

U. PORTO



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO

Adesão à Dieta Mediterrânica e Marcadores Inflamatórios em Adolescentes Portugueses

Adherence to the Mediterranean Diet and Inflammatory Markers in Portuguese
Adolescents

Ana Cristina Magalhães Pereira

Orientação: Professora Doutora Sandra Abreu

2º Ciclo em Nutrição Clínica

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Porto, 2016

Ao futuro

*“Que nunca te falte a vontade de seguir em frente,
E que te lembres sempre da força que tens”*

Sofia Fernandes

Agradecimentos

Ao CIAFEL, na pessoa da Professora Rute Santos pela cedência dos dados utilizados nesta tese!

Ao meu namorado, Duarte Ramos, a tua paciência e amor são infindáveis, o teu apoio é incondicional!

À minha irmã, aos meus pais e a minha família, pela paciência, pela ajuda, pela disponibilidade, pelo apoio, por tudo!

Às minhas nutris, Ana Lúcia, Ana Rita Nogueira, Cláudia Coelho, Dulce Magalhães, Elodie de Almeida, Juliana Gonçalves, Maria Inês e Rita Morais, um enorme obrigado por fazerem parte deste percurso, pela vossa amizade e orientação nesta tese e na vida!

(Esta página foi deixada em branco propositadamente)

Resumo

Introdução: A Dieta Mediterrânica tem vindo a ser descrita como um padrão alimentar saudável e potencialmente como factor preventivo para várias doenças de cariz inflamatório. Alguns dos componentes da dieta mediterrânica (como por exemplo, os ácidos gordos ómega 3, ácido linoleico, ácido eicosapentanoico, entre outros) parecem estar inversamente associados com estados inflamatórios. A inflamação pode corresponder a uma resposta normal do organismo a, nomeadamente, infecções. Quando esta resposta ocorre de forma exagerada ou inapropriada, pode contribuir para o surgimento de diversas patologias. A avaliação da concentração de marcadores inflamatórios pode ser feita para detectar estados de inflamação aguda (que podem posteriormente ditar a presença de determinadas patologias), ou ser avaliada com vista a entender a resposta a um determinado tratamento. Sabe-se ainda que estes estados têm sido associados com diversas patologias como a obesidade, doenças cardiovasculares e Diabetes *Mellitus* tipo 2.

Objectivos: O presente estudo teve como objectivo principal verificar a associação entre a adesão a Dieta Mediterrânica (DM) e os marcadores inflamatórios (MI), em adolescentes portugueses.

Metodologia: O estudo está inserido no *LabMed Physical Activity Study*, sendo um estudo de coorte prospectivo. Foi realizado em quatro cidades portuguesas, tendo-se convidado a participar todos os alunos do 7º e 10º ano das escolas seleccionadas. A avaliação foi realizada no outono de 2011, com 1229 participantes, dos quais 534 aceitaram submeter-se a recolha de amostras sanguíneas. Foram recolhidas amostras sanguíneas, um questionário de frequência alimentar e medidas antropométricas (como o peso e estatura). Os marcadores inflamatórios testados foram a Interleucina-6 (IL6), a adiponectina, a leptina, os factores C3 e C4 do sistema complemento (FC3, FC4), a proteína C-reativa e o fibrinogénio. O tratamento de dados foi realizado recorrendo ao *software* IBM SPSS na versão 23. Para avaliar a associação entre os marcadores inflamatórios e a adesão a dieta mediterrânica foram utilizados modelos de regressão linear. Foi efectuado um ajuste para o estadio pubertário, actividade física, valor energético total, percentagem de massa gorda e implausibilidade da ingestão energética. O nível de significância de 0,05 foi utilizado para a análise dos dados.

Resultados: Após ajuste para os potenciais confundidores verificaram-se associações negativas entre adesão à DM e a leptina para a totalidade da amostra, e a adesão à DM e a razão leptina/adiponectina nas raparigas e na totalidade da amostra. Cerca de 60% da amostra avaliada era normoponderal e cerca de 31% tinha excesso de peso ou obesidade. Cerca de 50% da amostra apresentava adesão moderada à DM, segundo a avaliação com o KIDMED. Verificaram-se diferenças significativas entre sexos para as concentrações dos seguintes MI: proteína C reativa, adiponectina, leptina, fibrinogénio e razão leptina/adiponectina. Foram também verificadas diferenças estatisticamente significativas entre sexos para altura, peso, massa gorda, estádios de Tanner e Índice de Atividade Física.

Conclusões: Neste estudo parece existir uma associação entre a adesão à dieta mediterrânica e os valores de concentrações de determinados marcadores inflamatórios, nesta amostra de adolescentes portugueses.

Palavras-Chave: Dieta Mediterrânica, adolescentes, marcadores inflamatórios

Abstract

Introduction: The Mediterranean Diet has been described as a healthy eating pattern and potentially as a preventive factor for several diseases of inflammatory nature. Some of the components of the Mediterranean diet (e.g., Omega-3 fatty acids, linoleic acid, among others) seem to be inversely associated with inflammatory states. The inflammation can correspond to a normal response of the body, in particular infections. When this response occurs in exaggerated or inappropriate, can contribute to the emergence of various pathologies. The assessment of the concentration of inflammatory markers may be done to detect States of acute inflammation (which can subsequently dictate the presence of certain diseases), or be evaluated with a view to understanding the response to a given treatment. You know that these States have been associated with various diseases such as obesity, cardiovascular disease and type 2 Diabetes.

Aim: The present study had as main objective to verify the association between adherence to the Mediterranean Diet (DM) and inflammatory markers (MI), in adolescents.

Methodology: The study is inserted into LabMed Physical Activity Study, being a prospective cohort study. It was held in four cities in Portugal, having invited all students of the 7th and 10th year of the selected schools. The evaluation was conducted in the fall of 2011, with 1229 participants, of which 534 have agreed to submit the collection of blood samples. Blood samples, a food frequency questionnaire and anthropometric measurements (weight and height) were collected. The inflammatory markers tested were the Interleukin-6, adiponectin, leptin, the factors C3 and C4 of the complement system, C-reactive protein and Fibrinogen. Data processing was performed using IBM SPSS software in version 23. To assess the association between inflammatory markers and adherence to the Mediterranean Diet were used linear regression models. An adjustment to the Tanner stages, physical activity, total energy value, percentage of body fat and misreporting was made. The significance level of 0.05 was used for data analysis.

Results: After adjusting for potential confounders we verified that negative associations between adherence to the of the Mediterranean diet and leptin were found, and adherence to the Mediterranean diet and the leptin/adiponectin ratio in girls and in the entire sample. About 60% of the evaluated sample was normoponderal and about 31%

was overweight or obese. Approximately of 50% of the sample presented moderate adherence to the DM, the evaluation with the KIDMED. There were significant differences between sexes for concentrations of the following MI: C-reactive protein, leptin, adiponectin, and leptin/adiponectin ratio Fibrinogen. Statistically significant differences were also observed between sexes for height, weight, fat mass, Tanner stages and Physical Activity index.

Conclusion: In this study, there seems to exist an association between adherence to the Mediterranean diet and the concentrations of certain inflammatory markers in this sample of adolescents.

Keywords: Mediterranean diet, teenagers, inflammatory markers

(Esta página foi deixada em branco propositadamente)

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

CIAFEL – Centro de Investigação em Actividade Física, Saúde e Lazer

DM – Dieta Mediterrânica

DP – Desvios Padrão

Et al – e colaboradores (do latim *et alli*)

FADEUP – Faculdade de Desporto da Universidade do Porto

FAS – *Family Affluence Scale*

FC3- Fator C3 do Sistema Complemento

FC4- Fator C4 do Sistema Complemento

HELENA-CSS – *Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence Cross Sectional Study*

ICAM-1 - Molécula de adesão intercelular-1

IDEFICS - *Identification and prevention of Dietary- and lifestyle-induced health Effects In Children and infantS*

IL6 – Interleucina 6

IMC – Índice de Massa Corporal

KIDMED - *Mediterranean Diet Quality Index for Children and adolescents*

LDL- Lipoproteínas de baixa densidade

MAPK- Proteína ativada por mitogénios

MDS – *Mediterranean Diet Score*

Med DQI-I – *Mediterranean Diet Quality Index International*

MI – Marcadores inflamatórios

NF-KB – Fator nuclear Kappa B

OMS – Organização Mundial de Saúde

p – Nível de significância crítico

PAM – Padrão Alimentar Mediterrânico

PAMPS – Padrões Moleculares Associados à Patogénese

PCR – Proteína C Reativa

RDA – Ingestão Diária Recomendada

SES – Estatuto socioeconómico dos adolescentes

VCAM-1 – Molécula de adesão celular vascular-1

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Marcadores inflamatórios avaliados e métodos de avaliação

Tabela 2 – Caracterização da amostra total e por sexos quanto a : idade, peso, altura, classificação do z-score do IMC, actividade física, adesão ao KIDMED, FAS, e estadios de Tanner.

Tabela 3 – Caracterização da concentração dos marcadores inflamatórios para a amostra total e de acordo com os sexos.

Tabela 4 – Associação entre a Dieta Mediterrânica e os marcadores inflamatórios, para a amostra total e de acordo com o sexo.

(Esta página foi deixada em branco propositadamente)

Índice

Dedicatória	1
Agradecimentos	2
Resumo	4
Abstract	6
Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos	9
Lista de Tabelas	11
1. Introdução	15
1.1 Dieta Mediterrânica	16
1.2 Avaliação da Adesão à Dieta Mediterrânica.....	19
1.3 Inflamação	21
1.4 Dieta mediterrânica e inflamação.....	24
1.5 Adolescentes – Fisiologia, comportamento, alimentação.	27
2. Material e Métodos	30
2.1 Desenho estudo/Amostra	30
2.2 Requerimentos legais e éticos	30
2.3 Medidas antropométricas	31
2.4 Marcadores Inflamatórios	32
2.6 Dieta Mediterrânica.....	34
2.7 Questionários de Atividade Física	35
2.8 Consumo de Tabaco.....	35
2.9 Estatuto socioeconómico	36
2.10 Estadio Pubertário	36
2.11 Análise Estatística	37
3. Resultados	38
3.1 Caracterização da Amostra	38
4. Discussão	43
5. Conclusões	46
Bibliografia	48

1. Introdução

Foi objetivo deste estudo verificar a associação entre a adesão à Dieta Mediterrânica (DM) e a concentração de determinados marcadores inflamatórios (MI) em adolescentes portugueses.

