

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA**



**TESE DE DOUTORADO
ESTUDO LONGITUDINAL: DIETA E NÍVEIS DE BDNF EM PACIENTES COM
DIAGNÓSTICO DE ESQUIZOFRENIA ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DO HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**

LÍSIA REJANE GUIMARÃES

Orientador: Prof. Dr. **Paulo Belmonte-de-Abreu**

Coorientador: Prof. Dra. **Clarissa Severino Gama**

Porto Alegre, Brasil.

2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA**



**TESE DE DOUTORADO
ESTUDO LONGITUDINAL: DIETA E NÍVEIS DE BDNF EM PACIENTES COM
DIAGNÓSTICO DE ESQUIZOFRENIA ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DO HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**

LÍSIA REJANE GUIMARÃES

Orientador: Prof. Dr. Paulo Belmonte-de-Abreu

Coorientador: Prof. Dra. Clarissa Severino Gama

Porto Alegre, Brasil.

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Guimarães, Lísia Rejane

Estudo Longitudinal: Dieta e Níveis de BDNF em
pacientes com diagnóstico de esquizofrenia atendidos
no ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
/ Lísia Rejane Guimarães. -- 2014.
84 f.

Orientador: Paulo Silva Belmonte-de-Abreu.
Coorientadora: Clarissa Severino Gama.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto
Alegre, BR-RS, 2014.

1. dieta. 2. Bdnf. 3. esquizofrenia. 4. folato.
5. questionário de frequência alimentar . I.
Belmonte-de-Abreu, Paulo Silva, orient. II. Severino
Gama, Clarissa, coorient. III. Título.

DEDICATÓRIA

À minha família e ao meu irmão Max (*in memoriam*), que estiveram ao meu lado nesta trajetória.

MENSAGEM

"Por trás dos sonhos, há sacrifícios que as pessoas não veem."

(autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Silva Belmonte de Abreu, pela oportunidade, confiança, compreensão nos momentos mais difíceis, por respeitar meu tempo e todo aprendizado.

À Dra. Clarissa Severino Gama, pelo auxílio e conselhos que viabilizaram o desenvolvimento do estudo.

A toda a equipe do Programa de Esquizofrenia e Demências – PRODESQ/ HCPA, pelos anos de convívio e pela parceria multidisciplinar.

Aos colegas do Laboratório de Psiquiatria Molecular/ HCPA, pela ajuda prestada e pela convivência durante este período.

Aos professores e alunos da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), pela oportunidade de aprendizado na prática docente, em especial às Profas. Clarice Kras Borges da Silveira, Maria Tereza Olinto, por compartilharem seus conhecimentos e experiências.

Aos pacientes, por terem sido pacientes na coleta dos dados e me motivar profissional e pessoalmente.

Às Nutricionistas e amigas Carmen Lúcia Leitão Azevedo, Martha Guerra Belmonte de Abreu e Karine Zortéa por todos estes anos de parceria.

À estatística Ceres Oliveira, por muitas horas de testes e mais testes, sempre incansável em contribuir para análise dos resultados e pelo bom humor.

Ao CNPq e CAPES, pelas bolsas de pesquisa fornecidas e ao FIPE-HCPA, pelo apoio financeiro que permitiu a execução do estudo.

E, finalmente, à minha família, meu marido Luis Fernando e meus filhos, Eduarda e Santiago, meus pais Aracy e José e irmãos, Marcelo e Max (*in memorian*), pelo carinho e incentivo. Sem eles, esta caminhada não teria sido possível e prazerosa.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	09
Tabelas e Figuras.....	11
Apresentação.....	12
Resumo.....	13
Abstract.....	14
Introdução.....	15
1 Justificativa.....	24
2 Objetivos.....	24
2.1 Objetivo Geral.....	24
2.2 Objetivo Especifico.....	24
3 Pacientes e Métodos.....	24
3.1 Delineamento.....	24
3.2 Amostra.....	24
3.3 Coleta de Dados.....	25
3.4 Dosagem de BDNF.....	26
3.5 Dosagem de sangue (glicose, colesterol e triglicerídeos).....	26
3.6 Análise dos Dados.....	26
4 Referências Bibliográficas	28
5 Resultados.....	33
Artigo 1 - Change in the nutritional profile of schizophrenic outpatients on 24-month nutritional monitoring.....	33
Artigo 2 - Longitudinal study for determining BDNF and folic acid levels in schizophrenic patients with and with no diet along 2 years.....	47
Considerações finais.....	69
APÊNDICE.....	73
Apêndice A- Ficha da Nutrição.....	74
ANEXO.....	75
Anexo A- Termo de Consentimento Informado para Pacientes.....	76
Anexo B- Questionário de Frequência Alimentar.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA- Adenosina deaminase
AGM- Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI - Ácidos graxos poliinsaturados
AGS- Ácidos graxos-saturados
AK- Adenosina kinase
BDNF- Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHMT- Beta-homocisteína metioniltransferase
Ca - Cálcio
CBS - Cistationina beta sintetase
CC - Circunferência da cintura
CQ - Circunferência do quadril
Cu - Cobre
DCV - Doenças cardiovasculares
DHF - Dihidrofolato
DRIs - Ingestão Dietética de Referência (*Dietary Reference Intakes*).
ECT - Eletroconvulsoterapia
Fe - Ferro
GEE - Generalized estimating equation model
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre
H1N1- Influenza A subtipo H1N1
IMC - Índice de Massa Corporal
MAT- Metionina adenosiltransferase
Mg - Magnésio
MS- Metionina sintetase
NT-3 - Neurotrofina-3
NT-4 e NT-5 - Neurotrofinas-4/5
n-3- Ômega 3
n-6- Ômega 6
PABA - Ácido p-aminobenzóico
PN - Programa Nutricional
PRODESQ - Programa de Esquizofrenia e Demência
QFA - Questionário de frequência alimentar
SAH- S-adenosilhomocisteína
SAHH- SAH Hidrolase

SAM- S-adenosilmetionina

Se - Selênio

SNC - Sistema Nervoso Central

THF - Tetrahidrofolato

VCT - Valor calórico total

Zn - Zinco

%GC - Percentual de gordura corporal

5-HT- 5-Hidroxitriptamina

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1- Efeitos metabólicos dos antipsicóticos atípicos.....	19
Tabela 2- Recomendações dietéticas para o tratamento de dislipidemias.....	19
Figura 1- Via metabólica normal da transulfuração.....	22
Fluxograma.....	27

APRESENTAÇÃO

A presente tese de Doutorado partiu da dissertação de Mestrado Associação entre Dieta e Níveis do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro – BDNF em Pacientes com Diagnóstico de Esquizofrenia Atendidos no PRODESQ do Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA, onde se observou, naquela amostra, que os pacientes em tratamento dietético apresentavam níveis de BDNF mais elevado do que os pacientes que não estavam em tratamento dietético. Este estudo deixou em aberto se a associação refletia causalidade, e levantou a necessidade de um estudo prospectivo.

Foram acompanhados 45 pacientes daquela amostra durante dois anos, onde se avaliou mudança de peso, os níveis de BDNF, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, triglicerídeos, glicose, além dos dados demográficos, índices antropométricos e qualidade nutricional da dieta, a qual foi aferida através da aplicação de um questionário de frequência alimentar (QFA) nos indivíduos.

RESUMO

Objetivos: Avaliar e relacionar os níveis séricos do Fator Neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) dos pacientes esquizofrênicos em tratamento de restrição dietética, atendidos no Ambulatório de Demência e Esquizofrenia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (PRODESQ), com os níveis séricos de BDNF em pacientes esquizofrênicos sem restrição dietética. **Método:** Este estudo longitudinal avaliou 45 pacientes durante 2 anos, com idades entre 18 e 50 anos, provenientes do PRODESQ. Foram aferidos peso e altura e coletadas amostras de sangue para verificação dos níveis séricos de BDNF, glicose, colesterol total, HDL e LDL-colesterol e triglicerídeos, além da aplicação do questionário de frequência alimentar (QFA) e anamnese nutricional. Ao final do estudo encontramos 3 grupos: (a) Grupo A, em dieta continuada nos 2 momentos; (b) grupo B, em dieta em algum dos momentos durante o estudo e (c) grupo C, sem dieta nos 2 momentos ao longo do estudo. **Resultados:** O grupo C reduziu significativamente o consumo de calorias (efeito de interação; $p=0,003$), ácidos graxos saturados (efeito de interação; $p=0,027$), ácidos graxos polinsaturados (efeito de interação; $p=0,024$), magnésio (efeito de interação; $p<0,001$), ferro (efeito de interação; $p=0,001$), fibras (efeito de interação; $p=0,034$), folato (efeito de interação; $p=0,004$) e zinco (efeito de interação; $p=0,006$) de um ano para o outro, quando comparado com os demais grupos. Em relação à redução do consumo de calorias e demais macro e micronutrientes neste grupo, pode-se supor que, apesar de não se fazer intervenção nutricional formal neste grupo, houve um efeito de mudança de comportamento alimentar nestes indivíduos após aplicação dos questionários de avaliação nutricional e do QFA. Houve associação positiva significativa entre a dose de antipsicóticos e a variação dos níveis de BDNF ($r=0,515$; $p=0,001$). No grupo A, houve associação positiva entre a variação do IMC ($r=0,536$; $p=0,022$), a dose de neurolépticos ($r=0,597$; $p=0,009$) e a variação de peso ($r=0,608$; $p=0,007$) em relação à variação dos níveis de BDNF. Em relação ao grupo C, a variação do BDNF associou-se inversamente e significativamente com as variações de sódio ($r_s=-0,577$; $p=0,039$), fibras ($r=-0,767$; $p=0,001$), ferro ($r_s=-0,635$; $p=0,015$), ácidos graxos-monoin saturados (AGM) ($r=-0,662$; $p=0,010$), zinco ($r_s=-0,600$; $p=0,023$), ácidos graxos-saturados (AGS) ($r_s=-0,534$; $p=0,049$) e folato ($r=-0,729$; $p=0,003$). No grupo C, apenas a variação do folato permaneceu associada, e de forma negativa, com a variação dos níveis de BDNF, ou seja, em sujeitos sem orientação nutricional, porém com redução de calorias por conta própria, a maior redução da ingestão de folato mostrou associação com aumento dos níveis de BDNF ao longo do tempo. Esta relação, aparentemente contraditória, pode ser melhor entendida se considerarmos que estes casos estavam com dieta com excesso de folato, e a

redução foi no sentido de maior normalização destes níveis. Adicionalmente, esta associação pode ser entendida dentro do fato de que o folato participa do ciclo da homocisteína, que possui dois caminhos: o da transulfuração (que produz glutatião e tem efeito protetor) e o da remetilação (no qual o folato participa). Nossos resultados sugerem a hipótese de que talvez o mecanismo de regulação do BDNF envolva o ciclo do ácido fólico e a redução das calorias da dieta, porém são necessários dados adicionais para verificar as modificações dessas duas vias com a redução (ou talvez normalização) da ingestão de folato, especialmente, a medida dos cofatores B6 e B12 e da Homocisteína, substância chave neste ciclo.

ABSTRACT

Objectives: To assess and compare blood levels of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) of schizophrenic patients undergoing nutritional monitoring, seen at the Schizophrenia and Dementia Program at a major teaching hospital in Porto Alegre, Brazil (Hospital de Clínicas de Porto Alegre), to BDNF blood levels in schizophrenic patients without nutritional monitoring. **Method:** This longitudinal study assessed 45 patients from this program between 18 and 50 years old for 2 years. Weight and height were measured and blood samples were collected to verify blood levels of BDNF, glucose, total cholesterol, HDL and LDL cholesterol and triglycerides. Patients were required to answer the Food Frequency Questionnaire (FFQ) and nutritional anamnesis. At the end of the study, three groups were found: (a) group A, on continued diet at both assessments; (b) group B, on diet at some moment during the study and (c) group C, with no diet at both assessments. **Results:** Group C significantly reduced the consumption of calories (interaction effect; $p=0.003$), saturated fatty acids (interaction effect; $p=0.027$), polyunsaturated fatty acids (interaction effect; $p=0.024$), magnesium (interaction effect $p<0.001$), iron (interaction effect; $p=0.001$), fibers (interaction effect; $p=0.034$), folate (interaction effect; $p=0.004$) and zinc (interaction effect; $p=0.006$) from one year to the next, when compared to the other groups. Regarding the reduction in the consumption of calories and other macro and micronutrients in this group, it is possible to suppose that, although this group did not undergo formal nutritional intervention, there was an effect of change in these individuals' eating habits after undergoing nutritional assessment questionnaires and the FFQ. There was significant positive association between the mean equivalent medication dose and the variation in BDNF levels ($r=0,515$; $p=0,001$). In group A, there was positive association between the BMI variation ($r=0.536$; $p=0.022$), neuroleptics dose ($r=0.597$; $p=0.009$) and weight variation ($r=0.608$; $p=0.007$) and the variation in BDNF levels. Regarding group C, BDNF variation was inversely and significantly associated with the variations in sodium ($r_s=-0.577$; $p=0.039$), fibers ($r=-0.767$; $p=0.001$), iron ($r_s=-0.635$; $p=0.015$), monounsaturated fatty acids (MFAs) ($r=-0.662$; $p=0.010$), zinc ($r_s=-0.600$; $p=0.023$), saturated fatty acids (SFAs) ($r_s=-0.534$; $p=0.049$) and folate ($r=-0.729$; $p=0.003$). In group C, only folate remained negatively associated with BDNF variation, i.e., the higher the reduction in folate intake, the higher the increase in BDNF levels along the time. Our results suggest the hypothesis that perhaps the BDNF regulation mechanism involved the acid folic cycle and the reduction of calories in the diet.

INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma doença mental crônica que atinge cerca de 1% da população e caracteriza-se por distorções do pensamento, delírios bizarros, alterações na senso percepção e respostas emocionais inadequadas, as quais podem levar o paciente a algum grau de deterioração. Costuma ocorrer no final da adolescência e início da vida adulta, afetando homens e mulheres (APA, 1994).

O desenvolvimento escolar e profissional destes pacientes tende a ser afetado pela patologia e estes indivíduos terão dificuldade de ingressar na universidade e até concluir estudos, além de dificuldade de assumir posições de trabalho que exijam maior responsabilidade. Como resultado, o *status* socioeconômico destes pacientes é reduzido.

O BDNF é um polipeptídeo de 27kDa, importante membro da família das neurotrofinas presentes em grandes concentrações no cérebro e na periferia (Hashimoto et al., 2004). Vários dos seus efeitos no Sistema Nervoso Central (SNC) são conhecidos, tais como: crescimento, diferenciação, sobrevivência e reparo neuronal. O BDNF também está envolvido com a plasticidade dos sistemas dopaminérgico, serotoninérgico, colinérgico e glutamatérgico (Angelucci et al., 2004; Meredith et al., 2002). No entanto, a regulação e a função do BDNF no sangue periférico ainda é pouco entendida (Lommatzsch et al., 2005). Além do BDNF, outras neurotrofinas desempenham funções críticas no desenvolvimento, manutenção e função cerebrais. A neurotrofina-3 (NT-3), as neurotrofinas-4/5 (NT-4 e NT-5) e seus receptores também desempenham papel importante, com perfis neurotróficos específicos e efeitos diferenciados, de acordo com as subpopulações neuronais em que atuam. As neurotrofinas são fatores sinalizadores que desempenham funções críticas no cérebro (Barde, 1994; Nakazato et al., 2003).

Alteração na produção e secreção de BDNF tem sido mostrada em uma variedade de doenças. Transtornos neurodegenerativos, tais como a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson e a depressão estão associadas à diminuição dos níveis de BDNF no cérebro (Lommatzsch et al., 2005; Connor et al., 1997; Altar, 1999). Em modelos animais de depressão, está documentada uma diminuição da expressão de BDNF, principalmente na região do hipocampo e córtex pré-frontal. Por outro lado, o tratamento com antidepressivos, estabilizadores de humor ou eletroconvulsoterapia (ECT) aumentam a expressão de BDNF nesses animais (Angelucci et al., 2003; Nakata et al., 2003).

Estudos pós-morte de pacientes tratados com antidepressivos confirmam o aumento de BDNF em diversas áreas cerebrais, enquanto que nos deprimidos os

níveis se mostram diminuídos (Tsai, 2004; Chen et al., 2001). Por outro lado, a expressão do BDNF encontra-se aumentada pela administração crônica de antidepressivos, mas não pela aguda, o que indica o envolvimento dele com o mecanismo de ação dos antidepressivos, cujo início de ação ocorre a partir de duas semanas de tratamento (Hashimoto et al., 2004). Diversas evidências apontam que a depressão possa ser causada pelos baixos níveis de BDNF e que existe uma correlação entre os níveis de BDNF e a gravidade da depressão (Gervasoni et al., 2004).

Em pacientes esquizofrênicos medicados com antipsicóticos, os níveis séricos de BDNF mostraram-se diminuídos quando comparados aos indivíduos normais (Tan et al., 2005; Zhang et al., 2007), enquanto que em estudos feitos em pacientes com transtorno do pânico não houve diferença em relação aos controles (Kobayashi et al., 2005). Em contrapartida, níveis elevados de BDNF foram encontrados em pacientes esquizofrênicos crônicos em longo tempo de tratamento com antipsicóticos (Gama et al., 2007). Este estudo avaliou os níveis séricos de BDNF em pacientes bipolares, esquizofrênicos e controles saudáveis.

Diversas linhas de evidências sugerem que o BDNF modula a ingestão alimentar, o metabolismo e o controle de peso corporal (Lebrun et al., 2006; Zhang et al., 2006). Em modelos animais, há evidências de que a dieta modifica os níveis de BDNF, além de melhorar os níveis de glicose, reduzir o peso e aumentar a expectativa de vida (Lee et al., 2000; Duan et al., 2003; Koizumi et al., 2006).

Um estudo prospectivo examinou 140 adultos saudáveis com o objetivo de verificar o impacto da idade, do peso e do gênero nos níveis de BDNF nas plaquetas e no plasma. Neste estudo, verificaram que níveis de BDNF no plasma diminuem significativamente com o aumento da idade ou do peso, considerando que os níveis de plaquetas não diminuem. Quando pareados pelo peso, não houve diferença significativa no gênero considerando os níveis de BDNF no plasma (Lommatzch et al., 2005). Este estudo demonstrou que as mulheres apresentam níveis de BDNF plaquetário significativamente menores do que os homens e, além disso, estes níveis mudam durante o ciclo menstrual.

Níveis séricos de BDNF em pacientes com desordens alimentares eram significativamente menores quando comparados com controles normais pareados para idade (Monteleone et al., 2005).

O tempo de vida de todos os mamíferos pode ser significativamente aumentado se houver uma redução da ingestão calórica e/ ou da frequência alimentar. Em roedores, o tempo de vida pode ser aumentado em 50% se uma dieta de restrição calórica for iniciada em adultos jovens e mantida por toda vida (Koizumi et al., 2006).

Diversas linhas de evidências sugerem que a restrição dietética tem inúmeros efeitos benéficos, incluindo o aumento da expectativa de vida, redução de doenças relacionadas à idade e boa resposta ao estresse e, ainda, a restrição dietética produz em modelos animais efeitos neuroprotetores nos transtornos neurodegenerativos (Mattson, 2005).

Em ratos heterozigotos com reduzidos níveis de BDNF, tem sido relatado que a restrição dietética (dieta por 3 meses) melhora significativamente níveis elevados de glicose circulante, insulina e leptina, bem como condutas alimentares anormais (obesidade e hiperfagia). Todos têm indicado o papel do BDNF como sendo um importante regulador do metabolismo energético (Duan et al., 2003; Koizumi et al., 2006).

Um estudo que examinou o efeito da restrição dietética em roedores heterozigotos para BDNF nos transtornos como obesidade, ingestão alimentar, ansiedade e agressividade, refere que seu maior achado foi que a restrição dietética melhorou significativamente as anormalidades alimentares e/ ou a ingestão alimentar diária aumentada, a ansiedade e a agressividade nestes animais, e que o sistema 5-HT (5-hidroxitriptamina) pode estar implicado no mecanismo de efeitos benéficos da restrição dietética (Koizumi et al., 2006).

Ainda não estão claros os mecanismos de efeitos benéficos que a restrição dietética exerce nestes animais (Koizumi et al., 2006). No entanto, diversas linhas de evidências sugerem que ambos, BDNF (Hashimoto et al., 2005) e o sistema 5-HT, exercem uma função na fisiopatologia dos transtornos alimentares (Kaye et al., 2005).

Um estudo que avaliou 17 indivíduos com sobrepeso e obesidade verificou um aumento significativo nos níveis séricos de BDNF. Estes sujeitos foram submetidos a 3 meses de dieta com uma redução de 25% das calorias e sem adição de açúcar. Foram aferidos o peso, circunferência da cintura, níveis de BDNF e teste de tolerância à glicose antes e após o início da dieta. O estudo sugere que o BDNF pode ser modulado pela dieta em humanos (Araya et al., 2008).

O trabalho de Stanek K et al. (2008) teve como objetivo verificar a possibilidade do envolvimento do BDNF na redução do apetite e perda de peso em indivíduos idosos. Os autores encontraram uma correlação inversa entre níveis de BDNF e apetite. Por outro lado, não encontraram relação entre BDNF e idade, dieta ou composição corporal, sugerindo mais estudos para que se possa entender melhor estes mecanismos.

O estudo de Guimarães et al. (2008) comparou os níveis de BDNF de pacientes esquizofrênicos com restrição dietética e sem restrição dietética. Os autores encontraram uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis de BDNF nos

dois grupos, onde os pacientes em dieta apresentaram níveis séricos de BDNF significativamente mais elevados do que aqueles que não faziam dieta. O estudo sugere que a dieta pode modificar marcadores da plasticidade do cérebro.

Diversos estudos têm demonstrado alterações metabólicas na esquizofrenia, sendo que a obesidade e o sobrepeso estão presentes em 40-60% dos indivíduos com esquizofrenia, sendo que os fatores de risco cardiovasculares são cerca de duas vezes maiores do que na população em geral (Birkenaes et al., 2007; Zortéa et al., 2009). Estudos têm demonstrado maior incidência de diabetes, dislipidemias e síndrome metabólica nesta população, que estão relacionadas intimamente ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) (Henderson et al., 2005), além de alta prevalência de fatores de risco independentes como a hipertensão e o tabagismo (Cerqueira Filho et al., 2006; Zortéa et al., 2009).

Indivíduos obesos têm aproximadamente duas vezes mais chances de desenvolver fatores de risco cardiometabólicos do que indivíduos com peso adequado (Said et al., 2010). É importante, também, levar-se em consideração que pacientes obesos têm chance 2,5 vezes maior de não adesão ao tratamento farmacológico (Weiden et al., 2004).

Como consequência, a DCV já é a principal causa de mortalidade dos pacientes com esquizofrenia (Elkis et al., 2008), correspondendo a 34% em homens e 31% em mulheres, enquanto as neoplasias correspondem a 13-16% e as doenças respiratórias 8-9% (Cerqueira Filho et al., 2006). O estudo de Henderson et al. (2005) estimou um aumento de 9% no risco de DCV em pacientes que usavam clozapina em um período de 10 anos.

A clozapina e a olanzapina são os antipsicóticos responsáveis pelo maior ganho de peso e elevação de triglicerídeos, enquanto a ziprasidona e o aripripazol parecem não interferir ou causar ganhos mínimos. A quetiapina e a risperidona podem apresentar risco aumentado de eventos metabólicos quando estiverem associadas a medicações que elevem o peso corporal, conforme descrito na tabela 1 (Cerqueira Filho et al., 2006; ADA, 2004).

Tabela 1. Efeitos metabólicos dos antipsicóticos atípicos.

Antipsicótico	Ganho de peso	Diabetes	Dislipidemia
Clozapina	+++	+	+
Olanzapina	+++	+	+
Risperidona	++	?	?
Quetiapina	++	?	?
Aripripazol	+/-	-	-
Ziprasidona	+/-	-	-

(+): aumento; (-): sem efeito; (?): resultados controversos

Fonte: adaptado de ADA, 2004

Conduas simples, utilizadas para a população em geral, são possíveis de ser introduzidas no tratamento nutricional do paciente com esquizofrenia. O plano alimentar para redução de peso deve ser balanceado em nutrientes e permitir a manutenção dos benefícios em longo prazo. As recomendações dietéticas para o tratamento de dislipidemias estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2. Recomendações dietéticas para o tratamento de dislipidemias.

Nutrientes	Ingestão recomendada
Gorduras	25 a 35% do VCT
Saturadas	≤7% do VCT
Poliinsaturadas	≤10% do VCT
Monoinsaturadas	≤20% do VCT
Carboidratos	50 a 60% do VCT
Proteínas	15% do VCT
Fibras	20 a 30g/dia
Colesterol	<200mg/dia
Valor calórico total	Ajustado ao peso desejável

VCT: valor calórico total

Fonte: adaptado de Sposito et al., 2007.

Diferentes fatores podem influenciar negativamente a condição fisiopatológica cerebral e sistêmica, como o estresse oxidativo, que já foi identificado na fisiopatologia da esquizofrenia (Gama et al., 2006; Herken et al., 2001; Gama et al., 2008). O estresse oxidativo produz efeitos deletérios, com indução da peroxidação lipídica nas membranas, proteínas e genes (Mahadik et al., 2001) e está associado a

complicações no tratamento da doença, como sintomas, positivos e negativos, e discinesia tardia. Neste contexto, os antioxidantes podem reduzir os sintomas de depressão, melhorar as funções cognitivas e a qualidade de vida (Volchegorskii and Mester, 2007), influenciando de forma positiva o bem-estar social e funcional dos pacientes, o que é promissor como adjuvante no tratamento de doenças psiquiátricas.

Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) têm um papel importante no SNC, já que é um dos sistemas do organismo com maior conteúdo de lipídeos, sendo que 35% dos lipídeos do cérebro de um indivíduo são de AGPI. Largamente formadas por fosfolipídios, as membranas dos neurônios são ricas em AGPI, principalmente os AGPI da série n-3 e n-6 (ômega 3 e 6), os quais necessitam ser obtidos através da dieta (Zendegs et al., 2010; Hedelin et al., 2010). Os AGPI atuam na regulação enzimática, sinalização celular, síntese de eicosanoides, regulação da migração neural, plasticidade sináptica e modulação de citocinas. Quando comparados com a população geral, diversos estudos mostram baixos níveis de AGPI da série ômega 3-6 no cérebro de pacientes esquizofrênicos (Zendegs et al., 2010). Apesar de não se saber a etiologia exata da esquizofrenia, diversas evidências apontam para um metabolismo anormal dos fosfolipídios, particularmente na composição dos ácidos graxos das membranas celulares (Zendegs et al., 2010; Hedelin et al., 2010; Sinn et al., 2010; Amminger et al., 2010).

Minerais como magnésio (Mg), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), selênio (Se) e cálcio (Ca) são responsáveis pela manutenção do equilíbrio bioquímico do organismo e seus níveis encontram-se alterados em indivíduos com esquizofrenia (Yanik et al., 2004). Desta forma, o tratamento nutricional assume um papel importante na saúde mental, uma vez que o cérebro necessita de macro e micronutrientes para o seu desenvolvimento e funcionamento (Sinn et al., 2010).

O ácido fólico é uma vitamina do complexo B que age como coenzima no metabolismo de compostos de 1 carbono (Mattson and Shea, 2003; Coppen and Bolander-Gouaillle, 2005). O nome folato surgiu do termo em latim – “folium”, que significa folha, pois foi isolada pela primeira vez a partir de folhas verdes, tais como o espinafre. Folato é um termo genérico utilizado para o grupo de compostos heterocíclicos que possuem como características estruturais principais um grupo pteridina, um grupo ácido p-aminobenzoico (PABA) e uma cadeia de ácido glutâmico (glutamato) de pesos variáveis. A característica comum de todas folato-coenzimas é a porção PABA da molécula (Djukic, 2007).

O folato é sintetizado por microorganismos e plantas superiores, mas não por mamíferos, para os quais é um nutriente essencial, necessitando ser ingerido através dos alimentos (McNulty, 1995). A obtenção do ácido fólico para o organismo humano

pode ser feita através de dieta com alimentos ricos nesta vitamina, através de comprimidos ou por enriquecimento de alimentos. Alimentos como feijão, ervilha, espinafre, brócolis, aspargo, frutas cítricas, grãos, leite, carne, fígado e verduras cruas possuem folato, porém a quantidade adequada pode não ser obtida somente com a dieta. A maior parte do folato da dieta existe na forma de poliglutamato, o qual é convertido na parede do intestino grosso para a forma de monoglutamato antes de ser absorvido na corrente sanguínea. A quantidade de folato absorvida por uma pessoa depende da biodisponibilidade ingerida, da taxa de perda pela urina e fezes, pelo catabolismo e, ainda, pode ser influenciada por condições patológicas, como má absorção, ou fisiológicas, como crescimento, gravidez e lactação (Wagner, 1995).

O transporte de folato através das barreiras biológicas (gastrointestinal, plexo coroide e placentária) é regulado principalmente pelo carreador de folato reduzido e pelo receptor de folato (Ramaekers and Blau, 2004). O fornecimento de folato para o SNC depende de um transporte adequado através da barreira hematoencefálica. Dentro dos neurônios, parte do folato pode ser catabolizada por oxidação a dihidrofolato (DHF) que pode ser convertido a tetrahydrofolato (THF) pela enzima DHF redutase (Ramaekers and Blau, 2004).

O ácido fólico, por promover reparo e crescimento neuronal, possivelmente exerce um papel neuroprotetor em danos ao SNC (Iskandar et al., 2004). Além disso, desempenha várias outras funções no organismo, tais como: remete a homocisteína, um aminoácido citotóxico em concentrações elevadas, em metionina; participa na biossíntese de nucleotídeos; aumenta a biossíntese de tetrahydrobiopterina, a qual é coenzima para a hidroxilação de fenilalanina e triptofano na biossíntese de dopamina, noradrenalina e serotonina (Coppen et al., 1989), e previne defeitos no tubo neural (Mattson and Shea, 2003; Coppen and Bolander-Gouaille, 2005).

Visão geral da via de Transulfuração da Metionina/Glutatião

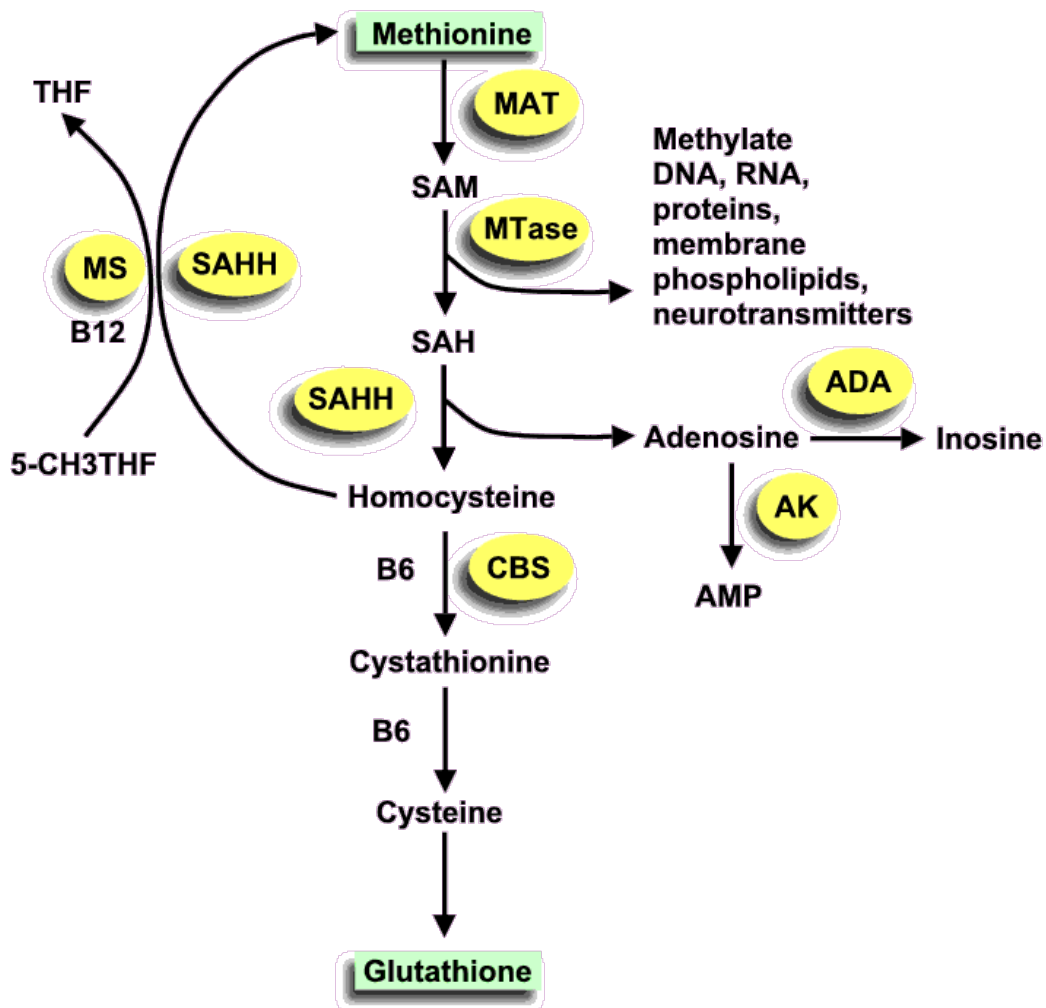


Figura 1- Via metabólica normal da transulfuração (James et al., 2004)

Abreviaturas do diagrama acima: THF: tetrahydrofolato; MS: metionina sintetase; BHMT: betaína-homocisteína metiltransferase; MAT: metionina adenosiltransferase; SAM: S-adenosilmetionina; SAH: S-adenosilhomocisteína; SAHH: SAH Hidrolase; ADA: adenosina deaminase; AK: adenosina quinase; CBS: cistationina beta sintetase

A figura 1 mostra as series de reações metabólicas que ocorrem em indivíduos normais para converter a metionina em glutatião. Os itens em amarelo são as enzimas catalases que agem na molécula para criar outra molécula. Por exemplo, metionina é ativada pela MAT para formar a SAM, que é usada pra formar a SAH, e depois homocisteína, cistationina, cistina e finalmente glutatião. O glutatião é usado para remover toxinas do corpo e é reconvertido em metionina, durante o processo de

remetilação e o ciclo metionina/glutatião é repetido. Se a rota de transulfuração é interrompida, pode resultar em estresse oxidativo e vários problemas de saúde. Por exemplo, se a homocisteína não é convertida pela vitamina B6 em cisteína, altos níveis de homocisteína ficam livres e são associados a problemas cardíacos.

Enfim, as evidências acima citadas, inclusive de estudos prévios da autora, de importância da dieta sobre neuroproteção, associado a pouca clareza quanto à sua ação nos mecanismos envolvendo a regulação da ingestão alimentar, metabolismo e peso corporal, justificam o estudo de verificar o envolvimento de nutrientes gerais e específicos da dieta sobre o BDNF e potencialmente sobre os mecanismos de formação e regulação do SNC e de plasticidade dos sistemas neurotransmissores.

1. JUSTIFICATIVA

Considerando o exposto acima, o presente estudo justifica-se pela:

- evidência de que a dieta, em modelos animais e em seres humanos, modifica os níveis de BDNF, além de promover a melhora nos níveis de glicose, na redução de peso e no aumento da expectativa de vida;
- escassez de estudos longitudinais em indivíduos portadores de esquizofrenia que estão em tratamento dietético e sua associação com os níveis de BDNF a longo prazo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar e relacionar os níveis séricos de BDNF dos pacientes esquizofrênicos em tratamento de restrição dietética, atendidos no PRODESQ/HCPA, com os níveis séricos de BDNF em pacientes esquizofrênicos sem restrição dietética.

2.2 Objetivos Específicos:

Determinar os níveis de BDNF nos pacientes esquizofrênicos com restrição dietética e sem restrição dietética.

Verificar a relação entre os níveis de BDNF nos pacientes esquizofrênicos com e sem restrição dietética com as variáveis gênero, idade, tempo de dieta, índices antropométricos, atividade física, tabagismo, qualidade da alimentação, colesterol total, HDL e LDL-colesterol, glicose e triglicerídeos.

Determinar a relação entre os níveis de BDNF nos pacientes esquizofrênicos com o tempo de doença, curso da doença e dose dos neurolépticos.

3. PACIENTES E MÉTODOS:

3.1 Delineamento

Estudo longitudinal.

3.2 Amostra

A amostra foi por conveniência. Foram incluídos 45 pacientes esquizofrênicos com idade entre 18 e 50 anos, atendidos no PRODESQ do HCPA, que participaram do projeto de Mestrado. Os pacientes foram convidados a participar deste estudo, por contato telefônico e fonograma. Os 45 indivíduos que aceitaram participar compareceram ao HCPA em data marcada para informarmos os objetivos do estudo e para a coleta de dados. Os pacientes compareceram com um acompanhante ou responsável quando se julgou necessário. Todos assinaram o consentimento Livre e

Esclarecido (anexo B) após serem informados no que consistia o estudo, seus riscos e características de funcionamento.

Foram excluídos do estudo 4 pacientes que participaram do primeiro estudo e que faleceram após (3 por doença cardíaca e 1 por gripe H1N1), 7 que não foram encontrados e 11 foram encontrados, convidados e não aceitaram fazer parte desta continuação do estudo.

3.3 Coleta de dados

Foram coletadas amostras de sangue para verificação dos níveis séricos de BDNF, glicose, colesterol total, HDL e LDL-colesterol e triglicerídeos. Foi avaliada a idade do paciente, o sexo e o tipo de neurolépticos em uso. Foi feita uma avaliação nutricional antropométrica e a anamnese nutricional (apêndice A), bem como a aplicado o QFA (Zanolla et al., 2009) (anexo A). A coleta de sangue foi realizada por profissional habilitado, com material descartável. Após a coleta, as amostras de material biológico foram centrifugadas a 3000 rpm por 15min e o soro foi separado e mantido congelado a -78°C , para análise posterior.

Os 45 pacientes foram observados por um período de 2 anos. No primeiro momento de avaliação, contamos com 22 pacientes em acompanhamento nutricional continuado (com dieta) e 23 sem acompanhamento nutricional (não dieta), todos participantes do projeto de mestrado. Ao término do estudo foram encontrados 3 grupos: (a) grupo A, em dieta continuada nos 2 momentos; (b) grupo B, em dieta em algum dos momentos durante o estudo e (c) grupo C, sem dieta em nenhum momento ao longo do estudo. Desta forma observamos pacientes que não estavam mais em dieta e pacientes que iniciaram dieta.

