

Biomarcadores para a avaliação do estado nutricional



Biomarkers for assessment of nutritional status

Resumo

Marcadores nutricionais são índices que contribuem para a avaliação do estado nutricional, proposição de terapêuticas e políticas públicas relacionadas à prevenção e ao tratamento de condições de saúde. Tais marcadores revelam, ainda, novas associações entre o comportamento alimentar, respostas biológicas e fisiológicas e processos patológicos, podendo ser utilizados no monitoramento de intervenções terapêuticas e dietéticas a níveis individual e coletivo. Este trabalho descreve as atuais evidências científicas relacionadas ao tema e aponta as lacunas na área.

Palavras-chave: marcadores nutricionais, avaliação nutricional, estado nutricional, inflamação, estresse oxidativo.

Abstract

Nutritional markers are indices that contribute to the assessment of nutritional status, the proposition of therapeutic interventions and public policies related to the prevention and treatment of health conditions. Such markers also reveal new associations between eating behaviors, biological and physiological responses and pathological processes and can be used to monitor therapeutic and dietary interventions on the individual and collective levels. This paper describes current scientific evidence related to the theme and points out gaps in the area.

Keywords: nutritional markers, nutritional assessment, nutritional status, inflammation, oxidative stress.

Introdução

A alimentação adequada desempenha um papel chave na manutenção da saúde, na prevenção e no tratamento de doenças. Porém, a avaliação do consumo alimentar pode ser imprecisa em decorrência da complexidade dos métodos, dos vieses no momento dos relatos ou da imprecisão das bases de dados disponíveis, principalmente no que diz respeito aos polifenóis¹.

Estima-se a existência de mais de 25.000 compostos diferentes nos alimentos, o que torna a avaliação do consumo e associação de cada composto com doenças específicas extremamente complexa². Por isso, biomarcadores do estado nutricional vêm sendo pesquisados. Um biomarcador pode ser definido como um indicador biológico ou um de seus metabólitos quantificáveis e que revelam a exposição de um indivíduo a determinado nutriente ou substância, seu estado, função ou efeito no organismo. Podem ser índices bioquímicos, funcionais ou clínicos capazes de apoiar e guiar a clínica e/ou programas de saúde relacionados à nutrição, melhorar a avaliação do comportamento alimentar ou de processos patológicos, ou monitorar intervenções terapêuticas e dietéticas individualmente ou coletivamente³.

Pesquisas na área de nutrição são oportunas e necessárias, já que os biomarcadores contribuirão futuramente para elucidar: (1) o metabolismo de nutrientes específicos, seus requerimentos dietéticos e fatores que os afetam; (2) a eficácia de determinadas intervenções ou programas; e (3) as respostas fisiológicas e metabólicas dessas intervenções ao longo da vida. Tais pesquisas auxiliarão, ainda, na definição dos critérios e padrões a serem utilizados na avaliação desses biomarcadores em diferentes situações⁴.

O conhecimento de tais biomarcadores permitirá melhorias no diagnóstico e nas intervenções nutricionais, que tenderão a ser cada vez mais individualizadas. Espera-se, também, que tal conhecimento contribua para maior efetividade de políticas de fortificação e suplementação em todo o mundo.

A presente revisão tem por objetivo descrever os biomarcadores nutricionais discutidos para

uso na prática clínica e em pesquisas. O trabalho aponta, ainda, as lacunas identificadas na área.

Metodologia

Foi realizada revisão de literatura, na língua inglesa, utilizando os bancos de dados Medline e Cochrane. Foram selecionados artigos publicados entre janeiro de 2011 e janeiro de 2015. As palavras-chave utilizadas foram: “nutritional biomarkers” associada a (1) “food intake”; (2) “oxidative stress;” e (3) “nutrient deficiencies”. Para cada uma das buscas foram selecionados cinco artigos para leitura, por ordem de relevância, como descrito no método utilizado por Torres, Santos e Abbad⁵.