Adicionalmente este trabalho tem os seguintes objetivos específicos:

- (i) Determinar a concentração de MI;
- (ii) Verificar a adesão à DM;
- (iii) Caracterizar o antropometricamente a amostra (nomeadamente através dos z-scores de IMC, peso e estatura);

Em termos estruturais, inicia-se por uma revisão bibliográfica da temática, que a fundamenta, dividindo-se em cinco tópicos principais (DM, adesão à DM, inflamação, DM e inflamação e adolescentes) seguida pela metodologia utilizada, bem como uma apresentação dos resultados obtidos no decorrer do trabalho. Para finalizar tem lugar uma discussão dos resultados obtidos, assim como uma comparação com os resultados encontrados na bibliografia, terminando com a conclusão.

1.1 Dieta Mediterrânica

A DM é o padrão alimentar típico dos países da bacia mediterrânica e foi descrito pela primeira vez na década de 1960 por Ansel Keys e seus colaboradores no estudo *Seven Countries* – investigação sobre a relação entre os hábitos alimentares e o risco de patologias cardiovasculares ⁽¹⁻³⁾. Este padrão é caracterizado em termos de nutrientes pelo baixo consumo de ácidos gordos saturados e uma elevada ingestão de vitaminas e minerais, mas também em termos alimentares pelo elevado consumo de cereais integrais em detrimento do consumo de açúcares simples, traduzindo-se num consumo diário/semanal de alimentos como vegetais, frutas, massa, pão, azeite e frutos secos ⁽¹⁻³⁾. Apesar da utilização corrente da denominação “Dieta Mediterrânica”, considera-se que existem tantas variações da DM como países que constituem a bacia mediterrânica ⁽¹⁾.

Sendo assim, existem “dez princípios básicos” que regem este padrão ⁽⁴⁾:

- i) A utilização de azeite como principal fonte de gordura (de adição);
- ii) O consumo abundante de frutas e legumes;
- iii) O consumo de cereais e massa (preferencialmente nas suas versões integrais);
- iv) O consumo de alimentos pouco processados, frescos e de época;
- v) O consumo diário de produtos lácteos, principalmente queijo e iogurte;
- vi) O consumo moderado de carnes vermelhas;
- vii) O consumo abundante de peixe “azul” 1 a 2 vezes por semana e o consumo moderado de ovos 3 a 4 vezes por semana;
- viii) O consumo diário de fruta fresca como sobremesa; O consumo de doces, bolos e sobremesas lácteas utilizado apenas em ocasiões especiais;
- ix) A água como fonte de hidratação;
- x) A prática diária de atividade física.

Desde os anos 80 até hoje, decorreu uma sequência de eventos que ditou a classificação da DM em “Património Imaterial da Humanidade”. Nos anos 80, foi abordada a possibilidade de países do sul da Europa, como Portugal, terem um padrão alimentar semelhante ao grego e ao italiano ⁽¹⁾. Seguidamente, a “Convenção para a Salvaguarda do Património Cultural Imaterial” aprovada em Paris em Outubro de 2003, criou uma lista que seria representativa do “Património Cultural Imaterial da

Humanidade”. Neste sentido, em 2007, representantes de Espanha, Grécia, Marrocos e Itália abordaram o comité da UNESCO no sentido de inscrever a DM nesta lista. Após sete estados (Portugal, Espanha, Itália, Grécia, Marrocos, Chipre e Croácia), entregaram a candidatura final a esta inscrição. Tavira foi a cidade escolhida como comunidade representativa de Portugal ⁽⁵⁾. A 16 de Novembro de 2010, esta candidatura foi aprovada e a DM tornou-se “Património Imaterial da Humanidade” ^(6, 7).

Estes países são tradicionalmente referidos como consumidores da DM, contudo ao longo dos anos tem-se assistido a uma alteração da dieta. Assim, verifica-se um aumento do consumo energético diário, aumento no consumo de produtos de origem animal, diminuição na utilização de azeite ⁽⁸⁾.

A adesão à DM é quantificada através de diversas escalas adequadas. Em crianças e adolescentes, esta é referenciada como sendo predominantemente moderada. Tal como nos mostra um estudo realizado na Póvoa de Lanhoso, efectuado em crianças com idades entre os 8 e os 10 anos, 61.4% da amostra tem uma adesão média à DM e 38.6% tem uma baixa adesão. Sabe-se ainda que são as crianças do sexo feminino, aquelas que apresentam maior adesão à DM ⁽⁹⁾. Um outro estudo com crianças e adolescentes (com idades compreendidas entre os 6 e os 16 anos), acompanhadas na consulta de endocrinologia do Hospital de Aveiro, 60.7% apresentam uma elevada adesão à DM ⁽¹⁰⁾. Ainda, num outro trabalho, em adolescentes italianos (com idades compreendidas entre os 14 e os 20 anos), 60.5% tem uma adesão média e 23% tem uma adesão baixa à DM ⁽¹¹⁾.

Quanto à associação entre a DM e a saúde cardiovascular, é descrito que um aumento de 2 pontos num índice de adesão ao padrão mediterrânico era acompanhado por uma diminuição de aproximadamente 10% da incidência de eventos cardiovasculares ⁽¹²⁾. No estudo PREDIMED (*Prevención con Dieta Mediterránea*), que pretende avaliar os efeitos a longo prazo da DM, em adultos (com idades compreendidas entre os 55 e os 80 anos) com alto risco de doenças cardiovascular, embora sem diagnóstico no momento de admissão. Cerca de metade da amostra apresentava diabetes tipo 2, e a outra metade 3 ou mais fatores de risco cardiovascular. Chegou-se à conclusão que a DM quando suplementada com azeite virgem extra ou frutos secos era muito eficaz na prevenção primária da doença cardiovascular ^(12, 13). Além desses resultados, houve ainda uma redução de 50% na incidência de novos casos

de diabetes nos grupos de intervenção com DM, comparado com o grupo-controlo, sendo que também o perfil lipídico, tensão arterial, e marcadores inflamatórios, diminuíram nos grupos de intervenção com DM ⁽¹²⁾.

1.2 Avaliação da Adesão à Dieta Mediterrânica

O índice original de avaliação da adesão à DM – Mediterranean Diet Score (MDS), foi publicado em 1995, e era aplicado em adultos ⁽¹⁴⁾. Neste índice original, 8 tópicos eram utilizados como preditores de adesão ao padrão:

- i) Razão de gordura monoinsaturada/saturada;
- ii) Consumo moderado de bebidas alcoólicas;
- iii) Consumo de leguminosas;
- iv) Consumo de cereais (incluindo pão e batata);
- v) Consumo de fruta;
- vi) Consumo de vegetais;
- vii) Consumo de carne;
- viii) Consumo de lacticínios.

Neste caso, avaliavam-se previamente os alimentos consumidos, sendo depois necessário atribuir uma pontuação de 0 ou 1, dependente da quantidade de alimentos consumida. A pontuação total variava entre 0 e 8, sendo que quanto maior a pontuação, maior era a adesão do indivíduo à DM ⁽¹⁵⁾.

Deste primeiro índice, derivaram duas novas versões, em 2003 ⁽¹⁶⁾ e 2005 ⁽¹⁵⁾, passando a registar 10 componentes no primeiro caso e 9 no segundo. Em ambos os trabalhos o objetivo era associar a adesão à DM com a mortalidade.

Além destas, existem numerosas versões de índices para avaliação da adesão à DM, nomeadamente o *Mediterranean Score* ⁽¹⁷⁾, utilizado em adultos e publicado em 2003, com 11 componentes a avaliar, provenientes da pirâmide mediterrânica. Existe ainda a o *Italian Mediterranean Index* ⁽¹⁸⁾, utilizado em adultos e publicado em 2011, com 11 componentes a avaliar e ainda o KIDMED ⁽¹⁹⁾ (publicado em 2004), utilizado especificamente em adolescentes e crianças.

De entre os índices existentes, o KIDMED (Mediterranean Diet Quality Index for Children and Adolescents), parece ser o mais utilizado em trabalho com crianças e adolescentes. Foi desenvolvido por Serra-Majem, et al. ⁽¹⁹⁾ e baseava-se num questionário autoadministrado de 16 questões, que sustentavam os princípios da DM. O

somatório dos valores podia variar entre -4 e 12 e classificava os participantes em três níveis:

- i) Igual ou superior a 8 – Ótima adesão à DM;
- ii) Entre 4 e 7 – Necessárias alterações na ingestão para ajustar aos padrões mediterrânicos;
- iii) Inferior a 3 – Baixa adesão à DM;

Este índice foi utilizado na Europa e em Portugal em vários estudos com crianças e adolescentes ^(9-11, 20). Para além deste, em dois outros índices de avaliação da adesão à DM utilizados em crianças/adolescentes:

- i) O MDS ⁽¹⁴⁾, o índice original, criado para adultos, mas utilizado por vezes com crianças ⁽²¹⁾;
- ii) O Mediterranean Diet Quality Index Internacional (Med DQI-I) ⁽²²⁾, que não teria uma faixa etária específica, e que teria como objetivo entender a adesão mundial às recomendações dietéticas e nutricionais, com adaptações a especificações da DM ⁽²¹⁾.

1.3 Inflamação

A inflamação é uma resposta fisiológica, que repõe a homeostasia quando esta é alterada por estímulos diversos ⁽²³⁾. Tem um papel importante na defesa contra infecções ou lesões, mas também está associada com a fisiopatologia de várias doenças. É a interação entre várias células (do sistema imune inato, adaptativo e mediadores inflamatórios) que condiciona as várias configurações da inflamação aguda e crônica ⁽²⁴⁾.

A defesa do hospedeiro envolve dois mecanismos distintos, mas ligados entre si: i) sistema imune inato, e ii) sistema imune adaptativo ⁽²⁴⁾:

I) Resposta Imune Inato

O sistema imune inato apresenta uma resposta rápida a uma lesão e reconhece vários padrões moleculares associados à patogênese (ou PAMPs), como por exemplo lipopolissacarídeos ou endotoxinas ⁽²⁴⁾.

Os macrófagos parecem expressar vários tipos de recetores: os *scavenger* e os do tipo Toll, cujos ligandos incluem PAMPs (como lipopolisacarídeos), e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), modificadas por glicação ou oxidação ⁽²⁴⁾.

A ligação com recetores *scavenger* pode conduzir a endocitose ou degradação lisossomal, enquanto a ligação com receptores do tipo Toll, resulta na ativação do fator nuclear *kappa* B (NF- κ B) e das proteíno-quinases ativadas por mitógenos (MAP quinase). Na ligação com recetores do tipo Toll, pode ainda haver aumento da fagocitose, libertação de citoquinas, produção de espécies reativas do oxigénio, entre outras, que aumentam a resposta inflamatória local ⁽²⁴⁾.

II) Sistema Imune Adaptativo

A resposta imune adaptativa é mais lenta, e tem um mecanismo no qual há reconhecimento das estruturas moleculares específicas, existindo um elevado número de recetores do antígeno ⁽²⁴⁾. Quando ocorre a apresentação de um antígeno estranho a uma célula T, e esta faz o reconhecimento do mesmo, a célula T, inicia uma reação com objetivo de atacar este antígeno estranho, havendo resposta inflamatória local ⁽²⁴⁾.