A dose dos neurolépticos foi convertida por doses equivalentes de clorpromazina para análise.

Para aplicação QFA os nutricionistas foram treinados para que se mantivesse o mesmo padrão de coleta das informações. Este questionário é composto por 120 alimentos, onde se verifica a frequência, número de vezes e quantidade do alimento ingerido pelo paciente nos últimos 30 dias. O tempo de aplicação do QFA foi em torno de 1 hora por participante.

Para obtenção dos dados dos grupos (com restrição e sem restrição dietética) foram seguidos os seguintes procedimentos no início e no final do estudo: os dados de peso, altura, para cálculo do índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), circunferência do quadril (CQ) e percentual de gordura corporal (%GC) foram aferidos no dia da coleta de sangue ou no máximo 1 semana antes ou após a coleta de sangue, além da aplicação do QFA e aplicação de nova anamnese nutricional no

mesmo período. No grupo com restrição dietética, o tempo de dieta, adesão, prática de atividade física e qualidade nutricional da dieta (alimentação) também foram coletados das fichas de acompanhamento da Equipe de Nutrição dos pacientes em dieta.

O QFA foi digitado no Programa EpiData para posterior cálculo dos macro e micronutrientes. Após, todos os dados obtidos foram digitados no SPSS versão 21.0.

Os pacientes em dieta fazem parte do programa nutricional do PRODESQ, avaliados sistematicamente por um nutricionista o qual aferiu peso, altura, %GC, CC e CQ, realiza anamnese e avaliação nutricional, bem como verifica exames de colesterol, triglicerídeos e glicose. Para o cálculo do IMC foi utilizada a fórmula padrão (peso/altura²). Essas informações registradas em fichas-padrão de evolução nutricional e, após, elaborado o programa nutricional (PN) de dieta hipocalórica individualizada, respeitando as características do paciente (sexo, idade, alergia alimentar, e doenças como diabetes e dislipidemias). Os pacientes e familiares foram orientados sobre a dieta, seus objetivos e a importância da mudança no comportamento alimentar e acompanhados mensalmente no PRODESQ para orientação dietética e verificação dos dados antropométricos.

A dieta era reduzida em açúcares, gorduras e as fibras seguiram as recomendações da Ingestão Dietética de Referência (*Dietary Reference Intakes* - DRIs), sendo preconizado um consumo aumentado de frutas/ vegetais e as calorias calculadas pela fórmula 20-25 cal/kg PA.

3.4 Dosagem de BDNF

Foi realizada pela técnica de ELISA, conforme descrita por Angelucci et al., 2003.

3.5 Dosagem de sangue (glicose, colesterol e triglicerídeos)

Foi realizado e analisado pelo Laboratório de Análises Clínicas do HCPA de acordo com procedimento de rotina.

3.6 Análise dos Dados:

As variáveis contínuas foram descritas por média e desvio padrão ou mediana e amplitude interquartilica, de acordo com a natureza dos dados. As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e relativas.

Para comparar médias entre os grupos, o teste t-student ou Análise de Variância (ANOVA) foram aplicados. Em caso de assimetria, os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis foram utilizados.

Na comparação de proporções, os testes qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher foram aplicados. Em caso de significância estatística, foi utilizado teste dos resíduos ajustados, conforme a fórmula de critérios descritos por Callegari-Jacques (2008).

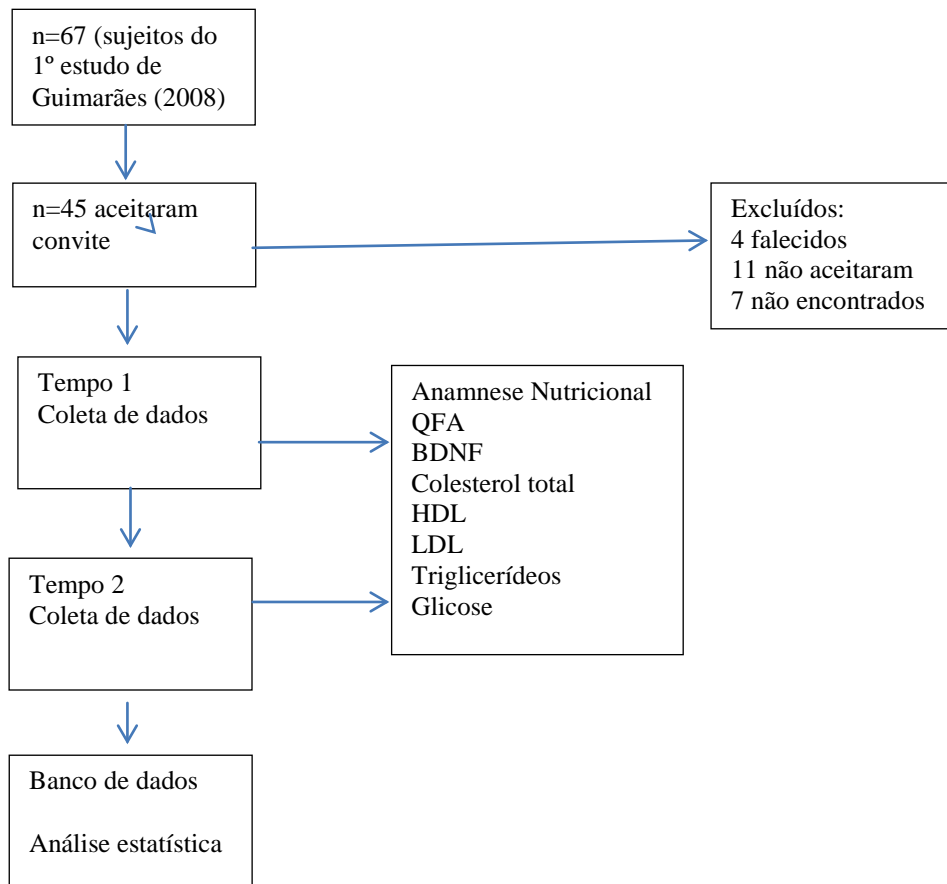
A associação entre as variáveis contínuas foi avaliada pelos coeficientes de correlação de Pearson (distribuição simétrica) ou Spearman (distribuição assimétrica).

Para controle de fatores de confusão na avaliação das variações nos níveis de BDNF, a análise de Regressão Linear Múltipla com método de extração Backward foi aplicada. O critério para a entrada da variável no modelo de regressão foi de que apresentasse um valor $p < 0,20$ na análise bivariada.

A comparação intra e inter grupos, simultaneamente, foi avaliada pelo modelo de equações de estimativas generalizadas (Generalized estimating equation model - GEE) com ajuste por Bonferroni. Este modelo foi visto como adequado para este tipo de estudo longitudinal, onde foram observadas perdas ao longo do seguimento (Guimarães and Hirakata, 2012) e possibilita a avaliação simultânea de três efeitos: a) grupo: analisa o efeito dos grupos independentemente do momento avaliado; b) tempo: analisa o efeito dos momentos avaliados independentemente do grupo; c) grupo x tempo: analisa o efeito de interação entre grupo e tempo, ou seja, se o comportamento dos grupos difere ao longo do tempo.

O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$) e as análises foram realizadas no programa SPSS versão 21.0.

Fluxograma:



4 Referências Bibliográficas

1. Altar, CA. Neurotrophins and depression. *Trends Pharmacol Sci* 1999;20(2):59-61.
2. Amminger G., et al., *Long-chain w-3 Fatty Acids for Indicated Prevention of Psychotic Disorders*. *Arch Gen Psychiatry*, 2010. 67: p. 146 - 154.
3. American Diabetes Association; American Psychiatric Association; American Association of Clinical Endocrinologists; North American Association for the Study of Obesity. Consensus Development Conference on Antipsychotic Drugs and Obesity and Diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:596-601.
4. American Psychiatric Association. 1994. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th Ed. Washington DC: American Psychiatric Association.
5. Angelucci, F; Mathe, AA; Aloe, L. Neurotrophic factors and CNS disorders: finding in rodent models of depression and schizophrenia. *Prog Brain Res*. 2004; 146: 151-165.
6. Angelucci, F; Aloe, L; Vasquez, PJ; Mathé, AA. Eletroconvulsive stimuli alter nerve growth factor but not brain-derived neurotrophic factor concentrations in brains of a rat model of depression. *Neuropeptides* 2003; 37:51-56.
7. Araya AV and Orellana EX. Evaluation of the effect of caloric restriction on serum BDNF in overweight and obese subjects: preliminary evidences. 2008. Jaime Espinoza *Endocr DOI* 10.1007/s12020-008-9090-x
8. Barde, YA. Neurotrophins: a family of proteins supporting the survival of neurons. *Prog Clin Biol Res* 1994; 390:45-56.
9. Birkenaes, AB; Opjordsmoen, S; Brunborg, C; engh, JÁ; Jonsdottir, H; Ringen, PA, et al. The level of cardiovascular risk factors in bipolar disorder equals that of schizophrenia: a comparative study. *J Clin Psychiatry*. 2007; 68(6):917-23.
10. Callegari-Jacques, SM. *Bioestatística princípios e aplicações*. Porto Alegre, Artmed: 2008.
11. Cerqueira Filho, EA; Arandas,FS; Oliveira, IR; Sena, EP. Dislipidemias e antipsicóticos atípicos. *J BrasPsiquiatr*. 2006; 55(4):296-307.
12. Chen, B; Dowlatshahi, D; Macqueen, GM; Wang, JF; Young, LT. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Soc. Biol. Psychiatry* 2001; 4:260-265.
13. Connor, B; Young, D; Yan, Q; Faull, RL; Synek, B; Draugunow, M. Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Mol Brain Res* 1997; 3; 49 (1-2): 71-81.

14. Coppen, A., S and Bolander-Gouaille, C. Treatment of depression: time to consider folic acid and vitamin B12. *J Psychopharm.*, 19, 59-65, 2005.
15. Coppen A, Swade C, Jones SA, Armstrong RA, Blair JA, Leeming RJ. Depression and tetrahydrobiopterin: the folate connection. *J Affect Disord.* 1989 Mar-Jun;16(2-3):103-7.
16. Djukic, A. Folate-responsive neurologic diseases. *Pediatr Neurol.*, 37, 387-397, 2007.
17. Duan, W., Guo, Z., Jiang, H., Ware, M. & Mattson, M.P.. Reversal of behavioral and metabolic abnormalities, and insulin resistance syndrome, by dietary restriction in mice deficient in brain-derived neurotrophic factor. *Endocrinology.* 2003 Jun; 144(6):2446-53
18. Elkis, Helio et al. Consenso Brasileiro sobre antipsicóticos de segunda geração e distúrbios metabólicos. *Ver. Bras. Psiquiatr.* 2008; 30(1):77-85.
19. Gama, CS, Andreazza , AC, Kunz, M, Berk, M, Belmonte-de Abreu, PS, Kapczinski, F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neuroscience Letters* 2007; 420(1), 45-48.
20. Gama, CS; Salvador, M; Andreazza, AC; Kapczinski, F; Belmonte-de-Abreu, PS. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia; a study of patients treated with haloperidol or clozapine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2006; 30(3):512-15.
21. Gama, CS; Salvador, M; Andreazza, AC; Lobato, MI; Kapczinski, F; Belmonte-de-Abreu, PS. Elevated serum thiobarbituric acid reactive substances in clinically symptomatic schizophrenic males. *Neuroscience Letter.* 2008; 433:270-273.
22. Gervasoni, N; Aubry, JM; Bondolfi, G; Osiek, C; Schwald, M; Bertschy, G; Hashimoto, K; Shimizu, E; Iyo, M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res. Rev.* 2004; 45:104-114.
23. Guimarães, LSP & Hirakata, VN. Uso do Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas na Análise de Dados Longitudinais. *Rev HCPA* 2012; 32 (4): 503-511.
24. Guimarães, LR; Felice, N J, Gama, CS, Berk, M , Leitão-Azevedo, CL, Guerra Belmonte de Abreu, M, Lobato, MI , Andreazza, A C, Ceresér, KM, Kapczinski, F, Belmonte-de-Abreu, P. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia on a hypocaloric diet. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32 (2008) 1595–1598
25. Hashimoto, K; Shimizu,E; Iyo M. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Res Rev* 2004;45(2):104-14.
26. Hashimoto, K., Koizumi, H., Nakazato, M., Shimizu, E. & Iyo, M. Role of brain-derived neurotrophic factor in eating disorders: recent findings and its

pathophysiological implications. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2005; 29, 499-504

27. Henderson, DC; Nguyen, DD; Copeland, PM; Hayden, DL; Borba, CP; Louie, PM; et al. Clozapine, diabetes mellitus, hyperlipidemia and cardiovascular risks and mortality: results of a 10-year naturalistic study. *J Clin Psychiatry*. 2005; 66(9): 1116-21.

28. Hedelin, M., et al., *Dietary intake of fish, omega-3, omega-6, polyunsaturated fatty acids and vitamin D and the prevalence of psychoticlike symptoms in a cohort of 33000 women from the general population*. *BMC Psychiatry*, 2010. **10**(38).

