

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS**



**Dissertação**

**Concentrações de vitaminas B6, folato e B12 e sua associação com  
lipídeos séricos na gestação: Estudo prospectivo**

**Manoela Teixeira da Silva**

**Pelotas, 2019**

**Manoela Teixeira da Silva**

**Concentrações de vitaminas B6, folato e B12 e sua associação com lipídeos séricos na gestação: Estudo prospectivo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos

Orientador: Juliana dos Santos Vaz

Coorientadores: Amanda C. Cunha Figueiredo e Luna Strieder Vieira

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

S586c Silva, Manoela Teixeira da

Concentrações de vitaminas B6, folato e B12 e sua associação com a concentração dos lipídeos séricos na gestação : estudo prospectivo / Manoela Teixeira da Silva ; Juliana dos Santos Vaz, orientadora. — Pelotas, 2018.

73 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Vitaminas do complexo B. 2. Gestação. 3. Lipídeos. 4. Estudos de coorte. I. Vaz, Juliana dos Santos, orient. II. Título.

CDD : 641.1

## Resumo

Da Silva, Manoela Teixeira. **Concentrações de vitaminas B6, folato e B12 e sua associação com lipídeos séricos na gestação: Estudo prospectivo 2018.** Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Estudos em modelos animais e em populações adultas mostram que existe uma associação entre a concentração de vitamina B6, folato e B12 e alterações no perfil lipídico sérico. Esse estudo teve como objetivo avaliar as associações entre as concentrações de vitamina B6, folato e B12 e alterações nas concentrações de triglicérides, colesterol total (CT) e suas frações (HDL e LDL) durante a gestação. Trata-se de um estudo de coorte prospectivo com 179 gestantes (2-40 anos) acompanhadas com 5-13 (primeiro trimestre), 20-26 (2º trimestre) e 30-36 (3º trimestre) semanas em um centro municipal de saúde no Rio de Janeiro, Brasil. Modelos de efeitos mistos lineares brutos e ajustados foram empregados para avaliar a associação entre vitamina B6, folato, B12 e mudanças nas concentrações séricas de lipídeos durante a gestação. As análises foram ajustadas para idade, idade gestacional, índice de massa corporal, paridade, hábito de fumar e consumo dietético de vitaminas B6, folato e B12 durante a gravidez. Na análise ajustada, não foi encontrada associação entre as concentrações das vitaminas B6 e B12 e as variáveis do perfil lipídico. Folato foi positivamente associado com concentrações de CT ( $\beta$  0,244, IC 95%: 0,034; 0,454,  $p=0,023$ ;) e LDL ( $\beta$  0,193 IC: 95% 0,028; 0,357,  $p=0,022$ ). O presente estudo encontrou associação positiva entre folato com LDL e CT, no entanto mais estudos são necessários para entender os mecanismos dessa associação.

**Palavras-chave:** vitaminas do complexo b; lipídeos; gestação; estudos de coorte

## Abstract

Da Silva, Manoela Teixeira. **Concentrations of B6, folate and B12 vitamins and their association with serum lipid in pregnancy: Prospective study.** 2018.

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Studies in animal models and in adult populations show that low concentrations of vitamin B6, B12 and folate lead to high levels of triglycerides, total cholesterol (TC), low density lipoprotein (LDL) and low levels of high-density lipoprotein (HDL). To evaluate the associations between vitamins B6, B12, and folate serum concentrations with changes in triglycerides, TC, HDL and LDL concentrations throughout pregnancy. A prospective cohort study with 179 pregnant women (20-40 years) was conducted in Rio de Janeiro, Brazil. Participants were followed at 5<sup>th</sup>-13<sup>th</sup> (first trimester), 20<sup>th</sup>-26<sup>th</sup> (second trimester), and 30<sup>th</sup>-36<sup>th</sup> (third trimester) gestational weeks at a public health care center. Longitudinal linear mixed-effects models were employed to evaluate the association between plasma vitamin B6, B12, and folate concentrations with changes in blood lipids throughout pregnancy. Covariates were selected according to a Directed Acyclic Graph and analyses were adjusted for age, gestational age, first trimester body mass index, parity, smoking habit and dietary intakes of vitamins B6, B12, and folate. Women were 26.7±5.6 years of age, reported an energy intake of 2,458±904 kcal/day and 44% were overweight or obese according to first trimester BMI. In the adjusted analysis, plasma folate was directly associated with TC ( $\beta=0.244$ , 95%CI 0.034, 0.454), and LDL concentrations ( $\beta=0.193$ , 95%CI 0.028, 0.357). No association was found between concentrations of vitamins B6 or B12 and serum lipids. A direct association between folate with LDL and TC was observed during gestation. Further studies are needed to understand the mechanisms behind these associations.

**Key words:** complex b vitamins; lipids; gestation; cohort studies

## Lista de figuras

<b>Figura 1</b> Fluxograma .....	35
<b>Figura 2</b> Gráfico Acíclico Dirigido que mostra as relações entre a vitamina B6 plasmática, perfil lipídico sérico e covariáveis.....	40
<b>Figura 3</b> Gráfico Acíclico Dirigido que mostra as relações entre o folato plasmático, perfil lipídico sérico e covariáveis.....	41
<b>Figura 4</b> Gráfico Acíclico Dirigido que mostra as relações entre a vitamina B12 plasmática, perfil lipídico sérico e covariáveis.....	42
<b>Figura 5</b> Alterações nos lipídeos séricos durante a gestação, de acordo com o estado de vitamina B6 no primeiro trimestre, Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012. ....	50
<b>Figura 6</b> Alterações nos lipídeos séricos durante a gestação, de acordo com o estado de folato no primeiro trimestre, Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012. ....	51
<b>Figura 7</b> Alterações nos lipídeos séricos durante a gestação, de acordo com o estado de vitamina B12 no primeiro trimestre, Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012. ....	52

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> Características do basais (5 <sup>a</sup> a 13 <sup>a</sup> semanas) de gestantes (n = 179) acompanhadas em um centro de saúde pública no Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012.....	45
<b>Tabela 2</b> Concentrações lipídicas estratificadas por características gestacionais ao longo de trimestres de gestantes acompanhadas em um centro de saúde público no Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012. ....	47
<b>Tabela 2</b> Continuação.....	48
<b>Tabela 4</b> Associação longitudinal entre vitamina B6, B12, folato e lipídios séricos durante a gravidez. Rio de Janeiro, Brasil, 2009-2012.....	54

## Lista de Abreviaturas e Siglas

AGNE	Acidos graxos não esterificados
ATP	Adenosina trifosfato
APOA-IV	Apolipoproteína A-IV
CEPT	Proteína de transferência de colesterol esterificado
TC	Colesterol total/Total cholesterol
HCY	Homocisteína
HHCY	Hiper-homocisteinemia
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA	3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA
IOM	Institute of Medicine
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDLR	Recptor de LDL
LPL	Lipase lipoproteica
MTHFR	Metilenotetrahidrofolato redutase
PLP	piridoxal-5-fosfato
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SAH	S-adenosilhomocisteína
SAM	S-adenosilmetionina
SHMT	Serina hidroximetiltransferase
TG	TG
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade



## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b> .....	<b>10</b>
<b>2. Justificativa</b> .....	<b>13</b>
<b>3. Objetivos</b> .....	<b>14</b>
<b>4. Hipótese</b> .....	<b>15</b>
<b>5. Revisão da literatura</b> .....	<b>16</b>
5.1 perfil lipídico na gestação .....	16
5.2 vitaminas b6, folato e b12 .....	20
5.2.1 vitamina b6 .....	20
5.2.2 folato .....	20
5.2.3 vitamina b12 .....	24
5.3 vitaminas b6, folato, b12 e lipídeos séricos. ....	26
<b>6. Materiais e métodos</b> .....	<b>33</b>
6.1 desenho do estudo e participantes .....	33
6.2 Critérios de inclusão .....	33
6.3 Critérios de exclusão .....	33
6.4 Coleta e análise das amostras de sangue .....	36
6.5 Avaliação das covariáveis.....	36
6.6 Análises estatística .....	37
6.7 Declaração e aprovação ética .....	38
<b>7. Resultados</b> .....	<b>44</b>
<b>8. Discussão</b> .....	<b>55</b>
Referências.....	60

## 1 Introdução

Ao longo da gestação, o corpo sofre alterações fisiológicas para manter a progressão da gestação e estas podem ser divididas em duas fases (ZENG et al., 2017). A primeira, uma fase anabólica, é caracterizada por maior mobilização e armazenamento de lipídios no tecido adiposo materno e é necessária para garantir o desenvolvimento do feto e fornecer energia para manter a gestação e a lactogênese (VILLAR et al., 1992). Esta mobilização lipídica é resultado de um aumento da atividade das células  $\beta$ -pancreáticas (MUNOZ et al., 1995), que permitem maior liberação de insulina e favorecem o depósito de lipídeos no tecido adiposo materno (RAMOS et al., 2003). Com o avanço da gestação, o corpo entra na segunda fase, conhecida como catabólica, onde ocorre diminuição das reservas lipídicas para suprir as crescentes necessidades fetais de lipídios e energia, esta fase é caracterizada pelo crescente aumento estrogênio na circulação, aumento da resistência das células maternas à insulina, redução da atividade da lipoproteína lipase, aumento da atividade lipolítica do tecido adiposo materno, com consequente hidrólise de lipídeos e diminuição das reservas lipídicas (HERRERA, 2002; PREISS-LANDL et al., 2002).

Os produtos dessa hidrólise de lipídeos do tecido adiposo são Ácidos Graxos Não Esterificados (SEMMLER et al.) e glicerol, que atingem o fígado materno. Os ácidos graxos não esterificados (SEMMLER et al.) são convertidos à acil-Coa e glicerol à glicerol-3-fosfato. Alternativamente, glicerol pode ser usado para síntese de glicose e os AGNEs podem ser usados para produção de energia, através da  $\beta$ -oxidação e produção de corpos cetônicos. Porém grande parte do acil-coa e glicerol-3-fosfato é re-esterificada e forma TG (TG) que atingem a circulação (ZORZANO et al., 1986). Nessa fase da gestação, os TG circulantes aumentam em lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e também em lipoproteínas que não os transportam normalmente, como as lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL) devido a maior atividade da proteína de transferência de colesterol esterificado (CEPT) na gestação (IGLESIAS et al., 1994).

As alterações fisiológicas na gestação são necessárias para manter o desenvolvimento fetal e não causam complicações na maioria dos casos (ZENG et al., 2017), no entanto, essas alterações podem evoluir para distúrbios graves nos lipídios e prejudicar a saúde materna e infantil. O aumento dos TG é um fator de risco para o desenvolvimento de pancreatite aguda em nas gestantes (RUSSI, 2015). Além disso, mulheres com triglicérides aumentados e diminuição do HDL têm maior risco de desenvolver diabetes mellitus gestacional, recém-nascidos com macrossomia (ZHOU et al., 2012), além de pré-eclâmpsia (ZHOU et al., 2012; SPRACKLEN et al., 2014) e nascimento prematuro (JIANG et al.). Além disso, ao longo da gestação a concentração de vitaminas B6, folato e B12 tendem a diminuir devido à hemodiluição fisiológica da gestação, à alta taxa de filtração glomerular e à maior transferência dessas vitaminas para o feto (CIKOT et al., 2001; HURE et al., 2012; SHIBATA et al., 2013).

Estudo transversal com adultos hipertensos revelou que pacientes com concentrações de folato abaixo de 10 nmol/L apresentavam risco de hipertrigliceridemia e baixa concentração de HDL (LI, W. X. et al., 2015). Um estudo de caso e controle encontrou uma associação direta entre os níveis de folato e a concentração de HDL e a associação inversa entre os níveis de folato e as concentrações de LDL (SEMMLER et al., 2010). Um recente estudo transversal descobriu que adultos saudáveis com concentrações de folato acima de 7 ng/mL tiveram um risco significativamente reduzido de altos níveis de colesterol total (CT) e LDL, também descobriram que concentrações de vitamina B12 abaixo de 220 pg/ml estavam associadas a HDL baixo (SARASWATHY, K. N. et al., 2018). A vitamina B12 sérica foi inversamente associada ao triglicérideo e diretamente ao HDL em adultos com doenças cardiovasculares (MAHALLE et al., 2013) e em adultos com diabetes tipo 2 (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014). Um estudo transversal realizado com mulheres em idade fértil, gestação precoce e pós-parto constatou que a baixa vitamina B12 ( $\leq 148$  pmol/L) esteve associada a maior CT, TG e LDL (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015). Um estudo experimental em modelo animal (ACAR, 2006) e um ensaio clínico em 85 com homens

hipertrigliceridêmicos descobriu que os grupos que consumiram a maior quantidade de B6 tiveram uma diminuição na CT e TG (HLAIS et al., 2012).

Como essas vitaminas alteram o perfil lipídico ainda não está claro, mas alguns estudos tentam explicar. Essas deficiências vitamínicas tendem a alterar o perfil lipídico, pois têm uma associação inversa com a homocisteína (MAHALLE et al., 2013; ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014; ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015; LI, W. X. et al., 2015; SARASWATHY, K. N. et al., 2018), um metabólito que contribui para o aumento da biossíntese do colesterol através da regulação transcricional da expressão da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase no fígado, levando ao acúmulo hepático de lipídios e subseqüentemente à hipercolesterolemia (WOO et al., 2005). Além disso, as vitaminas B6 e B12 podem alterar os lipídios do sangue, regulando a síntese de carnitina através das enzimas serina hidroximetiltransferase (VAZ e WANDERS, 2002) e metilmalonil-CoA mutase (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014). O folato também pode alterar o perfil lipídico através da enzima metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR) (CHRISTENSEN et al., 2015).

Vitaminas B6, B12 e folato estão associadas à dislipidemia em várias populações (HLAIS et al., 2012; ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014; SARASWATHY, K. N. et al., 2018), mas não há estudos na literatura atual com delineamento longitudinal realizado em gestantes que testaram a associação de vitamina B6, B12 e folato com lipídeos sanguíneos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a associação das concentrações plasmáticas de vitamina B6, B12 e folato com as concentrações séricas de triglicérides, CT, LDL e HDL durante a gestação em mulheres não suplementadas.

## **2 Justificativa**

As adaptações no organismo da mulher ao longo da gestação promovem alterações nas concentrações lipídicas que podem evoluir para uma dislipidemia, que por sua vez está relacionada com desfechos negativos para a saúde materna e infantil. A literatura traz evidências de que concentrações de vitamina B6, folato e B12 podem contribuir para alterações do perfil lipídico sérico em diversas populações. Até o momento, inexistem estudos publicados de delineamento longitudinal com população de gestantes saudáveis testando essa associação.

Assim, os resultados da presente pesquisa podem preencher lacunas na literatura, colaborar para o conhecimento desta área e, com isso, apoiar estratégias para supervisão de dislipidemias na gestação e contribuir para a atenção pré-natal.

### **3 Objetivos**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a associação das concentrações plasmáticas de vitamina B6, B12 e folato com as concentrações séricas de CT, HDL, LDL e TG ao longo da gestação.

#### **3.2 Objetivos específicos**

I.Descrever a amostra quanto às características socioeconômicas, demográficas, de estilo de vida e antropométricas;

II.Avaliar as concentrações séricas de CT, HDL, LDL e TG ao longo da gestação de acordo com características socioeconômicas, demográficas, de estilo de vida e antropométricas no primeiro trimestre;

III.Avaliar as concentrações de CT, HDL, LDL e TG ao longo da gestação de acordo com a concentração de vitaminas B6, folato e B12 no primeiro trimestre;

IV.Testar a associação entre as concentrações plasmáticas das vitaminas B6, folato e B12 ao longo da gestação com as concentrações séricas de CT, HDL, LDL e TG ao longo da gestação.

#### **4 Hipótese**

Existe uma associação inversa entre as concentrações de vitamina B6, folato e B12 com o CT, LDL e TG, e uma associação direta dessas vitaminas com a fração HDL ao longo da gestação.

## 5 Revisão da Literatura

### 5.1 Perfil lipídico na gestação

A partir da 20<sup>a</sup> semana gestacional o organismo entra em uma fase catabólica, que aumenta a atividade lipolítica, contribuindo para um aumento dos níveis plasmáticos de TG e, em menor grau, a uma elevação das concentrações de CT e fosfolipídios (ALVAREZ et al., 1996; SPRACKLEN et al., 2014). Nesse momento, com aumento da chegada de AGNE e glicerol no fígado, ocorre maior síntese hepática de TG, que atingem a circulação em VLDL e também em LDL e HDL devido a maior atividade da CEPT nesta fase da gestação (IGLESIAS et al., 1994).

Um estudo realizado na China com 1020 gestantes saudáveis (JIN et al., 2016), encontraram que todas as frações lipídicas (CT, HDL, LDL e TG) aumentaram significativamente ao longo da gestação, independente do índice de massa corporal (IMC) pré-gestacional. Uma metanálise que sumarizou dados de 60 estudos, onde o tamanho das amostras variou de 13 a 3294 mulheres grávidas, observou que em gestantes saudáveis as concentrações de CT variaram de 158 a 446 mg/dL, de HDL entre 39 a 176 mg/dL, LDL entre 78 e 137 mg/dL e TG entre 60 e 750 mg/dL (RYCKMAN et al., 2015).

Embora as transformações fisiológicas da gestação sejam necessárias para manter o desenvolvimento fetal, elas podem evoluir para alterações que podem se associar a desfechos negativos para saúde materna e infantil (NASCIMENTO et al., 2016). A hipertrigliceridemia na gestação é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de pancreatite aguda (RUSSI, 2015). A pancreatite aguda está associada à mortalidade materna e perinatal e sua incidência é maior no terceiro trimestre (EDDY et al., 2008; PAPADAKIS et al., 2011). Além disso, a elevação de LDL e diminuição de HDL na gestação aumentam o risco para doenças cardiovasculares (RUSSI, 2015).

Em uma metanálise com dados de 4168 gestantes com diabetes mellitus gestacional, encontrou que o CT dessas mulheres variou de 179 para 505 mg/dl, o HDL variou de 28 a 153 mg/dl, o LDL variou de 77 a 301 mg/dl e TG de 77 a



1043mg/dl (RYCKMAN et al., 2015). Embora, esses estudos não tenham identificado fator causal da relação entre as variáveis do perfil lipídico com diabetes mellitus gestacional, algumas pesquisas sugerem que essas variáveis podem ser usadas como fator de risco para o diabetes mellitus gestacional (NIROMANESH et al., 2012; DOS SANTOS-WEISS et al., 2013).

Outros estudos revelam que também existe uma associação entre lipídeos séricos e pré-eclâmpsia (NIROMANESH et al., 2012; VRIJKOTTE et al., 2012; SPRACKLEN et al., 2014). Um metanálise encontrou que gestantes que desenvolvem pré-eclâmpsia apresentam concentrações elevadas de CT e TG durante todos os trimestres de gestação e apresentam HDL reduzido no terceiro trimestre (SPRACKLEN et al., 2014). Outro estudo que envolveu 934 gestantes não diabéticas encontrou que a elevação de cada unidade de TG estava associada à pré-eclâmpsia, já para o feto, o aumento de TG maternos estava associado a um maior risco de macrossomia e de feto grande para idade gestacional, ao passo que aumento de unidade de HDL estava associado a um menor risco desses desfechos (JIN et al., 2016). Além disso, uma metanálise encontrou que a dislipidemia materna estava associada a um risco aumentado de parto prematuro (JIANG et al., 2017).