Biomarcadores para investigação do consumo alimentar

Inquéritos de investigação alimentar, como o recordatório 24 horas e o questionário de frequência, são métodos de avaliação subjetivos muito úteis, porém imprecisos para a análise e avaliação do real estado nutricional dos indivíduos e da população⁶. Por isto, métodos mais sensíveis vêm sendo sugeridos com o propósito de detectar e quantificar marcadores de exposição a determinados nutrientes. Estes marcadores podem ser quantificados com base no equilíbrio entre consumo e excreção de nutrientes. Um exemplo é a excreção urinária de nitrogênio em 24 horas para o consumo de proteína. Outra possibilidade é a quantificação da concentração de compostos específicos em materiais biológicos como plasma, urina, sangue, eritrócitos e plaquetas. Dependendo do uso, o marcador pode refletir o consumo recente ou progresso de determinado nutriente⁷.

O *Food and Drug Administration* (FDA), órgão americano equivalente à Agência Nacional de Vigilância Sanitária no Brasil, utiliza-se de pesquisas com marcadores nutricionais para avaliar a medida dos efeitos de determinados alimentos ou suplementos. O Instituto de Medicina (IOM) tem como um de seus objetivos pesquisar e estabelecer pontos de corte para o uso de biomarcadores nutricionais e de saúde⁸.

Flavonoides dietéticos possuem um efeito

positivo na saúde⁹, porém sua quantificação no organismo é difícil devido à grande diversidade de compostos fenólicos nos alimentos, aos dados escassos sobre a quantidade dos mesmos em cada produto e à dificuldade em se medir o grau de absorção intestinal destes². A compreensão sobre os tipos de compostos fenólicos dos alimentos permite a inferência acerca do efeito dos mesmos na composição de biofluidos¹⁰. A quercetina, por exemplo, pode ser encontrada em cebolas, maçãs, vinho tinto, brócolis, chás; as catequinas, em feijões, uvas pretas e morangos; já galatos e galocatequinas estão presentes quase exclusivamente nos chás¹¹.

Conhecer quais compostos são mais prevalentes em cada alimento é importante para a solicitação de exames. Por exemplo, concentrações elevadas de flavononas podem ser identificadas na urina após o consumo de frutas cítricas. Altas concentrações plasmáticas de fenóis conjugados derivados da fase II do metabolismo dos flavanóis e hidroxifenilvalerolactonas também são observadas na urina após o consumo de amêndoas. Tais dados indicam que flavonóis e flavanonas podem agir como biomarcadores nutricionais potenciais do consumo desses alimentos⁷.

O quadro 1 mostra os biomarcadores sugeridos para a avaliação do consumo de alimentos ou compostos bioativos.

Quadro 1. Biomarcadores sugeridos para avaliação do consumo alimentar

Alimento/Composto bioativo	Biofluido	Biomarcador sugerido
Frutas e verduras	Urina	Naringenina, hesperidina, conteúdo total de flavonoides, prolina e betaína e seus metabólitos
	Plasma	Carotenoides
Bebida à base de cacau	Plasma	Epicatequina-O-Sulfato, O-metil-(epi)-catequina-O-sulfato, Epicatequina-O-glucoronida, Epicatequina-O-sulfato (soma) Alfa-caroteno, licopeno e criptoxantina
Suco de romã	Plasma	Ácido elágico
	Urina	Ácido dimetil elágico glucoronida
Óleo essencial de alcaçuz	Plasma	Glabridina
Grãos integrais	Plasma	Concentração total de alquilresorcinol
Óleo de gergelim	Urina	(1R,2S,5R,6S)-6-(3,4-dihidroxifenil)-2-(3,4-metilenodioxifenil)-3,7-dioxabicyclo-(3,3,0)octano
Chá preto	Urina	Ácido hipúrico, ácidos gálico e 4-O-metilgálico
Café	Plasma	Ácido 3,4-dimetoxi dihidrocafeico
Suco de laranja e toranja	Plasma e urina	Naringenina
Vinho tinto	Plasma e urina	Ácido cafeico
Bebida à base de soja	Plasma	Genisteína e daidzeína
Tabletes de isoflavonas	Plasma	Genisteína
Soja fermentada	Urina	Genisteína, beta-glicosídeos
Equol	Plasma	S-(2)[2- ¹³ C]equol (±)[2- ¹³ C]equol
EPA e DHA	Eritrócitos e plasma	EPA e DHA