29. Herken, H; Uz, E; Ozyurt, H; Sogut, S; Virit, O; Akyol, O. Evidence that the activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes and the products of forms of schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2001; 6(1):66-73.

30. Iskandar, B.J., Nelson, A., Resnick, D., Pate Skene, J.H., Gao, P., Johnson, C., Cook, T.D., Hariharan, N. Folic acid supplementation enhances repair of the adult central nervous system. *Ann Neurol.*, 56, 221-227, 2004.

31. James, S.J., Cutler, P., Melnyk, S., Jernigan, S., Janak, L., Gaylor DW., Neubrandner, J. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism^{1,2}. *Am J Clin Nutr* December 2004 vol. 80 no. 6 1611-1617.

32. Kaye, W.H., Frank, G.K., Bailer, U.F., Henry, S.E., Meltzer, C.C., Price, J.C., Mathis, C.A. & Wagner, A. Serotonin alterations in anorexia and bulimia nervosa: new insights from imaging studies. *Physiol. Behav.*, 2005; 85, 73-81

33. Kobayashi, K, Shimizu, E, Hashimoto, K, Mitsumon, M, Koike, K, Okamura, N, Koizumi, H, Ohgake, S, Matsuzawa, D, Zhang, L, Nakazato, M, Iyo, M. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in patients with panic disorder: as a biological predictor of response to group cognitive behavioral therapy. *Progress in Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29(5):658-663.

34. Koizumi, H., Hashimoto, K., Iyo, M.. Dietary restriction changes behaviours in brain-derived neurotrophic factor heterozygous mice: role of serotonergic system. *European Journal of Neuroscience*, Vol. 24, pp.2335-2344, 2006

35. Lebrun, B., Bariohay, B., Moyse, E., Jean, A. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: A minireview. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 126-127 (2006) 30-38

36. Lee, J., Duan, W., Long, JM., Ingram, DK., Mattson, MP., Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression, in the dentate gyrus of rats. *J MOL Neurosci* 2000 Oct; 15(2):99-108

37. Lommatzsch, M., Zingler, D., Schuhbaeck, K., Schloetcke, K., Zingler C., Schuff-Werner, P. & Virchow J.C. The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiology of Aging* 26 (2005) 115-123
38. Mahadik, SP; Evans, D; Lal, H. Oxidative stress and role of antioxidante and ômega-3 essential fatty acid supplementation in schizopenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2001; 25(3):463-493.
39. Mattson, M.P. Energy intake, meal frequency, and health: a neurobiological perspective. *Annu. Rev. Nutr.*, 2005; 25, 237-260
40. Mattson, M.P., Shea, T.B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Neuroscience*, 26, 137-146, 2003.
41. McNULTY, H. Folate requirements for health in different population groups. *Brit J Biomed Sci.*, 52, 110–119, 1995.
42. Meredith GE, Callen S, Scheuer DA. Brain-derived neurotrophic factor expression in increased in the rat amygdale, piriform cortex and hypothalamus following repeated amphetamine administration. *Brain Res*. 2002; 949: 218-227.
43. Monteleone, P., Fabrazzo, M., Martiadis, V., Serritella, C., Pannuto, M. & Maj, M. Circulating brain-derived neurotrophic factor is decreased in women with anorexia and bulimia nervosa but not in women with binge-eating disorder: relationship to co-morbid depression, psychopathology and hormonal variables. *Psychol. Med.* 2005; 35, 897-905
44. Nakazato, M; Hashimoto, K; Shimizu, E; Kumakiri, C; Koizumi, H; Okamura, N, et al. Decreased level of serum brain-derevid neurotrophic factor in female patients with eating disorders. *Biol Psychiatr* 2003;54(4):485-90.
45. Nakata K, Ujike H, Sakai A, Uchida N, Nomura A, Imamura T, Katsu T, Tanaka Y, Hamamura T, Kuroda S. Association study of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene with bipolar disorder. *Neurosc. Letters* 2003; 337:17-20.
46. Ramaekers V ; Blau, N. Cerebral folate deficiency. *Dev Med Child Neurol.*, 46, 843-51, 2004.
47. Said, Q; Marx, CM; Schwartz, JS; Ben-Joseph, R; Brixner, DI. Impact of body mass index on the incidence of cardiometabolic risk factors in ambulatory care settings over 5 years or more. *Value health*. 2010;13(2);265-72.
48. Sinn, N., C. Milte, and P.R. Howe, *Oiling the brain: a review of randomized controlled trials of omega-3 fatty acids in psychopathology across the lifespan*. *Nutrients*, 2010. 2(2): p. 128-70.
49. Sposito, AC; Caramelli, B; Fonseca, FAH; bertolami, MC; Afiune, NA; Souza, AD; et al. IV Diretriz Brasileira Sobre as Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose:

Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol. 2007;88(supl1)2-19.

50. Stanek K et al. Serum Brain-derived Neurotrophic Factor is Associated with Reduced Appetite in Healthy Older Adults. 2008 PMID: 18309438 [PubMed - in process]

51. Tan YL, Zhou DF, Cao LY, Zou YZ, Zhang XY. Decreased BDNF in serum of patients with chronic schizophrenia on long-term treatment with antipsychotics. Neurosc. Lett. 2005; 382:27-32.

52. Tsai SJ. Is mania caused by overactivity of central brain-derived neurotrophic factor? Med. Hypotheses 2004; 62:19-22.

53. Wagner, C. Biochemical role of folate. In: BAILEY, L.B. (ed). Cellular metabolism. Folate in Health and Disease. New York: Marcel Dekker, 1995. p.23-42.

54. Weiden, PJ; Mackell, JÁ; McDonnell, DD. Obesity as a risk factor for antipsychotic noncompliance. Schizophr Res. 2004;66(1):51-7.

55. Volchegorskii, IA; Mester, NV. The influence of 3-oxypyridine antioxidants on depression in patients with diabetes mellitus. Klin Med (Mosk). 2007; 85(2): 40-45.

56. Yanik, M., et al., *Plasma Manganese, Selenium, Zinc, Copper, and Iron Concentrations in Patients with Schizophrenia*. Biological Trace Element Research, 2004. 98(0163-4984): p. 109-117.

57. Zanolla AF, Olinto MTA, Henn RL, Wahrlich V, dos Anjos, LA. Avaliação de reprodutibilidade e validade de um questionário de frequência alimentar em adultos residentes em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 25(4):840-848,abr, 2009.

58. Zendegs, J.C.S., G.D. Pimentel, and M.R. Priel, *Ácidos graxos ômega 3 e tratamento da esquizofrenia*. Rev Psiq Clin, 2010. 37(5): p. 223 - 227.

59. Zhang, XY; Tan, YL; Zhou, DF; Cao, LY; Wu, GY; Xu, Q; Shen, Y; Haile, CN; Kosten, TA; Kosten TR. Serum BDNF levels and weight gain in schizophrenic patients on long-term treatment with antipsychotics. J Psych Res 2007; 41(12): 997-1004.

60. Zhang, XY, et al. Serum BDNF levels and weight gain in schizophrenic patients on long-term treatment with antipsychotics. *Journal of Psychiatric Research* xxx (2006) xxx-xxx

61. Zortéa, K; Bock, PM; Moreno, DB; Belmonte-de-Abreu. Avaliação antropométrica e bioquímica em pacientes com esquizofrenia usuários de clozapina. Rev Nutr. 2009;22(5):697-705.

RESULTADOS¹

Change in the nutritional profile of schizophrenic outpatients on 24-month nutritional monitoring

Lísia Rejane Guimarães^a, Carmen Lúcia Leitão-Azevedo^a, Karine Zortéa^a, Lenise Petter Francesconi^a, Clarissa Severino Gama^{a,b,c,d}, Paulo Silva Belmonte-de-Abreu^{a,b,c,d}

^a*Programa de Pós-Graduação em Medicina: Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil*

^b*Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil*

^c*Schizophrenia Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil*

^d*INCT for Translational Medicine, Brazil*

Abstract

In order to compare the nutritional profile of schizophrenic patients on nutritional monitoring (diet) and schizophrenic patients with no nutritional monitoring (no diet), 45 patients aged 18-50 years old from the Schizophrenia and Dementia Program at a major teaching hospital in Porto Alegre, Brazil (*Hospital de Clínicas de Porto Alegre*) were assessed for 2 years. At the end of the study, 3 groups were found: (a) group A, on continued diet at both assessments; (b) group B, on diet at some moment of the study and (c) group C, with no diet at both assessments along the study. Group C significantly reduced the consumption of calories (interaction effect; $p=0.003$), saturated fatty acids (interaction effect; $p=0.027$), polyunsaturated fatty acids (interaction effect; $p=0.024$), magnesium (interaction effect; $p<0.001$), iron (interaction effect; $p=0.001$), fibers (interaction effect; $p=0.034$), folic acid (interaction effect; $p=0.004$) and zinc (interaction effect; $p=0.006$) from one year to the other compared to the other groups. Regarding the reduction in caloric intake and the other macro and micronutrients in this group, one can assume that, although there was no formal nutritional intervention in this group, there was a change in the eating habits of these individuals when undergoing nutritional assessment questionnaires and the food frequency questionnaire (FFQ).

Introduction

The nutritional treatment plays an important role in mental health, once the brain needs macro and micronutrients for its development and functioning⁽¹⁾. Minerals like magnesium (Mg), iron (Fe), copper (Cu), zinc (Zn), selenium (Se) and calcium (Ca) are responsible for the body's biochemical balance and their levels are altered in individuals with schizophrenia⁽²⁾.

Several studies have been showing metabolic alterations in schizophrenia, with the presence of overweight and obesity in 40-60% of these individuals, and their cardiovascular risk factors are approximately twice as high compared to the general population^(3,4). A higher incidence of diseases like diabetes, dyslipidemia and metabolic syndrome has been observed in this population and they are closely related to the development of cardiovascular diseases (CVD)⁽⁵⁾, as well as the high prevalence of independent risk factors, such as hypertension and smoking^(4,6).

This study aims at comparing the nutritional profile of schizophrenic patients who received continued nutritional monitoring (diet) and schizophrenic patients without nutritional monitoring (no diet), through the FFQ⁽⁷⁾ to verify macro and micronutrients ingested.

Method

Forty-five patients between 18 and 50 years old were assessed during 2 years, coming from the old from the Schizophrenia and Dementia Program at a major teaching hospital in Porto Alegre, Brazil - *Hospital de Clínicas de Porto Alegre*, in which 22 patients received continued nutritional monitoring (diet) and 23 did not (no diet). The study used a convenience sample (Guimarães et al., 2008). Patients' age, gender and use of neuroleptics were assessed. Patients underwent anthropometric nutritional assessment and nutritional anamnesis, applying the FFQ to verify the diet's nutritional quality. All patients signed the informed consent after being informed about the study, its risks and functioning characteristics. Patients were observed during a period of 2years. At the end of the study, 3 groups were found: (a) group A, on continued diet at both assessments; (b) group B, on diet at some moment in the study and (c) group C, with no diet at any assessment along the study. All patients had two samples of each variable in the study: weight, age, body mass index (BMI), percentage of body fat (%BF), waist and hip circumference (WC and HC, respectively), type, dose and time of medication use, physical activity, diet and FFQ results. Data collection and assessment were performed by trained dieticians. FFQ data were typed onto the EpiData software for the calculation of macro and micronutrients. Neuroleptics dose was converted into equivalent doses of chlorpromazine for analyses. Afterwards, all data obtained were inserted onto SPSS version 21.0.

Data Analysis

Continuous variables were described by mean and standard deviation or median and interquartile range. Categorical variables were described by absolute and relative frequencies.

To compare means between groups, t-student test or Variance Analysis (ANOVA) were applied. In case of asymmetry, Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used.

Pearson chi-square test or Fisher exact test were applied to compare proportions. In case of statistic significance, adjusted residuals test was used, according to Callegari-Jacques (2008)⁽⁹⁾.

The association between the continuous variables was assessed by the Pearson correlation coefficient (symmetrical distribution) or Spearman correlation coefficient (asymmetrical distribution).

The significance level adopted was 5% ($p \leq 0.05$) and the analyses were performed by the SPSS software version 2.1.

Results

The characterization of the 3 groups studied, their co-morbidities and use of medication are described in tables 1, 2 and 3, respectively.