Embora o perfil lipídico esteja associado a alguns desfechos negativos, ele não faz parte da rotina de exames obstétricos (BRASIL, 2012), pois ainda existe falta de um consenso para se estabelecer valores de referencia por trimestres gestacionais, existe falta de padronização de um critério diagnóstico e ausência de determinação de grupos de risco (FEITOSA et al., 2017). Porém se considera como parâmetro os valores estabelecidos para adultos, maiores de 20 anos e não gestantes. Os valores considerados desejáveis para essa população são: CT menor que 190 mg/dl, LDL abaixo de 160 mg/dl, HDL acima de 50 mg/dl e TG abaixo de 150 mg/dl (FALUDI, 2017)

As alterações do perfil lipídico podem diferir significativamente entre as gestantes que iniciam a gravidez com peso normal e aquelas com obesidade. Acredita-se que a fisiologia alterada do primeiro trimestre de gestação pode levar a alterações nas adaptações fisiológicas ao longo da gestação (SCIFRES et al.,

2014). Considerando essa informação, evidências mostram que gestantes obesas têm maiores concentrações de CT, TG e LDL e menores concentrações de HDL ao longo da gestação do que aquelas gestantes que iniciam com peso normal (FARIAS et al., 2016; GERAGHTY et al., 2017). Um estudo realizado por LAPPAS (2014) que avaliou uma amostra de 46 gestantes e encontrou que a expressão no tecido adiposo da lipase lipoproteica (LPL) e vários fatores de transcrição envolvidos no metabolismo lipídico foram menores em gestantes obesas no período pré-gestacional do que as gestantes com peso normal. Além disso, tanto em gestantes obesas, quanto em mulheres com peso normal, a resistência à insulina também pode contribuir para um perfil lipídico alterado, pois proporciona aumento da lipólise do tecido adiposo, aumentando os lipídeos plasmáticos (SEMENKOVICH, 2006; CATALANO, 2010).

Existe uma associação entre tabagismo e alteração dos lipídeos séricos, o fumo aumenta as concentrações de LDL, CT, o fumo aumenta as concentrações de LDL, CT, TG e diminui o HDL (BATIC-MUJANOVIC et al., 2008; GASTALDELLI et al., 2010; MEENAKSHISUNDARAM et al., 2010; RAO CH e SUBASH, 2013). O tabagismo modifica o metabolismo de gorduras, pois a nicotina, principal constituinte do tabaco, estimula a liberação de catecolaminas e outros neurotransmissores que aumentam a atividade lipolítica no tecido adiposo, também aumenta a concentração sérica de ácidos graxos livres, estimula síntese hepática e secreção de colesterol e aumenta a resistência à insulina, resultando na elevação do metabolismo das gorduras (BENOWITZ, 1988; MUSCAT et al., 1991; SZTALRYD et al., 1996).

Evidências também demonstram que a ingestão diária de bebida alcoólica pode aumentar as concentrações de HDL em 2 mg/dL (VAN DER GAAG et al., 2001; FALUDI, 2017), porém, se essa ingestão não for moderada (50 g/dia) pode aumentar os TG e diminuir as concentrações de HDL (CHEN et al., 2012).

A paridade também está associada à alterações do perfil lipídico sérico. Quando maior o número de gestações, maiores são as concentrações dos lipídeos (LV et al., 2015). Existe uma correlação entre paridade e doenças cardiovasculares (LV et al., 2015). O colesterol é um risco para doenças

cardiovasculares, portanto a paridade pode estar relacionada com as doenças cardiovasculares por aumentar o colesterol (LV et al., 2016). Além disso, no período pós-parto, ao contrário do TG sérico que diminui rapidamente, as elevações do CT e do LDL podem durar mais tempo elevadas antes de voltarem ao valor basal interferindo na concentração de LDL e CT das gestações seguintes (HUMPHRIES et al., 2001). Além disso, fatores socioeconômicos e de estilo de vida também podem exercer efeitos na paridade, mães com maior número de gestações estão mais frequentemente com menor renda e escolaridade (LAWLOR et al., 2003) e são mais jovens na primeira gravidez (DIOR et al., 2013). Essas mulheres são mais propensas a ocupar-se em empregos físicos e ter dietas de menor qualidade nutricional, o que pode causar efeitos adicionais no perfil lipídico (VRIJKOTTE et al., 2012; LV et al., 2016)

A dieta também pode ser um fator independente que contribui para alterações dos lipídeos séricos ao longo da gestação. Mulheres que consomem alimentos in natura ou minimamente processados na gestação têm maiores concentrações de TG no sangue (MARTIN et al., 2016) e o consumo de ultraprocessados no período pré-gestacional leva a maiores concentrações de TG e menores concentrações de HDL (ESHRIQUI et al., 2017).

Já está bem fundamentado pela literatura que o exercício físico proporciona o aumento do HDL e redução das concentrações de TG na população de adultos (TROMBETTA et al., 2003; VINAGRE et al., 2007; IBORRA et al., 2008). A literatura também traz evidências dos efeitos da atividade física na redução de LDL e TG em gestantes (RAMÍREZ-VÉLEZ et al., 2017). Além disso, existe uma associação entre variáveis socioeconômicas, como idade, escolaridade (VRIJKOTTE et al., 2012) e renda per-capta (FARIAS et al., 2016) com alterações do perfil lipídico.

Além destes fatores, há estudos em modelo animal e em diversas populações mostrando a existência de uma associação entre as concentrações no sangue de vitaminas vitamina B6, folato e B12 com o CT, HDL, LDL e TG (SEMMLER et al., 2010; HLAIS et al., 2012; MAHALLE et al., 2013;

ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015; KELLY et al., 2016; SARASWATHY, K. N. et al., 2018)

## **5.2 Vitaminas B6, folato e B12 na gestação.**

### **5.2.1 Vitamina B6**

A vitamina B6 é uma vitamina hidrossolúvel composta por um fosfato ligado a um piridoxal ou piridoxamina, fórmulas metabólicas em humanos (BENDER, 2003; BENDER et al., 2014). A vitamina B6 participa como cofator para varias enzimas em diversas reações, a maioria envolvida com o metabolismo dos aminoácidos, atuando como cofator para reação de transulfuração, formando cisteína (SELHUB, 1999) e, também, como cofator da enzima serina hidroximetiltransferase (SHMT) para formação de carnitina (SELHUB, 1999; COMBS, 2008).

A forma biologicamente ativa da vitamina B6 é o piridoxal-5-fosfato (PLP) (COMBS, 2008). A ingestão dietética de vitamina B6 é um forte preditor de concentrações de PLP (MORRIS et al., 2008). Em homens e mulheres saudáveis, as dietas de restrição de vitamina B6 mostraram reduzir as concentrações plasmáticas de PLP (ZHAO et al., 2012). Por este motivo, o principal biomarcador da vitamina B6 é o PLP e o seu ponto de corte é 20 nmol/L, concentrações entre 20–30 nmol/L são consideradas limítrofes e para gestantes ainda não existe um ponto de corte. Segundo o *Dietary Reference Intakes* (IOM, 2006) o requisito médio estimado de vitamina B6 para uma mulher não gestante, a partir de 19 anos, é de 1.3 µg/d, para uma gestante essa recomendação sobe para 1.9 µg/d (JENNIFER J. OTTEN, 2006).

Um estudo, que analisou os dados de 322 gestantes do primeiro *National Dietary Survey*, encontrou que a prevalência de inadequação de consumo de vitamina B6 das mulheres não gestantes era de 33%, ao passo que nas gestantes era de 59% (GOMES et al., 2016). Ainda não há evidências para indicar a suplementação desta vitamina na gravidez (BRASIL, 2012). As fontes alimentares

de vitamina B6 são carne bovina, especialmente as vísceras, peixes e aves, além deles, a batata e frutas cítricas (JENNIFER J. OTTEN, 2006).

Na gestação, a vitamina B6 tem concentração inferior aos valores pré-gestacionais (CIKOT et al., 2001; SHIBATA et al., 2013), no período periconcepcional esses valores são de aproximadamente 55 nmol/L (CIKOT et al., 2001). Ao longo da gestação as concentrações deste micronutriente reduzem progressivamente, de modo que no primeiro trimestre os valores de LPL são de aproximadamente de 57 a 35 nmol/L e ao final da gestação essas concentrações tendem diminuir para valores entre 19 e 16,8 nmol/L (CIKOT et al., 2001; SHIBATA et al., 2013; MUJICA-COOPMAN et al., 2017). As causas para isso acontecer incluem a hemodiluição fisiológica da gestação, a taxa de filtração glomerular elevada, crescimento de tecidos, uma possível menor ingestão de vitamina B6 e maior transferência de PLP para o feto (IOM, 1998; SIMPSON et al., 2010). Entre outros fatores que também podem contribuir com as concentrações de vitamina B6 estão o IMC (ALMEIDA et al., 2008) e IMC pré-gestacional (BJØRKE-MONSEN et al., 2016), idade (MORRIS et al., 2008), tabagismo (ALMEIDA et al., 2008; ULVIK et al., 2014), consumo crônico de álcool (ALMEIDA et al., 2008; MEDICI et al., 2010), exercício físico (MANORE, 2000; WOOLF e MANORE, 2006) e paridade (BJØRKE-MONSEN et al., 2016).

### **5.2.2 Folato**

Folato, ou vitamina B9, é uma vitamina do complexo B, composta por uma pteridina ligada a um grupo aminobenzoico, formando o ácido pteróico, que pode se ligar, através de ligações peptídicas a até sete átomos de glutamato, o que origina o poliglutamato ou tetrahydrofolato, forma biologicamente ativa do folato (COMBS, 2008).

Esta vitamina pode ser encontrada de duas formas: folatos naturais, encontrado nos alimentos, que existem na forma de poliglutamatos, estes precisam passar por hidrólise para serem absorvidos no intestino. O folato também existe na forma de ácido fólico, conformação sintética, sendo utilizado na forma de suplementos ou em alimentos fortificados, sua forma é monoglutamato

(JENNIFER J. OTTEN, 2006) por este motivo são facilmente absorvidos para o interior do enterócito (ZHAO et al., 2009).

A forma ativa do folato na circulação, o tetrahidrofolato, em conjunto com a vitamina B12 participa da ressíntese de metionina, doando um grupamento metil para uma ampla gama de substratos (SELHUB, 1999; KALHAN, 2016). Assim sendo, os biomarcadores biológicos de folato são folato sérico ou plasmático, folato eritrocitário e homocisteína (BAILEY et al., 2015). Usualmente, o ponto de corte estabelecido para folato sérico é 10 nmol/ L para deficiência de folato (DE BENOIST, 2008), este ponto de corte foi definido com base na homocisteína total plasmática aumentada (SELHUB et al., 2008).

A medição do folato sérico é um indicador precoce de exposição alterada de folato e reflete a ingestão dietética recente (BAILEY et al., 2015). No entanto, medidas recorrentes de folato sérico no mesmo indivíduo ao longo do tempo podem revelar deficiência crônica de folato. O folato sérico é altamente responsivo à intervenção com ácido fólico, dados populacionais mostram que, independentemente de serem de regiões com fortificação obrigatória ou voluntária, as concentrações séricas de folato refletem fortemente a exposição ao ácido fólico, com as maiores concentrações observadas em pessoas que consomem ácido fólico em suplementos e alimentos fortificados, já os folatos naturais resultam em uma resposta mais fraca de folato no soro (YEUNG et al., 2008; YANG et al., 2010).

Sabe-se que gestantes são predispostas a desenvolver deficiência de folato, devido à demanda aumentada deste micronutriente para o crescimento fetal, devido à hemodiluição fisiológica gestacional e, além disso, o baixo consumo de fonte de folato também pode contribuir para diminuição mais acentuada de folato neste período (TAMURA e PICCIANO, 2006; SIMPSON et al., 2010). Portanto, as concentrações de folato em gestantes são menores do que em mulheres não gestantes (CIKOT et al., 2001). Ao longo da gestação, essas concentrações tendem a diminuir progressivamente, independente do consumo de folato (CIKOT et al., 2001; MILMAN e AL., 2006; UBEDA et al., 2011). As mulheres iniciam a gestação com valores que variam de 14 a 34 nmol/L e no fim

da gestação esses valores podem ficar próximos de 21 a 9 nmol/L (MILMAN e AL., 2006; UBEDA et al., 2011).

O tabagismo (ORTEGA et al., 2004; MIKAEL et al., 2006; DE BATLLE et al., 2018), obesidade (BIRD et al., 2015), ingestão calórica, idade (ALMEIDA et al., 2008; SHI et al., 2014; DE BATLLE et al., 2018), escolaridade (ALMEIDA et al., 2008; SHI et al., 2014), exercício físico. (KIM et al., 2016) e o intervalo entre gestações menor de 24 meses (MEGAHED e TAHER, 2004) estão associados à concentração de folato.

O consumo de folato por meio de alimentos fontes desta vitamina, como vegetais verdes escuros, feijões e leguminosas, ou alimentos fortificados e/ou através de suplementação tem sido recomendado para mulheres no período Peri concepcional (JENNIFER J. OTTEN, 2006). Essa fase compreende o período de quatro semanas anteriores à concepção até o final do primeiro trimestre gestacional (CZEIZEL et al., 2013). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) número 344 de 13 de dezembro de 2002 regulariza a fortificação da farinha de trigo e milho com ácido fólico (que também é enriquecida com ferro) (BRASIL, 2002). Recentemente, esta resolução, foi atualizada através da RDC número 150 de 2017, nela as recomendações de enriquecimento com ácido fólico devem ser, até o vencimento do prazo de validade, com teor igual ou superior a 140 microgramas de ácido fólico por 100 gramas de farinha, observado o limite máximo de 220 microgramas de ácido fólico por 100 gramas de farinha (BRASIL, 2017).

Segundo o *Dietary Reference Intakes* o requisito médio estimado de folato para uma mulher não gestante, a partir dos 19 anos, é de 400 µg/d, para uma gestante essa recomendação sobe para 600 µg/d (JENNIFER J. OTTEN, 2006). A Prescrição de suplementação de ácido fólico para gestantes é de 5mg/dia para profilaxia da anemia (BRASIL, 2012).

Uma pesquisa que comparou a atenção pré-natal de mulheres na área urbana e rural do Brasil, com base na Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher do Brasil (PNDS) encontrou que a porcentagem de gestantes que receberam prescrição de ácido fólico foi de aproximadamente 45%

na área urbana e 33% na are rural (CARDOSO et al., 2013). Em um estudo realizado com gestantes residentes do Rio Grande do Sul, verificou que a prevalência de uso de ácido fólico foi de 54,2% (LINHARES e CESAR, 2017).

A deficiência de folato está relacionada com desfechos negativos para o feto, como defeitos do tubo neural (LIAN et al., 2011). Apesar disso, estudos recentes mostram que altas concentrações de folato na gestação também podem trazer prejuízos à saúde (WIENS & DESOTO, 2017). Pesquisas mostram que o alto consumo de ácido fólico e altas concentrações de folato ( $\geq 60.3$  nmol/L) no sangue de gestantes estão relacionados com o aumento do risco de transtorno do espectro autista (DESOTO, 2012; RAGHAVAN et al., 2018), em estudos em modelo animal o consumo excessivo de folato em combinação com dieta hiperlipídica associou-se com ganho de peso, acúmulo de TG no tecido adiposo e aumento de marcadores inflamatórios (KELLY et al., 2016).

### **5.2.3 Vitamina B12**

Vitamina B12 é um composto da família das cobalaminas, compostos contendo a união de 4 grupos pirrol (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N), formando um anel corrina em torno de um átomo de cobalto (Co<sup>+</sup>) central, que por sua vez, pode se ligar a cinco radicais (R) diferentes, dando origem a derivados de cobalamina, como a metilcobalamina (CH<sub>3</sub>) e a 5'-deoxiadenosina (adenosilcobalamina) as duas conformações com atividade biológicas no organismo de mamíferos (FORRELLAT BARRIOS et al., 1999; QUADROS e SEQUEIRA, 2013; BENDER et al., 2014). Essa vitamina é essencial para muitas reações bioquímicas no organismo, uma delas é a reação de biossíntese de metionina, composto que doa metil (CH<sub>3</sub>) para síntese de diversas estruturas (FORRELLAT BARRIOS et al., 1999; SELHUB, 1999; KALHAN, 2016). Além disso, a vitamina B12 também participa como cofator da metilmalonil-CoA-mutase, enzima que catalisa a isomerização da L-metilmalonil-CoA a succinil-CoA, um intermediário do ciclo do ácido cítrico. Essa reação é de grande importância para reutilização mitocondrial de propionato, composto que contribui para obtenção de energia através da formação de adenosina trifosfato (ATP) no ciclo do ácido cítrico (FORRELLAT BARRIOS et al., 1999; BENDER et al., 2014). Portanto, em uma situação de deficiência de vitamina



B12 ocorre aumento das concentrações de homocisteína e acúmulo de metilmalonil-CoA (BENDER et al., 2014).

Marcadores biológicos para diagnóstico de deficiência de vitamina B12, incluem concentrações circulantes reduzidas de B12 plasmática ou sérica, níveis aumentados de homocisteína, metilmalonil-CoA (GREEN et al., 2017). O ponto de corte para insuficiência de vitamina B12 total circulante é a partir de 148 pmol/L (BAILEY et al., 2011). Em geral, as gestantes obtêm dose suficiente de vitamina B12 da dieta, não sendo necessária a suplementação. A causa da deficiência de vitamina B12, portanto, está relacionada, principalmente, ao baixo consumo de alimentos fontes desta vitamina como carnes, ovos e leite (ALLEN, 2005). O requisito médio estimado de vitamina B12 para uma mulher não gestante, a partir de 19 anos, é de 2,4 µg/d, já na gestação essa necessidade aumenta para 2,6 µg/d (JENNIFER J. OTTEN, 2006).

Na gestação, a vitamina B12 tem concentração inferior aos valores de mulheres não gestantes (CIKOT et al., 2001). Ao longo da gestação, as concentrações de vitamina B12 diminuem significativamente, independente da suplementação ou não desta vitamina, de modo que no início da gestação essas concentrações variam 290 a 225 pmol/L (TAKIMOTO et al., 2007; UBEDA et al., 2011; HURE et al., 2012). Existem evidências de que no terceiro trimestre as concentrações dessa vitamina no plasma podem atingir concentrações marginais ou até mesmo deficientes, com valores que variam de 190 a 138 pmol/L (CIKOT et al., 2001; HURE et al., 2012). Essa redução acontece devido à hemodiluição fisiológica gestacional, aumento da filtração glomerular, demandas fetais e maternas aumentadas e alterações nas proteínas de ligação a vitamina (MURPHY et al., 2007). Conseqüentemente, essas mudanças fisiológicas interferem nos marcadores bioquímicos, sendo complicada a avaliação do estado de micronutrientes durante a gestação, tornando limitado o uso de intervalos de referência estabelecidos para mulheres não grávidas (MURPHY et al., 2007). Por este motivo, também, a verdadeira prevalência de deficiência de B12 na gravidez é difícil de quantificar, estima-se que a prevalência de deficiência de vitamina B12

em gestantes brasileiras é menor do que 10% (BARNABÉ et al., 2015), podendo existir em mulheres vegetarianas (KOEBNICK et al., 2004).

Outros fatores que também estão associados a concentração de vitamina B12 são a idade (ALMEIDA et al., 2008; DE BATLLE et al., 2018), a escolaridade (ALMEIDA et al., 2008), tabagismo (PIYATHILAKE et al., 1994; ALMEIDA et al., 2008), IMC (KAYA et al., 2009; KNIGHT et al., 2015; BALTACI et al., 2017) e paridade (ALMEIDA et al., 2008).

