como fator de risco cardiovascular: perspectivas atuais. *Rev Med.* 2010; 89 (1): 1-11.
17. Scorsatto M, Luiz RR, Oliveira GMM, Santos-Rebouças CB, Pimentel MMG, Rosa G. Association between Homocysteine and Polymorphisms in MTHFR in Brazilian Obese Women. *Int. J. CardiovasC Sci.* 2015; 28(1):16-24.
18. Undas A, Kolarz M, Kopec G, Glowacki R, Placzkiewicz-Jankowska E, Wieslawa Tracz. Autoantibodies against N-homocysteinylated proteins in patients on long-term haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22: 1685–9.
19. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWF, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(3): 613-21.
20. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest Jr J. Plasma total homocysteine in health subjects: sex-specific relation with biological trials. *Am J Clin Nutr* 1996, 64: 587-93.
21. Henderson RH, Sunderesan T. Cluster sampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *Bull World Health Organ.* 1982; 60(2):253-60.
22. Dantas JA, Diniz AS, Arruda IKG. Consumo alimentar e concentrações intra-eritrocitárias de folato em mulheres do Recife, Nordeste do Brasil. *Arch Latinoam Nutr.* 2010; 60 (3), 227-34.
23. Frisancho, AR. Methods and materials. In: *The American J. of Clinical Nutrition. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status.* Michigan: The University of Michigan Press, 1990; 2: 9 – 30.

24. World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva; 1998.
25. Yang B, Fan S, Zhi X, Wang Y, Wang Y, Zheng Q, Sun G. Prevalence of Hyperhomocysteinemia in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2015; 7, 74-90.
26. Division of Laboratory Sciences in the National Center for Environmental Health (CDC). Second National Report on biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population, 2012.
27. Salas ZJ, Faz-Cepeda F, Berrún LNC, Martínez PCC, Obregón MCM. Consumo de folatos de mujeres em edad fértil de Apocada, N.L.México. *Rev Salud Pública Nutr*. 2003; 4(4):1-7.
28. Pinheiro ABV, Benzecry EH, Lacerda EMA, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar e medidas caseiras. 5 ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2004.
29. Fisberg RM, Villar BS. Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares. 1 ed., Signus, São Paulo, 2002.
30. Martins MHS. Valor Nutritivo de Alimentos Definidos por Pesos Médios, Frações e Medidas Caseiras. Recife: UFPE; 1982.
31. Institute of Medicine. Food and drug administration dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin b6, folate, vitamin b12, pantothenic acid, biotin, and coline. Washington: national academy press, 1998, 592p.
32. Ministério da Saúde. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Estimativas sobre frequência e distribuição sócio demográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no distrito federal em 2016, Brasília, 2017.

33. Henriquez P, Doreste J, Deulofeu R, Fiuza MD, Serra-Majem L. Nutritional determinants of plasma total homocysteine distribution in the Canary Islands. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61, 111–8.
34. Holst-Schumacher I, Monge-Rojas R, Cambroner-Gutiérrez P, Brenes G. Genetic, dietary and other lifestyle determinants of serum homocysteine levels in young adults in Costa Rica. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health.* 2005; 17(4), 263-70.
35. Fonseca V, Guba SC, Fink LM. Hyperhomocysteinemia and endocrine system: implications of atherosclerosis and thrombosis. *Endocr Rev.* 1999; 20(5):738-59.
36. Hak AE, Polderman KH, Westendorp IC. Increased plasma homocysteine after menopause. *Atherosclerosis.* 2000, 149:163–8.
37. Meertens L, Díaz N, Fraile C, Riera M, Rodríguez A, Rodríguez L, Solano L. Estado nutricional, indicadores antropométricos y homocisteína sérica en mujeres posmenopáusicas venezolanas. *Rev Chil Nutr.* 2011; 38 (3): 278-84.
38. Jacobsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem.* 1998; 44: 8(B): 1833–43.
39. Qin G, Chen Z, Su W, Geng X, Chen X, Xu X, Pan W. Clinical usefulness of metabolic risk factors to identify young asymptomatic women adults with subclinical atherosclerosis. *Medicine.* 2017; 96:11, 2-5.
40. Sengwayo D, Moraba M, Motaung S. Association of homocysteinaemia with hyperglycaemia, dyslipidaemia, hypertension and obesity. *Cardiovasc J Afr.* 2013; 24: 265–9.

41. Ganji V, Kafai MR. Demographic, Lifestyle, and Health Characteristics and Serum B Vitamin Status Are Determinants of Plasma Total Homocysteine Concentration in the Post-Folic Acid Fortification Period, 1999– 2004. *J. Nutr.* 2009; 139: 345–52.
42. Nabipour I, Ebrahimi A, Jafari S.M, Vahdat K, Assadi M, Movahed A, Moradhaseli F, Obeidi N, Sanjdideh Z. The metabolic syndrome is not associated with homocysteinemia: The Persian Gulf Healthy Heart Study. *J. Endocrinol. Invest.* 2009; 32: 406-10.
43. Ye X, Maras JE, Bakun PJ, Tucker KL. Dietary intake of vitamin B6, plasma pyridoxal 5'-phosphate and homocysteine in Puerto Rican adults. *J Am Diet Assoc.* 2010; 110(11): 1660–8.
44. Yoshino K, Nishide M, Inagawa M, Yokota K et al. Validity os brief food frequency questionnaire for estimation of dietary intakes of folate, vitamin B6 and B12, and their associations with plasma homocysteine concentrations. *Int J Food Sci Nutr.* 2010; 61(1): 61-7.
45. Chew SC, Khor GL, Loh SP. Association between dietary folate intake and blood status of folate and homocysteine in Malaysian adults. 2011;57(2):150-5.
46. Hoey L, McNulty H, Askin N, Dunne A, Ward M, Pentieva K, Strain JJ, Molloy AM, Flynn CA, Scott JM. Effect of a voluntary food fortification policy on folate, related B vitamin status, and homocysteine in healthy adults. *Am J Clin Nutr.* 2007; 86:1405–13.
47. Brouwer IA, Van Dusseldorp M, Thomas CM, Duran M, Hautvast JG, Eskes TK, Steegers-Theunissen RP. Low-dose folic acid supplementation decreases

- plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 1999, 69(1): 99-104.
48. Tanaka S, Uenishi K, Yamazaki Y, Kuroda T, Shiraki M. Low calcium intake is associated with high plasma homocysteine levels in postmenopausal women. *J Bone Miner Metab.* 2014; 32:317–23.
49. Vaya´ A, Rivera L, Hernandez-Mijares A, Fuente M, Sola E, Romagnoli M, Alis R, Laiz B. Homocysteine levels in morbidly obese patients. Its association with waist circumference and insulin resistance. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2012; 52(1):49-56.
50. Mehmetoglu I, Hümeýra Yerlikaya F, Kurban S, Polat H. Plasma ω -3 fatty acid levels negatively and ω -6 fatty acid levels positively associated with other cardiovascular risk factors including homocysteine in severe obese subjects. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2012; 21 (4):519-25.
51. Lopes RVC, Castro MA, Baltar VT, Marchioni DML, Fisberg RM. Betaína e Colina Dietéticas Relacionadas à Homocisteína Plasmática: Estudo de Base Populacional, São Paulo, Brasil. *Int J Cardiovasc Sci.* 2015; 28 (1):61-9.
52. Qu QG, Gao JJ, Liu JM. Prevalence of hyperhomocysteinaemia in a Chinese elderly population. *Public Health Nutrition.* 2010; 13 (12): 1974–81.
53. Liu XD, Gao B, Sun D, Shi M, Ma YY, Liu ZR, Wang B, Xu X, Xin Xu, Qiu-He J, Zhao G. Prevalence of hyperhomocysteinaemia and some of its major determinants in Shaanxi Province, China: a cross-sectional study. *Br. J. Nutr.* 2015; 113: 691–8.
54. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, Johnston C, Engbaek F, Schneede J, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem.* 2004; 50:3–32.