A classificação de “estado inflamatório” pode ser relacionada com níveis elevados de marcadores inflamatórios e de adipocinas ⁽²⁵⁾. Quando o estado inflamatório é crónico tem sido associado a um elevado número de doenças como a obesidade, doenças cardiovasculares, Diabetes *Mellitus* tipo 2, cancro ou demência ⁽²⁵⁻²⁹⁾.

No caso do excesso de peso e da obesidade, existe um estado inflamatório crónico de baixo grau. Reporta-se que o sobreconsumo de nutrientes pode estar na origem da resposta inflamatória, verificando-se que o ponto de partida de sinalização da inflamação seja o excesso alimentar, e a origem via tecido adiposo, fígado ou músculo, com uma resposta inflamatória a este estímulo ⁽²³⁾.

Algumas patologias crónicas têm como consequência uma resposta inflamatória desajustada, sendo essa resposta caracterizada por um aumento de citocinas, e de marcadores de inflamação, tais como o fibrinogénio, a proteína C reativa, entre outros ^(23, 26).

A interleucina-6 (IL6) é considerada uma citocina pro-inflamatória ^(23, 28), sintetizada pelo tecido adiposo, células endoteliais, macrófagos, entre outros ⁽²³⁾. As citocinas estão envolvidas na comunicação entre células imunológicas ⁽²⁸⁾ sendo que algumas das suas funções envolvem a intervenção no metabolismo dos hidratos de carbono e dos lípidos, nomeadamente através do aumento da lipólise ⁽³⁰⁾. Considerando-se também que esteja envolvida no desenvolvimento de hiperinsulinemia bem como da síndrome metabólica, além da regulação de outros marcadores inflamatórios ⁽²³⁾.

A PCR é sintetizada no fígado e é uma proteína de fase aguda, sendo regulada e produzida, por vezes, em resposta ao estímulo da IL6 ^(23, 31). É considerado um marcador inflamatório com elevada sensibilidade, mas com baixa especificidade ⁽²⁸⁾. Sabe-se ainda que em crianças e adultos, a PCR está também relacionada com componentes individuais da síndrome metabólica ⁽²⁵⁾. Considera-se ainda que aumenta rapidamente em resposta a estímulos diversos e que está presente em baixas concentrações, quando em condições regulares ⁽²³⁾.

A leptina é considerada uma “molécula chave na regulação do peso corporal e do balanço energético”, uma vez que está associada com o controlo do apetite, e gasto energético ⁽³⁰⁾. Esta molécula tem uma estrutura homóloga a várias citocinas, como IL-6 e aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias. As citocinas como o TNF- α , ou a IL-6 promovem a produção de leptina pelo tecido adiposo, sustentando um estado pró-inflamatório ⁽³²⁾.

A adiponectina é uma hormona, que parece possuir propriedades anti-lipolíticas e anti-inflamatórias. Parece estar presente em menores concentrações em indivíduos obesos, quando comparados com indivíduos magros ⁽³¹⁾.

O fibrinogénio é uma glicoproteína solúvel, sintetizado por hepatócitos no fígado e tem uma semi-vida de aproximadamente 4 dias. Em condições de trauma, doença vascular, infeção ou inflamação, a concentração de fibrinogénio aumenta rapidamente e este é considerado um reatante de fase aguda ⁽³³⁾. Os indivíduos com obesidade, devido a esta sobrecarga ponderal, associada a uma elevada carga de massa gorda, estão em maior risco de diversas doenças crónicas. Este tecido adiposo é uma fonte de citocinas pró-inflamatórias, como a IL6, elevando conseqüentemente a PCR ⁽²³⁾.

O sistema do complemento regula ativamente vários momentos da resposta inflamatória, sendo a ativação deste sistema eficiente, rápida e ocorrendo em simultâneo com o início da resposta inflamatória. Os componentes solúveis do sistema complemento estão presentes não só na circulação mas também nos tecidos e fluidos corporais, preparados para iniciar uma reação de defesa contra estímulos exógenos ou endógenos ⁽³⁴⁾.

Em crianças obesas este fenómeno parece também ocorrer, sendo registados valores de PCR mais elevados do que em crianças normoponderais ⁽²³⁾.

Na obesidade, quer em adultos quer em crianças foram registados níveis mais elevados de marcadores pró-inflamatórios como a PCR, sendo também verificados menores níveis de marcadores anti-inflamatórios como é o caso da adiponectina ⁽²⁶⁾.

A gordura abdominal está também associada a elevadas concentrações de PCR, independentemente do Índice de Massa Corporal (IMC) ⁽²³⁾. Sabendo-se ainda que o tecido adiposo auxilia no processo de libertação de marcadores inflamatórios para a corrente sanguínea ⁽²⁷⁾.

1.4 Dieta mediterrânica e inflamação

A DM parece estar relacionada com a resposta fisiológica à inflamação ^(26, 27, 35), diminuindo a inflamação endotelial, a resistência à insulina, regulando a pressão arterial, melhorias no perfil lipídico e diminuição do risco de diversos cancros em adultos⁽³⁾.

A maioria dos estudos sobre as alterações no perfil inflamatório com a utilização da DM, descrevem uma diminuição de um ou mais marcadores inflamatórios ou ainda o aumento de marcadores anti-inflamatórios/antioxidantes ⁽³⁶⁻⁴³⁾.

Um dos estudos, realizado com uma amostra de adultos, reporta uma diminuição de alguns marcadores inflamatórios, nomeadamente IL-6, com um maior consumo de frutas e cereais, e ainda menor concentração de Moléculas de Adesão Celular Vascular - 1 (VCAM-1), Moléculas de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1), IL-6 e PCR com um consumo aumentado de frutos oleaginosos e azeite ⁽³⁶⁾.

Num outro trabalho também realizado com uma amostra de adultos, pareceu existir uma associação inversa entre a adesão à DM e a inflamação medida por IL-6, independente de fatores associados a risco cardiovascular e de fatores genéticos. O mesmo não ocorreu com a PCR, após ajuste para os fatores associados ao risco cardiovascular. Os autores consideram importante não extrapolar os resultados obtidos neste trabalho para consumo de alimentos em separado, salientando a importância do padrão como um todo⁽³⁷⁾.

Um estudo com idosos em Espanha verificou, após um período de intervenção nos grupos com DM, uma diminuição de IL-6 e ICAM-1. A VCAM-1 e a PCR aumentaram apenas no grupo de DM suplementado com azeite virgem ⁽³⁸⁾.

Numa outra referência, em adultos a nível europeu, os investigadores encontraram uma diminuição da concentração de MI como PCR ou IL6 como o aumento da adesão à DM. Por cada unidade de aumento no score de adesão a esta dieta, houve uma diminuição de 3,1% nos níveis médios de PCR, e de 1,9% nos níveis de IL-6, sendo que em relação aos níveis de fibrinogénio não houve uma associação com a dieta. Quanto ao consumo moderado de vinho tinto, foi associado inversamente com os níveis de IL-6, PCR e fibrinogénio ⁽³⁹⁾.

Relativamente à associação entre os níveis plasmáticos de carotenóides, vitaminas A e E, e a adesão à DM, Azzini, E., et al. ⁽⁴⁰⁾ encontraram uma associação positiva, numa

população de adultos (20 a 40 anos). Os participantes com níveis de adesão à DM igual ou superior a 6 apresentaram níveis mais elevados de interleucina 10 (IL-10), enquanto os indivíduos com score igual ou inferior a 3 apresentavam maiores concentrações de moléculas pro-inflamatórias.

Marin, C., et al., ⁽⁴¹⁾ num estudo de intervenção com idosos, demonstraram que uma maior adesão à DM está associado a uma diminuição dos níveis de micropartículas e partículas endoteliais, encontrando também um aumento dos níveis de beta-carotenos e uma diminuição da atividade da superóxido dismutase com o consumo deste tipo de dieta.

Pelo contrário, Michalsen, A., et al., ⁽⁴⁴⁾ num estudo com 101 participantes adultos, não tiveram registo de diferenças entre o consumo da DM e os níveis de PCR, fibrinogénio, homocisteína, insulina em jejum, entre outros.

Ostan, R., et al., ⁽⁴²⁾ numa revisão sugerem que a conjugação de uma dieta saudável com atividade física podem auxiliar na prevenção de doenças (por exemplo vários tipos de cancro) ou ainda facilitando o seu tratamento. Desta forma, a DM como padrão saudável e facilitador de mecanismos anti-inflamatórios, pode diminuir o surgimento de cancro e outras patologias.

É também descrito que a DM parece ser uma excelente fonte de carotenóides, sendo que estes compostos parecem ter uma ação anti-inflamatória e antioxidante marcada, diminuindo o surgimento de certas patologias ⁽⁴³⁾.

Os antioxidantes provenientes da dieta como os beta-carotenos, zinco, selénio, entre outros parecem estar associados com níveis mais baixos de marcadores inflamatórios que são relacionáveis com doença, em adultos e adolescentes ⁽²⁶⁾.

Foi demonstrada, uma correlação inversa entre o consumo de fruta e vegetais, com os níveis de marcadores inflamatórios, tendo esta correlação sido demonstrada em adolescentes ⁽²⁷⁾.

Num estudo foi demonstrada uma associação inversa entre o consumo de óleo de peixe (EPA e DHA) e inflamação, tendo o mesmo ocorrido para ingestão de peixe na dieta ⁽²⁷⁾.

Alimentos como cereais integrais, componentes do Padrão Mediterrânico, pela sua composição elevada em compostos bioativos, podem exercer alguma atividade anti-inflamatória ⁽²⁷⁾, o mesmo parece ocorrer para vegetais e frutas ⁽²⁷⁾.

Bibiloni, M., et al. ⁽⁴⁵⁾, num estudo com 219 raparigas (12 a 17 anos), com o objetivo de relacionar fatores alimentares com inflamação subclínica em raparigas,

encontrou uma associação positiva entre a DM e as concentrações de adiponectina ($\beta=0,174$; $p < 0,05$), sendo que após ajuste para o IMC, esta associação deixou de ser significativa ($\beta=0,144$; $p=0,076$). Para inclusão no grupo DM, os seguintes grupos alimentares foram considerados: iogurte e queijo, peixe e marisco, massa, fruta fresca, vegetais, batatas, azeite, entre outros.

Existe no entanto uma escassez de trabalhos que associem a adesão à DM e a concentração de um ou mais marcadores inflamatórios em crianças e adolescentes.