### **5.3 Vitaminas B6, folato, B12 e lipídeos séricos**

Para mostrar a relação entre as vitaminas B6, folato e B12 com as variáveis do perfil lipídico, foram selecionados 9 estudos publicados entre os anos de 2006 e 2018. Nenhum destes foi realizado no Brasil, nenhum apresentou delineamento longitudinal, e somente 1 envolveu gestantes (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015). Dos 9 estudos, 4 tinham delineamento transversal (MAHALLE et al., 2013; ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014; ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015; SARASWATHY, K. N. et al., 2018). Um foi ensaio clínico (HLAIS et al., 2012) e dois caso e controle (SEMMLER et al., 2010; LI, W. X. et al., 2015). Outros 2 foram realizados em modelo animal (ACAR, 2006; KELLY et al., 2016).

Dos estudos que encontraram associação entre folato e variáveis do perfil lipídico, um foi realizado na Alemanha, caso e controle, envolvendo 1743 adultos saudáveis e encontraram que quem tinha concentrações médias elevadas de folato no sangue ( $\geq 18.75$  nmol/l), tinham concentrações significativamente maiores de HDL e menores de LDL (SEMMLER et al., 2010). Outro estudo, que envolveu 480 adultos hipertensos, também encontrou a mesma relação inversa entre folato e HDL, além disso, encontrou que quem tinha menores concentrações de folato ( $< 10$  nmol/L), tinham maior probabilidade de hipertrigliceridemia (LI, W.-X. et al., 2015).

Um recente estudo transversal descobriu que adultos saudáveis com concentrações de folato acima de 7 ng / mL tiveram um risco significativamente reduzido de altos níveis de CT e LDL, mas também adultos descobriram que

concentrações de vitamina B12 abaixo de 220 pg / ml estavam associadas a HDL baixo (SARASWATHY, KALLUR NAVA et al., 2018).

Outros estudos também encontraram associação entre vitamina B12 e variáveis do perfil lipídico. Um deles, foi realizado com dados de duas coortes, uma britânica (n= 315) e outra da Arábia Saudita (n= 152), envolveu mulheres em idade fértil, no início da gestação e no pós-parto tinha como um de seus objetivos investigar a associação entre a vitamina B12 e perfil lipídico nas mulheres em idade reprodutiva e durante a gravidez, eles encontraram que tanto as gestantes, quanto as mulheres em idade reprodutiva, que tinham insuficiência de vitamina B12 (< 148 pmol/L), tiveram maiores concentrações de CT e TG, além disso, para este estudo, foi coletado adipócitos humanos, cultivados em baixa e nenhuma concentração de vitamina B12, pesquisadores encontraram que os adipócitos com baixa concentração e nenhuma concentração de B12 tiveram maiores concentrações homocisteína e CT quando comparados aos adipócitos com concentrações adequadas de B12, esses adipócitos também havia mais expressão de genes envolvidos na biossíntese de colesterol como SREBP, HMG-coa redutase e HMG-coa sintase (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015).

Outro estudo, realizado com 300 pacientes com alguma doença cardiovascular, encontraram uma associação inversa entre vitamina B12 com TG e VLDL e uma associação positiva entre vitamina B12 e HDL (MAHALLE et al., 2013). Outro estudo, realizado com dados de dois centros de saúde, um na Índia e outro no Reino unido, envolveu 963 diabéticos, encontrou que as concentrações de vitamina B12 associaram-se inversamente com TG (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014).

Nenhum estudo foi feito avaliando as concentrações de vitamina B6 e variáveis do perfil lipídico, porém a literatura traz estudos avaliando a associação entre suplementação ou dieta rica em vitamina B6 e variáveis do perfil lipídico. O primeiro deles, foi realizado em modelo animal e tinha como um dos seus objetivos investigar os efeitos de uma dieta com excesso de vitamina B6 e parâmetros sanguíneos, entre eles lipídeos séricos, em 20 dias de administração, eles encontraram que aqueles animais que receberam dieta rica em vitamina B6

tiveram menor concentração de CT e maior concentração de HDL (ACAR, 2006). E, por fim, em um ensaio clínico, realizado no Líbano, foi administrado vitamina B6 em 85 pacientes com hipertrigliceridemia e, após 12 semanas de intervenção, foi encontrado uma redução significativa de CT, TG e HDL (HLAIS et al., 2012).

A maioria dos mecanismos propostos que justificam o fator causal da alteração lipídica por meio das vitaminas B6, folato e B12 estão relacionados com o metabolismo de um carbono, elemento essencial para o metabolismo de todas as células eucarióticas. O metabolismo de um carbono compreende ciclos de folato e metionina. A metionina é um aminoácido proveniente de alimentos de origem animal ou de síntese endógena, é fonte imediata dos grupos metil (unidades de um carbono), necessário para diversas reações, entre elas reações de metilação na expressão e regulação de numerosos genes e sua atividade, na metilação de proteínas, ácidos nucleicos e fosfolipídios (FINDELSTEIN, 1990; KALHAN, 2016). O metabolismo da metionina envolve o ciclo de remetilação e via da transulfuração (SELHUB, 1999; KALHAN, 2016).

Estas vias envolvem diversas enzimas e vitaminas como cofatores, entre elas, a vitamina B6, folato e B12. Elas também originam e utilizam diversos metabólitos, entre eles, a homocisteína. Qualquer alteração dessas vias compromete as reações dependentes de metil (SELHUB, 1999; OBEID e HERRMANN, 2009).

Na via do metabolismo de um carbono, a metionina sofre uma reação de alta energia com ATP, mediada pela enzima metionina-adenosiltransferase, formando a S-adenosilmetionina (SAM), um doador universal de grupamento metil. Após doar o composto metil, o subproduto da SAM é a S-adenosilhomocisteína (SAH), que posteriormente pode ser hidrolisada, originando a homocisteína (hcy), que fica disponível para remetilação ou para via de transulfuração (SELHUB, 1999; KALHAN, 2016). Para remetilação, a enzima SHMT, que utiliza a vitamina B6 como cofator, transfere a serina, um aminoácido não essencial, para forma ativa do folato, o tetraidrofolato, formando a 5,10-metileno-tetraidrofolado. Esta estrutura é convertida a 5-metiltetra-hidrofolato por uma enzima chamada MTHFR. Posteriormente, a enzima metionina sintase, dependente de vitamina B12, ou de

betaína-homocisteína-metiltransferase nas células do fígado e dependente da betaína, doa o grupamento metil do composto 5-metilenotetra-hidrofolato para a homocisteína, originando a metionina, iniciando o ciclo novamente (SELHUB, 2002).

Na via da transulfuração, a homocisteína se condensa com a serina, em uma reação catalisada pela enzima cistationina  $\beta$ -sintase, contendo vitamina B6 como cofator formando a cistationina. Este composto é hidrolisado por uma segunda enzima que contém vitamina B6, a  $\gamma$ -cistationase, formando a cisteína e  $\alpha$ -cetobutirato. O excesso de cisteína é oxidado em taurina ou sulfatos inorgânicos, componente da glutatona, um antioxidante endógeno, ou é excretado na urina (SELHUB, 1999; 2002; KALHAN, 2016).

Diversos são os mecanismos propostos para explicar a associação causal entre as vitaminas e as variáveis do perfil lipídico. A literatura mostra que esta relação está ligada a um quadro de hiper-homocisteína (hhcy), também está associado com ácido fólico não-metabolizado, com a síntese prejudicada de fosfolípidos, síntese prejudicada da carnitina e, por fim, com a conversão de metil-malonil-CoA em succinil-CoA prejudicada. E todos esses mecanismos estão ligados as concentrações de vitaminas B6, folato e B12 no sangue.

Um estudo realizado por SELHUB (2008), com dados de 1.401 idosos que participaram da coorte Framingham Heart Study (DAWBER et al., 1951), encontrou que pessoas que tinham menores concentrações no sangue de folato (4,8 nmol/L), de vitamina B6 (18,1 nmol/L) e vitamina B12, tinham níveis significativamente mais altos de hcy (13,7-15,6  $\mu$ mol/L, 14,3  $\mu$ mol/L, 15,4  $\mu$ mol/L, respectivamente), comparados aquelas pessoas com concentrações mais altas dessas vitaminas. Outros estudos também mostraram a mesma relação inversa entre essas vitaminas e as concentrações de homocisteína no sangue (MCGREGOR et al., 2000; ZIAKKA et al., 2001; MAHALLE et al., 2013; ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015; VIJAYAKUMAR et al., 2017).

A hiper-homocisteinemia pode ativar três fatores de transcrição, a proteína de ligação ao elemento regulador do esteroide-2 (SREBP-2), a proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP (CREB) e o fator nuclear Y (NF-Y), responsáveis

pela biossíntese aumentada do colesterol por transcrição regulação da expressão da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase no fígado levando ao acúmulo hepático de lipídios e subseqüentemente hipercolesterolemia (WOO et al., 2005).

Os TG também sofrem influência de hcy, pois hcy mostrou ter uma relação inversa com Apolipoproteína A-IV (Apoa-IV) (MIKAEL et al., 2009). Apoa-IV está envolvida na depuração de lipoproteínas ricas em TG da circulação, então uma diminuição desta apolipoproteína pode levar a um aumento nos TG plasmáticos (HOCKEY et al., 2001).

Existem outros mecanismos propostos que explicam a relação das concentrações de vitaminas e a alteração do perfil lipídico e estes não tem associação com as concentrações de homocisteína, mas sim diretamente com as vitaminas B6, folato e B12. Um destes mecanismos propõe que a associação de folato com os lipídeos tem relação com a síntese prejudica de fosfolipídeos, como a fosfatidilcolina. A fosfatidilcolina é o mais abundante fosfolipídio das membranas celulares. No fígado é sintetizado pela N-metil-transferase, que consome grupamento metil de SAM (STEAD et al., 2006). Na deficiência de folato a síntese de metionina acaba sendo prejudicada e, por consequência, a doação do grupamento metil, através da SAM, para síntese de fosfatidilcolina também (CHEW et al., 2011; DA SILVA et al., 2014), com isso a montagem de VLDL, através da metilação de fosfatidilcolina, não acontece, afetando armazenamento e secreção de lipídeos do fígado (NOGA e VANCE, 2003).

Um estudo em modelo animal investigou o impacto da alta ingestão de ácido fólico no metabolismo do metabolismo lipídico e do carbono e descobriu que animais alimentados com uma dieta rica em ácido fólico (20 mg / kg) tinham a enzima MTHFR fosforilada; a forma fosforilada desta enzima é menos ativa, portanto a alta ingestão de ácido fólico causou uma pseudo-deficiência da enzima MTHFR e alterou o metabolismo lipídico (CHRISTENSEN et al., 2015). Além disso, os pesquisadores também descobriram que animais alimentados com dieta rica em ácido fólico tiveram expressão reduzida de Colesterol 7 alfa-hidroxilase (CYP7A1), que é uma enzima específica do fígado que catalisa a etapa de

limitação de taxa na conversão de CT em ácidos biliares. diminuição de sua expressão, resultando em aumento do colesterol intra-hepático (RUSSELL, 2003), portanto, o aumento do teor de colesterol intracelular, que pode ser causado pelo ácido fólico que pode levar à redução da expressão do CYP7A1, causa uma inibição nos receptores de LDL (LDLR) no fígado (CHOY et al., 2000) que contribui para a diminuição da captação celular de LDL circulante, rico em colesterol, que conseqüentemente aumenta a circulação (LINDGREN et al., 1985). Embora este estudo não tenha avaliado a concentração de folato, pode ser uma explicação plausível para a associação entre altas concentrações de folato e alterações no perfil lipídico, porque o consumo de folato está diretamente associado à concentração de folato no sangue (ANDERSON et al., 2010; KONDO et al., 2011; BRITTO et al., 2014; CHAKRABORTY et al., 2014). Além disso, outros estudos reforçam que a atividade da enzima MTHFR prejudicada, mesmo que por mecanismos que não envolvam folato ou ácido fólico, pode alterar o perfil lipídico. Nestes estudos, a atividade da enzima comprometida está diretamente associada as variáveis do perfil lipídico, como CT e LDL (YILMAZ et al., 2003; ZHANG et al., 2010; JAIN et al., 2012; JIANG et al., 2014).

Outro mecanismo propõe que a alteração do perfil lipídico está associada a síntese de carnitina. A carnitina pode ser de fonte exógena e pode ser sintetizada no fígado e rim. Ela é um metabolito essencial para diversas reações no organismo, uma delas, é no transporte de ácidos graxos de cadeia longa do citosol para a matriz mitocondrial das células, onde ocorrerá a  $\beta$ -oxidação desses ácidos graxos (BENDER et al., 2014). Para a síntese de carnitina ocorrer é necessário a formação de 3-hidro-trimetilisina, e esse composto é ativado pela enzima SHMT, que para ter função precisa de vitamina B6 como cofator (VAZ e WANDERS, 2002; COMBS, 2008). Portanto, a deficiência de vitamina B6, pode contribuir para alteração do perfil lipídico, inibindo a oxidação de ácidos graxos por carência de carnitina (CHO e LEKLEM, 1990; CHEN et al., 1998).

Outro mecanismo proposto para justificar a relação entre as vitaminas e lipídeos séricos, afirma que, por a vitamina B12 ser um cofator na mitocôndria para a conversão de metil-malonil-CoA em succinil-CoA, ela regula a taxa de

transferência de acil-coa da mitocôndria (STRAIN et al., 2004). Portanto, a deficiência de vitamina B12 pode levar ao bloqueio dessa conversão, resultando na acumulo de metil-malonil-CoA, que irá inibir carnitina-palmitoil-transferase (CPT1), enzima envolvida na oxidação de ácidos graxos (ROSENBERG, 2008) consequentemente favorecendo a lipogênese (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014).



## **6 Materiais e Métodos**

### **6.1 Desenho do estudo e participantes**

A presente pesquisa originou-se de um estudo mais amplo, com um desenho de coorte prospectivo realizado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. A inscrição de gestantes foi aberta por 23 meses (novembro de 2009 a outubro de 2011). As mulheres foram acompanhadas em 5-13 (primeiro trimestre), 20-26 (segundo trimestre) e 30-36 (terceiro trimestre) semanas de gestação. A cada acompanhamento, foram coletadas amostras de sangue, seguidas de avaliação nutricional e antropométrica. Todas as entrevistas foram realizadas durante os dias de consulta em um centro de atendimento pré-natal do Sistema Único de Saúde.

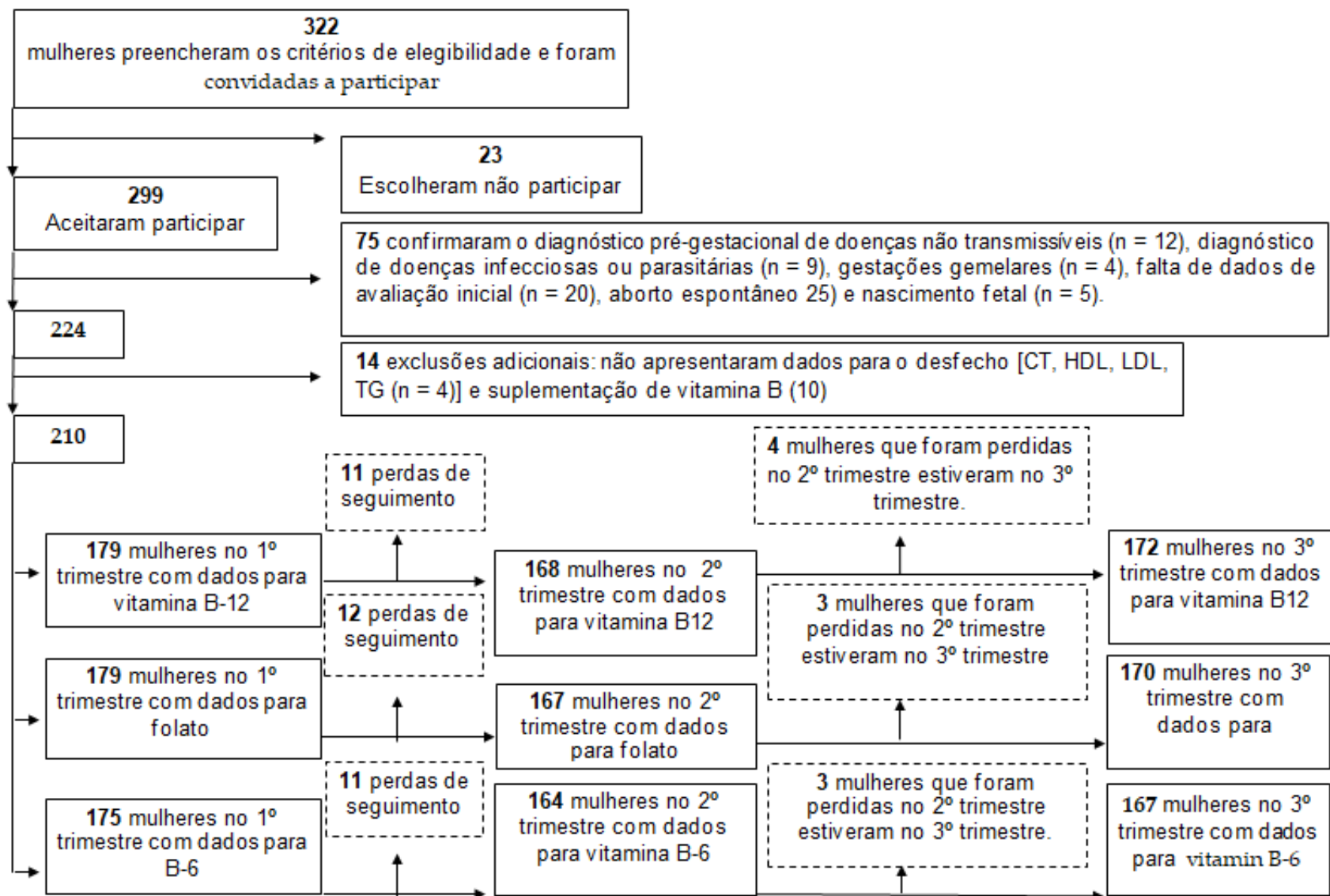
### **6.2 Critérios de inclusão**

As gestantes consideradas elegíveis foram aquelas que possuíam os seguintes critérios: apresentar até 13 semanas de gestação na primeira avaliação; ter entre 20 e 40 anos de idade; ausência de diagnóstico de doenças crônicas (exceto obesidade, com  $IMC \geq 30 \text{ kg / m}^2$ ) e doenças infecciosas; gravidez de feto único; residem na área de captura do centro de pré-natal e pretendem realizar acompanhamento pré-natal no local do estudo. Um total de 322 gestantes preencheram os critérios de elegibilidade e foram convidadas a participar do estudo.

### **6.3 Critérios de exclusão**

Destes 322, 23 se recusaram a participar, 75 mulheres foram excluídas por não respeitarem os critérios de inclusão, 14 não apresentaram dados para as variáveis de vitamina B6, B12 e folato e 10 foram excluídas por relatarem uso de Suplementos de vitamina B na gravidez. A amostra de referência consistiu de 179 mulheres grávidas para vitamina B12 e folato e 175 mulheres grávidas para vitamina B6. Desde a linha de base até a visita do segundo trimestre, ocorreram 11 perdas de acompanhamento para vitamina B12, B6 e 12 perdas para folato.

Três mulheres foram perdidas do 2º para o 3º trimestre para B6 e folato e 4 para vitamina B12 (**Figura 1**).



**Figura 1.** Fluxograma que ilustra o recrutamento e o acompanhamento de mulheres em um centro de saúde público no Rio de Janeiro, Brasil, 2009-2012. Nota: TG = Triglicerídeos. HDL = lipoproteína de alta densidade. LDL = lipoproteína de baixa densidade. TC = colesterol total. 1º = primeiro. 2º = segundo. 3º = terceiro.