55. Abbenhardt C, Miller JW, Song X, Brown EC, Cheng TY, Wener MH, Zheng Y, Toriola AT, Neuhaus ML, Beresford SA, Makar KW, Bailey LB, Maneval DR, Green R, Manson JE, Van Horn L, Ulrich CM. Biomarkers of one-carbon metabolism are associated with biomarkers of inflammation in women. *J Nutr.* 2014; 144(5):714-21.
56. Nakazato M, Maeda T, Takamura N, Wada M, Yamasaki H, Johnston K, Tamura T. Relation of body mass index to blood folate and total homocysteine concentrations in Japanese adults. *Eur J Nutr.* 2011; 50:581–5.
57. Van Driel LMJW, Eijkemans MJC, Jonge R, Vries JHM, van Meurs JBJ, Steegers EAP, Steegers-Theunissen RPM. Body Mass Index Is an Important Determinant of Methylation Biomarkers in Women of Reproductive Ages. *J. Nutr.* 2009; 139: 2315–21.
58. Farrell CJ, Kirsch SH, Herrmann M. Red cell or serum folate: what to do in clinical practice? *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51(3):555-69.
59. Dietary Reference Intakes for thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. A report of the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes and its panel on folate, other B vitamins, and choline and subcommittee on upper reference levels of nutrients. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington, DC: National Academy Press, 1998.
60. Stabler SP, Allen RH, Fried LP, Pahor M, Kittner SJ, Penninx BW, Guralnik JM. Racial differences in prevalence of cobalamin and folate deficiencies in disabled elderly women. *Am J Clin Nutr.* 1999, 70:911-9.

61. Zhang W, Li Y, Wang TD, Meng HX, Min GW, Fang YL, Niu XY, Ma LS, Guo JH, Zhang J, Sun MZ, Li CX. Nutritional status of the elderly in rural North China: a cross-sectional study. *J Nutr Health Aging*. 2014;18(8):730-6.

Table 1. Socio-demographic, nutritional and behavioral characteristics of women. Recife/Northeast Brazil, 2008.

Variables	N	%	95% CI
Race			
White	122	19.9	16.8-23.3
Non-white	491	80.1	76.7-83.2
Education level			
< 9 years of study	381	62.0	58.0-65.8
≥ 9 years of study	234	38.0	34.2-42.0
Family income <i>per capita</i> in SM			
< 0.27	208	33.8	30.1-37.7
0,27-0,44	202	32.8	29.1-36.7
> 0.44	205	33.3	29.6-37.2
Nutritional Status #			
Low weight	26	4.2	2.8-6.1
Eutrophic	305	49.7	45.6-53.7
Overweight	181	29.5	25.9-33.3
Obesity	102	16.6	13.7-19.8
Use of Contraceptives			
Yes	169	27.5	24.0-31.2
No	446	72.5	68.8-76.0
Smoking			
Smoker	64	10.4	8.1-13.0
Former smoker	85	13.7	11.1-16.7
Never smoked	469	75.9	72.3-79.2

CI95%: 95% confidence interval. #Nutritional status according to body mass index (BMI): low weight: BMI < 18.5 kg/m²; eutrophic: BMI ≥ 18.5 kg/m² and ≤ 24.9 kg/m²; overweight: BMI ≥ 25.0 kg/m² and ≤ 29.9 kg/m²; obesity: BMI ≥ 30.0 Kg /m² (WHO, 1998). MW: Minimum wage (\$ 244.00)

Table 2. Concentrations of homocysteine, vitamin B₁₂ and erythrocyte folate of women. Recife/Northeast Brazil, 2008.

Variables	Geometric mean (95% CI)	Changed values n %		Cut-off points
Homocysteine (µmol/L)	11,1 (10,9-11,4)	174	12.6	> 15*
Vitamin B ₁₂ (pg/mL)	395,4 (382,9-408,6)	33	5.3	< 200 [#]
Mean ± SD				
Erythrocyte folate (ng/mL)	721.6±188.3	1	0.2	< 140 [#]

SD: standard deviation. CI95%: 95% Confidence Interval [#] Yang B, Fan S, Zhi X *et al* (2015); Second National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the US Population (CDC, 2012).

Table 3. Food folate and vitamin B₆ consumption in women. Recife/Northeast Brazil, 2008.

Variables	Median (IQ)	% changed	Cut-off point [#]
Folate consumption (µg/day)	619.9 (468.3-798.5)		
Insufficient		5.0 (n=31)	< 320
Adequate		82.7 (n=531)	≥ 320
High		12.3 (n=76)	>1000
Geometric mean (95% CI)			
Consumption of Vitamin B₆ (mg/day)	2.0 (1.9- 2.1)		
Insufficient		11.0 (n=68)	< 1.1
Adequate		89.0 (n=552)	≥ 1.1

IQ: Interquartile Interval. CI95%: 95% Confidence Interval [#] Second National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the US Population (CDC, 2012). [§]EAR- *estimated average requirement* and UL - *tolerable upper intake level* (IOM, 1998).

Table 4. Prevalence ratio of hyperhomocysteinemia and associated factors in women. Recife/Northeast Brazil, 2008.

Variables	High homocysteine		PR	CI95%	p-value*
	n	%			
Age					
20-34	43	11.3	1	-	0.22
35-45	35	14.6	1.30	0.86-1.97	
Race					
White	16	13.1	1	-	0.84
Non-white	61	12.4	0.95	0.57-1.58	
Education level					
< 9 years of study	51	13.4	1.20	0.77-1.88	0.41
≥ 9 years of study	26	11.1	1	-	
Family income per capita in SM					
< 0.27	29	13.9	0.92	0.58-1.47	0.13
0.27-0.44	18	8.9	0.59	0.34-1.02	
> 0.44	31	15.1	1	-	
Smoking					
Yes	12	18.8	1.57	0.90-2.75	0.12
No	66	11.9	1	-	
Use of Contraceptives					
Yes	20	11.8	1.08	0.67-1.74	0.75
No	57	12.8	1	-	
Nutritional Status #					
Low weight	1	3.8	0.37	0.05-2.58	0.001*
Eutrophic	32	10.5	1	-	
Overweight	18	9.9	0.95	0.55-1.64	
Obesity	25	24.5	2.34	1.46-3.75	
Vitamin B₁₂					
Normal	75	12.8	1	-	0.38
Deficient	3	9.1	0.71	0.24-2.14	
Erythrocyte folate					
Normal	77	12.4	1	-	0.13
Deficient	1	100	8.04	6.52-9.91	
Folate consumption					
Insufficient	5	16.1	1.29	0.56-2.98	0.82
Adequate	64	12.5	1	-	
High	9	11.8	0.95	0.49-1.83	
Consumption of Vitamin B₆					
Insufficient	9	13.2	1.06	0.55-2.02	0.86
Adequate	69	12.5	1	-	

PR Prevalence ratio. CI95%: 95% confidence interval. #Nutritional status according to body mass index (BMI): low weight: BMI < 18.5 kg/m²; eutrophic: BMI ≥ 18.5 kg/m² and ≤ 24.9 kg/m²; overweight: BMI ≥ 25.0 kg/m² and ≤ 29.9 kg/m²; obesity: BMI ≥ 30.0 Kg /m² (WHO, 1998). MW: Minimum wage. * Pearson's chi square.