Fonte: Adaptado de: Puiggròs et al.⁷; Carlsen et al.¹²; Lloyd et al.¹³

Tais marcadores podem auxiliar o profissional de saúde, principalmente o nutricionista, na compreensão dos padrões alimentares de sua clientela, na análise da adesão de planos dietéticos, na pesquisa da biodisponibilidade de nutrientes e

compostos bioativos no organismo, assim como sua ação e relação com a saúde e a doença.

É importante destacar que determinados marcadores não são sensíveis ao consumo de curto prazo de alimentos ou nutrientes. É o caso

da avaliação do retinol sérico, o qual reflete a ingestão crônica (de longo prazo), e não aguda (de curto prazo), de vitamina A. É importante destacar, ainda, que a determinação do retinol sérico nem sempre confere dados precisos acerca do consumo alimentar, uma vez que a presença de fatores como inflamação, infecção, deficiência proteica e deficiências de ferro ou zinco podem alterar os valores plasmáticos desta vitamina⁴.

Novos indicadores vêm sendo investigados, uma vez que a deficiência de vitamina A é bastante prevalente no mundo, estando correlacionada com queda da imunidade, dificuldades reprodutivas e problemas visuais graves como a xerofthalmia e a cegueira. Assim, novos testes como a hidrólise do retinol beta-glucoronida e a relação proteína ligadora de retinol:pré-albumina vêm sendo estudados para a avaliação do consumo agudo e crônico de vitamina A em indivíduos saudáveis ou com alto grau de infecção ou inflamação¹⁴.

Situação semelhante ocorre com a determinação de folato. A determinação das concentrações eritrocitárias refletem apenas o consumo de longo prazo desta vitamina. Contudo, outros biomarcadores podem ser utilizados para avaliar a efetividade da suplementação de folato. No estudo de Bahmani e colaboradores¹⁵, foi utilizada suplementação de 5mg de folato por dia em mulheres diagnosticadas com síndrome do ovário policístico, com idades entre 18 e 40 anos. Observou-se, após 8 semanas, redução de marcadores inflamatórios como homocisteína, HOMA-B (Modelo de Avaliação da Homeostase), proteína-C-reativa (PCR) e malondialdeído. Além disso, a capacidade antioxidante foi potencializada, o que foi evidenciado pelo aumento dos níveis de glutathiona.

Biomarcadores de inflamação e estresse oxidativo

O estresse oxidativo refere-se ao desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a habilidade do organismo em detoxificar tais substâncias e reparar danos¹⁶. O excesso de radicais livres vem sendo associado a doenças envolvendo o processo inflamatório¹⁷.

A obesidade, por exemplo, especialmente

a visceral, está associada ao maior risco de doenças cardiovasculares, disfunção endotelial, aterosclerose, hipertensão e resistência à insulina. Nos estágios iniciais da aterosclerose, a angiotensina II estimula a expressão de citocinas pró-inflamatórias e a adesão de moléculas à superfície das células do endotélio, assim como o aumento do estresse oxidativo nas plaquetas. Biomarcadores como PCR, E-selectina solúvel, molécula solúvel de adesão intercelular 1 (sICAM-1) e angiotensina II se elevam em adultos na medida em que o índice de massa corporal (IMC) e a circunferência da cintura (CC) aumentam¹⁸.

O mesmo foi observado em crianças e adolescentes obesos. Estudo de Siervo e colaboradores¹⁹ investigou a associação entre o IMC de indivíduos com idade entre 5 e 17 anos e biomarcadores de risco cardiovascular. Observou-se que, quanto maior foi a relação peso/altura, maiores os valores de triglicerídeos, PCR e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), os quais estão envolvidos na iniciação e progressão da aterosclerose.