#### **6.4. Coleta e análise de amostras de sangue**

Amostras de sangue (5 mL) foram coletadas no momento do recrutamento e em cada visita de acompanhamento após um jejum noturno de 12 horas. O sangue foi coletado em tubos com ácido etilenodiamino tetracético (EDTA) ou gel separador e centrifugado a 5031 x 3 g por 5 min a 21°C em 1h de coleta de sangue. Os plasma tratado com soro e EDTA foram separados em alíquotas e armazenados a -80 °C até à análise.

A vitamina B6 foi medida através da análise da coenzima piridoxal 5'-fosfato, que foi medida como derivados de semicarbazida usando cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com detecção de fluorescência (UBBINK et al., 1985). As concentrações plasmáticas de folato (nmol/L) e a vitamina B12 total (pmol/L) foram medidas por ensaio de ligação de proteína competitiva comercial utilizando a detecção de quimiluminescência e o bioanalisador Roche e411. Devido à falta de pontos de corte específicos para a gravidez para as concentrações plasmáticas de vitamina B6, B12 e folato, para os modelos de regressão linear, estratificamos os participantes pelo tercil dessas distribuições de vitaminas no primeiro trimestre.

Amostras de soro foram usadas para determinar as concentrações de HDL, CT e TG usando um método colorimétrico enzimático em um analisador automático (Labmax Plenno, Labtest Diagnostica, Minas Gerais, Brasil) e kits comerciais (Labtest Diagnostica, Minas Gerais, Brasil). O LDL foi calculado usando a fórmula de FRIEDEWALD et al. (1972).

#### **6.5 Avaliação de covariáveis**

O peso corporal materno foi medido com aproximação de 0,1 kg entre a 5ª e a 13ª semana de gestação, por meio de balança eletrônica (Filizzola Ltd., São Paulo, Brasil). A altura foi medida em duplicata usando um estadiômetro portátil (Seca Ltd., Hamburgo, Alemanha) na linha de base até o 0,1 cm mais próximo. O índice de massa corporal (IMC) no primeiro trimestre foi calculado usando a fórmula peso [kg]/(altura [(m)]<sup>2</sup>). Os pontos de corte usados para classificar o IMC no primeiro trimestre foram <25 kg/m<sup>2</sup> para baixo peso e eutrofia, > 25 e <30 kg/m<sup>2</sup>

para sobrepeso e  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> para obesidade, conforme proposto pela Organização Mundial da Saúde e endossado pelo Instituto de Medicina (IOM) (RASMUSSEN e YAKTINE, 2009). As medidas antropométricas foram obtidas de acordo com procedimentos padronizados e registradas por entrevistadores treinados (LOHMAN et al., 1988).

Um Questionário de Frequência Alimentar (QFA) semiquantitativo validado foi administrado por entrevistadores treinados no terceiro trimestre e teve os últimos seis meses como o período de tempo específico. Este instrumento é uma versão atualizada do QFA mais usado no Rio de Janeiro, Brasil (SICHERI e EVERHART, 1998). Os consumos totais de vitamina B6 (mg/dia), B12 ( $\mu$ g/dia), folato ( $\mu$ g/dia) e energia (kcal/dia) foram estimados com base na frequência diária de ingestão e tamanhos de porção relatados para cada item de alimento do QFA. Um conjunto de dados de medidas domésticas brasileiras foi usado para quantificar as porções que foram convertidas em gramas ou mililitros (PINHEIRO ABV, 2005). A base de dados de nutrientes foi construída principalmente com a composição nutricional com itens alimentares brasileiros (TACO, 2011) e complementado com o banco de dados desenvolvido pelo Departamento de Agricultura dos EUA (USDA, 2011). Os pontos de corte utilizados para o consumo de vitaminas foram vitaminas B6 ( $<1,9/\geq 1,9$  mg/dia), ingestão de folato ( $<600/\geq 600$   $\mu$ g/dia) e B12 ( $<2,6/\geq 2,6$   $\mu$ g/dia), conforme recomendações do Dietary Reference Intakes, adultos e não grávidas (JENNIFER J. OTTEN, 2006).

A idade gestacional foi medida por ultrassonografia realizada antes das 24 semanas de gestação (n = 171, 88,1%). Se esta informação não estivesse disponível no registro obstétrico, a idade gestacional era calculada com base na data relatada do último período menstrual (n = 23, 11,9%). Idade ( $<30/\geq 30$ ), paridade (0-1/ $\geq 2$ ) e tabagismo (sim/não) foram obtidos por meio de entrevista, com questionários estruturados administrados no momento da matrícula.

## **6.6 Análise estatística**

As variáveis foram testadas quanto à normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk e histogramas. As características basais das gestantes foram

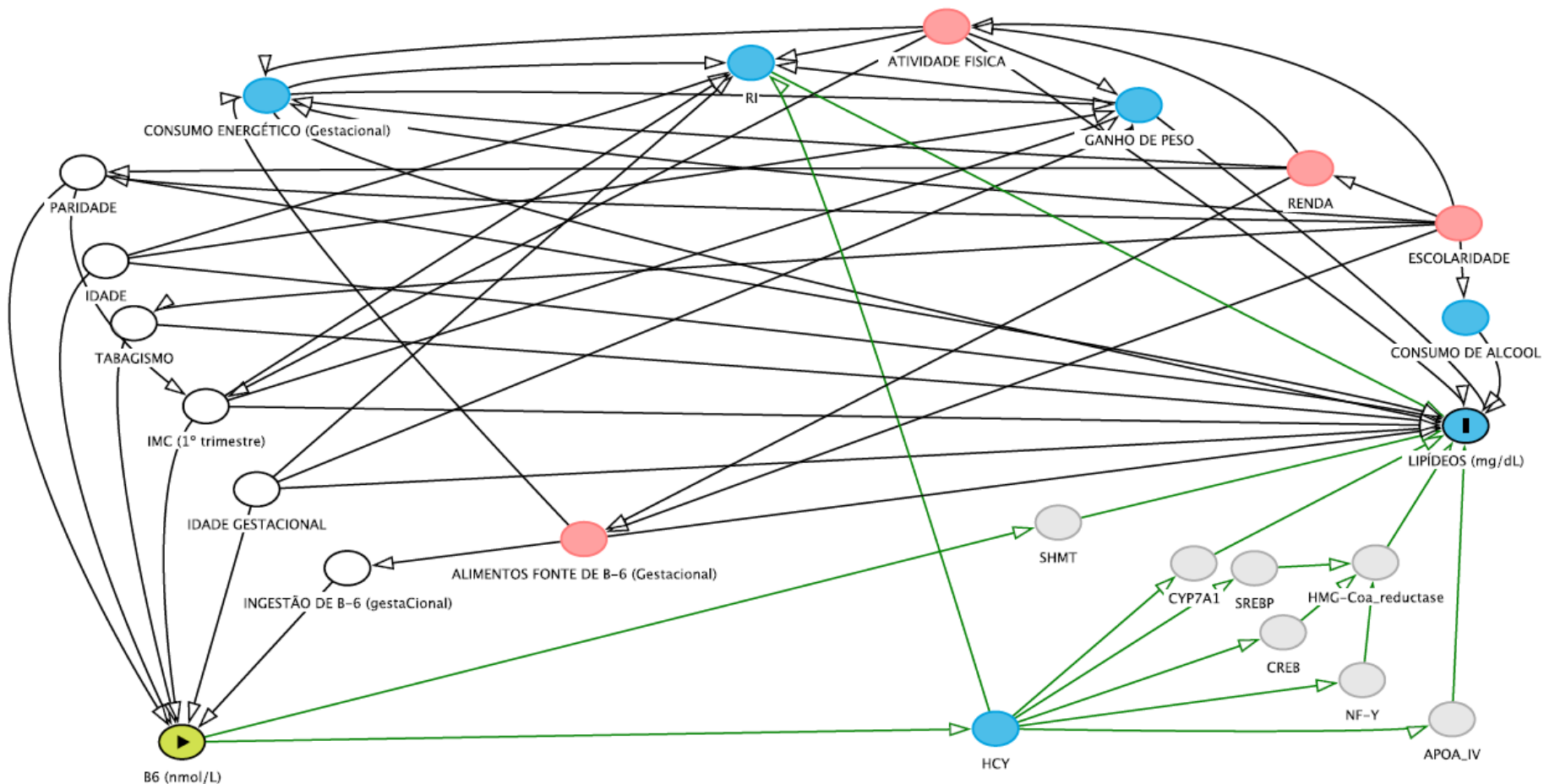
descritas utilizando média e desvio padrão para as variáveis contínuas e absolutas (n) e relativas (%) para variáveis categóricas. As concentrações de lipídios em cada trimestre foram comparadas de acordo com as características das gestantes no primeiro trimestre, utilizando o teste *t* de Student. Modelos de regressão linear foram usados para avaliar a associação entre as concentrações do perfil lipídico sérico em cada trimestre de acordo com o tercil de concentração plasmática de B6, B12 e folato no 1º trimestre.

Modelos de regressão linear de efeitos mistos (LME) brutos e ajustados foram usados para testar as associações entre as concentrações plasmáticas de vitaminas B6, B12 e folato ao longo da gestação com as concentrações séricas do perfil lipídico (TG, CT, HDL e LDL) durante a gravidez. Os fatores de confusão foram adicionados ao modelo com base na plausibilidade biológica das associações e, a priori, pelo conhecimento científico representado por Gráfico Dirigido Acíclico (“*Directed Acyclic Graph*” – DAG). DAG é um gráfico composto por variáveis aleatórias (vértices) que se relacionam entre si (setas). Por definição, este gráfico é direcionado quando as arestas são representadas por uma única seta; e acíclico quando a relação entre as variáveis não é representada por um círculo fechado (ou seja, a causa sempre precede o efeito). Variáveis de ajuste mínimo são destacadas no DAG quando uma causa comum é observada para a exposição (vitaminas) e o resultado (lipídeos) (SHRIER e PLATT, 2008; SUTTORP et al., 2015; CORTES et al., 2016). As seguintes variáveis foram incluídas nos modelos ajustados de acordo com o DAG: Para as análises entre a vitamina B6 e o perfil lipídico sérico, o modelo foi ajustado para semanas gestacionais, idade gestacional quadrática, idade, paridade, tabagismo, IMC no primeiro trimestre e ingestão de vitamina B6 na gestação; para as análises entre folato e perfil lipídico sérico, o modelo foi ajustado para semanas gestacionais, idade gestacional quadrática, idade, paridade, tabagismo, IMC no primeiro trimestre de gestação e para ingestão de folato na gestação; para as análises entre a vitamina B12 e o perfil lipídico sérico, o modelo foi ajustado para semanas gestacionais, idade gestacional quadrática, idade, paridade, tabagismo e ingestão de vitamina B12 na gestação. **(Figura 2-3).**

Todas as análises foram realizadas utilizando a versão 12 do STATA (Statacorp, 2011). Os resultados foram considerados significativos com  $p < 0,05$ .

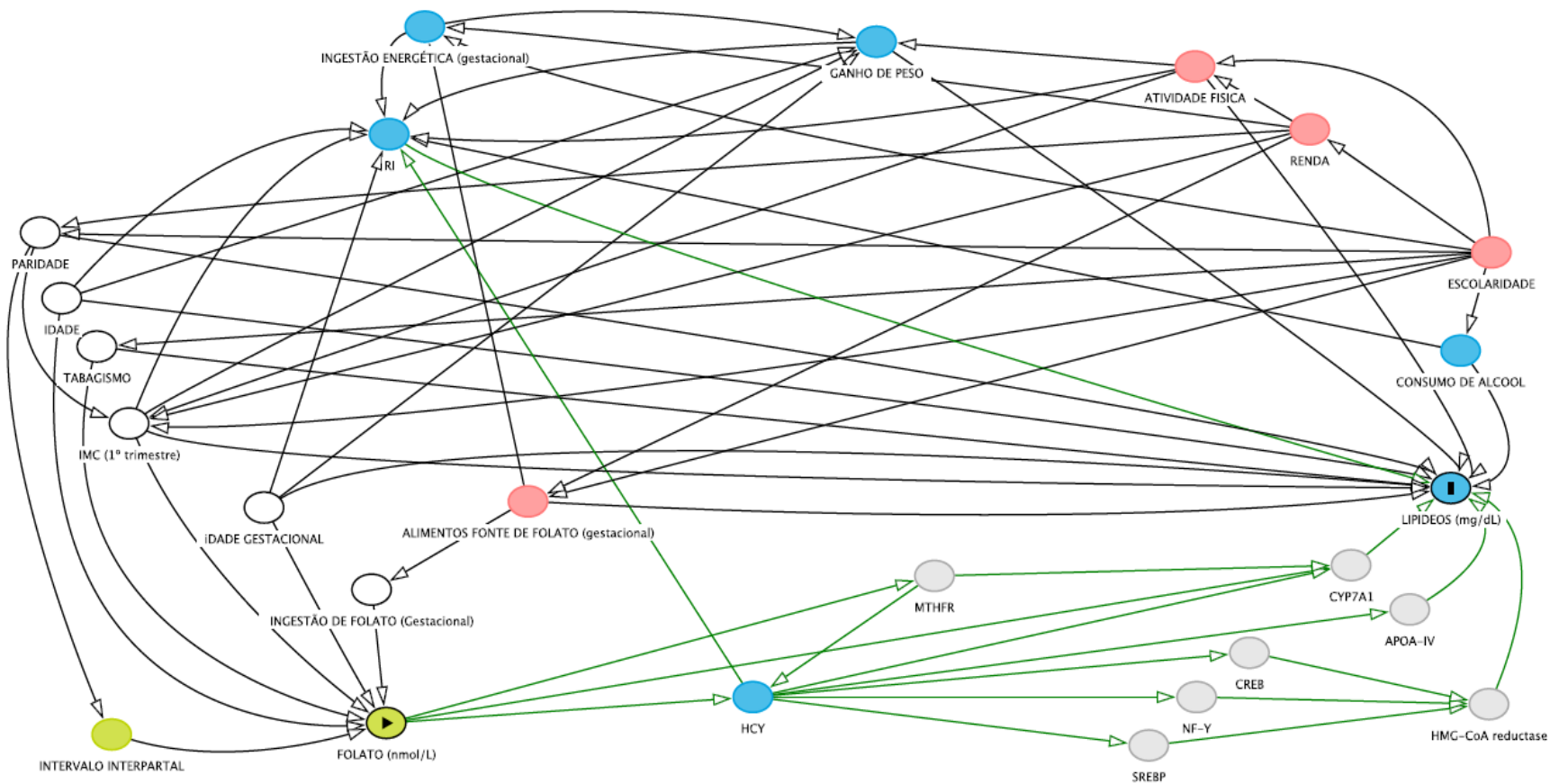
### **6.7 Declaração e aprovação ética**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro (protocolo 0012.0.249.000-09) e pela Secretaria Municipal de Saúde da cidade do Rio de Janeiro (protocolo 0139.0.314.000-09). Consentimento informado por escrito foi obtido de todos os participantes antes do estudo.

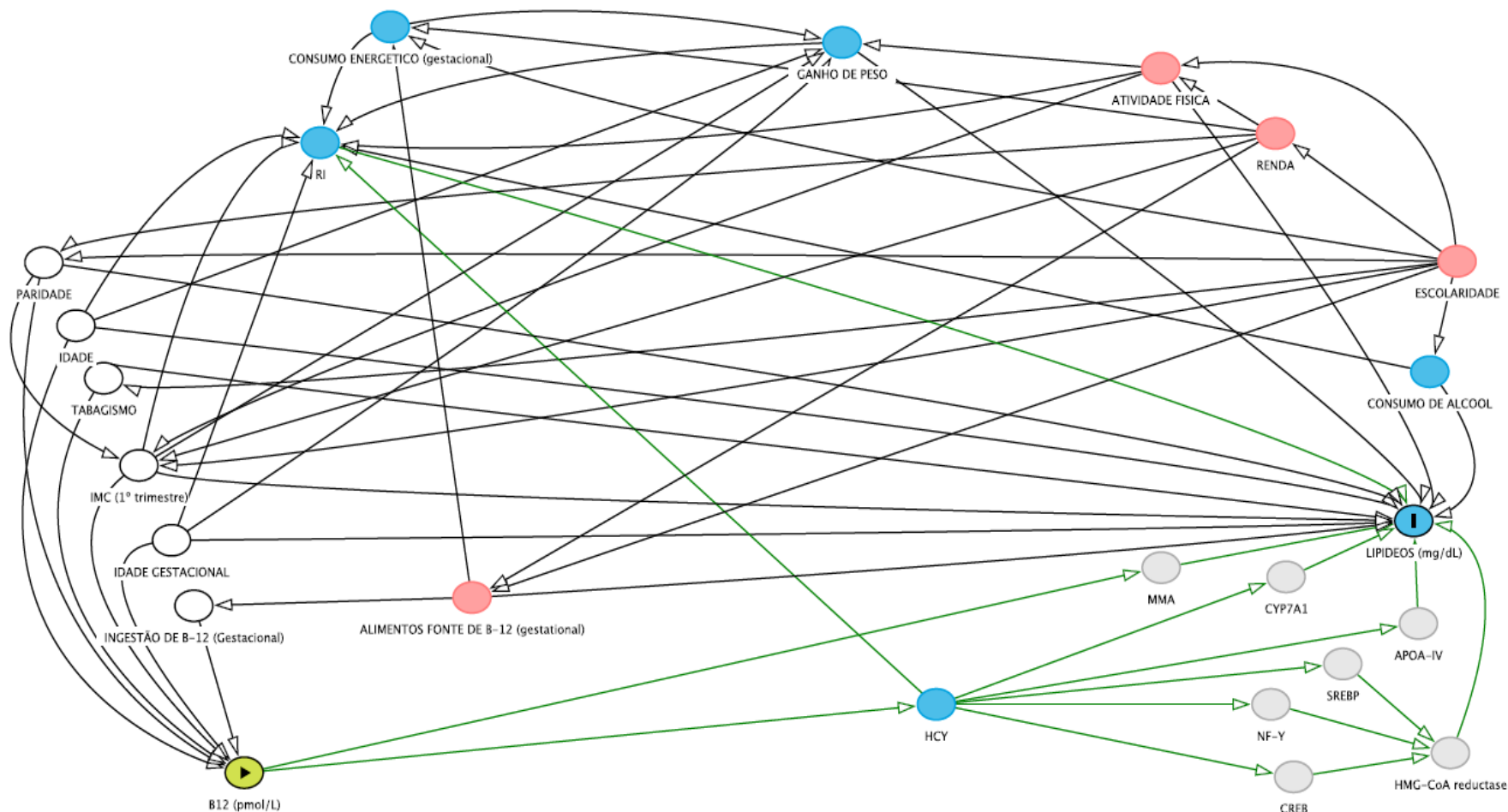


**Figura 2.** Gráfico Acíclico Dirigido que mostra as relações entre a vitamina B6 plasmática, perfil lipídico sérico e covariáveis. CREB: proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP; CYP7A1: Colesterol 7 alfa-hidroxilase; HMG-CoA redutase: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase; IMC: Índice de Massa Corporal; NF-Y: fator nuclear Y; SHMT: Serina hidroximetiltransferase; SREBP: a proteína de ligação ao elemento regulador do estero; RI: Resistência a insulina.