Table 5. Pearson's or Spearman* correlation between homocysteine and risk factors in women. Recife/Northeast Brazil, 2008.

Variables	r	p-value
Age	0.102	0.011*
Family income <i>per capita</i> in MW	0.007	0.856*
Weight	0.136	<0.001*
BMI	0.109	0.007*
Vitamin B ₁₂ log	-0.072	0.072
Erythrocyte folate	-0.130	0.001
Folate consumption	-0.036	0.377
Consumption of vitamin B ₆ log	0.044	0.271

MW: Minimum wage. BMI: Body Mass Index. Pearson's or Spearman correlation* (r). Log: neperian logarithm.

ANEXO A - Questionário para coleta de dados.

**IMPACTO DO CONSUMO DE FARINHAS DE TRIGO E MILHO FORTIFICADAS
COM ÁCIDO FÓLICO SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE FOLATO INTRA-
ERITROCITÁRIO DE MULHERES EM IDADE REPRODUTIVA NA REGIÃO
METROPOLITANA DO RECIFE**

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

UNIDADE ATENDIMENTO:

NOME:

DATA DE NASCIMENTO:

ENDEREÇO:

TELEFONE PARA CONTATO:

BAIRRO:

MUNICÍPIO:

RAÇA:

1. Branca 2. Não Branca

DADOS SOCIOECONÔMICOS

1. NÚMERO DE PESSOAS NO DOMICÍLIO:

2. RENDA FAMILIAR:

3. RENDA PER CAPITA:

4. ESCOLARIDADE (último ano com aprovação):

SÉRIE:

GRAU:

5. ATIVIDADE ATUAL:

1. Estudante 2. Do lar 3. Doméstica 4. Outra

6. SITUAÇÃO CONJUGAL:

1. Casada/convive 2. Solteira 3. Viúva 4. Separada/divorciada

ANTECEDENTES REPRODUTIVOS

1. NÚMERO DE GESTAÇÕES:

Abortamentos () Nascidos vivos () Natimortos ()

2. DATA ÚLTIMO PARTO:

3. IDADE NO MOMENTO DO PARTO / ABORTAMENTO:

4. FILHO PORTADOR DE MALFORMAÇÃO:

1. Sim 2. Não

5. QUAL?

6. USO DE MÉTODO CONTRACEPTIVO:

1. Sim 2. Não

7. SE SIM, QUAL?

1. Camisinha 2. Pílulas 3. Injetável mensal 4. Injetável trimestral 5. Laqueadura
6. Vasectomia 7. DIU 8. Outro

ANTECEDENTES SOCIAIS

1. HÁBITOS DE FUMAR:

1. Sim 2. Não

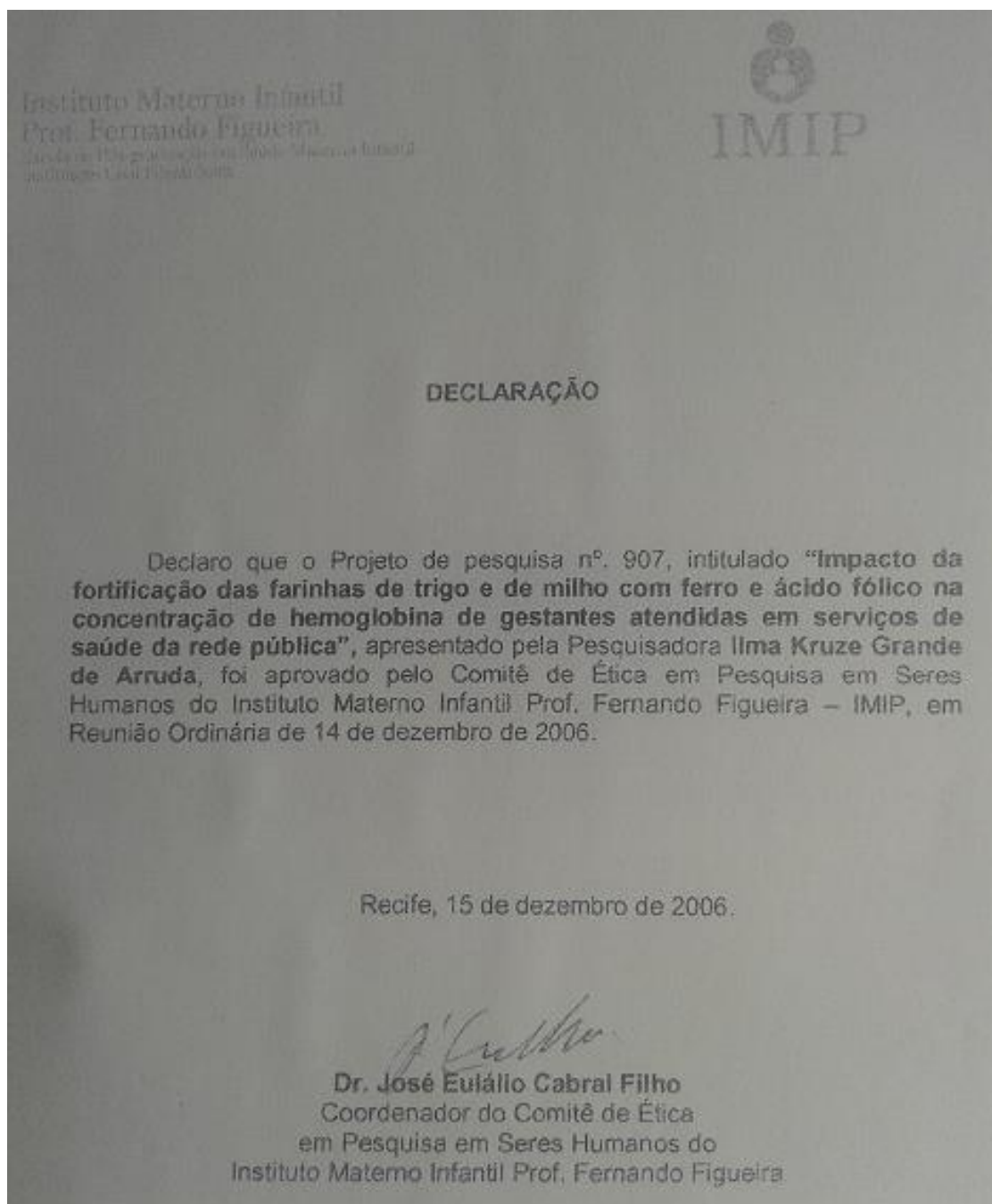
2. SE SIM, NÚMEROS DE CIGARROS POR DIA:**3. SE NÃO:**

1. Nunca fumou 2. Ex-fumante (se é ex-fumante, responder a questão 4)

4. IDADE QUE ABANDONOU O HÁBITO:**5. USO DE MEDICAMENTOS:**

1. Sim 2. Não

6. SE SIM, QUAL?**ANTROPOMETRIA****1. PESO 1:****2. PESO 2:****3. ALTURA 1:****4. ALTURA 2:**

ANEXO B - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG nº _____, declaro que recebi os devidos esclarecimentos por parte da equipe de pesquisa do médico Túlio Bráulio Cantalice de Paula (CRM 12.159) em relação ao estudo sobre **“Impacto do Consumo de Farinhas de Trigo e Milho Fortificadas com Ácido Fólico sobre as Concentrações de Folato Intra-eritrocitário de Mulheres em Idade Reprodutiva na Região Metropolitana do Recife”** e estou perfeitamente consciente que:

- 1- O estudo tem como objetivo avaliar o impacto das farinhas de trigo e milho fortificadas com ácido fólico sobre as concentrações sanguíneas de folato de mulheres em idade reprodutiva após a implantação do programa nacional de fortificação, segundo a RDC 344/2002 da ANVISA;
- 2- O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Materno-Infantil Prof. Fernando Figueira (fone: 2122-4100/2122-4702) sob o nº 719, em 05 de janeiro de 2006, de acordo com as normas contidas na Resolução 169/96 do Conselho Nacional de Saúde (Brasil/MS, 1996) e registro no Conselho Nacional de Ética e Pesquisa – CONEP;
- 3- Não existem risco à saúde dos examinados. Caso ocorra algum dano decorrente do procedimento de coleta de sangue, a equipe se responsabiliza pela assistência adequada;
- 4- Receberei respostas a perguntas ou esclarecimentos a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa; para isso, poderei me comunicar a qualquer momento com o médico e pesquisador Túlio Cantalice de Paula (CRM 12.159) através do fone 9972-3331 ou com o Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto Materno-Infantil Prof. Fernando Figueira (2122-4100/2122-4702);
- 5- Será aplicado um questionário para se conhecer os alimentos consumidos pelas participantes da pesquisa, o chamado Questionário de Frequência Alimentar, para verificação da presença dos alimentos-fontes de folato e farinhas fortificadas com ácido fólico no cardápio, avaliando a frequência de consumo de cada alimento;
- 6- Estou concordando livremente em participar desta pesquisa, sem receber qualquer tipo de pressão da equipe de pesquisadores;
- 7- Continuarei a ser atendida nessa Unidade de Saúde, dispondo de toda a atenção, independentemente da minha participação na pesquisa;
- 8- Não serei identificada e será mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à minha privacidade;
- 9- Tenho o direito de saber o resultado da pesquisa, se assim o desejar;
- 10- Poderei abandonar, a qualquer momento, a pesquisa caso não me sinta satisfeita, sem que isso venha prejudicar o meu atendimento nessa unidade de Saúde.

Assinatura: _____ / / _____.

Pesquisador (a): _____

Testemunha 1: _____ Testemunha 2: _____

ANEXO D – Normas para publicação da Revista Ciência e Saúde Coletiva

Ciência & Saúde Coletiva INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Instructions for contributors

Ciência & Saúde Coletiva publishes debates, analyses and research findings on specific themes considered to be of relevance to public health, as well as articles for discussion and analysis of the state of the art topics in the area and subareas, even if they are not directly related to the core theme under scrutiny. The journal is published monthly and sets out to tackle the challenges while seeking to consolidate and promote an ongoing update of trends of thought and practices in public health in a dialogue with the contemporary agenda of Science & Technology.

Guidelines for the organization of thematic issues

Within the diversity of magazines in the area, the hallmark of *Ciência & Saúde Coletiva* Journal is its thematic focus in line with ABRASCO's vocation to conduct in-depth study, as well as promote and disseminate academic debate and peer discussions on issues considered important and relevant and highlight the historical development of public health in Brazil.

The thematic editions are scheduled around four modes of submission:

- By Term of Reference sent by teachers/researchers in the area of public health (spontaneously or suggested by the Editors-in-Chief) when they consider it relevant to examine a given subject in greater depth.
- By Term of Reference sent by coordinators of unpublished and comprehensive research relevant to the area, on results presented in the form of articles within the guidelines described above. In these first two approaches, the Terms of Reference are evaluated on their scientific merit and relevance by the Associate Editors of the Journal.
- By Public Call for papers announced in a page in the journal, and coordinated by Guest Editors. In this case, the Guest Editors accumulate the task of selecting the articles according to their scope to be judged on their merit by referees.
- By Internal Organization of in-house Editors-in-chief, bringing together unsolicited articles under a relevant title within the criteria already described.

The Term of Reference shall contain: (1) title (even provisional) of the proposed thematic edition; (2) the name (or names) of the Guest Editor(s); (3) justification summarized in one or two paragraphs on the proposal from the point of view of the objectives, context, meaning and relevance for Public Health; (4) a list of the ten proposed articles already with the names of the invited authors; (5) the proposal with the text consisting of an opinion or interview with someone who has authority in the discussion of the subject; and (6) proposal of one or two synopses of books that address the theme.

By editorial decision, the maximum number of articles written by the same author in a thematic edition shall not exceed three, either as first author or co-author.

It is emphatically suggested to the organizers that they submit contributions by authors from various national institutions and from foreign contributors. As for any other form of presentation, these editions accept texts in Spanish, English and French.

Recommendations for the submission of articles

It is recommended that articles submitted shall not only address issues of local interest, or be restricted to the descriptive plane. The discussions shall submit a broadened analysis that situates the specificity of the research or review findings in the scenario of the national and international literature on the subject, making clear the original nature of the contribution that the article affords.

C&SC journal adopts the "Rules for submission of proposed articles for publication in medical journals," of the International Committee of Editors of Medical Journals, the Portuguese version of which is published in *Rev Port Clin Geral* 1997; 14:159-174. The document is available on various sites on the World Wide Web, such as by way of example, www.icmje.org or www.apmcg.pt/document/71479/450062.pdf. Careful scrutiny of the text by the authors is recommended.

Sections of the publication

Editorial: this is the responsibility of the editors-in-chief or guest editors and it shall contain no more than 4,000 characters with spaces.

Thematic Articles: these shall contain empirical, experimental and conceptual results of research and reviews on the topic in question. The research texts shall not exceed 40,000 characters with spaces.

Free Themed Articles: these shall be of interest to public health by free submission of authors through the journal page. They shall have the same characteristics as the thematic articles, namely up to 40,000 characters with spaces, with the results of research and present analyses

and assessments of theoretical, methodological and conceptual trends of the area.

Review Articles: these shall consist of texts exclusively based on secondary sources, subjected to methods of theoretically time-honored thematic or unsolicited analysis, being no longer than 45,000 characters with spaces.

Opinion: texts that express a qualified position of one or several authors or interviews conducted with specialists on the subject under discussion in the journal; they shall not exceed 20,000 characters with spaces.

Synopses: critical analysis of books related to the thematic field of public health, published in the previous two years, the text of which shall not exceed 10,000 characters including spaces. The authors of the synopsis shall include the full reference details of the book at the beginning of the text. References cited throughout the text shall abide by the same rules as the articles. At the time of submission of the synopsis the authors shall insert a high resolution reproduction of the book cover in jpeg format as an attachment in the system.

Letters: with testimonials and suggestions about what is published in previous issues of the journal (no more than 4,000 characters with spaces).

Note: The maximum limit of characters shall take into account the spaces and include text and bibliography. The abstract and illustrations (figures and tables) are considered separately.

Presentation of manuscripts

1. The originals may be written in Portuguese, Spanish, French and English. Texts in Portuguese and Spanish shall feature the title, abstract and key words in the original language and in English. Texts in French and English shall have the title, abstract and key words in the original language and in Portuguese. Footnotes or notes at the end of the article shall not be accepted.
2. The texts shall be double-spaced, in Times New Roman with a font size of 12, with 2.5 cm margins, in MS Word format and sent by electronic mail only (<http://mc04.manuscriptcentral.com/csc-scielo>) in accordance with the guidelines of the site.
3. Published articles shall be the property of C&SC journal, the full or partial reproduction thereof being prohibited in any medium, whether printed or electronic, without the prior permission of the editors-in-chief of the Journal. The secondary publication shall indicate the source of the original publication.
4. The articles submitted to C&SC shall not be offered simultaneously to other magazines.
5. Ethical issues relating to research publications involving human beings are the sole responsibility of the authors and shall be in accordance with the principles contained in

the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (1964, as revised in 1975, 1983, 1989, 1989, 1996 and 2000).