1.5 Adolescentes – Fisiologia, comportamento, alimentação.

Os períodos da infância e adolescência são períodos de potencial “interesse nutricional”; uma vez que^(46, 47):

- i) Existe potencial para ocorrer promoção/consolidação dos hábitos alimentares;
- ii) Há aumento das necessidades nutricionais devido ao crescimento e desenvolvimento, pelo que pode existir risco;
- iii) É nos adolescentes ou crianças que ocorrem desvios na alimentação feita em casa para alimentos processados ou consumidos em restaurantes, além de um desvio da alimentação mediterrânica.

Durante a adolescência, verifica-se ainda um crescimento físico muito mais elevado do que aquele que é registado no início da infância, estimando-se que cerca de 20% da altura na idade adulta é adquirida durante a puberdade. Há também lugar a um aumento de peso, com cerca de 40 a 50% do peso corporal de adulto a ser adquirido na adolescência. Os rapazes parecem ganhar cerca de 2 vezes mais massa magra do que as raparigas, com as diferenças na composição corporal a alterarem as necessidades nutricionais de ambos os sexos⁽⁴⁸⁾. A distribuição da massa gorda pode estar relacionada com os níveis de testosterona/estradiol no desenvolvimento da puberdade⁽⁴⁹⁾.

As diferenças no grau de maturação física, composição corporal ou ainda nos níveis de atividade física podem ditar necessidades nutricionais muito distintas entre adolescentes, com as recomendações gerais para a idade a poderem não satisfazer ou estar sobrestimadas para um determinado adolescente⁽⁴⁸⁾.

Encontra-se descrito que os hábitos alimentares são formados em grande parte na infância e na adolescência e se prolongam ao longo da vida. O condicionamento pode ser feito em parte pela disponibilidade alimentar, mas também influenciado por fatores psicológicos, socio culturais, entre outros⁽¹⁾, surgindo a alimentação muitas vezes como um método para que o adolescente possa exercer a sua autonomia⁽⁴⁸⁾.

Os fatores que influenciam os hábitos alimentares dos adolescentes podem estar classificados em quatro níveis⁽¹⁾:

- i) Influências pessoais;
- ii) Influências sociais;
- iii) Influências da comunidade;

iv) Influências do ambiente social.

O período da adolescência é um período de desenvolvimento, aumentando a necessidade de nutrientes específicos, sendo que as necessidades energéticas e nutricionais variam de indivíduo para indivíduo. Existem no entanto frequentemente défices de cálcio e ferro, reportados em estudos (no sul da Europa) com populações de adolescentes ⁽¹⁾.

O inquérito alimentar nacional de 1980, em Portugal, registou que, em adolescentes, as gorduras chegam a representar 32% do valor energético total, enquanto a ingestão de micronutrientes (por exemplo o ferro e cálcio), chega a estar mais de 70% abaixo da Ingestão Diária Recomendada (RDA), sendo mais frequente nas áreas rurais ^(1, 50). Verifica-se também que, à semelhança do que ocorre em populações de adultos, os adolescentes podem estar a aumentar a sua ingestão de gorduras. Em Lisboa, num estudo de 1995 em adolescentes escolarizados, verificou-se que 33% do valor energético total seria proveniente de gorduras ^(1, 50). Num trabalho de 2013, regista-se uma diminuição da qualidade da dieta dos adolescentes, com o aumento da idade (entre o 6º e o 10º ano), existindo um consumo diário de doces em 17% da amostra e de refrigerantes em 23%, enquanto no consumo de frutas, regista-se um total de 50,7% com consumo diário, mas ainda se observa que 7,7% nunca as consomem ou fazem-no raramente ⁽⁵¹⁾.

Na população espanhola, existe já um desvio do padrão mediterrânico, com aumento dos consumos de leite e derivados, carne e gordura de adição no prato. O consumo de proteína neste país também parece estar mais aumentado, chegando a atingir 200% a ingestão recomendada ^(1, 52).

Em adolescentes europeus, o estudo Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence Cross-Sectional Study (HELENA-CSS), que visa fornecer uma visão geral dos métodos utilizados para avaliar alimentos e ingestão de nutrientes, o conhecimento nutricional e atitudes relacionadas com a dieta mostra resultados selecionados a partir do estudo e registou valores de ingestão energética diários de 2478 a 2798 kcal/dia para rapazes e de 1653 a 2820 kcal/dia para raparigas. Verificaram também uma tendência para subestimar o consumo energético, que aumentava com o aumento do IMC em ambos os sexos ⁽⁵³⁾.

A ingestão de gordura no estudo HELENA-CSS, em adolescentes europeus, variou entre os 28 e os 33%, para ambos os sexos ⁽⁵³⁾.

Em adolescentes brasileiros, Leal, et al., ⁽⁵⁴⁾, registaram um consumo energético inferior às recomendações para 66% da amostra, com cerca de 50% da amostra a apresentar consumos dentro dos intervalos recomendados para os hidratos de carbono, gorduras e proteínas. No entanto, o consumo de gorduras era superior às recomendações para 47% da amostra e o consumo de proteína era superior ao recomendado em 40% da amostra. Nos micronutrientes, Leal, et al., ⁽⁵⁴⁾, registaram um baixo consumo de vitamina A em 86% dos rapazes, e 96% de consumo insuficiente de cálcio nas raparigas.

Em adolescentes australianos, dos cinco grupos alimentares (considerados essenciais para uma alimentação saudável), o grupo do pão e cereais era o mais consumido, seguido do grupo dos vegetais, depois os lacticínios, seguindo-se a carne/ovos/frutos secos/leguminosas, e por último a fruta (com inclusão dos sumos de fruta). Os alimentos extra (considerados como não essenciais para uma alimentação saudável) eram consumidos por 89,8% da amostra diariamente, já a água era consumida por 86,7% dos adolescentes diariamente ⁽⁵⁵⁾.

2. Material e Métodos

2.1 Desenho estudo/Amostra

Este estudo foi realizado no âmbito do projeto *Longitudinal Analysis of Biomarkers and Environmental Determinants of Physical activity (LabMed Physical Activity Study)* que é um estudo de coorte prospetivo. Fizeram parte deste estudo escolas de 4 cidades portuguesas, da região Norte, nomeadamente Barcelos, Vila Nova de Gaia, Ílhavo e Braga. A seleção das escolas foi feita de forma aleatória dentro das escolas que já tinham um acordo de colaboração com o centro (CIAFEL – Centro de Atividade Física, Saúde e Lazer), por uma questão de orçamento e logística, uma vez que os adolescentes foram seguidos por um período de 2 anos.

O recrutamento de estudantes foi realizado nas escolas participantes, com todos os estudantes inscritos do 7º e 10º ano a serem convidados a participar no estudo (n=1678).

Os dados base foram recolhidos no Outono de 2011, com 1229 adolescentes que aceitaram participar, aparentemente saudáveis (sem diagnóstico de doenças físicas ou mentais) com idades compreendidas entre os 12 e os 14 anos (7º ano) e entre os 15 e os 18 anos (10ºano).

As amostras sanguíneas foram apenas recolhidas na primeira avaliação, no momento base de recolha, sendo que, dos 1229 adolescentes que participaram na recolha de dados, apenas 534 aceitaram submeter-se a recolha de amostras sanguíneas. Ainda assim, destes 534, 5 foram mais tarde excluídos por apresentarem valores de PCR superiores a 10mg/dL, o que poderia indicar inflamação aguda ou doença, restando 529 adolescentes (267 raparigas e 262 rapazes). Destes, 22 alunos não tinham informação alimentar, pelo que foram também excluídos, restando assim 507 adolescentes na amostra final (246 rapazes e 261 raparigas).

2.2 Requerimentos legais e éticos

O estudo foi realizado de acordo com a Declaração de Helsínquia para estudos humanos da Associação Médica Mundial ⁽⁵⁶⁾. A Comissão de Proteção de Dados (#1112434/2011), o Ministério da Ciência e Educação (0246200001/2011), e a Comissão de Ética da Faculdade de Desporto da Universidade do Porto (FADEUP), aprovaram o estudo. Todos os participantes no estudo foram informados dos objetivos

do mesmo, e o consentimento informado foi obtido tanto dos participantes (adolescentes) como dos seus pais/encarregados de educação.

Considerando potenciais recusas pelo facto de terem de se submeter a análises sanguíneas e ao uso de acelerómetros, foi elaborado um consentimento com todas as opções de recolha de dados o que permitiu aos participantes consentir em algumas partes e recusar outras. Por exemplo, um adolescente poderia efetuar os testes físicos e de fitness e não usar o acelerómetro ou recusar submeter-se a exames sanguíneos.

Assim, todos os adolescentes que obtiveram autorização individual e dos pais participaram no estudo.

Foram aplicados como critérios de exclusão a existência prévia de qualquer doença crónica ou aguda, bem como valores de concentração de PCR superiores a 10mg/dL.

2.3 Medidas antropométricas

O peso foi medido recorrendo a uma balança electrónica (*Tanita Inner Scan BC532, Tokyo, Japan*), com uma aproximação de 0,1 kg, com os adolescentes sem sapatos e com roupa leve. A altura foi registada com uma aproximação de 0,1 cm, descalços ou em meias, com os adolescentes de pé e encostados ao estadiómetro (*Seca 213, Hamburg, Germany*)⁽⁵⁷⁾. A percentagem de massa gorda foi medida com recurso a bio impedância com uma frequência constante de 50kHz (*Tanita Inner Scan BC 532, Tokyo, Japan*), tendo sido pedido aos participantes que fizessem um jejum de pelo menos 10 horas durante a noite. Após uma introdução manual da idade, sexo, e altura no sistema da balança por parte dos investigadores, os participantes colocaram-se na balança em roupas ligeiras e descalços⁽⁵⁸⁾.

O Índice de Massa Corporal (IMC)⁽⁵⁹⁾ foi calculado a partir da equação: peso /altura² (kg/m²). Utilizou-se o z-score do IMC, classificando o estado antropométrico dos adolescente, segundo a OMS⁽⁶⁰⁾ em:

- Obesidade – z-score $\geq +2$ desvios-padrão (DP)
- Excesso de Peso – z-score $\geq +1$ DP
- Normoponderal – z-score > -2 - $< +1$ DP
- Magreza – z-score ≤ -2 DP
- Magreza Severa – z-score ≤ -3 DP

2.4 Marcadores Inflamatórios

Neste estudo, as amostras sanguíneas foram recolhidas da veia antecubital entre as 08h00 e as 10h00, numa posição sentada, após 10 horas de jejum. As amostras foram depois guardadas em frascos em condições refrigeradas (4° a 8°C), e seguidamente enviadas para o laboratório de análises clínicas para testes de acordo com os procedimentos standardizados, conforme é apresentado na tabela 1.

Para cada uma das variáveis, foram construídos Z-Scores para a idade e sexo, segundo a equação: (valores dos participantes – média dos valores da amostra) /desvio padrão.