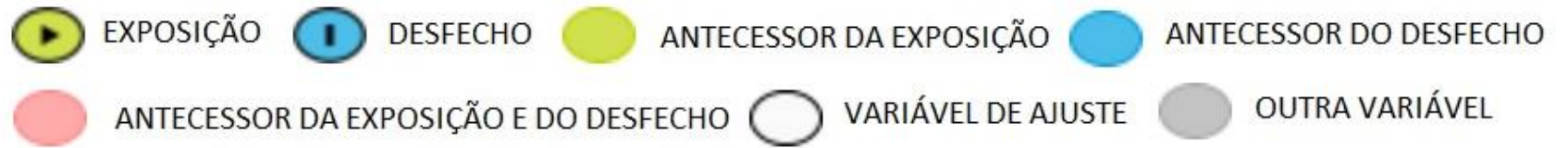


**Figura 3.** Gráfico Acíclico Dirigido que mostra as relações entre folato plasmático, perfil lipídico sérico e covariáveis. CREB: proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP; CYP7A1: Colesterol 7 alfa-hidroxilase; HMG-CoA redutase: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase; IMC: Índice de Massa Corporal; MTHFR: metiltetrahidrofolato redutase; NF-Y: fator nuclear Y; SHMT: Serina hidroximetiltransferase; SREBP: a proteína de ligação ao elemento regulador do estero; RI: Resistência insulina.



**Figure 4.** Gráfico Acíclico Dirigido que mostra as relações entre B12 plasmática, perfil lipídico sérico e covariáveis. CREB: proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP; CYP7A1: Colesterol 7 alfa-hidroxilase; HMG-CoA reductase: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductase; IMC: Índice de Massa Corporal; MMA: Metilmalonyl-CoA; NF-Y: fator nuclear Y; SHMT: Serina hidroximetiltransferase; SREBP: a proteína de ligação ao elemento regulador do esterol; RI: Resistência a insulina.

**Nota:**



## 7 Resultados

### 7.1 Características dos Participantes

As mulheres tinham  $26,7 \pm 5,6$  anos de idade, relataram  $8,6 \pm 2,9$  anos de escolaridade e 36,9% eram nulíparas. A maioria era não tabagista (80,5%) e não relatou consumo de álcool (81,0%). As mulheres relataram uma ingestão de energia de  $2.458 \pm 904$  kcal/dia. A concentração média de vitamina B6, B12 e folato no primeiro trimestre de gestação foi de 39,9 nmol/L, 320,1 pmol/L e 26 nmol/L, respectivamente. A ingestão dietética média de vitamina B6, B12 e folato no primeiro trimestre de gestação foi de 1,0 mg/dia, 6,7 mg/dia e 460,1 mg/dia, respectivamente. Quarenta e quatro por cento estavam com sobrepeso ou obesos de acordo com o IMC do primeiro trimestre **(Tabela 1)**.

**Tabela 1.** Características do basais (5<sup>a</sup> a 13<sup>a</sup> semanas) de gestantes (n = 179) acompanhadas em um centro de saúde pública no Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012.

<b>Variáveis contínuas<sup>a</sup></b>	<b>Mean (VRIJKOTTE et al.)</b>
Idade (anos)	26,7 (5,6)
Consumo energético (kcal/dia)	2458,1 (904,3)
Escolaridade (anos)	8,6 (2,9)
Colesterol total (mg/dL)	160,5 (28,9)
Lipoproteína de Alta Densidade (mg/dL)	47,8 (8,4)
Lipoproteína de Baixa Densidade (mg/dL)	96,7 (21,6)
TG (mg/dL)	79,8 (32,4)
Vitamina B6 plasmática (nmol/L) <sup>b</sup>	39,9 (18,2)
Folato plasmática (nmol/L)	26,9 (10,2)
Vitamina B12 plasmática (pmol/L)	320,1 (120,7)
Ingestão dietática de B6 (mg/dia)	1,0 (0,5)
Ingestão dietática de folato (µg/dia)	460,1 (185,3)
Ingestão dietática de B12 (µg/dia)	6,7 (4,0)
<b>Categorical variables<sup>a</sup></b>	<b>n (%)</b>
Paridade	
0	66 (36,9)
≥ 1	113 (63,1)
Tabagismo	
Sim	35 (19,5)
Não	144 (80,5)
Consumo de álcool	
Sim	34 (19,0)
Não	145 (81,0)
Índice de Massa Corporal (kg/m <sup>2</sup> )	
Baixo peso/eutrofia (<25)	100 (55,9)
Sobrepeso (25–29,9)	56 (31,3)
Obesidade (≥30)	23 (12,8)
Ingestão dietática de B6 (mg/dia)	
≥ 1,9	14 (7,8)
< 1,9	165 (92,2)
Ingestão dietática de folato (µg/dia)	
≥ 600	32 (17,9)
< 600	147 (82,1)
Ingestão dietática de B12 (µg/dia)	
≥ 2,6	165 (92,2)
< 2,6	14 (7,8)

<sup>a</sup> Variáveis contínuas descritas como médias (desvio padrão) e variáveis categóricas como n (%).

<sup>b</sup> Redução da amostra devido à falta de dados para a vitamina B6 = 175.

## 7.2 Concentração de lipídios em cada trimestre de acordo com as características das gestantes

No primeiro trimestre, o CT e o LDL foram significativamente mais elevados em mulheres grávidas com IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> em comparação com mulheres com IMC ≤ 25 kg / m<sup>2</sup>. No primeiro trimestre, o CT e o LDL também foram maiores em mulheres que consumiram menos de 1,9 mg/dia de vitamina B6 e em mulheres que consumiram menos do 2,6 µg/dia de vitamina B12 em comparação com mulheres grávidas que consumiram maiores quantidades dessas vitaminas . No primeiro trimestre, o HDL teve uma menor concentração em mulheres que

consumiram  $>2,6 \mu\text{g}$  / dia de vitamina B12 em comparação com as mulheres grávidas que consumiram menos desta vitamina. Em todos os trimestres, o HDL foi menor nas mulheres que fumaram em comparação com as que não fumavam. Os TG no primeiro trimestre foram maiores nas gestantes que apresentaram  $\text{IMC} > 25 \text{ kg/m}^2$  em comparação às mulheres com  $\text{IMC} \leq 25 \text{ kg/m}^2$ . No segundo trimestre, os triglicerídeos foram maior nas mulheres que referiram tabagismo em relação às que não fumavam e no segundo e terceiro trimestres os TG foram maiores nas mulheres com 30 anos ou mais (**Tabela 2**).

**Tabela 2** - Concentrações lipídicas estratificadas por características gestacionais ao longo de trimestres de gestantes acompanhadas em um centro de saúde público no Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012.

	CT (mg/dL)			LDL (mg/dL)			
	1º trimestre Média (DP) [n]	2º trimestre Média (DP) [n]	3º trimestre Média (DP) [n]	1º trimestre Média (DP) [n]	2º trimestre Média (DP) [n]	3º trimestre Média (DP) [n]	
Idade (anos)							
< 30	159,1(28,1) [127]	209,6(35,3)[118]	222,7(41,3) [123]	96,5 (20,7)[127]	127,3(28,5)[118]	137,6(33,1)[123]	
≥ 30	164,1 (30,6) [52]	212,0 (35,1) [50]	227,9 (41,3) [49]	97,3 (23,9) [52]	126,7 (29,1) [50]	137,6 (35,0) [49]	
Paridade							
0	161,0 (30,8) [66]	212,1 (35,6) [62]	225,6 (40,8) [64]	97,9 (23,7) [66]	128,9 (29,7) [62]	137,7 (36,0) [64]	
≥ 1	160,3 (27,9) [113]	209,3(35,0)[106]	223,3(41,7) [108]	96,0(20,3) [113]	126,1(28,0)[106]	140 (32,2) [108]	
Tabagismo							
Sim	153,9 (27,4) [11]	204,2 (30,8) [9]	207,7 (49,0) [9]	94,2 (20,8) [11]	118,7 (27,9) [9]	127,7 (33,7) [9]	
Não	161,0 (29,0) [168]	210,7(35,4)[159]	225,1(40,8) [163]	96,9 (21,7)[168]	127,6(28,6)[159]	138,1(33,7)[163]	
IMC (1º trimestre)		*			*		
Baixo peso/eutrofia	156,2 (27,2) [100]	209,4 (33,3) [91]	222,6 (40,6) [97]	93,6(19,4) [100]	127,7 (25,6) [91]	138,0 (31,0) [97]	
Sobrepeso/obesidade	166,0(30,1)[79]	211,4 (37,4) [77]	226,2 (42,2) [75]	100,7 (23,6)[79]	126,4 (31,9) [77]	137,0 (36,8) [75]	
Ingestão de B6 (mg/dia)		*			*		
≥ 1.9	145,8 (33,6) [14]	209,5 (39,5) [12]	218,3 (35,3) [12]	82,5 (22,4) [14]	124,7 (25,7) [12]	131,6 (22,8) [12]	
< 1.9	161,8 (28,2) [165]	210,4(34,9)[156]	224,6(41,7) [160]	97,9 (21,1)[165]	127,3(28,8)[156]	138,1(34,2)[160]	
Ingestão de folato (µg/day)							
≥ 600	155,7 (33,5) [32]	204,0 (41,8) [31]	214,9 (40,3) [31]	92,0 (24,1) [32]	121,6 (31,4) [31]	130,7 (32,0) [31]	
< 600	161,6 (27,8) [147]	211,7(33,5)[137]	226,2(41,3) [141]	97,8 (20,9)[147]	128,4(27,9)[137]	139,1(33,8)[141]	
Ingestão de B12 (µg/day)		*			*		
≥ 2.6	159,1 (27,6) [165]	209,0(34,1)[156]	222,5(39,8) [159]	95,7(20,8) [165]	126,2(27,7)[156]	136,3(32,3)[159]	
< 2.6	176,9 (38,5) [14]	227,4 (44,7) [12]	244,6 (54,0) [13]	109,0 (27,0)[14]	138,9 (38,1) [12]	154,1 (44,9) [13]	

**Tabela 2.** continuação

	HDL (mg/dL)			TG (mg/dL)		
	1º trimestre Média (DP) [n]	2º trimestre Média (DP) [n]	3º trimestre Média (DP) [n]	1º trimestre Média (DP) [n]	2º trimestre Média (DP) [n]	3º trimestre Média (DP) [n]
Idade (anos)						
< 30	159.1(28.1) [127]	209.6(35.3)[118]	222.7(41.3) [123]	96.5 (20.7)[127]	127.3(28.5)[118]	137.6(33.1)[123]
≥ 30	164.1 (30.6) [52]	212.0 (35.1) [50]	227.9 (41.3) [49]	97.3 (23.9) [52]	126.7 (29.1) [50]	137.6 (35.0) [49]
Paridade						
0	161.0 (30.8) [66]	212.1 (35.6) [62]	225.6 (40.8) [64]	97.9 (23.7) [66]	128.9 (29.7) [62]	137.7 (36.0) [64]
≥ 1	160.3 (27.9) [113]	209.3(35.0)[106]	223.3(41.7) [108]	96.0(20.3) [113]	126.1(28.0)[106]	140 (32.2) [108]
Tabagismo						
Sim	153.9 (27.4) [11]	204.2 (30.8) [9]	207.7 (49.0) [9]	94.2 (20.8) [11]	118.7 (27.9) [9]	127.7 (33.7) [9]
Não	161.0 (29.0) [168]	210.7(35.4)[159]	225.1(40.8) [163]	96.9 (21.7)[168]	127.6(28.6)[159]	138.1(33.7)[163]
IMC (1º trimestre)						
Baixo peso/eutrofia	156.2 (27.2) [100]	209.4 (33.3) [91]	222.6 (40.6) [97]	93.6(19.4) [100]	127.7 (25.6) [91]	138.0 (31.0) [97]
Sobrepeso/obesidade	166.0(30.1)[79]	211.4 (37.4) [77]	226.2 (42.2) [75]	100.7 (23.6)[79]	126.4 (31.9) [77]	137.0 (36.8) [75]
Ingestão de B6 (mg/dia)						
≥ 1.9	145.8 (33.6) [14]	209.5 (39.5) [12]	218.3 (35.3) [12]	82.5 (22.4) [14]	124.7 (25.7) [12]	131.6 (22.8) [12]
< 1.9	161.8 (28.2) [165]	210.4(34.9)[156]	224.6(41.7) [160]	97.9 (21.1)[165]	127.3(28.8)[156]	138.1(34.2)[160]
Ingestão de folato (µg/day)						
≥ 600	155.7 (33.5) [32]	204.0 (41.8) [31]	214.9 (40.3) [31]	92.0 (24.1) [32]	121.6 (31.4) [31]	130.7 (32.0) [31]
< 600	161.6 (27.8) [147]	211.7(33.5)[137]	226.2(41.3) [141]	97.8 (20.9)[147]	128.4(27.9)[137]	139.1(33.8)[141]
Ingestão de B12 (µg/day)						
≥ 2.6	159.1 (27.6) [165]	209.0(34.1)[156]	222.5(39.8) [159]	95.7(20.8) [165]	126.2(27.7)[156]	136.3(32.3)[159]
< 2.6	176.9 (38.5) [14]	227.4 (44.7) [12]	244.6 (54.0) [13]	109.0 (27.0)[14]	138.9 (38.1) [12]	154.1 (44.9) [13]

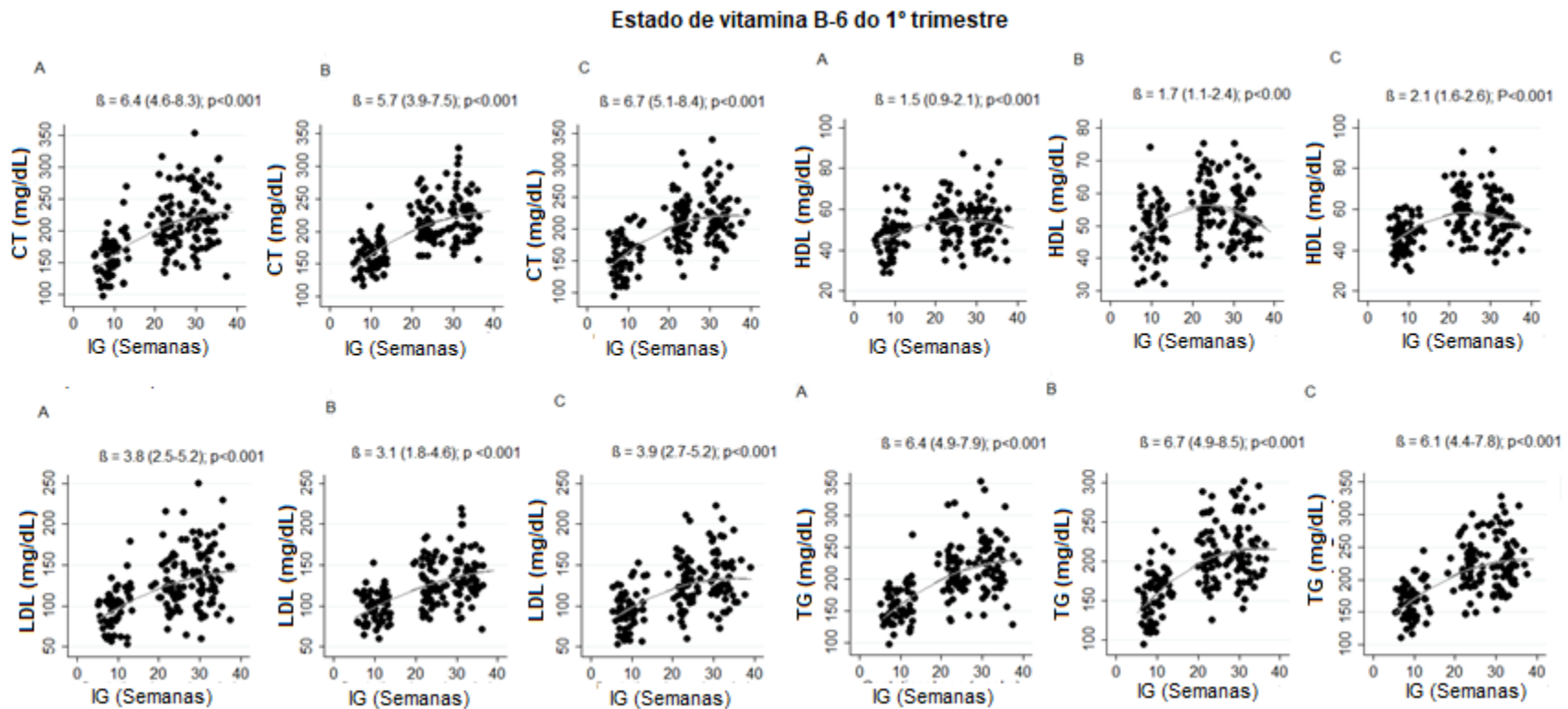
**P** = valor de *p* referente ao teste t que compara as características gestacionais do primeiro trimestre com os lipídeos de cada trimestre. \* *p* <0,05, \*\* *p* <0,001, diferença estatisticamente significativa entre as categorias.

CT: colesterol total. HDL: lipoproteína de alta densidade, LDL: lipoproteína de baixa densidade, TG: triglicerídeos. IMC: índice de massa corporal DP: desvio padrão. A ingestão de vitaminas refere-se à ingestão dietética.



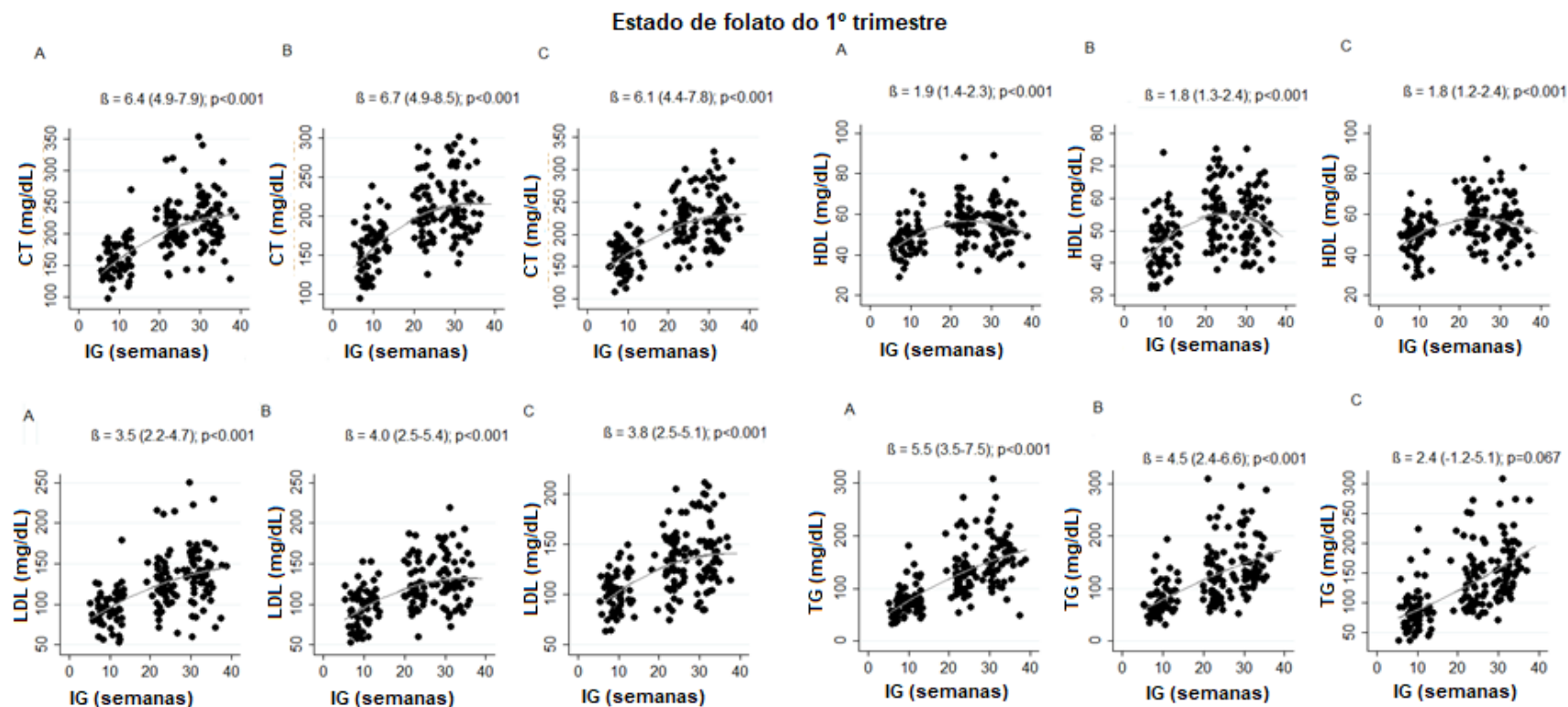
### **7.3 Características dos lipídeos durante a gravidez de acordo com a concentração de vitamina B6, B12 e folato no primeiro trimestre da gestação**

Durante a gravidez, os lipídios aumentaram independentemente da concentração de vitamina B6, B12 e folato no primeiro trimestre, exceto pela relação entre o tercil de maior folato e TG e entre o tercil inferior de B12 e TG, que tiveram uma relação direta , mas não significativo **(Figuras 5-6)**.