6. The articles shall be submitted with authorization to reproduce previously published material, use illustrations that may identify people and to transfer copyright and other documents.

7. The concepts and opinions expressed in the articles, as well as the accuracy and validity of the quotations shall be the exclusive responsibility of the authors.

8. The texts are generally (but not necessarily) divided into sections with the title headings Introduction, Methods, Results and Discussion, with the inclusion of subheadings within some sections sometimes being required. The titles and subtitles of the sections shall not be organized with progressive numbering, but with graphical features (upper case, decrease in margin, etc.).

9. The title shall have no more than 120 characters with spaces and an abstract with a maximum of 1400 characters including spaces (including key words), which shall specify the scope, objectives, methodology, theoretical approach and the results of the research or investigation. Immediately below the abstract the authors shall indicate no more than five (5) key words. We draw attention to the importance of clarity and objectivity in writing the abstract, which shall certainly elicit the reader's interest in the article, and the key words that will assist in the multiple indexing of the article. The key words in the original language and in English shall be included in DeCS/MeSH (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/> and <http://decs.bvs.br/>).

Authorship

1. The people designated as authors shall have participated in the drafting of the articles such that they can publicly assume responsibility for their content. Qualification as an author shall assume: a) the conception and design or analysis and interpretation of data; b) drafting the article or revising it critically; and c) approval of the version to be published. The individual contributions of each author shall be specified at the end of the text (e.g. LMF worked on the design and final text and CMG worked on the research and methodology).

2. The article shall have up to eight authors in the header. The others will be included in the end of the article.

Nomenclature

1. The rules for public health/community health nomenclature, as well as abbreviations and conventions adopted in the specialized disciplines, shall be rigidly adhered to. Abbreviations shall be avoided in the title and abstract.

2. The full designation to which an abbreviation refers shall precede its first appearance in the text unless it is a standard unit of measurement.

Illustrations

1. The illustrative material of C&SC journal includes tables (demonstrative elements such as numbers, measures, percentages, etc.), charts (demonstrative elements with textual information), graphs (schematic demonstration of a fact and its variations),

figures (schematic demonstration of information by means of maps, diagrams, flowcharts, as well as by means of drawings or photographs). It shall be borne in mind that the magazine is printed in one color only, namely black, and if the illustrative material is colored, it will be converted to grayscale.

2. The number of illustrative materials shall not exceed five per article, with exceptions relating to articles of systematization of specific areas of a thematic field. In this case the authors shall negotiate with the editors-in-chief.

3. All illustrative material shall be numbered consecutively in Arabic numerals, with their respective captions and sources, and each one shall be attributed a brief title. All illustrations shall be cited in the text.

4. The tables and charts shall be drafted in the same program used in preparing the article (MS Word).

5. Graphs shall be in the MS Excel program, and the numerical data shall be submitted in a separate MS Word program or in another worksheet as text, to facilitate the use of the copy and paste feature. The graphs generated in an image program (Photoshop or Corel Draw) shall be sent in an open file with a copy in pdf.

6. The figure files (e.g. maps) shall be saved in (or exported to) the Illustrator or Corel Draw format with a copy in pdf. These formats retain the vector information, i.e. maintain the drawn lines of the maps. If it is impossible to save in these formats, files can be sent in TIFF or BMP formats, namely image formats that do not retain the vector information, which affects the quality of the result. If the TIFF or BMP format is used, it shall be saved in the highest resolution (300 DPI or more) and larger size (longest side = 18cm). The same applies to the material that is in photograph form. If the graphs cannot be sent in a digital medium, the original material shall be sent in good condition for reproduction.

Messages of Thanks

1. When these are included, they shall be placed before the bibliographical references.

2. The authors shall be responsible for obtaining written permission of the persons named in the messages of thanks, since readers may infer that such persons agree with the data and conclusions reached.

3. The messages of thanks for technical support shall be in a separate paragraph from other types of contribution.

References

1. References shall be numbered consecutively in accordance with the order in which they appear in the text. In the event that the references are from more than two authors, only the first author's name shall be cited in the text followed by *et al.*

2. References shall be identified by superscript Arabic numerals, as per the examples below:

Example 1: "Another indicator analyzed was the maturity of the PSF"¹¹ ...

Example 2: "As Maria Adelia de Souza⁴ warns, the city..."

References only cited in tables and figures shall be numbered from the last reference number cited in the text.

3. References shall be listed at the end of the article in numerical order following the general norms of the *Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*

(http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

4. The names of journals shall be abbreviated according to the style used in the Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/>).

5. The names of individuals, cities and countries shall be cited in the original language of publication.

Examples of how to cite references

Articles in journals

1. Standard article (include all authors)

Pelegrini MLM, Castro JD, Drachler ML. Equity in the allocation of resources for health: the experience in Rio Grande do Sul, Brazil. *Cien Saude Colet* 2005; 10(2):275-286.
Maximiano AA, Fernandes RO, Nunes FP, Assis MP, Matos RV, Barbosa CGS, Oliveira-Filho EC. Use of veterinary drugs, pesticides and related chemicals in water environments: demands, regulatory considerations and risks to human and environmental health. *Cien Saude Colet* 2005; 10(2):483-491.

2. Institution as author

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164(5):282-284

3. Without indication of authorship

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

4. Issue with supplement

Duarte MFS. Physical maturation: a literature review with special attention to Brazilian children. *Cad Saude Publica* 1993; 9 (Suppl. 1):71-84.

5. Indication of the type of text, if necessary

Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [letter]. *Lancet* 1996; 347:1337.

Books and other monographs

6. Individual as author

Cecchetto FR. *Violence, culture and power*. Rio de Janeiro: FGV; 2004.

Minayo MCS. *The challenge of knowledge: qualitative health research*. 8th Edition. Sao Paulo, Rio de Janeiro: Hucitec, Abrasco; 2004.

7. Organizer or compiler as author

Bosi MLM, Mercado FJ, compilers. *Qualitative research in health services*. Petropolis: Vozes; 2004.

8. Institution as author

Brazilian Institute of Environment and Renewable Natural Resources (IBAMA). *Control of aquatic plants by means of pesticides and related chemicals*. Brasilia: DILIQ/IBAMA; 2001.

9. Book chapter

Sarcinelli PN. The exposure of children and adolescents to pesticides. In: Peres F, Moreira JC, organizers. *It is either medicine or poison*. Pesticides, health and environment. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 43-58.

10. Abstract in Annals of Congresses

Kimura J, Shibasaki H, organizers. Recent advances in clinical neurophysiology. *Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology*, 1995 Oct 15-19, Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

11. Complete works published in scientific events

Coates V, Correa MM. Characteristics of 462 pregnant adolescents in São Paulo. In: *Annals of the V Brazilian Congress of adolescence*, 1993; Belo Horizonte. p. 581-582.

12. Dissertation and thesis

Carvalho GCM. *The federal public funding of the Unified Health System 1988-2001* [thesis]. London: School of Public Health; 2002.

Gomes WA. *Adolescence, pubertal development and sexuality: information level of adolescents and teachers of municipal schools in Feira de Santana - BA* [dissertation]. Feira de Santana (BA): State University of Feira de Santana; 2001.

Other published works

13. Newspaper article

New assisted reproductive techniques enable motherhood after 40 years of age. *Jornal do Brasil*, 2004 Jan 31; p. 12

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. *The Washington Post* 1996 Jun 21; Sect. A: 3 (col. 5).

14. Audiovisual material

HIV +/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book, 1995.

15. Legal documents

Brazil. Law No. 8.080 of September 19, 1990. Deals with the conditions for promotion, protection and recovery of health, the organization and functioning of relevant services and other matters. *Diário Oficial da União* 1990; 19 Sept.