Table 1 – Demographic profile of the studied groups

Variables	Group A (diet at both assessments) (n=19)	Group B (diet in one moment) (n=6)	Group C (no diet at both assessments) (n=20)	P
Age (years) – mean ± SD	42.4 ± 8.6	44.1 ± 8.3	41.7 ± 8.1	0.816*
Gender – n(%)				0.182**
Male	13 (68.4)	6 (100)	17 (85.0)	
Female	6 (31.6)	0 (0.0)	3 (15.0)	
Race – n(%)				0.354**
White	16 (84.2)	6 (100)	19 (95.0)	
Non-white	3 (15.8)	0 (0.0)	1 (5.0)	
Children – n(%)				0.712**
Yes	2 (10.5)	0 (0.0)	2 (10.0)	
No	17 (89.5)	6 (100)	18 (90.0)	
Occupation – n(%)				0.166**
Does not work	12 (62.3)	3 (50.0)	9 (45.0)	
Retired	5 (26.3)	3 (50.0)	4 (20.0)	
Works	2 (10.5)	0 (0.0)	7 (35.0)	
Education – n(%)				0.236**
Illiterate	1 (5.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Elementary	8 (42.1)	2 (33.3)	9 (45.0)	
High School	5 (26.3)	4 (66.7)	10 (50.0)	
Graduate	5 (26.3)	0 (0.0)	1 (5.0)	
Marital Status – n(%)				0.621**
Single	18 (94.7)	6 (100)	19 (95.0)	
Divorced	1 (5.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Widowed	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.0)	
Smoking(%)				0.005**
Non-smoker	11 (57.9)	1 (16.7)	12 (60.0)	
Smoker	8 (42.1)	3 (50.0)	8 (40.0)	
Former smoker	0 (0.0)	2 (33.3) [#]	0 (0.0)	
Time of nutritional monitoring (months) – md (P25 – P75)	82 (48 – 94)	5.5 (2.3 – 51)	-	0.003***
Hours of sleep – mean ± SD	10.7 ± 2.2	11.7 ± 1.7	10.5 ± 2.7	0.540*
Physical Activity – n(%)				0.010**
Yes	14 (73.7) [#]	3 (50.0)	5 (25.0)	
No	5 (26.3)	3 (50.0)	15 (75.0) [#]	

* Variance Analysis (ANOVA); ** Pearson Chi-square test; *** Mann-Whitney Test
[#]statistically significant association by the adjusted residual test at 5% significance

Table 2 – Group Comorbidities

Variables	Group A (diet at both assessments) (n=19)	Group B (diet at some moments) (n=6)	Group C (no diet at both assessments) (n=20)	p [*]
Type 1 DM	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
Type 2 DM	4 (21.1)	0 (0.0)	2 (10.0)	0.351
HBP	4 (21.1)	0 (0.0)	3 (15.0)	0.461
Dyslipidemia	7 (36.8)	4 (66.7)	5 (25.0)	0.172
Obesity	3 (15.8)	1 (16.7)	2 (10.0)	0.840
Lung Disease	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.0)	0.528

DM: diabetes mellitus; HBP: high blood pressure

* Pearson chi-square test

The prevalence of co-morbidities in the 3 groups is displayed in table 2, which shows that dyslipidemia is the most prevalent one in the three groups. There was no statistically significant difference between the 3 groups regarding co-morbidities.

Table 3 – Medications use among three groups

Variables	Group A (diet at both assessments) (n=19)	Group B (diet in one moment) (n=6)	Group C (no diet at both assessments) (n=20)	p
Type of neuroleptic – n(%)				0.252*
Typical	6 (31.6)	0 (0.0)	3 (15.0)	
Atypical	1 (5.3)	0 (0.0)	3 (15.0)	
Clozapine	11 (57.9)	5 (83.3)	14 (70.0)	
Mixed	1 (5.3)	1 (16.7)	0 (0.0)	
Equivalent dose of chlorpromazine (mg) mean ± SD	421 ± 198	600 ± 200	510 ± 223	0.164**
Time using the drug (months) md (P25 – P75)	60 (24 – 99)	108 (78 – 120)	96 (60 – 120)	0.156***
Age at start of medication use (years)md (P25 – P75)	23 (19 – 27)	18.5 (17.8 – 26.5)	18.5 (17 – 24)	0.437***

* Pearson chi-square test; ** Variance Analysis (ANOVA); *** Kruskal-Wallis Test

The most frequent medication used in all groups was clozapine, accounting for over 50% of the medications used by the patients (table 3). The median for time of medication use was 5, 8 and 9 years in the Groups A, B and C, respectively. The median for age at the start of medication use was around 18 in groups B and C and 23 in group A. There was no statistically significant difference between groups regarding the medications assessed.

Table 4 presents the anthropometric data per group and moments assessed.

Regarding weight and BMI, although groups B and C have reduced values (time effect; $p=0.020$ e $p=0.017$, respectively), only group B presented significant reduction when compared to the other groups (interaction effect; $p<0.001$).

In addition, group B also presented significant reduction in % BF from one year to the next (interaction effect; $p=0.013$), which did not occur in the other groups.

Regarding WC, group C significantly reduced values from one year to the next (interaction effect; $p=0.026$).

Concerning waist-to-hip ratio (WHR), group B presented significantly higher scores than the other groups in the 1st and 2nd assessment (group effect; $p<0.001$).

Table 4 Comparison of anthropometric parameters between groups and their measurements

Variables	Group A (diet at both assessments)	Group B (diet at some moments)	Group C (no diet at both assessments)	P group x time	p _{time}	p _{group}
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD			
Weight (kg)				<0.001	0.020	0.886
Basal	78.2 ± 3.7	84.3 ± 6.6*	82.1 ± 3.8			
1-Year	79.5 ± 3.8	80.8 ± 7.1	78.8 ± 4.7			
BMI (kg/m ²)				<0.001	0.017	0.543
Basal	27.6 ± 1.1	29.0 ± 2.1*	26.6 ± 1.1			
1-Year	27.8 ± 1.1	27.8 ± 2.3	25.8 ± 1.3			
WC (cm)				0.026	0.097	0.413
Basal	96.5 ± 3.3	105.2 ± 3.6	100.4 ± 3.2*			
1-Year	97.8 ± 3.5	103.0 ± 5.0	95.9 ± 3.9			
WHR				0.262	0.892	<0.001
Basal	0.95 ± 0.02	1.06 ± 0.02	0.98 ± 0.02			
1-Year	0.97 ± 0.03	1.06 ± 0.01	0.97 ± 0.02			
% BF				0.013	0.310	0.081
Basal	29.2 ± 1.4	27.9 ± 1.2*	24.6 ± 1.5			
1-Year	33.8 ± 4.0	26.1 ± 1.8	26.1 ± 1.9			

BMI: body mass index; WC: waist circumference; WHR: waist-to-hip ratio; BF: body fat

* there was significant reduction (p<0.05)

The comparisons between the micronutrients and macronutrients consumed between the groups at both assessments are presented in table 5 (a and b).

Group C significantly reduced the consumption of calories (interaction effect; p=0.003), saturated fatty acids (interaction effect; p=0.027), polyunsaturated fatty acids (interaction effect; p=0.001), fibers (interaction effect; p=0.034), folic acid (interaction effect; p=0.004) and zinc (interaction effect; p=0.006) from one year to the next when compared to the other groups.

Group B significantly reduced the percentage of carbohydrates from one year to the next (interaction effect; p=0.001), when compared to the other groups.

Regarding zinc, group B presented significantly higher zinc values than the other groups along the two years studied (group effect; p=0.024).

It is also important to highlight that there was reduction in the consumption of calories in all groups (time effect; p=0.004).

Group B also increased the consumption of total cholesterol from one year to the next, while group A maintained the same consumption along the two years and group C reduced it significantly from one year to the next (interaction effect; p=0.020).

Group B had a significant increase in the consumption of vitamin B12 from one year to the next (interaction effect; $p=0.022$), when compared to the other groups. This increase led to significantly higher vitamin B12 values in this group, when compared to the other groups (group effect; $p=0.012$).

There was sodium reduction in all groups (time effect; $p=0.021$). However, this reduction was even higher in group C and statistically significant (interaction effect; $p<0.001$). It is noteworthy that the group on diet A showed significantly lower sodium consumption than the other groups along the two years assessed (group effect; $p=0.048$).

Table 5a – Comparison between the consumption of micronutrients and macronutrients between groups at both assessments through the Generalized Estimating Equation Model - GEE

Variables	Group A (diet at both assessments)	Group B (diet in one moment)	Group C (no diet)	P group X time	P time	P _{group}
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD			
Calories (Kcal)				0.003	0.004	0.234
Basal	2862 ± 199	3459 ± 393	3609 ± 411*			
1-Year	2664 ± 166	3263 ± 389	2570 ± 224			
Carbohydrates (%)				0.001	0.284	0.522
Basal	55.6 ± 2.0	54.3 ± 4.9*	56.7 ± 1.8			
1-Year	55.0 ± 1.5	50.5 ± 2.5	56.5 ± 2.1			
Protein (%)				0.066	0.139	0.124
Basal	15.8 ± 0.8	18.5 ± 1.3	15.8 ± 0.6			
1-Year	17.4 ± 0.8	19.2 ± 1.5	16.8 ± 1.0			
Lipids (%)				0.700	0.227	0.861
Basal	22.3 ± 1.1	22.7 ± 3.5	23.1 ± 1.2			
1-Year	23.6 ± 0.9	24.6 ± 1.6	24.1 ± 1.5			
Saturated fatty acids (g)				0.027	0.057	0.170
Basal	22.9 ± 2.3	31.4 ± 6.9	28.5 ± 4.1*			
1-Year	20.2 ± 1.8	30.5 ± 4.0	21.7 ± 2.5			
Monounsaturated fatty acids (g)				0.062	0.222	0.565
Basal	23.9 ± 2.1	27.8 ± 6.0	29.1 ± 3.7			
1-Year	23.0 ± 2.6	30.2 ± 4.6	21.8 ± 2.8			
Poliunsaturated fatty acids (g)				0.024	0.072	0.441
Basal	10.4 ± 0.9	12.4 ± 2.3	14.1 ± 2.1*			
1-Year	9.9 ± 0.9	12.0 ± 2.2	8.8 ± 1.0			
Magnesium (mg)				<0.001	0.263	0.349
Basal	355.2 ± 27.8	415 ± 80.8	405.5 ± 33.5*			
1-Year	381.8 ± 44.0	407.5 ± 28.9	277.4 ± 22.3			
Iron (mg)				0.001	0.253	0.148
Basal	12.2 ± 1.01	20.8 ± 6.3	15.1 ± 1.5*			
1-Year	12.3 ± 1.04	17.1 ± 2.5	10.6 ± 0.9			
Zinc (mg)				0.006	0.842	0.024
Year1	13.4 ± 1.3	21.1 ± 3.6	14.9 ± 1.4*			
Year2	12.2 ± 1.5	24.7 ± 5.2	11.4 ± 1.1			

* significant reduction ($p<0.05$); **there was significant increase ($p<0.05$)

Tabela 5b – Comparison of micronutrients and macronutrients between groups in both measurements through Generalized Estimating Equation model - GEE

Variables	Group A (diet at both assessments)	Group B (diet at some moments)	Group C (no diet at both assessments)	p X time	P time	P group
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD			
Total cholesterol (mg)				0.020	0.843	0.072
Basal	285.2 ± 31.0	398.7 ± 88.5**	406.3 ± 54.7*			
1-Year	285.2 ± 37.0	517.5 ± 86.5	304.3 ± 33.6			
Total fibers (g)				0.034	0.204	0.867
Basal	38.9 ± 3.7	39.2 ± 6.5	44.6 ± 4.1*			
1-Year	39.2 ± 3.4	43.2 ± 5.5	31.3 ± 2.9			
Calcium (mg)				0.332	0.465	0.923
Basal	945.9 ± 64.0	1026 ± 150.6	1238 ± 245			
1-Year	1140 ± 108	967.2 ± 121.9	876.5 ± 103.2			
Vitamin B12 (µg)				0.022	0.129	0.012
Basal	7.23 ± 0.87	7.79 ± 2.00**	8.79 ± 1.15			
1-Year	7.95 ± 0.98	16.3 ± 3.15	6.82 ± 0.98			
Folic acid (µg)				0.004	0.552	0.271
Basal	713.9 ± 51.8	831.0 ± 105.7	832.6 ± 77.8*			
1-Year	767.5 ± 65.2	945.9 ± 112.0	581.9 ± 48.3			
Vitamin D (mg)				0.319	0.280	0.553
Basal	5.48 ± 0.86	7.84 ± 3.09	9.21 ± 1.70			
1-Year	9.07 ± 3.05	6.97 ± 3.13	11.1 ± 3.23			
Vitamin E (mg)				0.816	0.641	0.973
Basal	6.14 ± 0.84	5.99 ± 0.97	6.26 ± 0.76			
1-Year	5.59 ± 0.59	6.34 ± 1.65	5.70 ± 0.77			
Vitamin C (mg)				0.504	0.166	0.481
Basal	257.7 ± 42.7	216.8 ± 69.6	203.2 ± 33.2			
1-Year	194.7 ± 31.0	203.7 ± 53.9	164.6 ± 21.1			
Vitamin A (mg)				0.600	0.457	0.870
Basal	965.8 ± 124.9	855.9 ± 217.4	945.8 ± 100.7			
1-Year	934.8 ± 125.0	1165 ± 114.3	901.2 ± 148.9			
Sodium (mg)				<0.001	0.021	0.048
Basal	2694 ± 187.1	4278 ± 605.2	4045 ± 501.0*			
1-Year	3125 ± 215.3	3415 ± 320.0	2578 ± 162.7			
Selenium (µg)				0.058	0.104	0.236
Basal	145.7 ± 18.6	191.4 ± 23.7	180.4 ± 24.7			
1-Year	141.1 ± 11.6	177.0 ± 28.0	128.4 ± 10.6			

* significant reduction (p<0.05); ** significant increase (p<0.05)

Discussion

Regarding occupation, only 10.5% of group A and 35.0% of group C were working at the early period of the study (p=0.236). These results are supported by studies⁽¹⁰⁾ that showed that the educational and professional development of these patients tends to be affected by the pathology and these individuals will have difficulty to go to college or even finish their studies or take jobs that demand more responsibility. As a result, the socio-economical status of these patients is reduced.