**Figura 5.** Alterações nos lipídeos séricos durante a gestação, de acordo com o estado de vitamina B6 no primeiro trimestre, Rio de Janeiro, Brasil, 2009-2012.

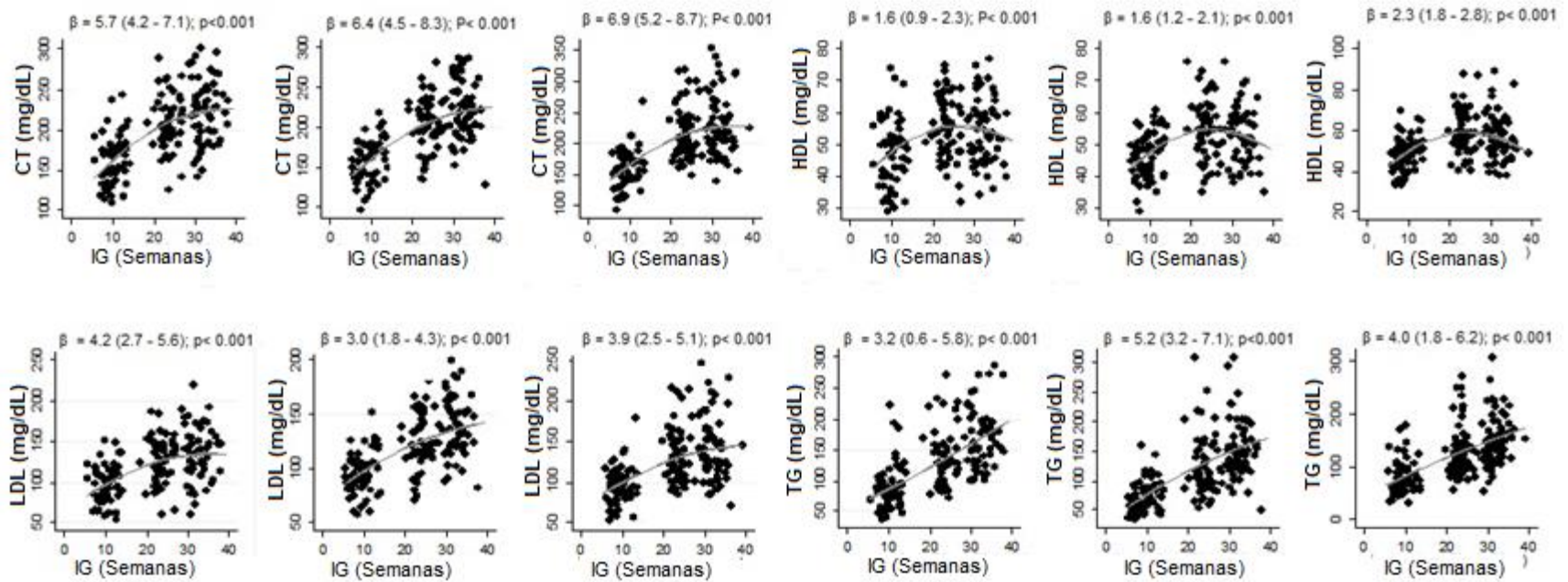
β: coeficientes de regressão linear longitudinal (IC95%) para a idade gestacional. A (n = 167): 1º tercil de vitamina B6: <32,1 nmol / L. B (n = 167): 2º tercil de vitamina B6: 32,1-41,5 nmol / L. C (n = 171): 3º tercil de vitamina B6: ≥ 41,5. TC: colesterol total. HDL-C: lipoproteína de alta densidade, LDL-C: lipoproteína de baixa densidade, TG: triglicérides, IG: idade gestacional.



**Figure 6.** Alterações nos lipídeos séricos durante a gestação de acordo com o estado de folato do primeiro trimestre, Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012.

β: coeficientes de regressão linear longitudinal (IC95%) para a idade gestacional. A (n = 175): 1º tercil de folato: <20,5 nmol / L. B (n = 168): 2º tercil de folato: 20,5 - 30,9 nmol / L. C (n = 174): 3º tercil de folato: ≥ 30,9 nmol / L. CT: colesterol total. HDL-C: lipoproteína de alta densidade, LDL-C: lipoproteína de baixa densidade, TG: triglicerídeos, IG: Idade gestacional.

Estado de vitamina B-12 do 1º trimestre



**Figure 7.** Alterações nos lipídios séricos durante a gestação de acordo com a condição de vitamina B12 no primeiro trimestre, Rio de Janeiro, Brasil, 2009–2012.

β: coeficientes de regressão linear longitudinal (IC95%) para a idade gestacional. A (n = 168): 1º tercil de folato: <254,08 pmol / L. B (n = 167): 2º tercil de folato: 254,08 - 341 pmol/L. C (n = 184): 3º tercil de folato: ≥341 pmol/L. TC: colesterol total. HDL-C: lipoproteína de alta densidade, LDL-C: lipoproteína de baixa densidade, TG: triglicérideo, IG: idade gestacional.

#### **7.4 Associação longitudinal entre vitamina B6, B12, folato e lipídios séricos durante a gravidez**

Na análise longitudinal ajustada, não houve associação entre as concentrações de vitaminas B6 e B12 e variáveis do perfil lipídico. Houve associação positiva entre níveis de folato e CT ( $\beta = 0,244$  IC95% = 0,034; 0,454,  $p = 0,023$ ) e entre folato e LDL ( $\beta = 0,193$  IC 95% = 0,028; 0,357,  $p = 0,022$ ) (**Tabela 3**).

**Tabela 3.** Associação longitudinal entre vitamina B6, B12, folato e lipídios séricos durante a gravidez. Rio de Janeiro, Brasil, 2009-2012.

		CT (mg/dl)		HDL (mg/dl)		LDL (mg/dl)		TG (mg/dl)	
<b>Modelo 1<sup>a</sup></b>		$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>	$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>	$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>	$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>
B6	plasmática	0.003(-0.120;0.126)	0.958	0.013(-0.028;0.054)	0.525	-0.003(0.096;0.091)	0.957	-0.005(-0.158; 0.148)	0.946
Folato	plasmático	0.252(0.038; 0.466)	<b>0.021</b>	0.018 (-0.057; 0.093)	0.645	0.194(0.027; 0.361)	<b>0.023</b>	0.273 (-0.012; 0.560)	0.061
B12	plasmática	-0.001(-0.020; 0.019)	0.957	0.002 (-0.005; 0.008)	0.589	-0.005(0.020;0.010)	0.513	0.019 (-0.006; 0.043)	0.138
<b>Modelo 2<sup>d</sup></b>		$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>	$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>	$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>	$\beta^b$ (95% CI)	<i>P<sup>c</sup></i>
B6	plasmática	-0.009(-0.131;0.113)	0.890	0.006 (-0.035; 0.047)	0.767	-0.011(-0.103;0.081)	0.811	0.009 (-0.144; 0.161)	0.909
Folato	plasmático	0.244 (0.034;0.454)	<b>0.023</b>	0.007 (-0.067; 0.081)	0.850	0.193(0.028; 0.357)	<b>0.022</b>	0.270 (-0.011; 0.550)	0.060
B12	plasmática	0.002 (-0.018;0.021)	0.890	0.001 (-0.005; 0.008)	0.652	-0.004(-0.184; 0.011)	0.631	0.022 (-0.003; 0.046)	0.077

IC%95 = 95% Intervalo de Confiança.

<sup>a</sup>Modelo não ajustado; <sup>d</sup>Modelo ajustado: Para as análises entre a vitamina B6 e o perfil lipídico sérico, o modelo foi ajustado para semanas gestacionais, idade gestacional quadrática, idade, paridade, tabagismo, IMC no primeiro trimestre e ingestão de vitamina B6 na gestação; para as análises entre folato e perfil lipídico sérico, o modelo foi ajustado para semanas gestacionais, idade gestacional quadrática, idade, paridade, tabagismo, IMC no primeiro trimestre de gestação e para ingestão de folato na gestação; para as análises entre a vitamina B12 e o perfil lipídico sérico, o modelo foi ajustado para semanas gestacionais, idade gestacional quadrática, idade, paridade, tabagismo e ingestão de vitamina B12 na gestação

<sup>b</sup>Coeficiente de regressão linear longitudinal para avaliar a associação entre concentração de vitaminas ao longo da gestação e alterações nos perfis lipídicos durante a gestação.

<sup>c</sup>Valor *p* refere-se ao estimador de máxima verossimilhança.

Número de observações (Vitamina B6): 506; número de grupos: 178. Número de observações (folato): 516; número de grupos: 181. Número de observações (Vitamina B12): 519; número de grupos: 181.

Nota: TG: Triglicerídeos. HDL: lipoproteína de alta densidade. LDL: lipoproteína de baixa densidade. TC: colesterol total

## 8. Discussão

Este é o primeiro estudo longitudinal com gestantes não suplementadas que avaliaram a associação entre as concentrações plasmáticas de vitaminas B6, B12 e folato com biomarcadores lipídicos no sangue. Nossos achados mostraram uma associação significativa e direta entre a concentração de folato com CT e LDL durante a gravidez.

Estudos prévios realizado com adultos saudáveis (SEMMLER et al., 2010; SARASWATHY, K. N. et al., 2018) e hipertensos (LI, W. X. et al., 2015) encontraram associação inversa entre as concentrações de folato e LDL, CT e TG e associação direta entre folato e HDL. No entanto, esses estudos apresentavam um desenho transversal, o que limitou o achado de associação causal. Além disso, estes não foram realizados com mulheres grávidas.

Está bem estabelecido que a deficiência de folato está relacionada a desfechos adversos para o feto, como defeitos do tubo neural (Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group, 1991; CASTILLO-LANCELOTTI et al., 2013) e nascimento prematuro (BUKOWSKI et al., 2009) . Com o objetivo de reduzir as deficiências de micronutrientes nos países da América Latina, a Organização Mundial de Saúde reconhece a fortificação universal de alimentos de grande consumo pela maioria da população (LINDSAY ALLEN, 2006). Em estudos com gestantes brasileiras, essa concentração aumentou para 15 nmol/L quando comparada a estudos anteriores à política de fortificação de alimentos (BRITTO et al., 2014; CHAKRABORTY et al., 2014). No presente estudo, em gestantes não suplementadas, a concentração média de folato no primeiro, segundo e terceiro trimestre foi de 26,9 nmol/L, 24,7 nmol / L e 23,8 nmol / L, respectivamente (dados não mostrados), o que está acima do ponto de corte estabelecido para deficiência de folato, que é determinado como concentrações abaixo de 10 nmol/L (IOM, 1998).

Estudos recentes mostram que o alto consumo e altas concentrações de folato ( $\geq 60.3$  nmol / L) durante a gravidez também podem causar resultados

negativos para a saúde da criança, como o transtorno do espectro autista (WIENS e DESOTO, 2017; RAGHAVAN et al., 2018). Além disso, um estudo com modelo animal mostrou que o consumo excessivo de folato em combinação com uma dieta hiperlipidêmica foi associado ao ganho de peso e ao acúmulo de lipídios no tecido adiposo (KELLY et al., 2016). Estabelece-se que a hipercolesterolemia materna e a hipercolesterolemia isolada (aumento isolado da LDL) têm consequências adversas para o feto, como o crescimento fetal prejudicado (LEIVA et al., 2015) e nascimento prematuro (MAYMUNAH et al., 2014) e crianças com níveis mais altos de LDL aos 6 e 13 anos de idade (CHRISTENSEN et al., 2016).

No entanto, não está claramente elucidado como o folato pode alterar a concentração sanguínea de LDL e CT. O folato está envolvido na via do metabolismo do carbono como substrato catalítico; em uma reação catalisada pela enzima (MTHFR) participando da doação de um grupo metil para a remetilação da homocisteína, que forma metionina, um aminoácido que fornece unidades de carbono para a metilação de proteínas, ácidos nucleicos e fosfolipídios, entre outras estruturas (BROSNAN e BROSNAN, 2006; STEAD et al., 2006). Então, o comprometimento na enzima MTHFR pode causar danos na via metabólica do carbono e um aumento de homocisteína intracelular que é transferido para o sangue, estabelecendo um acúmulo de homocisteína, chamado hiperhomocisteinemia (SELHUB, 1999). A hiperhomocisteinemia pode ativar três fatores de transcrição, a proteína de ligação ao elemento regulador do esteroil-2 (SREBP-2), a proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP (CREB) e o fator nuclear Y (NF- $\kappa$ B), responsáveis pela biossíntese aumentada do colesterol, pois eles fazem a regulação transcricional da expressão da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase no fígado levando ao acúmulo hepático de lipídios e subsequentemente hipercolesterolemia (WOO et al., 2005). Entretanto, em nosso estudo, as concentrações de homocisteína foram em média 6,2  $\mu\text{mol} / \text{L}$ , 5,1  $\mu\text{mol} / \text{L}$  e 5,6  $\mu\text{mol} / \text{L}$  no primeiro, segundo e terceiro trimestres, respectivamente (dados não mostrados). Estes valores estão abaixo do ponto de corte para a hiperhomocisteinemia ( $> 12 \mu\text{mol} / \text{L}$ ) (IOM, 1998), o que mostra que a associação de



folato e lipídio não foi mediada pelas concentrações de homocisteína neste estudo.

Um estudo em modelo animal encontrou uma associação de ácido fólico ingerido, atividade de MTHFR e lipídios. Este estudo investigou o impacto da alta ingestão de ácido fólico no metabolismo lipídico e do carbono e descobriu que animais alimentados com uma dieta rica em ácido fólico (20 mg/kg) tinham a enzima MTHFR fosforilada; a forma fosforilada desta enzima é menos ativa, portanto a alta ingestão de ácido fólico causou uma pseudo-deficiência da enzima MTHFR e alterou o metabolismo lipídico (CHRISTENSEN et al., 2016). Além disso, os pesquisadores também descobriram que animais alimentados com dieta rica em ácido fólico tiveram expressão reduzida de Colesterol 7 alfa-hidroxilase (CYP7A1), que é uma enzima específica do fígado que catalisa a etapa de limitação de taxa na conversão de CT em ácidos biliares. A diminuição de sua expressão, resultou em aumento do colesterol intra-hepático (RUSSELL, 2003), portanto, o aumento do teor de colesterol intracelular, que pode ser causado pelo ácido fólico que pode levar à redução da expressão do CYP7A1, causa uma inibição nos receptores de LDL (LDLR) no fígado (CHOY et al., 2000) que contribui para a diminuição da captação celular de LDL circulante, rico em colesterol, que consequentemente aumenta a circulação (LINDGREN et al., 1985). Embora este estudo não tenha avaliado a concentração de folato, pode ser uma explicação plausível para a associação entre altas concentrações de folato e alterações no perfil lipídico, porque o consumo de folato está diretamente associado à concentração de folato no sangue (ANDERSON et al., 2010; KONDO et al., 2011; BRITTO et al., 2014; CHAKRABORTY et al., 2014). Além disso, outros estudos reforçam que a atividade da enzima MTHFR prejudicada, mesmo que por mecanismos que não envolvam folato ou ácido fólico, pode alterar o perfil lipídico. Nestes estudos, a atividade da enzima comprometida está diretamente associada a variáveis do perfil lipídico, como TC e LDL (YILMAZ et al., 2003; ZHANG et al., 2010; JAIN et al., 2012; JIANG et al., 2014).

No presente estudo, não encontramos associação entre vitaminas B12 com LDL, CT, HDL e triglicérides. Estudo realizado com mulheres em idade fértil, início

da gestação e pós-parto constatou que a baixa concentração de vitamina B12 (148pmol/L) estava associada a maior CT, triglicérides e LDL. Além disso, as células adiposas cultivadas com concentrações de vitamina B12 encontraram que os adipócitos humanos cultivados em baixa e nenhuma concentração de vitamina B12 apresentaram concentrações mais altas de CT e LDL quando comparados aos adipócitos com concentrações adequadas de B12, esses adipócitos também apresentou mais expressão gênica envolvida na biossíntese de colesterol como SREBP, HMG-CoA redutase e HMG-CoA sintase (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2015). Outro estudo, realizado com dados de dois centros de saúde, um na Índia e outro no Reino Unido, envolveu 963 diabéticos, descobriu que as concentrações de vitamina B12 estavam inversamente associadas com TG (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2014). Estudos com adultos saudáveis revelaram que concentrações de vitamina B12 abaixo de 3 ng/mL estavam associadas a níveis baixos de HDL (SARASWATHY, K. N. et al., 2018), eles descobriram que a vitamina B12 sérica estava inversamente associada com triglicérides e diretamente com HDL em adultos com doenças cardiovasculares (MAHALLE et al., 2013).

Não encontramos associação entre vitamina B6 e CT, LDL, HDL e triglicérides. Até à data, este é o primeiro estudo para testar a associação entre as concentrações de vitamina B6 e esses lipídios. No entanto, dois estudos testaram a associação entre suplementação de B6 ou dieta rica em B6 e variáveis lipídicas no sangue. O primeiro foi realizado em modelo animal e teve como um de seus objetivos investigar os efeitos de uma dieta com excesso de vitamina B6 e parâmetros sanguíneos, dentre eles os lipídeos séricos, em até 20 dias após a administração, eles descobriram que esses animais que receberam dieta rica em vitamina B6 apresentaram menor concentração de CT e maior concentração de HDL (ACAR, 2006). O outro estudo, administrou vitamina B6 em 85 pacientes com hipertrigliceridemia por 12 semanas e encontrou uma redução significativa de CT, TG e HDL (HLAIS et al., 2012).

O presente estudo tem algumas limitações. Perdas de acompanhamento afetaram o tamanho da amostra ao longo do tempo e podem ter reduzido o poder

do estudo para detectar mudanças significativas. No entanto, as perdas são esperadas em estudos longitudinais, e tentativas foram feitas no protocolo do estudo para prevenir essas perdas. Os pontos fortes do estudo incluem o desenho longitudinal com acompanhamento das gestantes em três momentos ao longo da gestação. Este desenho de estudo nos permitiu usar uma abordagem estatística (LME) que avalia indivíduos com informações ausentes.

No presente estudo, o folato apresentou associação longitudinal com CT e LDL após ajuste para fatores de confusão em gestantes não suplementadas. As políticas públicas de fortificação de alimentos estão bem estabelecidas em vários países; altas concentrações de folato estão sendo associadas a resultados negativos para a saúde fetal. Além disso, também está bem estabelecido que altas concentrações de CT e LDL estão associadas a resultados negativos para a saúde materna e fetal. Assim, o achado deste estudo fornece uma nova visão sobre a associação de folato e um aumento na mudança de lipídios no sangue, o que pode representar um risco para o grupo materno-infantil. Mais pesquisas são necessárias para esclarecer o mecanismo biológico por trás desses achados e para investigar possíveis resultados negativo na gravidez.