Em diabéticos, baixos níveis de biomarcadores de estresse oxidativo (como PCR) estão associados ao melhor controle glicêmico. Biomarcadores podem ser utilizados para avaliar a efetividade do uso de alimentos e suplementos na melhora das anormalidades metabólicas desses indivíduos. Estudo iraniano recente mostrou, por exemplo, que a suplementação de alimento simbiótico (contendo *Lactobacillus sporogenes* + inulina) por 6 semanas contribuiu para a diminuição da PCR e da insulinemia, assim como aumento da glutathiona (GSH). Dependendo do tipo de simbiótico utilizado, outros biomarcadores seriam necessários para análise, como carbonilas proteicas, marcadores de peroxidação lipídica ou da oxidação de carboidratos e ácidos nucleicos²⁰.

Doenças como alguns tipos de câncer estão também associadas a um baixo consumo de frutas e verduras, que possuem diversos compostos (vitaminas, fibras, minerais e fitoquímicos) capazes de modular as respostas inflamatória e imune e o estresse oxidativo. Desta forma, como já visto, os biomarcadores de inflamação e também os de estresse oxidativo vêm sendo utilizados

para avaliar não só o consumo desses alimentos, mas também o risco de doenças crônicas não transmissíveis¹⁶.

Biomarcadores inflamatórios também podem ser avaliados para a identificação do risco de morbidade e mortalidade em portadores de doenças infecto-contagiosas. Por exemplo, Koethe e colaboradores²¹ mostraram que altos níveis de PCR estão associados a maior mortalidade em indivíduos HIV positivos desnutridos em início de terapia antirretroviral. Espera-se que a identificação das causas da inflamação sistêmica e o uso de estratégias corretivas, medicamentosas ou nutricionais possam melhorar os resultados da terapia antirretroviral nesta população vulnerável.

O sedentarismo também está associado a maiores níveis de PCR e circunferência da cintura aumentada^{22,23}. Desta forma, compreende-se que estes dados não são apenas indicadores nutricionais, mas também de todo um estilo de vida que precisa ser alterado em benefício da saúde.

Biomarcadores para a investigação da deficiência de micronutrientes

A desnutrição oculta afeta milhões de pessoas em todo o mundo, tanto indivíduos com baixo peso, eutróficos e aqueles com excesso de peso²³. Por isso, biomarcadores vêm sendo utilizados para facilitar o diagnóstico nutricional, por favorecerem a avaliação da ingestão, do estado nutricional e dos efeitos de determinados nutrientes no organismo.

Vitamina D – A deficiência de vitamina D está associada a um grande número de desordens ósseas, inflamatórias, cardiovasculares e metabólicas. Estudo de Codoñer-Franch e colaboradores evidenciou que crianças obesas com deficiência de 25-hidroxi-colecalciferol [25(OH)D] possuíam também altas concentrações de biomarcadores de estresse oxidativo como malondialdeído, mieloperoxidase, 3-nitrotirosina, interleucina-6 e sVCAM-1. A deficiência de vitamina D em crianças obesas pode ser decorrente do sequestro desta vitamina lipossolúvel pelo tecido adiposo. Essa deficiência está relacionada ao aumento do tecido adiposo visceral, à diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL) e dos níveis de substâncias marcadoras de estresse oxidativo/

nitrosativo²⁵. Considera-se, então, a análise de 25(OH)D plasmática um marcador de valor terapêutico que deve ser solicitado na avaliação da obesidade, já que a suplementação pode melhorar a saúde vascular e reduzir a progressão de lesões ateroscleróticas e outras comorbidades associadas à deficiência de vitamina D²⁶.

A deficiência de vitamina D também relaciona-se à redução do tamanho dos telômeros, acelerando o envelhecimento. Telômeros são sequências repetidas de DNA que ajudam a proteger os cromossomos. Como esta vitamina está presente em poucos alimentos (principalmente peixes gordos ou óleos de peixe), e devido à redução no tempo de exposição solar, a incidência de hipovitaminose D vem aumentando, assim como o risco de uma série de doenças associadas ao envelhecimento²⁷⁻²⁹. Estudo de Liu e colaboradores³⁰ mostrou associação entre redução de 25(OH)D plasmática e menores comprimentos de telômero.