Forthcoming or unpublished material

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Engl J Med* Forthcoming 1996.

Cronenberg S, Santos DVV, Ramos LFF, Oliveira ACM, Maestrini HA, Calixto N. Trabeculectomy with mitomycin C in patients with refractory congenital glaucoma. *Arq Bras Oftalmol*. Forthcoming 2004.

Electronic material

16. Article in electronic format

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [journal on the Internet] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1): [about 24 p.]. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Lucena AR, Velasco e Cruz AA, Cavalcante R. Epidemiological study of trachoma in the community of Chapada do Araripe – PE – Brazil. *Arq Bras Oftalmol* [serial on the Internet]. 2004 Mar-Apr [accessed 2004 Jul 12];67(2): [about 4 p.]. Available at: <http://www.abonet.com.br/abo/672/197-200.pdf>

17. Monograph in electronic format

CDI, clinical dermatology illustrated [CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

18. Computer program

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993

The manuscript review process is peer review.

Articles will be reviewed by three peers acknowledged for their scientific production and research, from higher institutions in Brazil and abroad. After the necessary corrections and possible suggestions, the paper shall be accepted if two peers give a favorable statement; the article will be rejected if two peer reviews are unfavorable.

ANEXO E - Normas para publicação da Revista BMC Public Health

Instructions for authors - Research articles

Criteria

Research articles should report on original primary research, but may report on systematic reviews of published research provided they adhere to the appropriate reporting guidelines which are detailed in our Editorial Policies. Please note that non-commissioned pooled analyses of selected published research will not be considered.

Submission process

Manuscripts must be submitted by one of the authors of the manuscript, and should not be submitted by anyone on their behalf. The corresponding author takes responsibility for the article during submission and peer review.

Please note that *BMC Public Health* levies an article-processing charge on all accepted Research articles; if the corresponding author's institution is a BioMed Central member the cost of the article-processing charge may be covered by the membership (see About page for detail). Please note that the membership is only automatically recognised on submission if the corresponding author is based at the member institution.

To facilitate rapid publication and to minimize administrative costs, *BMC Public Health* prefers online submission.

Files can be submitted as a batch, or one by one. The submission process can be interrupted at any time; when users return to the site, they can carry on where they left off.

See below for examples of word processor and graphics file formats that can be accepted for the main manuscript document by the online submission system. Additional files of any type, such as movies, animations, or original data files, can also be submitted as part of the manuscript.

During submission you will be asked to provide a cover letter. Use this to explain why your manuscript should be published in the journal, to elaborate on any issues relating to our editorial policies in the 'About *BMC Public Health*' page, and to declare any potential competing interests.

Assistance with the process of manuscript preparation and submission is available from BioMed Central customer support team.

We also provide a collection of links to useful tools and resources for scientific authors on our Useful Tools page.

File formats

The following word processor file formats are acceptable for the main manuscript document: Microsoft word (DOC, DOCX), Rich text format (RTF), Portable document format (PDF), TeX/LaTeX (use BioMed Central's TeX template), DeVice Independent format (DVI).

TeX/LaTeX users: Please use BioMed Central's TeX template and BibTeX stylefile if you use TeX format. During the TeX submission process, please submit your TeX file as the main manuscript file and your bib/bbl file as a dependent file. Please also convert your TeX file into a PDF and submit this PDF as an additional file with the name 'Reference PDF'. This PDF will be used by internal staff as a reference point to check the layout of the article as the author intended. Please also note that all figures must be coded at the end of the TeX file and not inline. If you have used another template for your manuscript, or if you do not wish to use BibTeX, then please submit your manuscript as a DVI file. We do not recommend converting to RTF. For all TeX submissions, all relevant editable source must be submitted during the submission process. Failing to submit these source files will cause unnecessary delays in the publication procedures.

Publishing Datasets

Through a special arrangement with LabArchives, LLC, authors submitting manuscripts to BMC Public Health can obtain a complimentary subscription to LabArchives with an allotment of 100MB of storage. LabArchives is an Electronic Laboratory Notebook which will enable scientists to share and publish data files in situ; you can then link your paper to these data. Data files linked to published articles are assigned digital object identifiers (DOIs) and will remain available in perpetuity. Use of LabArchives or similar data publishing services does not replace preexisting data deposition requirements, such as for nucleic acid sequences, protein sequences and atomic coordinates.

Instructions on assigning DOIs to datasets, so they can be permanently linked to publications, can be found on the LabArchives website. Use of LabArchives' software has no influence on the editorial decision to accept or reject a manuscript.

Authors linking datasets to their publications should include an Availability of supporting data section in their manuscript and cite the dataset in their reference list.

Preparing main manuscript text

General guidelines of the journal's style and language are given below.

Overview of manuscript sections for Research articles

Manuscripts for Research articles submitted to *BMC Public Health* should be divided into the following sections (in this order): Title page, Abstract, Keywords, Background, Methods, Results and discussion, Conclusions, List of abbreviations used (if any), Competing interests, Authors' contributions, Authors'

information, Acknowledgements, Endnotes, References, Illustrations and figures (if any), Tables and captions, Preparing additional files.

The **Accession Numbers** of any nucleic acid sequences, protein sequences or atomic coordinates cited in the manuscript should be provided, in square brackets and include the corresponding database name; for example, [EMBL:AB026295, EMBL:AC137000, DDBJ:AE000812, GenBank:U49845, PDB:1BFM, Swiss-Prot:Q96KQ7, PIR:S66116]. The databases for which we can provide direct links are: EMBL Nucleotide Sequence Database (EMBL), DNA Data Bank of Japan (DDBJ), GenBank at the NCBI (GenBank), Protein Data Bank (PDB), Protein Information Resource (PIR) and the Swiss-Prot Protein Database (Swiss-Prot). For reporting standards please see the information in the About section.

Title page

The title page should:

- provide the title of the article
- list the full names, institutional addresses and email addresses for all authors
- indicate the corresponding author

Please note:

- the title should include the study design, for example "A versus B in the treatment of C: a randomized controlled trial X is a risk factor for Y: a case control study"
- abbreviations within the title should be avoided
- if a collaboration group should be listed as an author, please list the Group name as an author. If you would like the names of the individual members of the Group to be searchable through their individual PubMed records, please include this information in the "acknowledgements" section in accordance with the instructions below. Please note that the individual names may not be included in the PubMed record at the time a published article is initially included in PubMed as it takes PubMed additional time to code this information.

Abstract

The Abstract of the manuscript should not exceed 350 words and must be structured into separate sections: **Background**, the context and purpose of the study; **Methods**, how the study was performed and statistical tests used; **Results**, the main findings; **Conclusions**, brief summary and potential implications. Please minimize the use of abbreviations and do not cite references in the abstract. **Trial registration**, if your research article reports the results of a controlled health care intervention, please list your trial registry, along with the unique identifying number (e.g. **Trial registration**: Current Controlled Trials ISRCTN73824458). Please note that there should be no space between the letters and numbers of your trial registration number. We recommend manuscripts that report randomized controlled trials follow the CONSORT extension for abstracts.

Keywords

Three to ten keywords representing the main content of the article.

Background

The Background section should be written in a way that is accessible to researchers without specialist knowledge in that area and must clearly state - and, if helpful, illustrate - the background to the research and its aims. Reports of clinical research should, where appropriate, include a summary of a search of the literature to indicate why this study was necessary and what it aimed to contribute to the field. The section should end with a brief statement of what is being reported in the article.

Methods

The methods section should include the design of the study, the setting, the type of participants or materials involved, a clear description of all interventions and comparisons, and the type of analysis used, including a power calculation if appropriate. Generic drug names should generally be used. When proprietary brands are used in research, include the brand names in parentheses in the Methods section.