The mean number of sleep hours was similar in groups A, B and C (10.7; 11.7; and 10.5, respectively; p=0.540). Generally speaking, atypical antipsychotic drugs increase the total time of sleep and its efficiency. Based on the pharmacological profile, risperidone, olanzapine, ziprasidone and clozapine also have important sedative effects, and daytime sleepiness is the most common side effect of clozapine⁽¹¹⁾. The substitution of a classic antipsychotic drug for an atypical one seems to be related to better quality of sleep and improvement of negative symptoms. However, the study data suggest atypical antipsychotic drugs are related to a higher frequency of metabolic alterations.

There was significant difference between the groups regarding physical exercise ($p=0.005$). Exercising was more frequent in the group on diet in hole period (72.7% vs 26.1%). Physical activity adds to the treatment, attempting to reduce symptoms. Besides directly influencing general health, it also impacts on the feeling healthy aspect, once lack of motivation and apathy are quite common in schizophrenic patients, especially after positive symptoms cease⁽¹³⁾. Physical activity controls stress levels and diseases such as obesity, coronary diseases and diabetes, and also positively influences the individual's functional aptitude⁽¹⁴⁾.

One may infer that the group on diet, due to their commitment to the nutritional treatment, was more willing to exercise as a support to the treatment. Within this context, there would be an interaction of emotional, physical, psychological and social factors, and weight loss would change patients' self-esteem and social activity, consequently increasing quality of life⁽¹⁵⁾. The authors suggest the need for a direct measure of self-esteem and quality of life with a prospective follow-up in order to measure these changes.

In the final study, the time of nutritional monitoring was significantly longer in group A when compared to group B ($p=0.003$). This can be explained by the fact that the group on diet had been on nutritional monitoring before joining the study, while the group on diet at some moment of the study was on diet at the first moment or the end of the study, having a shorter time of monitoring.

Regarding the intake of zinc, group B presented significantly higher scores than the other groups along the two years of study ($p=0.024$). Independent group effect was observed at the moment assessed. One might assume that caloric reduction without technical supervision can lead to increased intake of protein-rich feed (meat) to the detriment of carbohydrates, which represents an important source of zinc. It is important to highlight that, in fetal development; deficiency in Zn may promote neurological anomalies with alterations in the structure and/or brain functioning. Therefore, it is necessary to keep adequate Zn plasma concentrations.

There was a reduction in the consumption of calories in all groups ($p=0.004$). Here the time effect is observed, and there was an effect regarding the moment assessed – the application of the questionnaires and the nutritional assessment interfered with the groups somehow so that they reduced the number of calories ingested. Group A seems to have remembered the nutritional guidance and the others (B and C) underwent technical intervention when interviewed, being in touch with questions that made them think about their eating habits. One may state that this reduction in calories is beneficial for the groups, once the excess of calories may reduce the synaptic plasticity and increase the vulnerability of cell damage^(16, 17).

Concerning the consumption of total cholesterol, the groups had different behavior along observation. Group B increased the consumption of total cholesterol from one year to the next, group A maintained the same consumption along the two years and group C significantly reduced it from one year to the next (interaction effect; $p=0.020$). Group A maintained the same consumption, which was expected, once they were on diet during all the study. Group C reduced total cholesterol significantly, possibly due to their simultaneous significant reduction in calories, therefore, reducing the intake of the other macro and micronutrients.

Group B had a significant increase in the consumption of vitamin B12 from one year to the next (interaction effect; $p=0.022$), when compared to the other groups. This increase led to significantly higher B12 scores when compared to the other groups (group effect; $p=0.012$). The increase in the intake of this vitamin may have been due to the fact that this group had been on diet at some moment and had improved the quality of their eating, although these values did not reach the recommended levels of $24\mu\text{g/day}$ for adults.

There was a reduction in the intake of sodium in all groups (time effect; $p=0.021$) and in group C this reduction was even higher and statistically significant (interaction effect; $p<0.001$). It is noteworthy that group A showed a significantly lower consumption of sodium than the other groups in the two years assessed (group effect; $p=0.048$). The reduction in sodium intake can be attributed to a change in society regarding the consumption of salt on the diet, once several research lines pointed to risk factors for hypertension and cardiovascular disease, fluid retention and overload related to high salt ^(18,19). The World Health Organization (WHO) recommends low-sodium consumption ⁽¹⁸⁾, 2 grams per day (additional sodium). Studies reveal that food considered “harmless” contains high concentrations of sodium, such as low-sodium white cheese with average concentration of 505 mg of sodium per 100g, one quarter of the total amount recommended. It was expected from the group on diet, once the recommendations to reduce the consumption of sodium in the diet are part of the guidance and dietary prescription given by the dieticians in the program.

Group C significantly reduced the consumption of calories, saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, magnesium, iron, fibers, folic acid and zinc (interaction effect, respectively) from one year to the next when compared to the other groups.

Studies have been showing that schizophrenic patients' eating habits are poor in fibers and vitamins (source of antioxidants) and rich in fat when compared to the general population⁽²⁰⁾. Some minerals such as Mg, Fe and zinc play an important role in metabolic pathways and have altered concentrations in the plasma of schizophrenic

patients^(2,22,23). Some studies show that excess or deficiency in some of these minerals may be related to the physiopathology of schizophrenia^(2,22).

Regarding reduction in calories consumption in group C, it could be assumed that, although not receiving specific nutritional counselling, the subjects changed eating habits under influence of nutritional assessment questionnaire and FFQ. The process of stimulating and favoring reflection and insight about eating habits could per se changes in food behavior. Another explanation could be the effect of secular trends, with overall impact of media advertising and articles regarding food behavior over society. This question will deserve special attention on the follow-up, with additional questioning about impact of media over behavior.

Concerning BMI and weight changes, only group B showed significant reduction when compared to the other groups (interaction effect; $p < 0.001$). Additionally, this group also presented significant reduction in body fat from one year to the next (interaction effect; $p = 0.013$), which did not occur in the other groups. It also suggested reduced effect of diet in group A, probably because the effect is commonly observed in the beginning of food re-education, in which there is weight loss and reduction in fat percentage, encouraging the individual to undergo the treatment. Thus, the group on diet seems to suffer from loss of effect, since the participants had been on diet for a long time and the effect may have been left behind. Further studies could assess BMI data before and after starting the diet and measure time of persistence of effect of food re-education programs. This is a limitation of this study, once pre-diet data was not assessed in the group on diet.

Limitations

Major limitations could be linked to sample size and lack of healthy control group. The sample size was not formally calculated, once patients came from the Guimarães et al, 2008 study and it was a convenience sample. Another limitation is that there was no comparison to a healthy control group. Additional studies should address this limitations, with larger samples, studied over larger period of time, with a healthy control group.

References

1. Sinn, N., C. Milte, and P.R. Howe, *Oiling the brain: a review of randomized controlled trials of omega-3 fatty acids in psychopathology across the lifespan*. *Nutrients*, 2010. 2(2): p. 128-70.
2. Yanik, M., et al., *Plasma Manganese, Selenium, Zinc, Copper, and Iron Concentrations in Patients with Schizophrenia*. *Biological Trace Element Research*, 2004. 98(0163-4984): p. 109-117.
3. Birkenaes, AB; Opjordsmoen, S; Brunborg, C; engh, JÁ; Jonsdottir, H; Ringen, PA, et al. The level of cardiovascular risk factors in bipolar disorder equals that of schizophrenia: a comparative study. *J Clin Psychiatry*. 2007; 68(6):917-23.
4. Zortéa, K; Bock, PM; Moreno, DB; Belmonte-de-Abreu. Avaliação antropométrica e bioquímica em pacientes com esquizofrenia usuários de clozapina. *Rev Nutr*. 2009;22(5):697-705.
5. Henderson, DC; Nguyen, DD; Copeland, PM; Hayden, DL; Borba, CP; Louie, PM; et al. Clozapine, diabetes mellitus, hyperlipidemia and cardiovascular risks and mortality: results of a 10-year naturalistic study. *J Clin Psychiatry*. 2005; 66(9): 1116-21.
6. Cerqueira Filho, EA; Arandas,FS; Oliveira, IR; Sena, EP. Dislipidemias e antipsicóticos atípicos. *J Bras Psiquiatr*. 2006; 55(4):296-307.
7. Zanolla AF, Olinto MTA, Henn RL, Wahrlich V, dos Anjos, LA. Avaliação de reprodutibilidade e validade de um questionário de frequência alimentar em adultos residentes em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Publica*, Rio de Janeiro, 25(4):840-848,abr, 2009.
8. Guimarães, LR; Felice, N J; Gama, CS, Berk, M; Leitão-Azevedo, CL; Guerra Belmonte de Abreu, M; Lobato, MI; Andreazza, C; Ceresér, KM; Kapczinski, F; Belmonte-de-Abreu,P . Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia on a hypocaloric diet. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32 (2008) 1595–1598
9. Callegari-Jacques, SM. *Bioestatística princípios e aplicações*. Porto Alegre, Artmed: 2008.
10. Gallagher, B.J.; Jones, B.J.; McFalls, J.A.; Pisa, A.M. Social class and type of schizophrenia. *Eur Psychiatry*, n. 21, p. 233-237, 2006.
11. Afonso, P, Viveiros, V, Vinhas de Sousa, T. Alterações do sono na esquizofrenia, *Acta Med Port*. 2011; 24(s4):799-806.

12. Meyer JM, Nasrallah HA, McEvoy JP, Goff DC, Davis SM, Chakos M, Patel JK, Keefe RS, Stroup TS, Lieberman JA. The Clinical Antipsychotic Trials Of Intervention Effectiveness (CATIE) Schizophrenia Trial: clinical comparison of subgroups with and without the metabolic syndrome. *Schizophr Res.* 2005 Dec 1;80(1):9-18. Epub 2005 Aug 24.
13. Tournier M. First-episodes psychosis: clinical and epidemiological news. *Encephale.* 2013 Sep;39 Suppl 2:S74-8. doi: 10.1016/S0013-7006(13)70099-X.
14. Benedetti, F; Pollo, A; Colloca L. Opioid-Mediated Placebo Responses Boost Pain Endurance and Physical Performance: Is It Doping in Sport Competitions? *The Journal of Neuroscience,* October 31, 2007 • 27(44):11934 –11939.
15. Faulkner G, Cohn T, Remington G, Irving H. Body mass index, waist circumference and quality of life in individuals with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2007;90(1-3):174-8.
16. Vaynman S, Gomez-Pinilla F. Revenge of the "sit": how lifestyle impacts neuronal and cognitive health through molecular systems that interface energy metabolism with neuronal plasticity. *J Neurosci Res.* 2006 Sep;84(4):699-715.
17. Wu A, Ying Z & Gomez-Pinilla F. (2004). Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma* 21, 1457-1467.
18. WHO. Guideline¹: Sodium intake for adults and children. 1. Sodium, Dietary. 2. Chronic disease – prevention and control. 3. Guideline. I. World Health Organization. ISBN 978 92 4 1504483 6; 2012 (reprinted, 2014).
19. Sarno F; Claro RM; Levy RB; Bandoni DH; Ferreira SRG; Monteiro CA. Estimated sodium intake by the Brazilian population, 2002-2003. *Ver Saúde Pública* 2009; 43 (2).
20. McCreadie R, Macdonald E, Blacklock C, Tilak-Singh D, Wiles D, Halliday J, Paterson J. Dietary intake of schizophrenic patients in Nithsdale, Scotland: case-control study. *Br Med J.* 1998;317:784-5.
21. Brown, S; Birtwistle, ; Roe, L; Thompson, C. The unhealthy lifestyle of people with schizophrenia. *Psychol Med.* 1999 May;29(3):697-701.
22. Rahman, M., et al., *Zinc, Manganese, Calcium, Copper, and Cadmium Level in the Scalp Hair Samples of Schizophrenic Patients.* *Biological Trace Element Research,* 2009. 127: p. 102 - 108.

23. Wolf, TL; Kotun, J; Meador-Woodruff, JH. Plasma copper, iron, ceruloplasmin and ferroxidase activity in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2006 Sep;86(1-3):167-71. Epub 2006 Jul 13.