Selênio – Os biomarcadores podem descrever a ingestão/exposição, o risco de deficiência, os benefícios à saúde (como diminuição no risco de câncer) e o risco de toxicidade de selênio. A glutatona peroxidase eritrocitária (uma das 30 selenoproteínas do organismo) é o marcador nutricional mais importante do consumo alimentar do mineral. Contudo, o selênio também pode ser avaliado no plasma, na urina, nos cabelos, nas unhas e em células de mucosas, principalmente na forma orgânica (conjugada a aminoácidos). Enquanto concentrações diminuídas de selênio são prejudiciais à saúde, estudos vêm demonstrando que quantidades excessivas podem aumentar o risco de câncer e diabetes. Por isso, as pesquisas precisam avançar no sentido de estabelecer um consenso acerca do melhor marcador para riscos de doenças, os biofluidos passíveis de serem avaliados, assim como os pontos de corte para cada um deles¹⁷.

Vitamina B12 – A determinação do ácido metilmalônico é um método validado, útil e sensível para a avaliação do status de vitamina B12 no organismo. Porém, o alto custo da avaliação deve ser considerado. Além disso, a disbiose intestinal e doenças como a insuficiência renal são fatores intervenientes nos resultados²⁰.

Biomarcadores da exposição a ftalatos

Ftalatos são um conjunto de substâncias capazes de tornar os plásticos mais maleáveis e duráveis. Estão presentes em embalagens para alimentos ou produtos de beleza e limpeza, sabonetes, esmaltes, condicionadores, brinquedos, medicamentos, dentre outros produtos. Essas substâncias podem entrar em nosso corpo por ingestão oral, inalação ou contato dérmico. Após a exposição, os ftalatos são rapidamente metabolizados em compostos oxidativos e parcialmente eliminados pela urina³¹.

A avaliação da exposição a essas substâncias é de interesse em decorrência dos potenciais efeitos adversos associados ao ftalato, como problemas reprodutivos, redução da fertilidade, defeitos congênitos e certos tipos de câncer. Pesquisadores vêm buscando avaliar a exposição a ftalatos pela adequada escolha de biomarcadores³².

Estudos que utilizam o marcador monoisonil ftalato podem subestimar a magnitude do problema, já que este é um metabólito produzido em menor quantidade no organismo. Desta forma, preconiza-se a determinação de marcadores como *mono(carboxy-isooctyl)* e *mono(carboxy-isononyl)*, metabólitos de ftalato encontrados em maiores quantidades no organismo³³. Estas avaliações podem ajudar os pesquisadores da área a compreender a origem de determinadas doenças, assim como identificar melhores formas

de prevenção e tratamento das mesmas.

Considerações finais

O uso de biomarcadores vem se tornando mais comum na prática clínica em virtude da redução dos custos das análises e do aumento da sensibilidade dos mesmos para a avaliação do estado nutricional de indivíduos. Contudo, estudos de larga escala ainda são necessários para a calibração dos métodos de análise.

Além disso, em decorrência da complexidade da dieta humana e de sua interação com o genoma, espera-se que uma variedade de novos biomarcadores, cada vez mais específicos, sejam sugeridos nas próximas décadas. Destaca-se que cada método de avaliação do estado nutricional possui um conjunto de vantagens e desvantagens. Biomarcadores, por exemplo, podem não ser específicos. Como ilustração citam-se os marcadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas, proteínas de fase aguda e moléculas de adesão, os quais estão envolvidos em uma grande quantidade de processos agudos e crônicos.

Dessa forma, a avaliação nutricional deve incluir os métodos tradicionais (antropométricos, clínicos, dietéticos, metabólicos e bioquímicos), gerando um diagnóstico mais preciso e uma compreensão mais global de cada indivíduo.