For studies involving human participants a statement detailing ethical approval and consent should be included in the methods section. For further details of the journal's editorial policies and ethical guidelines see 'About this journal'.

For further details of the journal's data-release policy, see the policy section in 'About this journal'.

Results and discussion

The Results and discussion may be combined into a single section or presented separately. Results of statistical analysis should include, where appropriate, relative and absolute risks or risk reductions, and confidence intervals. The Results and discussion sections may also be broken into subsections with short, informative headings.

Conclusions

This should state clearly the main conclusions of the research and give a clear explanation of their importance and relevance. Summary illustrations may be included.

List of abbreviations

If abbreviations are used in the text they should be defined in the text at first use, and a list of abbreviations can be provided, which should precede the competing interests and authors' contributions.

Competing interests

A competing interest exists when your interpretation of data or presentation of information may be influenced by your personal or financial relationship with other people or organizations. Authors must disclose any financial competing interests; they should also reveal any non-financial competing interests that may cause them embarrassment were they to become public after the publication of the manuscript.

Authors are required to complete a declaration of competing interests. All competing interests that are declared will be listed at the end of published articles. Where an author gives no competing interests, the listing will read 'The author(s) declare that they have no competing interests'.

When completing your declaration, please consider the following questions:

Financial competing interests

- In the past three years have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? Is such an organization financing this manuscript (including the article-processing charge)? If so, please specify.
- Do you hold any stocks or shares in an organization that may in any way gain or lose financially from the publication of this manuscript, either now or in the future? If so, please specify.
- Do you hold or are you currently applying for any patents relating to the content of the manuscript? Have you received reimbursements, fees, funding, or salary from an organization that holds or has applied for patents relating to the content of the manuscript? If so, please specify.
- Do you have any other financial competing interests? If so, please specify.

Non-financial competing interests

Are there any non-financial competing interests (political, personal, religious, ideological, academic, intellectual, commercial or any other) to declare in relation to this manuscript? If so, please specify.

If you are unsure as to whether you, or one your co-authors, has a competing interest please discuss it with the editorial office.

Authors' contributions

In order to give appropriate credit to each author of a paper, the individual contributions of authors to the manuscript should be specified in this section.

According to ICMJE guidelines, An 'author' is generally considered to be someone who has made substantive intellectual contributions to a published study. To qualify as an author one should 1) have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) have been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; 3) have given final approval of the version to be published; and 4) agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content. Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group, alone, does not justify authorship.

We suggest the following kind of format (please use initials to refer to each author's contribution): AB carried out the molecular genetic studies, participated in the sequence alignment and drafted the

manuscript. JY carried out the immunoassays. MT participated in the sequence alignment. ES participated in the design of the study and performed the statistical analysis. FG conceived of the study, and participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, a department chair who provided only general support, or those who contributed as part of a large collaboration group.

Authors' information

You may choose to use this section to include any relevant information about the author(s) that may aid the reader's interpretation of the article, and understand the standpoint of the author(s). This may include details about the authors' qualifications, current positions they hold at institutions or societies, or any other relevant background information. Please refer to authors using their initials. Note this section should not be used to describe any competing interests.

Acknowledgements

Please acknowledge anyone who contributed towards the article by making substantial contributions to conception, design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data, or who was involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content, but who does not meet the criteria for authorship. Please also include the source(s) of funding for each author, and for the manuscript preparation. Authors must describe the role of the funding body, if any, in design, in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. Please also acknowledge anyone who contributed materials essential for the study. If a language editor has made significant revision of the manuscript, we recommend that you acknowledge the editor by name, where possible.

The role of a scientific (medical) writer must be included in the acknowledgements section, including their source(s) of funding. We suggest wording such as 'We thank Jane Doe who provided medical writing services on behalf of XYZ Pharmaceuticals Ltd.'

If you would like the names of the individual members of a collaboration Group to be searchable through their individual PubMed records, please ensure that the title of the collaboration Group is included on the title page and in the submission system and also include collaborating author names as the last paragraph of the "acknowledgements" section. Please add authors in the format First Name, Middle initial(s) (optional), Last Name. You can add institution or country information for each author if you wish, but this should be consistent across all authors.

Please note that individual names may not be present in the PubMed record at the time a published article is initially included in PubMed as it takes PubMed additional time to code this information.

Authors should obtain permission to acknowledge from all those mentioned in the Acknowledgements section.

Endnotes

Endnotes should be designated within the text using a superscript lowercase letter and all notes (along with their corresponding letter) should be included in the Endnotes section. Please format this section in a paragraph rather than a list.

References

All references, including URLs, must be numbered consecutively, in square brackets, in the order in which they are cited in the text, followed by any in tables or legends. Each reference must have an individual reference number. Please avoid excessive referencing. If automatic numbering systems are used, the reference numbers must be finalized and the bibliography must be fully formatted before submission.

Only articles, clinical trial registration records and abstracts that have been published or are in press, or are available through public e-print/preprint servers, may be cited; unpublished abstracts, unpublished data and personal communications should not be included in the reference list, but may be included in the text and referred to as "unpublished observations" or "personal communications" giving the names of the involved researchers. Obtaining permission to quote personal communications and unpublished data from the cited colleagues is the responsibility of the author. Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted. Journal abbreviations follow Index Medicus/MEDLINE. Citations in the reference list should include all named authors, up to the first six before adding 'et al.'

Any *in press* articles cited within the references and necessary for the reviewers' assessment of the manuscript should be made available if requested by the editorial office.

An Endnote style file is available.

Examples of the *BMC Public Health* reference style are shown below. Please ensure that the reference style is followed precisely; if the references are not in the correct style they may have to be retyped and carefully proofread.

All web links and URLs, including links to the authors' own websites, should be given a reference number and included in the reference list rather than within the text of the manuscript. They should be provided in full, including both the title of the site and the URL, as well as the date the site was accessed, in the following format: The Mouse Tumor Biology Database. <http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do>. Accessed 20 May 2013. If an author or group of authors can clearly be associated with a web link, such as for weblogs, then they should be included in the reference.

Authors may wish to make use of reference management software to ensure that reference lists are correctly formatted. An example of such software is Papers, which is part of Springer Science+Business Media.

Preparing illustrations and figures

Illustrations should be provided as separate files, not embedded in the text file. Each figure should include a single illustration and should fit on a single page in portrait format. If a figure consists of separate parts, it is important that a single composite illustration file be submitted which contains all parts of the figure. There is no charge for the use of color figures.

Please read our figure preparation guidelines for detailed instructions on maximising the quality of your figures.

Formats

The following file formats can be accepted: PDF (preferred format for diagrams), DOCX/DOC (single page only), PPTX/PPT (single slide only), EPS, PNG (preferred format for photos or images), TIFF, JPEG, BMP.

Figure legends

The legends should be included in the main manuscript text file at the end of the document, rather than being a part of the figure file. For each figure, the following information should be provided: Figure number (in sequence, using Arabic numerals - i.e. Figure 1, 2, 3 etc); short title of figure (maximum 15 words); detailed legend, up to 300 words.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures or tables that have previously been published elsewhere.

Preparing tables

Each table should be numbered and cited in sequence using Arabic numerals (i.e. Table 1, 2, 3 etc.). Tables should also have a title (above the table) that summarizes the whole table; it should be no longer than 15 words. Detailed legends may then follow, but they should be concise. Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

Smaller tables considered to be integral to the manuscript can be pasted into the end of the document text file, in A4 portrait or landscape format. These will be typeset and displayed in the final published form of the article. Such tables should be formatted using the 'Table object' in a word processing program to ensure that columns of data are kept aligned when the file is sent electronically for review; this will not always be the case if columns are generated by simply using tabs to separate text. Columns and

rows of data should be made visibly distinct by ensuring that the borders of each cell display as black lines. Commas should not be used to indicate numerical values. Color and shading may not be used; parts of the table can be highlighted using symbols or bold text, the meaning of which should be explained in a table legend. Tables should not be embedded as figures or spreadsheet files.