Tabela 1 – Marcadores Inflamatórios Avaliados

Biomarcadores	Técnicas Analíticas
IL-6	Ensaio de imunoquimioluminescência (Immulite 2000, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA)
Adiponectina Leptina	Método de leitura de placas (E.L.I.S.A.)
Fatores C3 e C4 do sistema complemento	Ensaio de imunoturbidimetria (Siemens Advia 1600/1800, Erlangen, German)
Proteína C-Reativa	Estudo turbidimétrico em látex
Fibrinogénio	Método Clauss (Siemens BCS System, Erlangen, Germany)
Leucócitos	Método colorimétrico (Siemens Advia 2120i, Erlangen, Germany) Cítometria de fluxo (Siemens Advia 2120i, Erlangen, Germany)

2.5 Questionário de Frequência Alimentar

A ingestão alimentar foi avaliada recorrendo a um questionário de frequência alimentar semi-quantitativo auto-administrado, validado para adultos portugueses ⁽⁶¹⁾. Este questionário foi desenhado com base no questionário de Willett et. al⁽⁶²⁾, tendo posteriormente sido adaptado de forma a incluir uma variedade de alimentos tipicamente portugueses. Foi também adaptado para adolescentes, incluindo alimentos frequentemente mais consumidos por esta faixa etária ⁽²⁰⁾. Esta versão compreende os últimos 12 meses, e inclui 91 itens alimentares e bebidas. Para cada item, o questionário continha 9 opções de frequência, que iam desde “nunca” até “seis ou mais vezes por dia”, acrescidas de porções médias e sazonalidade. Numa zona de resposta livre, os participantes tinham a opção de adicionar qualquer alimento que não estivesse presente no questionário. A ingestão energética e nutricional foi estimada com base nas respostas obtidas por parte dos participantes em termos de frequência, porções e sazonalidade para todos os itens, utilizando o *software Food Processor Plus* (ESHA Research Inc., Salem, OR, US). Este programa utiliza informação nutricional dos Estados Unidos da América, que foi adaptada para uso de alimentos e bebidas tipicamente portugueses ⁽⁶³⁾. De forma a verificar a consistência inter-item, foi aplicado o teste de Alfa Cronbach às dimensões do questionário, obtendo-se um score elevado ($\alpha=0,892$), o que indicou uma boa consistência interna.

Como método de avaliação dos registos alimentares plausíveis, em termos de ingestão energética total, foi utilizada a fórmula de Goldberg et al ⁽⁶⁴⁾.

São definidos os pontos de corte, sendo que seguidamente se verifica se a razão entre a ingestão energética registada e a taxa de metabolismo basal (TMB), se enquadra dentro dos limites (obtidos através da fórmula de Goldberg). A TMB foi calculada através da equação de Schofield ⁽⁶⁵⁾. Se esta estiver situada dentro dos limites propostos, esse registo alimentar é classificado como plausível. Se este rácio se apresentar abaixo do limite mínimo, é considerado haver omissão de ingestão alimentar, e se este estiver acima do limite máximo, há sobrestimação do registo alimentar.

2.6 Dieta Mediterrânea

Na avaliação da adesão à DM, utilizamos o índice KIDMED ⁽¹⁹⁾ que se baseia num questionário auto-administrado constituído por 16 questões, que sustentam os princípios da DM (como padrão), e cujo somatório varia entre -4 e 12 pontos, conforme a pontuação das questões:

Com a pontuação de +1:

1. Ingestão diária de frutas/sumo natural de fruta
2. Ingestão diária de uma segunda peça de fruta
3. Ingestão diária de vegetais
4. Ingestão diária de duas ou mais refeições com vegetais
5. Consumo regular de peixe
6. Consumo semanal de leguminosas
7. Consumo diário de arroz ou massa
8. Consumo de cereais ou derivados ao pequeno-almoço
9. Consumo de frutos oleaginosos 2 a 3 vezes por semana
10. Utilização de azeite como gordura
11. Consumo de leite/derivados ao pequeno-almoço
12. Consumo diário de 2 iogurtes ou 40g de queijo

Com a pontuação de -1:

1. Não ingestão do pequeno-almoço
2. Consumo de produtos de pastelaria ao pequeno-almoço
3. Consumo regular de refeições em restaurantes de fast-food
4. Consumo de doces e guloseimas várias vezes por dia

Posteriormente os participantes foram categorizados de acordo com o seu score total à adesão à DM ⁽¹⁹⁾ em:

- i) Elevada adesão (≥ 8 pontos);
- ii) Adesão moderada (4-7 pontos);
- iii) Baixa adesão (≤ 3 pontos).

2.7 Questionário de Atividade Física

Foi avaliada utilizando um questionário de 5 itens auto-reportado, que avaliava a atividade física realizada no tempo de lazer ⁽⁶⁶⁾. Este questionário tem demonstrado ter uma boa fiabilidade no teste-re-teste em adolescentes portugueses (variação intraclasse de 0,92-0,96). Deste questionário, derivou um índice com cinco questões (com quatro respostas possíveis em cada):

- i) Fora da escola, participas em desportos ou actividades físicas organizadas?
- ii) Fora da escola, participas em desportos ou actividades físicas não organizadas?
- iii) Fora do período escolar, quantas vezes por semana participas em desportos ou actividades físicas de pelo menos 20 minutos?
- iv) Fora do período escolar, quantas horas por semana costumavas gastar em actividade física, tão intensa que suas ou fiques sem fôlego?
- v) Participas em desportos de competição?

O número máximo de pontos possível era de 20 e o índice de atividade física foi obtido para cada um dos participantes através da soma dos pontos, e variava entre sedentária e vigorosa. Participantes com níveis de índice de atividade física superiores a 10 eram considerados ativos, pelo contrário, se os níveis eram iguais ou inferiores a 10 eram considerados pouco ativos ^(67, 68).

2.8 Consumo de Tabaco

O consumo de tabaco foi auto-reportado pelos adolescentes, sendo classificados em não fumadores, ex-fumadores (aqueles que tinham deixado de fumar pelo menos à 6 meses), fumadores ocasionais (indivíduos que fumavam em média menos de um cigarro por dia), e fumadores (indivíduos que fumavam pelo menos um cigarro por dia) ⁽⁶⁹⁾.

2.9 Estatuto socioeconómico

O estatuto socioeconómico (SES) dos adolescentes foi avaliado com recurso ao *Family Affluence Scale* (FAS) ⁽⁷⁰⁾, uma escala desenvolvida especificamente para avaliar o estatuto socioeconómico de crianças e adolescentes no contexto do estudo de comportamentos em saúde em crianças de idade escolar. O FAS consiste nas seguintes questões:

- 1) A tua família tem carro, carrinha ou camião? (Não; Sim, um; Sim, dois ou mais);
- 2) Tens o teu próprio quarto apenas para ti? (Não; Sim)
- 3) Nos últimos 12 meses, quantas vezes viajaste para fora com a tua família? (Nunca; Uma vez; Duas vezes; Mais do que duas vezes;)
- 4) Quantos computadores têm a tua família? (Nenhum; Um; Dois; Mais do que dois).

As respostas foram somadas e o estatuto socioeconómico dos adolescentes foi classificado num índice contínuo, sendo que a um maior número de pontos corresponderia um maior grau de SES.

2.10 Estádio Pubertário

Para determinar o estágio pubertário (com um intervalo entre 1 e 5), cada participante foi questionado para auto-avaliar o desenvolvimento de características sexuais secundárias. Em raparigas o desenvolvimento mamário e os pelos púbicos, e em rapazes o desenvolvimento genital e os pelos púbicos foi avaliado de acordo com os critérios de Tanner e Whitehouse ⁽⁷¹⁾.

2.11 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao programa IBM SPSS na versão 23 para o *Windows*.

Primeiramente foi testada a normalidade das variáveis recorrendo ao teste de *Kolmogorov-Smirnov*, sendo que nenhuma das variáveis apresentava distribuição normal. Seguidamente através do teste qui-quadrado foi testada a diferença entre os sexos, para variáveis categóricas, recorrendo-se ao teste de *Mann-Whitney* para o mesmo efeito, com variáveis contínuas.

Para avaliar a associação entre os marcadores inflamatórios e a adesão à DM foram utilizados modelos de regressão linear, tendo sido avaliados para a normalidade dos resíduos, assim como quanto à presença de resíduos superiores a 3,3 desvios padrão (DP).

Verificou-se também a multicolinearidade, com recurso ao coeficiente de correlação, bem como com recurso ao fator de inflação da variância.

Foi efetuado um ajuste dos potenciais confundidores, de acordo com a literatura, para a atividade física ^(27, 45) e o valor energético total ⁽⁴⁵⁾. Ajustou-se ainda para o estadio pubertário, percentagem de massa gorda e implausibilidade da ingestão energética.

Os intervalos de confiança a 95%, bem como os coeficientes de regressão não padronizados (β), foram utilizados para exprimir os coeficientes de regressão das análises.

O nível de significância de 0,05 foi utilizado para a análise dos dados.

3. Resultados

3.1 Caracterização da Amostra

Dos 507 alunos constituintes da amostra, 246 são rapazes e 261 são raparigas.

Na tabela 2, estão detalhados as características sociodemográficas e de estilos de vida, para a amostra total e por sexos. Os 507 alunos avaliados apresentam uma mediana de idades de 15,0 (3,00) anos, sendo que não se verificou diferença estatisticamente significativa entre rapazes e raparigas.

A mediana de alturas foi de 1,60 (0,13) m para a amostra total. Relativamente à mediana do peso foi de 54,0 (15,70) kg para a amostra total, existindo diferenças significativas entre os sexos.

Relativamente ao z-score do IMC, a maioria da amostra era normoponderal (60,0%), sendo que era nos adolescentes do sexo masculino que se encontrava uma maior proporção de excesso de peso e obesidade.

Nos estádios de Tanner, encontramos mais raparigas no estadio 4, quando comparadas com os rapazes.

Relativamente ao KIDMED, a mediana para a amostra e para o sexo masculino encontra-se no nível 7,0 (2,00), enquanto no sexo feminino encontramos uma mediana de 7,0 (3,00), representando uma adesão moderada. A maioria dos adolescentes (49,7%) apresentava uma adesão moderada à DM.

Em termos de Índice de Actividade Física, todos os grupos (total, raparigas e rapazes), apresentaram medianas abaixo do ponto de corte para serem considerados ativos, existindo diferenças significativas entre os sexos. A maioria da totalidade da amostra era pouco ativa (289 indivíduos, com 57,0%), o mesmo ocorrendo para a amostra de raparigas (187 indivíduos, com 71,6%). No grupo da amostra de rapazes a maioria estaria classificada no grupo ativo (144 indivíduos, 58,5%), existindo diferenças significativas entre os sexos.

Tabela 2 – Caracterização da Amostra total e por sexo.