Referências

1. ZAMORA-ROS, R.; TOUILLAUD, M.; ROTHWELL, J.A. et al. Measuring exposure to the polyphenol metabolome in observational epidemiologic studies: current tools and applications and their limits. **Am Soc Nutr**; 100 (1): 11-26, 2014.
2. SCALBERT, A.; BRENNAN, L.; MANACH, C. et al. The food metabolome: a window over dietary exposure. **Am J Clin Nutrition**; 99 (6): 1286-308, 2014.
3. ELMADFAI, I.; MEYER, A.L. Developing suitable methods of nutritional status assessment: a continuous challenge. **Adv Nutr**; 5: 590S-8S, 2014.
4. RAITEN, D.J.; NAMASTÉ, S.; BRABIN, B. et al. Executive summary – Biomarkers of nutrition for development: building a consensus. **Am J Clin Nutr**; 94 (2): 633S-50S, 2011.
5. TORRES, A.A.L.; SANTOS, K.B.; ABBAD, G.S. Processo de criação da webliografia básica para uma disciplina de nutrição humana. **Espaço para a saúde**; 15 (2): 37-46, 2014.
6. GOMEZ, P.; SCHNEIDER, N.; DELAERE, F. How often should I eat it? Product correlates and accuracy of estimation of appropriate food consumption frequency. **Food Qual Pref**; 40 (A): 1-7, 2015.
7. PUIGGRÓS, F.; SOLÀ, R.; BLADÉ, C. et al. Nutritional biomarkers and foodomic methodologies for qualitative and quantitative analysis of bioactive ingredients in dietary intervention studies. **J Chromatogr A**; 1218: 7399-414, 2011.
8. COMBS JR, G.F.; TRUMBO, P.R.; MCKINLEY, M.C. et al. Biomarkers in nutrition: new frontiers in research and application. **Ann N Y Acad Sci**; 1278: 1-10, 2013.
9. ELLWOOD, K. BALENTINE, D.A.; DWYER, J.T. et al. Considerations on an approach for establishing a framework for bioactive food components. **Adv Nutr**; 5: 693-701, 2014.
10. BYLDA, C.; THIELE, R.; KODOLD, U.; VOLMER, D.A. Recent advances in sample preparation techniques to overcome difficulties encountered during quantitative analysis of small molecules from biofluids using LC-MS/MS. **Royal Soc Chem**; 139: 2265-76, 2014.
11. BHAGWAT, S.; HAYTOWITZ, D.B.; HOLDEN, J.M. **Department of Agriculture USDA database for the flavonoid content of selected foods**. Release 3. Maryland, 2011.