## Referências

ACAR, G. S., L.; SEVA, Y.; ET AL. Effects of Excess Vitamin B6 Intake on Serum Lipid Profile and Cerebral Cortex in Rats. **Turk J Med Sci**, v. 36, n. 6, p. 327-335, 2006.

ADAIKALAKOTESWARI, A.; FINER, S.; VOYIAS, P. D. et al. Vitamin B12 insufficiency induces cholesterol biosynthesis by limiting s-adenosylmethionine and modulating the methylation of SREBF1 and LDLR genes. **Clin Epigenetics**, v. 7, p. 14, 2015.

ADAIKALAKOTESWARI, A.; JAYASHRI, R.; SUKUMAR, N. et al. Vitamin B12 deficiency is associated with adverse lipid profile in Europeans and Indians with type 2 diabetes. **Cardiovasc Diabetol**, v. 13, p. 129, Sep 26 2014.

ALMEIDA, L. C.; TOMITA, L. Y.; D'ALMEIDA, V. et al. 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. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, p. 587-596, 2008.

ALVAREZ, J. J.; MONTELONGO, A.; IGLESIAS, A. et al. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. **J Lipid Res**, v. 37, n. 2, p. 299-308, Feb 1996.

ANDERSON, C. A.; JEE, S. H.; CHARLESTON, J. et al. Effects of folic acid supplementation on serum folate and plasma homocysteine concentrations in older adults: a dose-response trial. **Am J Epidemiol**, v. 172, n. 8, p. 932-41, Oct 15 2010.

BAILEY, L. B.; STOVER, P. J.; MCNULTY, H. et al. Biomarkers of Nutrition for Development—Folate Review. **The Journal of Nutrition**, v. 145, n. 7, p. 1636S-1680S, 06/03 11/03/received 12/11/revised 04/14/accepted 2015.

BAILEY, R. L.; CARMEL, R.; GREEN, R. et al. Monitoring of vitamin B12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B12. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 2, p. 552-561, 06/15 03/02/received 05/13/accepted 2011.

BALTACI, D.; DELER, M. H.; TURKER, Y. et al. Evaluation of serum Vitamin B12 level and related nutritional status among apparently healthy obese female individuals. **Niger J Clin Pract**, v. 20, n. 1, p. 99-105, Jan 2017.

BATIC-MUJANOVIC, O.; BEGANLIC, A.; SALIHEFENDIC, N. et al. Influence of smoking on serum lipid and lipoprotein levels among family medicine patients. **Med Arh**, v. 62, n. 5-6, p. 264-7, 2008.

BENDER, D. A. **Nutritional Biochemistry of the Vitamins**. 2. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.

BENDER, D. A.; RODWELL, V. W.; WEIL, P. A. et al. **Bioquímica ilustrada de Harper**. AMGH, 2014.

BENOWITZ, N. L. Drug therapy. Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. **N Engl J Med**, v. 319, n. 20, p. 1318-30, Nov 17 1988.

BIRD, J. K.; RONNENBERG, A. G.; CHOI, S. W. et al. Obesity is associated with increased red blood cell folate despite lower dietary intakes and serum concentrations. **J Nutr**, v. 145, n. 1, p. 79-86, Jan 2015.

BJØRKE-MONSEN, A.-L.; ULVIK, A.; NILSEN, R. M. et al. Impact of Pre-Pregnancy BMI on B Vitamin and Inflammatory Status in Early Pregnancy: An Observational Cohort Study. **Nutrients**, v. 8, n. 12, p. 776, 11/30 09/08/received 11/28/accepted 2016.

BRASIL. **RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 344, DE 13 DE DEZEMBRO DE 2002**. MS, M. D. S.-. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA 2002.

\_\_\_\_\_. **Atenção ao pré-natal de baixo risco**. SAÚDE, M. D. Brasília 2012.

\_\_\_\_\_. **RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 150**,. MS, M. D. S.-. agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA 2017.

BRITTO, J. C.; CANCADO, R.; GUERRA-SHINOHARA, E. M. Concentrations of blood folate in Brazilian studies prior to and after fortification of wheat and cornmeal (maize flour) with folic acid: a review. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 36, n. 4, p. 275-86, Jul-Aug 2014.

BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E. The sulfur-containing amino acids: an overview. **J Nutr**, v. 136, n. 6 Suppl, p. 1636S-1640S, Jun 2006.

BUKOWSKI, R.; MALONE, F. D.; PORTER, F. T. et al. Preconceptional folate supplementation and the risk of spontaneous preterm birth: a cohort study. **PLoS Med**, v. 6, n. 5, p. e1000061, May 5 2009.

CARDOSO, L. S. D. M.; MENDES, L. L.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Antenatal Care Differences in Brazilian Urban and Rural Areas: A Cross-Sectional Population-Based Study. **Reme: Revista Mineira de Enfermagem**, v. 17, n. 1, 2013.

CASTILLO-LANCELOTTI, C.; TUR, J. A.; UAUY, R. Impact of folic acid fortification of flour on neural tube defects: a systematic review. **Public Health Nutr**, v. 16, n. 5, p. 901-11, May 2013.

CATALANO, P. M. Obesity, Insulin Resistance and Pregnancy Outcome. **Reproduction (Cambridge, England)**, v. 140, n. 3, p. 365-371, 05/10 2010.

CHAKRABORTY, H.; NYARKO, K. A.; GOCO, N. et al. Folic Acid Fortification and Women's Folate Levels in Selected Communities in Brazil - A First Look. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 84, n. 5-6, p. 286-94, 2014.

CHEN, C. C.; LIN, W. Y.; LI, C. I. et al. The association of alcohol consumption with metabolic syndrome and its individual components: the Taichung community health study. **Nutr Res**, v. 32, n. 1, p. 24-9, Jan 2012.

CHEN, W.; HUANG, Y. C.; SHULTZ, T. D. et al. Urinary, plasma, and erythrocyte carnitine concentrations during transition to a lactoovo vegetarian diet with vitamin B6 depletion and repletion in young adult women. **Am J Clin Nutr**, v. 67, n. 2, p. 221-30, Feb 1998.

CHEW, T. W.; JIANG, X.; YAN, J. et al. Folate intake, MTHFR genotype, and sex modulate choline metabolism in mice. **J Nutr**, v. 141, n. 8, p. 1475-81, Aug 2011.

CHO, Y. O.; LEKLEM, J. E. In vivo evidence for a vitamin B6 requirement in carnitine synthesis. **J Nutr**, v. 120, n. 3, p. 258-65, Mar 1990.

CHOY, P. C.; MYMIN, D.; ZHU, Q. et al. Atherosclerosis risk factors: the possible role of homocysteine. **Mol Cell Biochem**, v. 207, n. 1-2, p. 143-8, Apr 2000.

CHRISTENSEN, J. J.; RETTERSTOL, K.; GODANG, K. et al. LDL cholesterol in early pregnancy and offspring cardiovascular disease risk factors. **J Clin Lipidol**, v. 10, n. 6, p. 1369-1378 e7, Nov - Dec 2016.

CHRISTENSEN, K. E.; MIKAEL, L. G.; LEUNG, K. Y. et al. High folic acid consumption leads to pseudo-MTHFR deficiency, altered lipid metabolism, and liver injury in mice. **Am J Clin Nutr**, v. 101, n. 3, p. 646-58, Mar 2015.

CIKOT, R. J.; STEEGERS-THEUNISSEN, R. P.; THOMAS, C. M. et al. Longitudinal vitamin and homocysteine levels in normal pregnancy. **Br J Nutr**, v. 85, n. 1, p. 49-58, Jan 2001.

COMBS, G. F. **The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health.** Elsevier Academic Press, 2008.

CORTES, T. R.; FAERSTEIN, E.; STRUCHINER, C. J. Utilização de diagramas causais em epidemiologia: um exemplo de aplicação em situação de confusão. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, 2016.

CZEIZEL, A. E.; DUDAS, I.; VERECZKEY, A. et al. Folate deficiency and folic acid supplementation: the prevention of neural-tube defects and congenital heart defects. **Nutrients**, v. 5, n. 11, p. 4760-75, Nov 21 2013.

DA SILVA, R. P.; KELLY, K. B.; AL RAJABI, A. et al. Novel insights on interactions between folate and lipid metabolism. **Biofactors (Oxford, England)**, v. 40, n. 3, p. 277-283, 12/18 09/04/received 11/14/accepted 2014.

DAWBER, T. R.; MEADORS, G. F.; MOORE, F. E. Epidemiological Approaches to Heart Disease: The Framingham Study. **American Journal of Public Health and the Nations Health**, v. 41, n. 3, p. 279-286, 1951.

DE BATLLE, J.; MATEJCIC, M.; CHAJES, V. et al. Determinants of folate and vitamin B12 plasma levels in the French E3N-EPIC cohort. **Eur J Nutr**, v. 57, n. 2, p. 751-760, Mar 2018.

DE BENOIST, B. Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B12 deficiencies. **Food Nutr Bull**, v. 29, n. 2 Suppl, p. S238-44, Jun 2008.

DESOTO, M. C. A. H., R.T. Synthetic folic acid supplementation during pregnancy may increase the risk of developing autism. **Journal of Pediatric Biochemistry**, v. 2 p. 251–261, 2012.

DIOR, U. P.; HOCHNER, H.; FRIEDLANDER, Y. et al. Association between number of children and mortality of mothers: results of a 37-year follow-up study. **Annals of epidemiology**, v. 23, n. 1, p. 13-18, 11/22 2013.

DOS SANTOS-WEISS, I. C.; REA, R. R.; FADEL-PICHETH, C. M. et al. The plasma logarithm of the triglyceride/HDL-cholesterol ratio is a predictor of low risk gestational diabetes in early pregnancy. **Clin Chim Acta**, v. 418, p. 1-4, Mar 15 2013.

EDDY, J. J.; GIDEONSEN, M. D.; SONG, J. Y. et al. Pancreatitis in pregnancy. **Obstet Gynecol**, v. 112, n. 5, p. 1075-81, Nov 2008.

ESHRIQUI, I.; FRANCO-SENA, A. B.; FARIAS, D. R. et al. Prepregnancy Dietary Patterns Are Associated with Blood Lipid Level Changes During Pregnancy: A

Prospective Cohort Study in Rio de Janeiro, Brazil. **J Acad Nutr Diet**, v. 117, n. 7, p. 1066-1079 e1, Jul 2017.

FALUDI, A. A. I., M.C.O.; SARAIVA, J.F.K; BIANCO, H.T.; AFIUNE NETO, A.;; BERTOLAMI, A.; ET AL. **Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose.** 2017.

FARIAS, D. R.; FRANCO-SENA, A. B.; VILELA, A. et al. Lipid changes throughout pregnancy according to pre-pregnancy BMI: results from a prospective cohort. **BJOG**, v. 123, n. 4, p. 570-8, Mar 2016.

FEITOSA, A. C. R.; BARRETO, L. T.; SILVA, I. M. D. et al. Impact of the Use of Different Diagnostic Criteria in the Prevalence of Dyslipidemia in Pregnant Women. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, p. 30-38, 2017.

FINKELSTEIN, J. D. Methionine metabolism in mammals. **J Nutr Biochem**, v. 1, n. 5, p. 228-37, May 1990.

FORRELLAT BARRIOS, M.; GÓMIS HERNÁNDEZ, I.; GAUTIER DU DÉFAIX GÓMEZ, H. Vitamina B12: metabolismo y aspectos clínicos de su deficiencia. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia**, v. 15, p. 159-174, 1999.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, v. 18, n. 6, p. 499-502, Jun 1972.

GASTALDELLI, A.; FOLLI, F.; MAFFEI, S. Impact of tobacco smoking on lipid metabolism, body weight and cardiometabolic risk. **Curr Pharm Des**, v. 16, n. 23, p. 2526-30, 2010.

GERAGHTY, A. A.; ALBERDI, G.; O'SULLIVAN, E. J. et al. Maternal and fetal blood lipid concentrations during pregnancy differ by maternal body mass index: findings from the ROLO study. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 17, p. 360, 10/16 01/27/received 10/08/accepted 2017.

GOMES, C. D. B.; MALTA, M. B.; CORRENTE, J. E. et al. Alta prevalência de inadequação da ingestão dietética de cálcio e vitamina D em duas coortes de gestantes. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, 2016.

GREEN, R.; ALLEN, L. H.; BJORKE-MONSEN, A. L. et al. Vitamin B12 deficiency. **Nat Rev Dis Primers**, v. 3, p. 17040, Jun 29 2017.



HERRERA, E. Lipid Metabolism in Pregnancy and its Consequences in the Fetus and Newborn. **Endocrine**, v. 19, n. 1, p. 43-55, 2002.

HLAIS, S.; RESLAN, D. R.; SARIEDDINE, H. K. et al. Effect of lysine, vitamin B(6), and carnitine supplementation on the lipid profile of male patients with hypertriglyceridemia: a 12-week, open-label, randomized, placebo-controlled trial. **Clin Ther**, v. 34, n. 8, p. 1674-82, Aug 2012.

HOCKEY, K. J.; ANDERSON, R. A.; COOK, V. R. et al. Effect of the apolipoprotein A-IV Q360H polymorphism on postprandial plasma triglyceride clearance. **J Lipid Res**, v. 42, n. 2, p. 211-7, Feb 2001.

HUMPHRIES, K. H.; WESTENDORP, I. C.; BOTS, M. L. et al. Parity and carotid artery atherosclerosis in elderly women: The Rotterdam Study. **Stroke**, v. 32, n. 10, p. 2259-64, Oct 2001.

HURE, A. J.; COLLINS, C. E.; SMITH, R. A longitudinal study of maternal folate and vitamin B12 status in pregnancy and postpartum, with the same infant markers at 6 months of age. **Matern Child Health J**, v. 16, n. 4, p. 792-801, May 2012.

IBORRA, R. T.; RIBEIRO, I. C.; NEVES, M. Q. et al. Aerobic exercise training improves the role of high-density lipoprotein antioxidant and reduces plasma lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. **Scand J Med Sci Sports**, v. 18, n. 6, p. 742-50, Dec 2008.

IGLESIAS, A.; MONTELONGO, A.; HERRERA, E. et al. Changes in cholesteryl ester transfer protein activity during normal gestation and postpartum. **Clin Biochem**, v. 27, n. 1, p. 63-8, Feb 1994.

IOM. **Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline**. Washington (DC): Institute of Medicine (US), 1998.

JAIN, M.; PANDEY, P.; TIWARY, N. K. et al. MTHFR C677T polymorphism is associated with hyperlipidemia in women with polycystic ovary syndrome. **J Hum Reprod Sci**, v. 5, n. 1, p. 52-6, Jan 2012.

JENNIFER J. OTTEN, J. P. H., LINDA D. MEYERS. **Institute of Medicine: Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements**. Washington, DC: The National Academies Press, 2006. 1344

JIANG, S.; JIANG, J.; XU, H. et al. Maternal dyslipidemia during pregnancy may increase the risk of preterm birth: A meta-analysis. **Taiwan J Obstet Gynecol**, v. 56, n. 1, p. 9-15, Feb 2017.

JIANG, S.; ZHAO, R.; PAN, M. et al. Associations of MTHFR and MTRR polymorphisms with serum lipid levels in Chinese hypertensive patients. **Clin Appl Thromb Hemost**, v. 20, n. 4, p. 400-10, May 2014.

JIN, W. Y.; LIN, S. L.; HOU, R. L. et al. Associations between maternal lipid profile and pregnancy complications and perinatal outcomes: a population-based study from China. **BMC Pregnancy Childbirth**, v. 16, p. 60, Mar 21 2016.

KALHAN, S. C. One Carbon Metabolism in Pregnancy: Impact on Maternal, Fetal and Neonatal Health. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 435, p. 48-60, 06/04 2016.

KAYA, C.; CENGIZ, S. D.; SATIROGLU, H. Obesity and insulin resistance associated with lower plasma vitamin B12 in PCOS. **Reprod Biomed Online**, v. 19, n. 5, p. 721-6, Nov 2009.

KELLY, K. B.; KENNELLY, J. P.; ORDONEZ, M. et al. Excess Folic Acid Increases Lipid Storage, Weight Gain, and Adipose Tissue Inflammation in High Fat Diet-Fed Rats. **Nutrients**, v. 8, n. 10, Oct 2016.

KIM, Y. N.; HWANG, J. H.; CHO, Y. O. The effects of exercise training and acute exercise duration on plasma folate and vitamin B12. **Nutr Res Pract**, v. 10, n. 2, p. 161-6, Apr 2016.

KNIGHT, B. A.; SHIELDS, B. M.; BROOK, A. et al. Lower Circulating B12 Is Associated with Higher Obesity and Insulin Resistance during Pregnancy in a Non-Diabetic White British Population. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0135268, 2015.

KOEBNICK, C.; HOFFMANN, I.; DAGNELIE, P. C. et al. Long-term ovo-lacto vegetarian diet impairs vitamin B12 status in pregnant women. **J Nutr**, v. 134, n. 12, p. 3319-26, Dec 2004.

KONDO, A.; ASADA, Y.; SHIBATA, K. et al. Dietary folate intakes and effects of folic acid supplementation on folate concentrations among Japanese pregnant women. **J Obstet Gynaecol Res**, v. 37, n. 4, p. 331-6, Apr 2011.

LAPPAS, M. Effect of pre-existing maternal obesity, gestational diabetes and adipokines on the expression of genes involved in lipid metabolism in adipose tissue. **Metabolism**, v. 63, n. 2, p. 250-62, Feb 2014.

LAWLOR, D. A.; EMBERSON, J. R.; EBRAHIM, S. et al. Is the association between parity and coronary heart disease due to biological effects of pregnancy or adverse lifestyle risk factors associated with child-rearing? Findings from the British Women's Heart and Health Study and the British Regional Heart Study. **Circulation**, v. 107, n. 9, p. 1260-4, Mar 11 2003.

LEIVA, A.; SALSOSO, R.; SAEZ, T. et al. Cross-sectional and longitudinal lipid determination studies in pregnant women reveal an association between increased maternal LDL cholesterol concentrations and reduced human umbilical vein relaxation. **Placenta**, v. 36, n. 8, p. 895-902, Aug 2015.

LI, W.-X.; LV, W.-W.; DAI, S.-X. et al. Joint associations of folate, homocysteine and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms with dyslipidemia in a Chinese hypertensive population: a cross-sectional study. **Lipids in Health and Disease**, v. 14, p. 101, 09/04 06/25/received 08/19/accepted 2015.

LI, W. X.; LV, W. W.; DAI, S. X. et al. Joint associations of folate, homocysteine and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms with dyslipidemia in a Chinese hypertensive population: a cross-sectional study. **Lipids Health Dis**, v. 14, p. 101, Sep 4 2015.

LIAN, H.; MA, D.; ZHOU, S. F. et al. Knowledge and use of folic acid for birth defect prevention among women of childbearing age in Shanghai, China: a prospective cross-sectional study. **Med Sci Monit**, v. 17, n. 12, p. PH87-92, Dec 2011.

LINDGREN, V.; LUSKEY, K. L.; RUSSELL, D. W. et al. Human genes involved in cholesterol metabolism: chromosomal mapping of the loci for the low density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase with cDNA probes. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 82, n. 24, p. 8567-71, Dec 1985.

LINDSAY ALLEN, B. D. B., OMAR DARY AND RICHARD HURRELL. **World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations: Guidelines on food fortification with micronutrients**. Geneva World Health Organization., 2006.