	Total (n=507)	Raparigas (n=261)	Rapazes (n=246)	p
Idade, anos ^{a,b}	14,3 (3,00)	15,0 (3,00)	15,0 (3,00)	0,350
Altura, m ^{a,b}	1,6 (0,13)	1,6 (0,09)	1,6 (0,18)	<0,001
Peso, kg ^{a,b}	54,0 (15,70)	52,9 (13,35)	56,6 (19,60)	0,03
Massa gorda, % ^{a,b}	20,3 (11,80)	24,7 (9,35)	14,8 (9,35)	<0,001
z-score de IMC, n (%) ^{c,d}				
Magreza extrema	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,676
Magreza	47 (9,3)	25 (9,6)	22 (8,9)	
Normoponderal	304 (60,0)	162 (62,1)	142 (57,7)	
Excesso de peso	104 (20,5)	50 (19,2)	54 (22,0)	
Obesidade	52 (10,3)	24 (9,2)	28 (11,4)	
Estádios de Tanner, n (%) ^{c,d}				
1	2 (0,04)	0 (0)	2 (0,8)	<0,001
2	38 (7,5)	8 (3,1)	30 (12,2)	
3	165 (32,5)	77 (29,5)	88 (35,8)	
4	235 (46,4)	141 (54,0)	94 (38,2)	
5	67 (13,2)	35 (13,4)	32 (13,0)	
Consumo de tabaco, n (%) ^{c,d}				
Fumador	7 (1,4)	3 (1,1)	4 (1,6)	0,16
Fumador ocasional	11 (2,2)	6 (2,3)	5 (2,0)	
Ex-Fumador	40 (7,9)	11 (4,2)	29 (11,8)	
Não fumador	449 (88,6)	241 (92,3)	208 (84,6)	
KIDMED (0-12) ^{a,b}	7 (2,0)	7 (3,0)	7 (2,0)	0,368
Adesão à Dieta Mediterrânica, n (%) ^{c,d}				
Baixa Adesão	23 (4,5)	12 (4,6)	11 (4,5)	0,954
Adesão Moderada	252 (49,7)	128 (49,0)	124 (50,4)	
Elevada Adesão	232 (45,8)	121 (46,4)	111 (45,1)	
FAS ^{a,b}	6 (3,0)	6 (3,0)	6 (3,0)	0,696
Índice de atividade Física (5-20) ^{a,b}	10,0 (4,0)	9,0 (4,0)	11,0 (6,0)	<0,001
Índice de atividade Física, n (%) ^{c,d}				
Pouco Ativo	289 (57,0)	187 (71,6)	102 (41,5)	<0,001
Ativo	218(43,0)	74 (28,4)	144 (58,5)	

Valor Energético Total, kcal/dia	2157,4	2112,6	2236,0	0,193
a,b	(1295,54)	(1153,32)	(1558,40)	

IMC- índice de Massa corporal; KIDMED – Mediterranean Diet Quality Index for children and adolescents; FAS – Family Affluence Scale

^a Valores descritos: mediana (desvio interquartil) ^b Teste utilizado: *Mann-Whitney*

^c Valores descritos: n (percentagem) ^d Teste utilizado: qui-quadrado

3.2 Caraterização da concentração de MI

Na tabela 3, estão descritos os valores encontrados das concentrações dos marcadores inflamatórios.

Relativamente à proteína C reativa, adiponectina, leptina, fibrinogénio e razão leptina/adiponectina registaram-se diferenças significativas entre os sexos.

Tabela 3 – Caracterização da concentração dos marcadores inflamatórios para a amostra total e de acordo com o sexo.

	Total (n=507)	Raparigas (n=261)	Rapazes (n=246)	p
Proteína C reativa, mg/L	0,2 (0,62)	0,1 (0,43)	0,3 (1,00)	<0,001
Adiponectina, µg/L	10,5 (6,70)	12,0 (7,10)	9,1 (5,43)	<0,001
Leptina, µg/mL	2,4 (4,70)	4,7 (5,60)	1,0 (1,70)	<0,001
Interleucina-6, µg/L	1,9 (1,50)	1,9 (1,50)	1,9 (1,53)	0,506
Factor C3 do sistema Complemento, mg/dL	116,0 (19,0)	118,0 (20,50)	115,0 (19,00)	0,335
Factor C4 do sistema Complemento, mg/dL	20,0 (7,00)	20,0 (9,00)	20,0 (7,00)	0,793
Fibrinogénio, mg/dL	255,0 (55,00)	259,0 (54,00)	250,5 (56,0)	0,017
Leucócitos, 10⁹L	6,9 (2,20)	7,1 (2,30)	6,8 (1,90)	0,177
Razão Leptina/Adiponectina	0,2 (0,42)	0,4 (0,49)	0,1 (0,24)	<0,001

Os dados correspondem a mediana (desvio interquartil)

A tabela 4 apresenta a associação entre a adesão à DM e a concentração de marcadores inflamatórios.

Foi efectuado um ajuste para os potenciais confundidores, sendo verificadas, no modelo 2, associações negativas entre adesão à DM e a razão leptina/adiponectina nas raparigas ($\beta=0,059$; IC 95% = -0,110 -0,009) e na totalidade da amostra ($\beta=0,044$; IC = -0,081 -0,007).

Verificou-se ainda uma associação negativa entre a leptina e a DM para a totalidade da amostra ($\beta=-0,039$; IC 95%= -0,076 -0,002).

Tabela 4 – Associação entre a adesão à dieta mediterrânea e os marcadores inflamatórios, para a amostra total e de acordo com o sexo

	Total			Raparigas			Rapazes		
	β	IC 95%	p	β	IC 95%	p	β	IC 95%	p
Modelo 1									
<i>Leptina</i>	-0,018	-0,60, 0,025	0,413	-0,037	-0,098 0,025	0,242	0,000	-0,060 0,059	0,991
<i>Adiponectina</i>	0,007	-0,036, 0,049	0,759	0,012	-0,050 0,074	0,697	0,002	-0,058 0,061	0,960
<i>PCR</i>	-0,005	-0,047; 0,038	0,827	-0,025	-0,087; 0,036	0,418	0,014	-0,045; 0,074	0,476
<i>IL6</i>	0,030	-0,012 0,073	0,165	0,049	-0,013 0,110	0,119	0,013	-0,046 0,072	0,671
<i>C3</i>	0,013	-0,029 0,056	0,547	0,029	-0,033 0,090	0,363	-0,001	-0,060 0,058	0,969
<i>C4</i>	-0,006	-0,049 0,037	0,782	0,016	-0,046 0,078	0,606	-0,026	-0,086 0,033	0,379
<i>Fibrinogénio</i>	0,008	-0,035 0,050	0,728	0,017	-0,045 0,079	0,588	-0,001	-0,061 0,058	0,968
<i>Leucócitos</i>	0,007	-0,035 0,050	0,742	-0,013	-0,074 0,049	0,689	0,025	-0,034 0,085	0,400
<i>Rácio Leptina/Adiponectina</i>	-0,019	-0,062; 0,024	0,381	-0,037	-0,099; 0,024	0,236	-0,002	-0,062; 0,057	0,940
Modelo 2									
<i>Leptina</i>	-0,039	-0,076 -0,002	0,037	-0,045	-0,096 0,006	0,083	-0,022	-0,066 0,022	0,319
<i>Adiponectina</i>	0,018	-0,025 0,061	0,416	0,040	-0,023 0,103	0,215	0,003	-0,058 0,063	0,930
<i>PCR</i>	-0,015	-0,058; 0,028	0,493	-0,026	-0,089; 0,037	0,419	0,004	-0,056; 0,064	0,898
<i>IL6</i>	0,023	-0,020, 0,066	0,066	0,041	-0,024 0,106	0,217	0,010	-0,050 0,069	0,745
<i>C3</i>	0,000	-0,041 0,041	> 0,05	0,021	-0,039 0,081	0,482	-0,013	-0,068 0,041	0,628
<i>C4</i>	-0,016	-0,059 0,026	0,451	0,014	-0,048 0,076	0,659	-0,038	-0,098 0,021	0,206
<i>Fibrinogénio</i>	-0,004	-0,047 0,039	0,853	0,014	-0,049 0,076	0,662	-0,013	-0,072 0,047	0,671
<i>Leucócitos</i>	0,008	-0,035 0,052	0,709	-0,009	-0,074 0,57	0,797	0,022	-0,038 0,082	0,467
<i>Rácio Leptina/Adiponectina</i>	-0,044	-0,081 -0,007	0,021	-0,059	-0,110 -0,009	0,022	-0,022	-0,068 0,023	0,337

IC - intervalo de confiança Modelo 1: não ajustado; Modelo 2: ajustado para o estadio pubertário, atividade física, valor energético total, percentagem de massa gorda e implausibilidade da ingestão energética.

4. Discussão

Todos os objectivos inicialmente propostos foram cumpridos. O objectivo geral do estudo foi verificar a associação entre a adesão à DM e as concentrações dos MI em adolescentes. Desta forma, verificou-se uma associação negativa entre o z-score da leptina e da razão leptina/adiponectina e a adesão à DM para a amostra total. Foi igualmente encontrada uma associação negativa entre o z-score da razão leptina/adiponectina e a adesão a DM somente nas raparigas ^(28, 72).

Contrariamente aos nossos resultados, um estudo com adultos (24-53 anos), a alteração da alimentação durante 4 semanas com DM não teve impacto nas concentrações de leptina ou razão leptina/adiponectina, para ambos os sexos ⁽⁷³⁾.

No nosso estudo, não se verificou associação da DM com a IL-6. No entanto, a interacção da dieta com os níveis de IL6 parece ser uma das mais reportadas na bibliografia, existindo associação entre estes níveis e a DM ⁽³⁷⁻³⁹⁾ ou de componentes isolados da dieta – como fruta, cereais, frutos secos ou azeite ^(36, 72).

Num estudo com 180 adultos, com síndrome metabólico, as concentrações de IL-6, IL-7, IL-18 e PCR diminuíram significativamente nos indivíduos do grupo de intervenção (em comparação com o grupo controlo). O grupo de intervenção foi instruído a seguir uma DM, recebendo conselhos para o aumento do consumo de cereais integrais, frutas, vegetais, azeite e frutos secos. O grupo de controlo foi instruído a seguir uma “dieta prudente”, com a seguinte distribuição de macronutrientes: 50 a 60% de hidratos de carbono, 15 a 20% de proteínas, gordura total inferior a 30%) ⁽⁷⁴⁾.

Num estudo com adultos na Grécia ⁽⁷⁵⁾, os autores verificaram uma associação entre a DM e a inflamação, sendo que uma maior adesão à DM foi associada com diminuições de 20% na concentração de PCR e de 17% na concentração de IL-6 (em comparação com adesões mais baixas à DM). Reporta também que num estudo com enfermeiras, o score de adesão à DM foi associado com menores concentrações de biomarcadores inflamatórios e disfunção endotelial.