12. CARLSEN, M.H.; KARLSEN, A.; LILLEGAARD, I.T.L. et al. Relative validity of fruit and vegetable intake estimated from an FFQ, using carotenoid and flavonoid biomarkers and the method of triads. **Br J Nutr**; 105 (10): 1530-8, 2011.
13. LLOYD, A.J.; BECKMANN, M.; FAVÉ, G. et al. Proline betaine and its biotransformation products in fasting urine samples are potential biomarkers of habitual citrus fruit consumption. **Br J Nutr**; 106 (6): 812-24, 2011.
14. TANUMIHARDJO, S.A. Vitamin A: biomarkers of nutrition for development. **Am J Clin Nutr**; 94 (suppl): 658S-65S, 2011.
15. BAHMANI, F.; KARAMALI, M.; SHAKERI, H.; ASEMI, Z. The effects of folate supplementation on inflammatory factors and biomarkers of oxidative stress in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Colin Endoc**; 81 (4): 582-7, 2014.
16. LEUFKENS, A.M.; DUIJNHOFEN, F.J.B.; WOUDET, S.H.S. et al. Biomarkers of oxidative stress and risk of developing colorectal cancer: a cohort-nested case-control study in the European prospective investigation into cancer and nutrition. **Am J Epidemiol**; 175 (7): 653-63, 2012.
17. NUNES, C.R.; ABREU, A.M.O.W. Influência dos radicais livres e envolvimento do processo inflamatório na aterosclerose. **Vértices**; 14 (3): 53-69, 2012.
18. THOMPSON, A.M.; ZHANG, Y.; TONG, W. et al. Association of obesity and biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction in adults in inner Mongolia, China. **Int J Cardiol**; 150 (3): 247-52, 2011.
19. SIERVO, M.; RUGGIERO, D.; SORICE, R. et al. Body mass index is directly associated with biomarkers of angiogenesis and inflammation in children and adolescents. **Nutrition**; 28 (3): 262-6, 2012.
20. ASEMI, Z.; KHORRAMI-RAD, A.; ALIZADEH, S.A. et al. Effects of symbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: a double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. **Clin Nutr**; 33 (2): 198-203, 2014.
21. KOETHE, J.R.; BLEVINS, M.; NYIRENDA, C. et al. Nutrition and inflammation serum biomarkers are associated with 12-week mortality among malnourished adults initiating antiretroviral therapy in Zambia. **J Int AIDS Soc**; 10: 14-9, 2011.
22. HEALY, G.N.; MATTHEWS, C.E.; DUNSTAN, D.W. et al. Sedentary time and cardio-metabolic biomarkers in US adults: NHANES 2003-6. **Eur Heart J**; 32 (5): 590-7, 2011.
23. RANA, J.S.; ARSENAULT, B.J.; DESPRÉS, J.P. et al. Inflammatory biomarkers, physical activity, waist circumference, and risk of future coronary heart disease in healthy men and women. **Eur Heart J**; 32 (3): 336-44, 2011.
24. HORVATH, J.D.C.; CASTRO, M.L.D.; KOPS, N. et al. Obesity coexists with malnutrition? Adequacy of food consumption by severely obese patients to dietary reference intake recommendations. **Nutr Hosp**; 29 (2): 292-9, 2014.
25. CODOÑER-FRANCH, P.; TAVÁREZ-ALONSO, S.; SIMÓ-JORDÁ, R. et al. Vitamin D status is linked to biomarkers of oxidative stress, inflammation, and endothelial activation in obese children. **J Pediatr**; 161 (5): 848-54, 2012.
26. AHERN, T.; KHATTAK, A.; O'MALLEY, E. et al. Association between vitamin D status and physical function in the severely obese. **J Clin Endoc & Met**; 99 (7): E1327-31, 2014.
27. DIJIK, S.C.; SOHL, E.; OUDSHOORN, C. et al. Non-linear associations between serum 25-OH vitamin D and indices of arterial stiffness and arteriosclerosis in an older population. **Age Ageing**; 44 (1): 136-142, 2014.
28. HOFFMANN, M.R.; SENIOR, P.A.; MAGER, D.R. Vitamin D supplementation and health-related quality of life: a systematic review of the literature. **J Acad Nutr Diet**; in Press, 2015.
29. CHUNG, P.W.; PARK, K.Y.; KIM, J.M. et al. 25-hydroxyvitamin D status is associated with chronic cerebral small vessel disease. **Stroke**; 46: 248-51, 2014.
30. LIU, J.J.; PRESCOTT, J.; GIOVANNUCCI, E. et al. Plasma vitamin D biomarkers and leucocyte telomere length. **Am J Epidemiol**; 177 (1): 1411-1417, 2013.
31. WITTASSEK, M.; KOCH, H.M.; ANGERER, J.; BRUNING, T. Assessing exposure to phthalates - the human biomonitoring approach. **Mol Nutr Food Res**; 55 (1): 7-31, 2011.
32. LIENT, Y.J.; KU, H.Y.; SU, P.H. et al. Prenatal exposure to phthalate esters and behavioral syndrome in children at 8 years of age: Taiwan maternal and infant cohort study. **Environ Health Perspect**; 123 (1): 95-100, 2015.
33. CALAFAT, A.M.; WONG, L.Y.; SILVA, M.J. et al. Selecting adequate exposure biomarkers of diisononyl and diisodecyl phthalates: data from the 2005-2006 National Health and Nutrition Examination Survey. **Environ Health Perspect**; 119 (1): 50-5, 2011.