Larger datasets or tables too wide for a portrait page can be uploaded separately as additional files. Additional files will not be displayed in the final, laid-out PDF of the article, but a link will be provided to the files as supplied by the author.

Tabular data provided as additional files can be uploaded as an Excel spreadsheet (.xls) or comma separated values (.csv). As with all files, please use the standard file extensions.

Preparing additional files

Although *BMC Public Health* does not restrict the length and quantity of data included in an article, we encourage authors to provide datasets, tables, movies, or other information as additional files.

Please note: All Additional files **will be published** along with the article. Do not include files such as patient consent forms, certificates of language editing, or revised versions of the main manuscript document with tracked changes. Such files should be sent by email to editorial@biomedcentral.com, quoting the Manuscript ID number.

Results that would otherwise be indicated as "data not shown" can and should be included as additional files. Since many weblinks and URLs rapidly become broken, *BMC Public Health* requires that supporting data are included as additional files, or deposited in a recognized repository. Please do not link to data on a personal/departmental website. The maximum file size for additional files is 20 MB each, and files will be virus-scanned on submission.

Additional files can be in any format, and will be downloadable from the final published article as supplied by the author. We recommend CSV rather than PDF for tabular data.

Certain supported files formats are recognized and can be displayed to the user in the browser. These include most movie formats (for users with the Quicktime plugin), mini-websites prepared according to our guidelines, chemical structure files (MOL, PDB), geographic data files (KML).

If additional material is provided, please list the following information in a separate section of the manuscript text:

- File name (e.g. Additional file 1)
- File format including the correct file extension for example .pdf, .xls, .txt, .pptx (including name and a URL of an appropriate viewer if format is unusual)
- Title of data
- Description of data

Additional files should be named "Additional file 1" and so on and should be referenced explicitly by file name within the body of the article, e.g. 'An additional movie file shows this in more detail [see Additional file 1]'.

Additional file formats

Ideally, file formats for additional files should not be platform-specific, and should be viewable using free or widely available tools. The following are examples of suitable formats.

- Additional documentation- PDF (Adode Acrobat)
- Animations -SWF (Shockwave Flash)
- Movies- MP4 (MPEG 4); MOV (Quicktime)
- Tabular data - XLS, XLSX (Excel Spreadsheet), CSV (Comma separated values)

As with figure files, files should be given the standard file extensions.

Mini-websites

Small self-contained websites can be submitted as additional files, in such a way that they will be browsable from within the full text HTML version of the article. In order to do this, please follow these instructions:

1. Create a folder containing a starting file called index.html (or index.htm) in the root.
2. Put all files necessary for viewing the mini-website within the folder, or sub-folders.
3. Ensure that all links are relative (ie "images/picture.jpg" rather than "/images/picture.jpg" or "http://yourdomain.net/images/picture.jpg" or "C:\Documents and Settings\username\My Documents\mini-website\images\picture.jpg") and no link is longer than 255 characters.
4. Access the index.html file and browse around the mini-website, to ensure that the most commonly used browsers (Internet Explorer and Firefox) are able to view all parts of the mini-website without problems, it is ideal to check this on a different machine.
5. Compress the folder into a ZIP, check the file size is under 20 MB, ensure that index.html is in the root of the ZIP, and that the file has .zip extension, then submit as an additional file with your article.

Style and language

General

Currently, *BMC Public Health* can only accept manuscripts written in English. Spelling should be US English or British English, but not a mixture.

There is no explicit limit on the length of articles submitted, but authors are encouraged to be concise.

BMC Public Health will not edit submitted manuscripts for style or language; reviewers may advise rejection of a manuscript if it is compromised by grammatical errors. Authors are advised to write clearly and simply, and to have their article checked by colleagues before submission. In-house copyediting will be minimal. Non-native speakers of English may choose to make use of a copyediting service.

Language editing

For authors who wish to have the language in their manuscript edited by a native-English speaker with scientific expertise, BioMed Central recommends Edanz. BioMed Central has arranged a 10% discount to the fee charged to BioMed Central authors by Edanz. Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication. Please contact Edanz directly to make arrangements for editing, and for pricing and payment details.

Help and advice on scientific writing

The abstract is one of the most important parts of a manuscript. For guidance, please visit our page on Writing titles and abstracts for scientific articles.

Tim Albert has produced for BioMed Central a list of tips for writing a scientific manuscript. American Scientist also provides a list of resources for science writing. For more detailed guidance on preparing a manuscript and writing in English, please visit the BioMed Central author academy.

Abbreviations

Abbreviations should be used as sparingly as possible. They should be defined when first used and a list of abbreviations can be provided following the main manuscript text.

Typography

- Please use double line spacing.
- Type the text unjustified, without hyphenating words at line breaks.
- Use hard returns only to end headings and paragraphs, not to rearrange lines.
- Capitalize only the first word, and proper nouns, in the title.
- All lines and pages should be numbered. Authors are asked to ensure that line numbering is included in the main text file of their manuscript at the time of submission to facilitate peer-review. Once a manuscript has been accepted, line numbering should be removed from the manuscript before publication. For authors submitting their manuscript in Microsoft Word please do not insert page breaks in your manuscript to ensure page numbering is consistent between your text file and the PDF generated from your submission and used in the review process.
- Use the *BMC Public Health* reference format.
- Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted.
- Please do not format the text in multiple columns.
- Greek and other special characters may be included. If you are unable to reproduce a particular special character, please type out the name of the symbol in full. Please ensure that all special characters used are embedded in the text, otherwise they will be lost during conversion to PDF.

Units - SI units should be used throughout (liter and molar are permitted, however).

ANEXO F- Confirmação de submissão do artigo de Revisão Sistemática**Ciência & Saúde Coletiva - Manuscript ID CSC-2017-2973**

Ciência & Saúde Coletiva <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

28-Nov-2017

Dear Dr. PORTO:

Your manuscript entitled "Fatores de risco associados à hipermocisteinemia em indivíduos saudáveis: revisão sistemática da literatura." has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the *Ciência & Saúde Coletiva*.

Your manuscript ID is CSC-2017-2973.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/csc-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/csc-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the *Ciência & Saúde Coletiva*.

Sincerely,

Ciência & Saúde Coletiva Editorial Office

ANEXO G - Confirmação de submissão do Artigo Original**Confirmation of your submission to BMC Public Health - PUBH-D-17-03232**

BMC Public Health Editorial Office <em@editorialmanager.com>

qui 02/11, 13:34

PUBH-D-17-03232

Homocysteine and associated factors in Recife women, Brazilian Northeast Region: a cross-sectional study.

ISABELLA PORTO; Cláudia Porto Sabino Pinho; Patrícia Calado Ferreira Pinheiro Gadelha; Alcides da Silva Diniz; Ilma Kruze Grande de Arruda

BMC Public Health

Dear Mrs PORTO,

Thank you for submitting your manuscript 'Homocysteine and associated factors in Recife women, Brazilian Northeast Region: a cross-sectional study.' to BMC Public Health.

The submission id is: PUBH-D-17-03232

Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following website:

<http://pubh.edmgr.com/>

If you have forgotten your username or password please use the "Send Login Details" link to get your login information. For security reasons, your password will be reset.

Best wishes,

Editorial Office

BMC Public Health

<https://bmcpublichealth.biomedcentral.com/>