Num estudo em sobreviventes de enfarte do miocárdio, não foram encontradas associações entre o score de DM e níveis plasmáticos de fibrinogénio. Neste mesmo estudo foram associados os níveis de IL6 e PCR ao score. Para um aumento de uma

unidade no score verificaram diminuições de 3,1% e 1,9% para PCR e IL6 respectivamente ⁽³⁹⁾.

No estudo Identification and prevention of Dietary- and lifestyle-induced health EFfects In Children and infantS (IDEFICS), que visa compreender a relação entre a frequência do consumo de determinados alimentos com a concentração do marcador inflamatório – PCR, em crianças, foram encontrados os seguintes resultados:

- i) Rapazes mais velhos que tinham uma frequência de ingestão semanal de vegetais em cru tinham menor probabilidade de ter maiores concentrações de PCR;
- ii) Raparigas com consumos frequentes de vegetais cozinhados e mel, tinham menor probabilidade de ter maiores concentrações de PCR;
- iii) Em raparigas mais novas, consumos mais frequentes de bebidas açucaradas, maionese, pão branco, entre outros, relacionar-se-iam com maior probabilidade de ter maiores concentrações de PCR ⁽²⁷⁾.

Sendo que estes resultados, uma vez que o consumo de vegetais, a substituição por cereais integrais em detrimento do consumo de açúcares simples, entre outros, são alguns dos fundamentos da DM, podem relacionar-se com este estudo ⁽¹⁻³⁾.

Um dos objectivos específicos desta tese era a avaliação do estado nutricional da amostra, sendo que a maioria da amostra foi classificada como normoponderal, tendo o mesmo registando-se para ambos os sexos, sem diferenças significativas, verificando-se o mesmo em outros trabalhos realizados com crianças em Portugal ⁽⁷⁶⁾. Cerca de 60% da amostra era normoponderal, sendo que 30,8% tinha de excesso de peso ou obesidade.

O segundo objectivo específico do trabalho era avaliar a adesão à DM, neste caso utilizando o índice KIDMED. Neste campo, a maioria da amostra tinha uma adesão moderada. Na Póvoa de Lanhoso em crianças, um estudo reportou 61,4% de adesão média à DM, e em crianças e adolescentes seguidos no Hospital de Aveiro 60,7% da amostra apresentava elevada adesão à DM^(9, 10). Por seu lado, uma amostra com adolescentes italianos, num estudo apresentou 60,5% de adesão média à ⁽¹¹⁾. Não registamos nesta amostra diferenças entre os sexos na adesão ao PAM. Do mesmo modo, o estudo realizado numa amostra de crianças e adolescentes, no Hospital de Aveiro não registou diferenças entre os sexos na adesão ao PAM ⁽¹⁰⁾. Por outro lado, um estudo com uma amostra portuguesa de crianças, na Póvoa de Lanhoso encontrou uma diferença significativa na adesão ao PAM, sendo que eram as raparigas quem tinham melhor adesão (p=0,041) ⁽⁹⁾.

As concentrações dos MI avaliados foram determinadas conforme proposto no terceiro objectivo específico do trabalho. Encontraram-se diferenças significativas entre sexos para PCR, adiponectina, leptina, fibrinogénio e razão leptina/adiponectina.

Encontramos na caracterização da amostra diferenças estatisticamente significativas nos resultados para ambos os sexos em altura, peso, massa gorda, estádios de Tanner e Índice de Atividade Física.

Em relação ao Valor Energético Total, verificamos diferenças entre sexos, sendo os rapazes a consumir um valor energético total superior. Estas diferenças foram também registadas na literatura, em adolescentes e crianças ⁽⁷⁷⁻⁸⁰⁾.

5. Conclusões

Revedo este trabalho, salienta-se como ponto forte do estudo, a utilização de um padrão alimentar e não alimentos (ou nutrientes) isolados originando desta forma resultados mais aproximados à realidade, facilitando a associação com, por exemplo, certas patologias ⁽⁸¹⁾. Salienta-se também o tamanho da amostra recolhida (507 adolescentes). Regista-se ainda a utilização de diversos confundidores para ajuste dos dados, conforme a bibliografia.

Algumas das limitações registadas neste estudo prendem-se, por exemplo, com a impossibilidade de alargar estes dados a toda a população portuguesa (dentro da faixa etária), uma vez que estudamos indivíduos de escolas do norte do país, não sendo representativas da totalidade do território nacional. Também utilizamos um índice de avaliação da adesão (KIDMED), que não está validado para a população, mas que tem sido utilizado frequentemente em estudos desta natureza ⁽⁹⁻¹¹⁾.

A utilização do questionário de frequência alimentar pode também apresentar viéses de memória ou de deseabilidade social, implicando resultados menos fiáveis ⁽¹⁰⁾. Para prevenir alguns viéses, o questionário utilizado foi previamente testado ⁽⁸²⁾, e a análise foi ajustada para a plausibilidade da amostra. Outra limitação, que ocorre neste tipo de questionários (e em vários questionários auto-reportados) ⁽⁶²⁾, são as falhas na memória, bem como uma baixa motivação, que podem limitar os resultados do estudo. Estas limitações foram potencialmente reduzidas pelo recurso a instrução oral, bem como o auxílio dos professores de educação física (especialmente treinados para a recolha dos dados) que poderá ter aumentado a qualidade da informação recolhida. Finalmente, o desenho transversal do estudo não permite estabelecer causalidade.

Concluindo, existe nesta amostra de adolescentes portugueses, uma associação entre a adesão à DM e os valores de concentrações de MI, nomeadamente leptina e rácio leptina/adiponectina.

É reconhecida a dificuldade na avaliação da ingestão alimentar, especialmente quando avaliamos crianças ou adolescentes, sendo que este fator pode explicar a reduzida quantidade de estudos neste âmbito ⁽²⁸⁾.

Estando o estado inflamatório crónico (mesmo que de baixo grau), associado com diversas patologias mesmo desde uma idade precoce, torna-se relevante perceber

quais os factores modificáveis a procurar inverter desde cedo para diminuir a preponderância deste estado. ⁽²⁸⁾.

Serão necessários mais estudos nesta faixa etária, preferencialmente prospectivos, para perceber as associações entre a DM e inflamação e bem como outros estudos centrados no entendimento dos mecanismos associados.

Espera-se que os resultados deste estudo realcem a relevância do consumo de uma DM desde a adolescência (ou ainda mais cedo).

Bibliografia

1. Santos P. A Qualidade da Dieta Mediterrânica numa população jovem do Sul de Portugal: Universidade do Porto; 2003.
2. Vernagione L. The Mediterranean diet: a matter of history, tradition, culture and health. *Journal of nephrology*. 2009;22 Suppl 14:149-58.
3. Korre M, Tsoukas MA, Frantzeskou E, Yang J, Kales SN. Mediterranean Diet and Workplace Health Promotion. *Current cardiovascular risk reports*. 2014;8(12):416.
4. Espanã Gd. Fundación Mediterránea 2015. Available from: <http://dietamediterranea.com/>.
5. Algarve U. A Dieta Mediterrânica em Portugal: Cultura, Alimentação e Saúde". 2ª ed 2015.
6. Jesus P. Dieta mediterrânica é Património Imaterial da Humanidade 2013 [cited 2016 10/03/2016]. Available from: <http://www.dn.pt/portugal/interior/dieta-mediterranica-e-patrimonio-imaterial-da-humanidade-3568724.html>.
7. FCNAUP. Dieta Mediterrânica seleccionada pela UNESCO como Património Cultural Imaterial da Humanidade. Available from: https://sigarra.up.pt/fcnaup/pt/noticias_geral.ver_noticia?p_nr=846.
8. Chen Q, Marques-Vidal P. Trends in food availability in Portugal in 1966-2003: comparison with other Mediterranean countries. *European journal of nutrition*. 2007;46(7):418-27.
9. Almeida ARC. Adesão ao padrão alimentar mediterrânico e associação ao estado nutricional em crianças das escolas do 1º ciclo da Póvoa de Lanhoso [Trabalho de Investigação]: Universidade do Porto - Faculdade de Ciências da Alimentação e Nutrição; 2012.

10. Sousa, S. Adesão ao Padrão Alimentar Mediterrânico em crianças obesas. Universidade do Porto. 2013
11. Santomauro F, Lorini C, Tanini T, Indiani L, Lastrucci V, Comodo N, et al. Adherence to Mediterranean diet in a sample of Tuscan adolescents. *Nutrition*. 2014;30(11-12):1379-83.
12. Estruch R. Cardiovascular mortality: how can it be prevented? *Nefrologia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia*. 2014;34(5):561-9.
13. Ros E, Martinez-Gonzalez MA, Estruch R, Salas-Salvado J, Fito M, Martinez JA, et al. Mediterranean diet and cardiovascular health: Teachings of the PREDIMED study. *Advances in nutrition*. 2014;5(3):330S-6S.
14. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E, et al. Diet and overall survival in elderly people. *Bmj*. 1995;311(7018):1457-60.
15. Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D. Mediterranean diet and survival among patients with coronary heart disease in Greece. *Archives of internal medicine*. 2005;165(8):929-35.
16. Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *The New England journal of medicine*. 2003;348(26):2599-608.
17. Goulet J, Lamarche B, Nadeau G, Lemieux S. Effect of a nutritional intervention promoting the Mediterranean food pattern on plasma lipids, lipoproteins and body weight in healthy French-Canadian women. *Atherosclerosis*. 2003;170(1):115-24.
18. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, et al. A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. *The Journal of nutrition*. 2011;141(8):1552-8.

19. Serra-Majem L, Ribas L, Ngo J, Ortega RM, Garcia A, Perez-Rodrigo C, et al. Food, youth and the Mediterranean diet in Spain. Development of KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. *Public health nutrition*. 2004;7(7):931-5.
20. Silva D, Rego, C., Guerra, A. Characterization of food habits and comparative study between two methods of food assessment in adolescents. *Rev Aliment Humana*. 2004:33-40.
21. Marshall S, Burrows T, Collins CE. Systematic review of diet quality indices and their associations with health-related outcomes in children and adolescents. *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association*. 2014;27(6):577-98.
22. Mariscal-Arcas M, Romaguera D, Rivas A, Feriche B, Pons A, Tur JA, et al. Diet quality of young people in southern Spain evaluated by a Mediterranean adaptation of the Diet Quality Index-International (DQI-I). *The British journal of nutrition*. 2007;98(6):1267-73.
23. Rodriguez-Hernandez H, Simental-Mendia LE, Rodriguez-Ramirez G, Reyes-Romero MA. Obesity and inflammation: epidemiology, risk factors, and markers of inflammation. *International journal of endocrinology*. 2013;2013:678159.
24. Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutrition reviews*. 2007;65(12 Pt 2):S140-6.
25. Huang T, Larsen KT, Moller NC, Ried-Larsen M, Frandsen U, Andersen LB. Effects of a multi-component camp-based intervention on inflammatory markers and adipokines in children: A randomized controlled trial. *Prev Med*. 2015;81:367-72.
26. Corley J, Kyle JA, Starr JM, McNeill G, Deary IJ. Dietary factors and biomarkers of systemic inflammation in older people: the Lothian Birth Cohort 1936. *Br J Nutr*. 2015;114(7):1088-98.