LINHARES, A. O.; CESAR, J. A. Suplementação com ácido fólico entre gestantes no extremo Sul do Brasil: prevalência e fatores associados. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 535-542, 2017.

LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign, IL: Human Kinetics Books, 1988.

LV, H.; WU, H.; YIN, J. et al. Parity and Cardiovascular Disease Mortality: a Dose-Response Meta-Analysis of Cohort Studies. **Sci Rep**, v. 5, p. 13411, Aug 24 2015.

LV, H.; YANG, X.; ZHOU, Y. et al. Parity and serum lipid levels: a cross-sectional study in chinese female adults. **Sci Rep**, v. 6, p. 33831, Sep 20 2016.

MAHALLE, N.; KULKARNI, M. V.; GARG, M. K. et al. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia as correlates of cardiovascular risk factors in Indian subjects with coronary artery disease. **J Cardiol**, v. 61, n. 4, p. 289-94, Apr 2013.

MANORE, M. M. Effect of physical activity on thiamine, riboflavin, and vitamin B6 requirements. **Am J Clin Nutr**, v. 72, n. 2 Suppl, p. 598S-606S, Aug 2000.

MARTIN, C. L.; SIEGA-RIZ, A. M.; SOTRES-ALVAREZ, D. et al. Maternal dietary patterns are associated with lower levels of cardiometabolic markers during pregnancy. **Paediatric and perinatal epidemiology**, v. 30, n. 3, p. 246-255, 02/05 2016.

MAYMUNAH, A. O.; KEHINDE, O.; ABIDOYE, G. et al. Hypercholesterolaemia in pregnancy as a predictor of adverse pregnancy outcome. **Afr Health Sci**, v. 14, n. 4, p. 967-73, Dec 2014.

MCGREGOR, D.; SHAND, B.; LYNN, K. A Controlled Trial of the Effect of Folate Supplements on Homocysteine, Lipids and Hemorheology in End-Stage Renal Disease. **Nephron**, v. 85, n. 3, p. 215-220, 2000.

MEDICI, V.; M. PEERSON, J.; STABLER, S. P. et al. IMPAIRED HOMOCYSTEINE TRANS-SULFURATION IS AN INDICATOR OF ALCOHOLIC LIVER DISEASE. **Journal of hepatology**, v. 53, n. 3, p. 551-557, 05/31 2010.

MEENAKSHISUNDARAM, R.; RAJENDIRAN, C.; THIRUMALAIKOLUNDUSUBRAMANIAN, P. Lipid and lipoprotein profiles among middle aged male smokers: a study from southern India. **Tobacco Induced Diseases**, v. 8, n. 1, p. 11-11, 10/05 06/18/received 10/05/accepted 2010.

MEGAHED, M. A.; TAHER, I. M. Folate and homocysteine levels in pregnancy. **Br J Biomed Sci**, v. 61, n. 2, p. 84-7, 2004.

MIKAEL, L. G.; GENEST, J., JR.; ROZEN, R. Elevated homocysteine reduces apolipoprotein A-I expression in hyperhomocysteinemic mice and in males with coronary artery disease. **Circ Res**, v. 98, n. 4, p. 564-71, Mar 3 2006.

MIKAEL, L. G.; WANG, X. L.; WU, Q. et al. Hyperhomocysteinemia is associated with hypertriglyceridemia in mice with methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. **Mol Genet Metab**, v. 98, n. 1-2, p. 187-94, Sep-Oct 2009.

MILMAN, E. A. Cobalamin status during normal pregnancy and postpartum: a longitudinal study comprising 406 Danish women. **Eur J Haematol**, v. 76, n. 6, p. 521-5, Jun 2006.

MILMAN, N.; AL., E. Erythrocyte folate, plasma folate and plasma homocysteine during normal pregnancy and postpartum: a longitudinal study comprising 404 Danish women. **Eur J Haematol**, v. 76, n. 3, p. 200-5, Mar 2006.

MORRIS, M. S.; PICCIANO, M. F.; JACQUES, P. F. et al. Plasma pyridoxal 5'-phosphate in the US population: the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2004. **Am J Clin Nutr**, v. 87, n. 5, p. 1446-54, May 2008.

MUJICA-COOPMAN, M. F.; FRANCO-SENA, A. B.; FARIAS, D. R. et al. Vitamin B6 Status in Unsupplemented Pregnant Women Is Associated Positively with Serum Docosahexaenoic Acid and Inversely with the n-6-to-n-3 Fatty Acid Ratio. **J Nutr**, v. 147, n. 2, p. 170-178, Feb 2017.

MUNOZ, C.; LOPEZ-LUNA, P.; HERRERA, E. Glucose and insulin tolerance tests in the rat on different days of gestation. **Biol Neonate**, v. 68, n. 4, p. 282-91, 1995.

MURPHY, M. M.; MOLLOY, A. M.; UELAND, P. M. et al. Longitudinal study of the effect of pregnancy on maternal and fetal cobalamin status in healthy women and their offspring. **J Nutr**, v. 137, n. 8, p. 1863-7, Aug 2007.

MUSCAT, J. E.; HARRIS, R. E.; HALEY, N. J. et al. Cigarette smoking and plasma cholesterol. **Am Heart J**, v. 121, n. 1 Pt 1, p. 141-7, Jan 1991.

NASCIMENTO, I. B. D.; SALES, W. B.; FLEIG, R. et al. Excess weight and dyslipidemia and their complications during pregnancy: a systematic review. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 16, n. 2, p. 93-101, 2016.

NIROMANESH, S.; SHIRAZI, M.; DASTGERDY, E. et al. Association of hypertriglyceridaemia with pre-eclampsia, preterm birth, gestational diabetes and uterine artery pulsatility index. **Natl Med J India**, v. 25, n. 5, p. 265-7, Sep-Oct 2012.

NOGA, A. A.; VANCE, D. E. A gender-specific role for phosphatidylethanolamine N-methyltransferase-derived phosphatidylcholine in the regulation of plasma high density and very low density lipoproteins in mice. **J Biol Chem**, v. 278, n. 24, p. 21851-9, Jun 13 2003.

OBEID, R.; HERRMANN, W. Homocysteine and lipids: S-adenosyl methionine as a key intermediate. **FEBS Lett**, v. 583, n. 8, p. 1215-25, Apr 17 2009.

ORTEGA, R. M.; REQUEJO, A. M.; LOPEZ-SOBALER, A. M. et al. Smoking and passive smoking as conditioners of folate status in young women. **J Am Coll Nutr**, v. 23, n. 4, p. 365-71, Aug 2004.

PAPADAKIS, E. P.; SARIGIANNI, M.; MIKHAILIDIS, D. P. et al. Acute pancreatitis in pregnancy: an overview. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 159, n. 2, p. 261-6, Dec 2011.

PINHEIRO ABV, L. E., BENZECRY EH, GOMES MCS, COSTA VM. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. ATHENEU, R. D. J.-N. 2005.

PIYATHILAKE, C. J.; MACALUSO, M.; HINE, R. J. et al. Local and systemic effects of cigarette smoking on folate and vitamin B12. **Am J Clin Nutr**, v. 60, n. 4, p. 559-66, Oct 1994.

PREISS-LANDL, K.; ZIMMERMANN, R.; HAMMERLE, G. et al. Lipoprotein lipase: the regulation of tissue specific expression and its role in lipid and energy metabolism. **Curr Opin Lipidol**, v. 13, n. 5, p. 471-81, Oct 2002.

Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group. **Lancet**, v. 338, n. 8760, p. 131-7, Jul 20 1991.

QUADROS, E. V.; SEQUEIRA, J. M. Cellular uptake of cobalamin: transcobalamin and the TCbIR/CD320 receptor. **Biochimie**, v. 95, n. 5, p. 1008-18, May 2013.

RAGHAVAN, R.; RILEY, A. W.; VOLK, H. et al. Maternal Multivitamin Intake, Plasma Folate and Vitamin B12 Levels and Autism Spectrum Disorder Risk in Offspring. **Paediatr Perinat Epidemiol**, v. 32, n. 1, p. 100-111, Jan 2018.

RAMÍREZ-VÉLEZ, R.; LOBELO, F.; AGUILAR-DE PLATA, A. C. et al. Exercise during pregnancy on maternal lipids: a secondary analysis of randomized controlled trial. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 17, p. 396, 11/28 12/02/received 11/06/accepted 2017.

RAMOS, M. P.; CRESPO-SOLANS, M. D.; DEL CAMPO, S. et al. Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 285, n. 2, p. E318-28, Aug 2003.

RAO CH, S.; SUBASH, Y. E. The effect of chronic tobacco smoking and chewing on the lipid profile. **J Clin Diagn Res**, v. 7, n. 1, p. 31-4, Jan 2013.

RASMUSSEN, K. M.; YAKTINE, A. L. **Institute of Medicine (US) and National Research Council (US) Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines: Weight Gain During Pregnancy - Reexamining the Guidelines**. Washington DC: National Academy of Sciences., 2009. 868

- ROSENBERG, I. H. Metabolic programming of offspring by vitamin B12/folate imbalance during pregnancy. **Diabetologia**, v. 51, n. 1, p. 6-7, Jan 2008.
- RUSSELL, D. W. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. **Annu Rev Biochem**, v. 72, p. 137-74, 2003.
- RUSSI, G. Severe dyslipidemia in pregnancy: The role of therapeutic apheresis. **Transfus Apher Sci**, v. 53, n. 3, p. 283-7, Dec 2015.
- RYCKMAN, K. K.; SPRACKLEN, C. N.; SMITH, C. J. et al. Maternal lipid levels during pregnancy and gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. **BJOG**, v. 122, n. 5, p. 643-51, Apr 2015.
- SARASWATHY, K. N.; JOSHI, S.; YADAV, S. et al. Metabolic distress in lipid & one carbon metabolic pathway through low vitamin B12: a population based study from North India. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 96, 2018/04/25 2018.
- SARASWATHY, K. N.; JOSHI, S.; YADAV, S. et al. Metabolic distress in lipid & one carbon metabolic pathway through low vitamin B12: a population based study from North India. **Lipids Health Dis**, v. 17, n. 1, p. 96, Apr 25 2018.
- SCIFRES, C. M.; CATOV, J. M.; SIMHAN, H. N. The impact of maternal obesity and gestational weight gain on early and mid-pregnancy lipid profiles. **Obesity (Silver Spring)**, v. 22, n. 3, p. 932-8, Mar 2014.
- SELHUB, J. Homocysteine metabolism. **Annu Rev Nutr**, v. 19, p. 217-46, 1999.
- \_\_\_\_\_. Folate, vitamin B12 and vitamin B6 and one carbon metabolism. **J Nutr Health Aging**, v. 6, n. 1, p. 39-42, 2002.
- \_\_\_\_\_. Public health significance of elevated homocysteine. **Food Nutr Bull**, v. 29, n. 2 Suppl, p. S116-25, Jun 2008.
- SELHUB, J.; JACQUES, P. F.; DALLAL, G. et al. The use of blood concentrations of vitamins and their respective functional indicators to define folate and vitamin B12 status. **Food Nutr Bull**, v. 29, n. 2 Suppl, p. S67-73, Jun 2008.
- SEMENKOVICH, C. F. Insulin resistance and atherosclerosis. **J Clin Invest**, v. 116, n. 7, p. 1813-22, Jul 2006.
- SEMMLER, A.; MOSKAU, S.; GRIGULL, A. et al. Plasma folate levels are associated with the lipoprotein profile: a retrospective database analysis. **Nutr J**, v. 9, p. 31, Jul 28 2010.

SHI, Y.; DE GROH, M.; MACFARLANE, A. J. Socio-demographic and lifestyle factors associated with folate status among non-supplement-consuming Canadian women of childbearing age. **Can J Public Health**, v. 105, n. 3, p. e166-71, May 9 2014.

SHIBATA, K.; TACHIKI, A.; MUKAEDA, K. et al. Changes in plasma pyridoxal 5'-phosphate concentration during pregnancy stages in Japanese women. **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)**, v. 59, n. 4, p. 343-6, 2013.

SHRIER, I.; PLATT, R. W. Reducing bias through directed acyclic graphs. **BMC Med Res Methodol**, v. 8, p. 70, Oct 30 2008.

SICHIERI, R.; EVERHART, J. E. Validity of a Brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. **Nutrition Research**, v. 18, n. 10, p. 1649-1659, 1998/10/01/ 1998.

SIMPSON, J. L.; BAILEY, L. B.; PIETRZIK, K. et al. Micronutrients and women of reproductive potential: required dietary intake and consequences of dietary deficiency or excess. Part I--Folate, Vitamin B12, Vitamin B6. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 23, n. 12, p. 1323-43, Dec 2010.

SPRACKLEN, C. N.; SMITH, C. J.; SAFTLAS, A. F. et al. Maternal hyperlipidemia and the risk of preeclampsia: a meta-analysis. **Am J Epidemiol**, v. 180, n. 4, p. 346-58, Aug 15 2014.

STEAD, L. M.; BROSANAN, J. T.; BROSANAN, M. E. et al. Is it time to reevaluate methyl balance in humans? **Am J Clin Nutr**, v. 83, n. 1, p. 5-10, Jan 2006.

STRAIN, J. J.; DOWEY, L.; WARD, M. et al. B-vitamins, homocysteine metabolism and CVD. **Proc Nutr Soc**, v. 63, n. 4, p. 597-603, Nov 2004.

SUTTROP, M. M.; SIEGERINK, B.; JAGER, K. J. et al. Graphical presentation of confounding in directed acyclic graphs. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 30, n. 9, p. 1418-1423, 2015.

SZTALRYD, C.; HAMILTON, J.; HORWITZ, B. A. et al. Alterations of lipolysis and lipoprotein lipase in chronically nicotine-treated rats. **Am J Physiol**, v. 270, n. 2 Pt 1, p. E215-23, Feb 1996.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO – Brazilian food composition table)**: Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2011.

TAKIMOTO, H.; MITO, N.; UMEGAKI, K. et al. Relationship between dietary folate intakes, maternal plasma total homocysteine and B-vitamins during pregnancy and fetal growth in Japan. **Eur J Nutr**, v. 46, n. 5, p. 300-6, Aug 2007.



TAMURA, T.; PICCIANO, M. F. Folate and human reproduction. **Am J Clin Nutr**, v. 83, n. 5, p. 993-1016, May 2006.

TROMBETTA, I. C.; BATALHA, L. T.; RONDON, M. U. et al. Weight loss improves neurovascular and muscle metaboreflex control in obesity. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 285, n. 3, p. H974-82, Sep 2003.

UBBINK, J. B.; SERFONTEIN, W. J.; DE VILLIERS, L. S. Stability of pyridoxal-5-phosphate semicarbazone: applications in plasma vitamin B6 analysis and population surveys of vitamin B6 nutritional status. **J Chromatogr**, v. 342, n. 2, p. 277-84, Aug 9 1985.

UBEDA, N.; REYES, L.; GONZALEZ-MEDINA, A. et al. Physiologic changes in homocysteine metabolism in pregnancy: a longitudinal study in Spain. **Nutrition**, v. 27, n. 9, p. 925-30, Sep 2011.

ULVIK, A.; MIDTTUN, O.; PEDERSEN, E. R. et al. Evidence for increased catabolism of vitamin B6 during systemic inflammation. **Am J Clin Nutr**, v. 100, n. 1, p. 250-5, Jul 2014.

VAN DER GAAG, M. S.; VAN TOL, A.; VERMUNT, S. H. et al. Alcohol consumption stimulates early steps in reverse cholesterol transport. **J Lipid Res**, v. 42, n. 12, p. 2077-83, Dec 2001.

VAZ, F. M.; WANDERS, R. J. Carnitine biosynthesis in mammals. **Biochem J**, v. 361, n. Pt 3, p. 417-29, Feb 1 2002.

VIJAYAKUMAR, A.; KIM, E.-K.; KIM, H. et al. Effects of folic acid supplementation on serum homocysteine levels, lipid profiles, and vascular parameters in post-menopausal Korean women with type 2 diabetes mellitus. **Nutrition Research and Practice**, v. 11, n. 4, p. 327-333, 07/18

03/10/received

05/12/revised

05/30/accepted 2017.

VILLAR, J.; COGSWELL, M.; KESTLER, E. et al. Effect of fat and fat-free mass deposition during pregnancy on birth weight. **Am J Obstet Gynecol**, v. 167, n. 5, p. 1344-52, Nov 1992.

VINAGRE, C. G.; FICKER, E. S.; FINAZZO, C. et al. Enhanced removal from the plasma of LDL-like nanoemulsion cholesteryl ester in trained men compared with sedentary healthy men. **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 4, p. 1166-71, Oct 2007.

VRIJKOTTE, T. G.; KRUKZIENER, N.; HUTTEN, B. A. et al. Maternal lipid profile during early pregnancy and pregnancy complications and outcomes: the ABCD study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, n. 11, p. 3917-25, Nov 2012.

WIENS, D.; DESOTO, M. C. Is High Folic Acid Intake a Risk Factor for Autism?-A Review. **Brain Sci**, v. 7, n. 11, Nov 10 2017.

WOO, C. W.; SIOW, Y. L.; PIERCE, G. N. et al. Hyperhomocysteinemia induces hepatic cholesterol biosynthesis and lipid accumulation via activation of transcription factors. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 288, n. 5, p. E1002-10, May 2005.

WOOLF, K.; MANORE, M. M. B-vitamins and exercise: does exercise alter requirements? **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 16, n. 5, p. 453-84, Oct 2006.

YANG, Q.; COGSWELL, M. E.; HAMNER, H. C. et al. Folic acid source, usual intake, and folate and vitamin B12 status in US adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2006. **Am J Clin Nutr**, v. 91, n. 1, p. 64-72, Jan 2010.

YEUNG, L.; YANG, Q.; BERRY, R. J. Contributions of total daily intake of folic acid to serum folate concentrations. **JAMA**, v. 300, n. 21, p. 2486-7, Dec 3 2008.

YILMAZ, H.; AGACHAN, B.; ISBIR, T. et al. Is there additional effect of MTHFR C677T mutation on lipid abnormalities in renal allograft recipients? **Transplantation Proceedings**, v. 35, n. 4, p. 1390-1392, 2003.

ZENG, Z.; LIU, F.; LI, S. Metabolic Adaptations in Pregnancy: A Review. **Ann Nutr Metab**, v. 70, n. 1, p. 59-65, 2017.

ZHANG, L.; YIN, R. X.; LIU, W. Y. et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and serum lipid levels in the Guangxi Bai Ku Yao and Han populations. **Lipids Health Dis**, v. 9, p. 123, Oct 27 2010.

ZHAO, M.; LAMERS, Y.; RALAT, M. A. et al. Marginal vitamin B6 deficiency decreases plasma (n-3) and (n-6) PUFA concentrations in healthy men and women. **J Nutr**, v. 142, n. 10, p. 1791-7, Oct 2012.

ZHAO, R.; MATHERLY, L. H.; GOLDMAN, I. D. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues. **Expert Rev Mol Med**, v. 11, p. e4, Jan 28 2009.

ZHOU, J.; ZHAO, X.; WANG, Z. et al. Combination of lipids and uric acid in mid-second trimester can be used to predict adverse pregnancy outcomes. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 25, n. 12, p. 2633-8, Dec 2012.

ZIAKKA, S.; RAMMOS, G.; KOUNTOURIS, S. et al. The effect of vitamin B6 and folate supplements on plasma homocysteine and serum lipids levels in patients on regular hemodialysis. **Int Urol Nephrol**, v. 33, n. 3, p. 559-62, 2001.

ZORZANO, A.; LASUNCION, M. A.; HERRERA, E. Role of the availability of substrates on hepatic and renal gluconeogenesis in the fasted late pregnant rat. **Metabolism**, v. 35, n. 4, p. 297-303, Apr 1986.