27. Gonzalez-Gil EM, Santabarbara J, Russo P, Ahrens W, Claessens M, Lissner L, et al. Food intake and inflammation in European children: the IDEFICS study. *Eur J Nutr*. 2015.
28. Warnberg J, Nova E, Romeo J, Moreno LA, Sjostrom M, Marcos A. Lifestyle-related determinants of inflammation in adolescence. *The British journal of nutrition*. 2007;98 Suppl 1:S116-20.
29. Pirkola J, Vaarasmaki M, Ala-Korpela M, Bloigu A, Canoy D, Hartikainen AL, et al. Low-grade, systemic inflammation in adolescents: association with early-life factors, gender, and lifestyle. *American journal of epidemiology*. 2010;171(1):72-82.
30. Miranda V, Peluzio, M. , Faria, E. , Franceschini, S. , Priore, S. Inflammatory markers in relation to body composition, physical activity and assessment of nutritional status of the adolescents. *Nutr Hosp*. 2015.
31. Volp AC, Alfenas Rde C, Costa NM, Minim VP, Stringueta PC, Bressan J. [Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome]. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2008;52(3):537-49.
32. Paz-Filho G, Mastronardi C, Franco CB, Wang KB, Wong ML, Licinio J. Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2012;56(9):597-607.
33. Davalos D, Akassoglou K. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Seminars in immunopathology*. 2012;34(1):43-62.
34. Markiewski MM, Lambris JD. The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. *The American journal of pathology*. 2007;171(3):715-27.
35. Garcia-Arellano A, Ramallal R, Ruiz-Canela M, Salas-Salvado J, Corella D, Shivappa N, et al. Dietary Inflammatory Index and Incidence of Cardiovascular Disease in the PREDIMED Study. *Nutrients*. 2015;7(6):4124-38.

36. Salas-Salvado J, Garcia-Arellano A, Estruch R, Marquez-Sandoval F, Corella D, Fiol M, et al. Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. *European journal of clinical nutrition*. 2008;62(5):651-9.
37. Dai J, Miller AH, Bremner JD, Goldberg J, Jones L, Shallenberger L, et al. Adherence to the mediterranean diet is inversely associated with circulating interleukin-6 among middle-aged men: a twin study. *Circulation*. 2008;117(2):169-75.
38. Mena MP, Sacanella E, Vazquez-Agell M, Morales M, Fito M, Escoda R, et al. Inhibition of circulating immune cell activation: a molecular antiinflammatory effect of the Mediterranean diet. *The American journal of clinical nutrition*. 2009;89(1):248-56.
39. Panagiotakos DB, Dimakopoulou K, Katsouyanni K, Bellander T, Grau M, Koenig W, et al. Mediterranean diet and inflammatory response in myocardial infarction survivors. *International journal of epidemiology*. 2009;38(3):856-66.
40. Azzini E, Polito A, Fumagalli A, Intorre F, Venneria E, Durazzo A, et al. Mediterranean Diet Effect: an Italian picture. *Nutrition journal*. 2011;10:125.
41. Marin C, Ramirez R, Delgado-Lista J, Yubero-Serrano EM, Perez-Martinez P, Carracedo J, et al. Mediterranean diet reduces endothelial damage and improves the regenerative capacity of endothelium. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;93(2):267-74.
42. Ostan R, Lanzarini C, Pini E, Scurti M, Vianello D, Bertarelli C, et al. Inflammaging and Cancer: A Challenge for the Mediterranean Diet. *Nutrients*. 2015;7(4):2589-621.
43. Gammone MA, Riccioni G, D'Orazio N. Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *Food & nutrition research*. 2015;59:26762.
44. Michalsen A, Lehmann N, Pithan C, Knoblauch NT, Moebus S, Kannenberg F, et al. Mediterranean diet has no effect on markers of inflammation and metabolic risk

- factors in patients with coronary artery disease. *European journal of clinical nutrition*. 2006;60(4):478-85.
45. Del Mar Bibiloni M, Maffei C, Llompart I, Pons A, Tur JA. Dietary factors associated with subclinical inflammation among girls. *European journal of clinical nutrition*. 2013;67(12):1264-70.
46. Serra-Majem L, Garcia-Closas R, Ribas L, Perez-Rodrigo C, Aranceta J. Food patterns of Spanish schoolchildren and adolescents: The enKid Study. *Public health nutrition*. 2001;4(6A):1433-8.
47. Grosso G, Galvano, F. Mediterranean diet adherence in children and adolescents in southern European countries. *NFS Journal*. 2016.
48. Mahan K, Escott-Stump, S. Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 2010;12^a Edição.
49. Mantzoros CS, Flier JS, Rogol AD. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1997;82(4):1066-70.
50. Cruz JA ea. Estudo dos hábitos alimentares e do estado nutricional de adolescentes escolarizados do Concelho de Lisboa (Ensino Oficial). *Revista Portuguesa de Nutrição*. 2000;X(1 e 2):5-58.
51. Rego CL, C., Pinto, E., Nazareth, M., Graça, P. EPACI Portugal 2012 - Estudo do Padrão de Alimentação e de Crescimento na Infância 2012 [cited 2016 06]. Available from: www.dgs.pt.
52. Aranceta J. Spanish food patterns. *Public health nutrition*. 2001;4(6A):1399-402.

53. Kersting M, Sichert-Hellert W, Vereecken CA, Diehl J, Beghin L, De Henauw S, et al. Food and nutrient intake, nutritional knowledge and diet-related attitudes in European adolescents. *International journal of obesity*. 2008;32 Suppl 5:S35-41.
54. Leal GV, Philippi ST, Matsudo SM, Toassa EC. [Food intake and meal patterns of adolescents, Sao Paulo, Brazil]. *Revista brasileira de epidemiologia = Brazilian journal of epidemiology*. 2010;13(3):457-67.
55. Savige GS, Ball K, Worsley A, Crawford D. Food intake patterns among Australian adolescents. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2007;16(4):738-47.
56. Association WM. *World Medical Association Handbook of Declarations*. 1989.
57. Lohman TG, Roche, A.F., Martorell, R. *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Human Kinetics Book. 1988.
58. Talma H, Chinapaw MJ, Bakker B, HiraSing RA, Terwee CB, Altenburg TM. Bioelectrical impedance analysis to estimate body composition in children and adolescents: a systematic review and evidence appraisal of validity, responsiveness, reliability and measurement error. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2013;14(11):895-905.
59. Quetelet A. *Physique sociale, ou essai sur le développement des facultés de l'homme* 1869;2.
60. WHO. Growth reference 5-19 years [08/03/2016]. Available from: http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/.
61. Lopes C, Aro A, Azevedo A, Ramos E, Barros H. Intake and adipose tissue composition of fatty acids and risk of myocardial infarction in a male Portuguese community sample. *Journal of the American Dietetic Association*. 2007;107(2):276-86.
62. Willet W. *Food frequency methods in nutritional epidemiology*. Oxford University Press. 1998:74-100.

63. Porto A, Oliveira, L. Tabela da Composição dos Alimentos. 2010;3º.
64. Goldberg GR, Murgatroyd PR, McKenna AP, Heavey PM, Prentice AM. Dietary compensation in response to covert imposition of negative energy balance by removal of fat or carbohydrate. *Br J Nutr.* 1998;80(2):141-7.
65. Schofield WN. Predicting basal metabolic rate, new standards and review of previous work. *Human nutrition Clinical nutrition.* 1985;39 Suppl 1:5-41.
66. Telama R, Yang X, Laakso L, Viikari J. Physical activity in childhood and adolescence as predictor of physical activity in young adulthood. *Am J Prev Med.* 1997;13(4):317-23.
67. Mota J, Esculcas C. Leisure-time physical activity behavior: structured and unstructured choices according to sex, age, and level of physical activity. *International journal of behavioral medicine.* 2002;9(2):111-21.
68. Raitakari OT, Porkka KV, Taimela S, Telama R, Rasanen L, Viikari JS. Effects of persistent physical activity and inactivity on coronary risk factors in children and young adults. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *American journal of epidemiology.* 1994;140(3):195-205.
69. Organization WH. Guidelines for controlling and monitoring the tobacco epidemic. 1998.
70. Currie C, Molcho M, Boyce W, Holstein B, Torsheim T, Richter M. Researching health inequalities in adolescents: the development of the Health Behaviour in School-Aged Children (HBSC) family affluence scale. *Social science & medicine.* 2008;66(6):1429-36.
71. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Archives of disease in childhood.* 1976;51(3):170-9.

72. Bressan J, et al. Impacto hormonal e inflamatório de diferentes composições dietéticas: ênfase em padrões alimentares e fatores dietéticos específicos. *Arq Bras Endocrinol Metabl.* 2009.
73. Bedard A, Tchernof A, Lamarche B, Corneau L, Dodin S, Lemieux S. Effects of the traditional Mediterranean diet on adiponectin and leptin concentrations in men and premenopausal women: do sex differences exist? *European journal of clinical nutrition.* 2014;68(5):561-6.
74. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, et al. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *Jama.* 2004;292(12):1440-6.
75. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The effects of diet on inflammation: emphasis on the metabolic syndrome. *Journal of the American College of Cardiology.* 2006;48(4):677-85.
76. Almeida A. Adherence to mediterranean dietary pattern and nutritional status association in primary school children from Póvoa de Lanhoso. 2012.
77. Lambert J, Agostoni C, Elmadfa I, Hulshof K, Krause E, Livingstone B, et al. Dietary intake and nutritional status of children and adolescents in Europe. *The British journal of nutrition.* 2004;92 Suppl 2:S147-211.
78. Bornhorst C, Bel-Serrat S, Pigeot I, Huybrechts I, Ottavaere C, Sioen I, et al. Validity of 24-h recalls in (pre-)school aged children: comparison of proxy-reported energy intakes with measured energy expenditure. *Clinical nutrition.* 2014;33(1):79-84.
79. Huynh DT, Dibley MJ, Sibbritt DW, Tran HT. Energy and macronutrient intakes in preschool children in urban areas of Ho Chi Minh City, Vietnam. *BMC pediatrics.* 2008;8:44.

80. Lopes C. Sono e alimentação em crianças de idade pré-escolar. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto: Universidade do Porto; 2015.
81. Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Current opinion in lipidology*. 2002;13(1):3-9.
82. Ramos E. Health determinants in Porto adolescents—theEpiteen cohort.: Universidade do Porto; 2006.