RESULTADOS²

Submetido para Revista Value in Health

Longitudinal study for determining BDNF and folic acid levels in schizophrenic patients with and with no diet along 2 years

Lísia Rejane Guimarães^a, Carmen Lúcia Leitão-Azevedo^a, Karine Zortéa^a, Lenise Petter Francesconi^a, Clarissa Severino Gama^{a,b,c,d}, Paulo Silva Belmonte-de-Abreu^{a,b,c,d}

^a*Programa de Pós-Graduação em Medicina: Psiquiatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil*

^b*Laboratory of Molecular Psychiatry, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil*

^c*Schizophrenia Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil*

^d*INCT for Translational Medicine, Brazil*

Abstract

Evidence shows the involvement of BDNF in the formation and regulation of the CNS and plasticity of neurotransmitters, but little is known about its action to regulate dietary intake, metabolism and body weight. This longitudinal study compared BDNF levels and the variation in the dietary intake of schizophrenic patients on nutritional monitoring to schizophrenic patients with no nutritional monitoring. This study assessed 45 patients aged 18-50 years old from the Schizophrenia and Dementia Program at a major teaching hospital in Porto Alegre, Brazil (Hospital de Clínicas de Porto Alegre) for 2 years. Three groups were analyzed: (a) group A, on continued diet at both assessments; (b) group B on diet at some moments of the study and (c) group C, with no diet at both assessments along the study. There was significant positive association between the mean equivalent medication dose and the variation in BDNF levels ($r=0.515$; $p=0.001$), i.e., the higher the mean equivalent dose, the higher the increase in BDNF levels from one year to the next. In group A, there was positive association between BMI variation ($r=0.536$; $p=0.022$), neuroleptics dose ($r=0.597$; $p=0.009$) and weight change ($r=0.608$; $p=0.007$) and the variation in BDNF levels, i.e., the higher the increase in BMI, weight and neuroleptics dose, the higher the increase in BDNF levels from one year to the next. Regarding group C, BDNF variation was

inversely and significantly associated with sodium variations ($r_s=-0.577$; $p=0.039$), fibers ($r=-0.767$; $p=0.001$), iron ($r_s=-0.635$; $p=0.015$), MFAs ($r=-0.662$; $p=0.010$), zinc ($r_s=-0.600$; $p=0.023$), SFAs ($r_s=-0.534$; $p=0.049$) and folic acid ($r=-0.729$; $p=0.003$), i.e., the higher the reduction in sodium, fibers, iron, MFAs, zinc, SFAs and folic acid, the higher the increase in BDNF levels after a 1-year follow up. In group C, only the variation in folic acid remained negatively associated with the variation in BDNF levels, i.e., the higher the folate intake, the higher the increase in BDNF levels along the time. Our results suggest the hypothesis that perhaps the BDNF regulation mechanism involves the cycle of folic acid and the reduction of calories in the diet.

Introduction

Studies suggest that BDNF modulates food intake, metabolism and weight control^(1,2). In animal models, there is evidence that the diet changes BDNF levels, besides improving glucose levels, reducing weight and increasing life expectancy^(3,4,5). In schizophrenic patients medicated with antipsychotic drugs, blood BDNF levels were reduced when compared to normal individuals^(6,7,8). On the other hand, high BDNF levels were found in chronic schizophrenic patients along the time under treatment with antipsychotic drugs⁽⁹⁾. BDNF blood levels in patients with eating disorders were significantly lower when compared to normal age-matched controls⁽¹⁰⁾. Several lines of evidence suggest that dietary restriction has a number of beneficial effects, such as the increase in life expectancy, reduction of age-related diseases and good response to stress. In addition, dietary restriction generates neuroprotective effects for neurodegenerative disorders in animal models⁽¹¹⁾.

The study of Guimarães et al. (2008)⁽¹²⁾ compared BDNF levels of schizophrenic patients with dietary restriction and with no dietary restriction. The authors found a statistically significant difference between BDNF levels in both groups, in which patients on diet showed significantly higher blood BDNF levels than those who were not on diet. The study suggests that the diet can change brain plasticity markers.

Different factors may influence the systemic and cerebral physiopathology condition negatively, such as oxidative stress, which has already been identified in the physiopathology of schizophrenia^(13,14,15). Oxidative stress produces damaging effects, with the induction of lipid peroxidation of membranes, proteins and genes⁽¹⁶⁾, which is associated with complications in the disease treatment, such as positive and negative symptoms of late dyskinesia. Within this context antioxidants may reduce depression symptoms, improve cognitive functions and quality of life⁽¹⁷⁾, positively influencing patients' social and functional well-being, which is a promising factor to promote the treatment of psychiatric diseases.

Minerals, such as magnesium (Mg), iron (Fe), copper (Cu), zinc (Zn), selenium (Se) and calcium (Ca) are responsible for maintaining the body's biochemical balance and their levels are altered in schizophrenic patients⁽¹⁸⁾. Folic acid is a complex B vitamin that acts as a co-enzyme in the metabolism of the compounds of a carbon^(19,20). Folic acid is synthesized by microorganisms and higher plants, but not by mammals, for whom it is an essential nutrient obtained from food⁽²¹⁾. The transport of folic acid through biological barriers (intestinal, choroid plexus and placental) is mainly regulated by the reduced folate carrier and by the folate receptor⁽²²⁾. The supply of folic acid to the CNS depends on appropriate transport through the blood–CNS barrier. Inside the neurons, part of the folic acid can be catabolized by oxidation to dihydrofolates (DHF), which can be converted into tetrahydrofolate (THF) by dihydrofolate reductase (DHFR)⁽²²⁾.

Folic acid can modulate neuronal repair and growth and possibly plays a neuroprotective role in CNS⁽²³⁾ damage. Besides performing several other functions in the body, such as homocysteine remethylation (high concentrations of cytotoxic aminoacid), changing it into methionine; participation in the nucleotides biosynthesis, increasing tetrahydrobiopterin biosynthesis, a coenzyme for phenylalanine and tryptophan hydroxylation in the biosynthesis of dopamine, norinephrine and serotonin⁽²⁴⁾ e, additionally prevents neural tube faults^(19,20).

The aim of this study is to deepen the knowledge on the action of BDNF on the regulation of dietary intake, metabolism and weight, although its involvement in the formation and regulation of CNS and the plasticity of neurotransmitters is already known.

Method

The study enrolled 45 schizophrenic patients between 18 and 50 years old coming from the Hospital de Clínicas de Porto Alegre who participated in the Guimarães et al. 2008 study in a convenience sample. Patients were asked to participate in the study by a phone call or phonogram, and were accompanied by a family member or companion whenever necessary. Samples were collected to verify blood BDNF levels, glucose, total cholesterol, HDL and LDL-cholesterol and triglycerides.

Patients' age, gender and type of antipsychotic drug used were assessed. Anthropometric nutritional assessment, nutritional anamnesis and the food frequency questionnaire were performed⁽²⁵⁾. All patients signed the informed consent after being informed about the study, its risks and functioning characteristics. Blood collection was performed by qualified professionals with disposable material. After collection,

biological material samples were centrifuged at 3000 rpm during 15 min and serum was separated and kept frozen at -78°C for analysis. The 45 patients were observed for a period of two years. At the first assessment, 22 patients were included in nutritional monitoring (with diet) and 23 had no nutritional monitoring (with no diet). At the end of the study they were divided into 3 groups: (a) group A, on continued diet at both assessments; (b) group B, on diet at some moment during the study and (c) group C, with no diet at any moment along the study. Therefore, patients who were no longer on diet and patients who started a diet after the first assessment were observed. All patients had samples collected at two moments, with information regarding weight, age, body mass index (BMI), fat percentage (%GC), waist and hip circumference (WC and HC, respectively), type, dose and time of medication use, physical activity, diet and results of food frequency questionnaire (FFQ). All variables were measured on the blood collection day (cholesterol, triglycerides, glucose and BDNF) or at the most 1 week before or after blood collection. Collection and patients' data assessment were performed by dieticians. FFQ data were inserted in the EpiData® software for calculation of macro and micronutrients. The dose of antipsychotic drugs was converted to equivalent doses of chlorpromazine for analysis. Afterwards, all data obtained were inserted in SPSS version 21.0. Group A was part of the nutritional program (NP) of PRODESQ, which consisted of individualized low-calorie diet, respecting the patient's characteristics (gender, age, food allergy and diseases like diabetes and dyslipidemias). Patients and family members were instructed about the diet, its objectives and the importance of changing eating habits. In this group diet was low in sugar, fat and fibers according to the recommendations of Dietary Reference Intakes (DRIs). High consumption of fruit and vegetables was proposed, with number of calories calculated through the 20-25 cal/kg current weight formula.

BDNF dosage

It was performed through ELISA, according to description by Angelucci e col. 2003⁽²⁶⁾.

Blood dosage (glucose, cholesterol and triglycerides)

Blood samples were collected after 10-hour fasting. Glucose, total cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides were analyzed by the HCPA laboratory.

Statistical Analysis

Continuous variables were described by mean and standard deviation or median and interquartile range. Category variables were described by absolute and relative frequencies.

To compare means in the groups, t-student test or Variance Analysis (ANOVA) were applied. In case of asymmetry, Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used.

Comparing ratios, Pearson chi-square and Fisher's exact tests were applied. In case of statistical significance, adjusted residual test according to Callegari-Jacques (2008)⁽²⁷⁾ was used.

The association between continuous variables was assessed by the Pearson correlation coefficient (symmetrical distribution) or Spearman (asymmetrical distribution).

In order to control confounding factors in the evaluation of BDNF levels, Multiple Linear regression with Backward extraction method was used. The acceptance criterion for the variable in the regression model was $p < 0.20$ in the bivariate analysis.

Intra and inter-group comparison was assessed by the Generalized Estimating Equation model – GEE, adjusted by Bonferroni. This model is appropriate for longitudinal studies, in which there is loss along the follow-up⁽²⁸⁾. Three effects were assessed: A) group: effect of groups regardless of moment; B) time: effect of the moments assessed, regardless of group; C) interaction group x time: whether the group's behavior differs along the time.

Significance level adopted was 5% ($p \leq 0.05$) and the analyses were performed by the SPSS version 21.0.

Results

Table 1 shows the characterization of the 3 groups at baseline.

Table 1 – Characterization of the 3 groups at baseline

Variables	Group A (diet at both assessments) (n=19)	Group B (diet at some moments) (n=6)	Group C (no diet at both assessments) (n=20)	P
Age (years) – mean \pm SD	42.4 \pm 8.6	44.1 \pm 8.3	41.7 \pm 8.1	0.816*
Male – n(%)	13 (68.4)	6 (100)	17 (85.0)	0.182**
Caucasian n(%)	16 (84.2)	6 (100)	19 (95.0)	0.354**
With children – n(%)	2 (10.5)	0 (0.0)	2 (10.0)	0.712**
Occupation – n(%)				0.166**
Does not work	12 (62.3)	3 (50.0)	9 (45.0)	
Retired	5 (26.3)	3 (50.0)	4 (20.0)	
Works	2 (10.5)	0 (0.0)	7 (35.0)	
Education – n(%)				0.236**
Illiterate	1 (5.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Elementary	8 (42.1)	2 (33.3)	9 (45.0)	
High School	5 (26.3)	4 (66.7)	10 (50.0)	
Graduate	5 (26.3)	0 (0.0)	1 (5.0)	
Marital status – n(%)				0.621**
Single	18 (94.7)	6 (100)	19 (95.0)	
Divorced	1 (5.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Widowed	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.0)	
Tobacco use – n(%)				0.005**
Smoker	11 (57.9)	1 (16.7)	12 (60.0)	
Non-smoker	8 (42.1)	3 (50.0)	8 (40.0)	
Former smoker	0 (0.0)	2 (33.3) [#]	0 (0.0)	
Time of nutritional monitoring (months) md (P25 – P75)	82 (48 – 94)	5.5 (2.3 – 51)	-	0.003***
Hours of sleep – Mean \pm SD	10.7 \pm 2.2	11.7 \pm 1.7	10.5 \pm 2.7	0.540*
Physical activity – n(%)				0.010**
Yes	14 (73.7) [#]	3 (50.0)	5 (25.0)	
No	5 (26.3)	3 (50.0)	15 (75.0) [#]	

- Variance Analysis (ANOVA); ** Pearson chi-square; *** Mann-Whitney [#] significant association by the adjusted residual test at 5% significance

Table 2 – Medications in the three groups

Variables	Group A (diet at both assessments) (n=19)	Group B (diet in one moment) (n=6)	Group C (no diet at both assessments) (n=20)	p
Type of medication – n(%)				0.252*
Typical	6 (31.6)	0 (0.0)	3 (15.0)	
Atypical	1 (5.3)	0 (0.0)	3 (15.0)	
Clozapine	11 (57.9)	5 (83.3)	14 (70.0)	
Mixed	1 (5.3)	1 (16.7)	0 (0.0)	
Clorpromazine dose (mg) – mean \pm SD	421 \pm 198	600 \pm 200	510 \pm 223	0.164**
Time of use (months) – md (P25 – P75)	60 (24 – 99)	108 (78 – 120)	96 (60 – 120)	0.156***
Age at start of medication use (years) – md (P25 – P75)	23 (19 – 27)	18.5 (17.8 – 26.5)	18.5 (17 – 24)	0.437***

* Pearson chi-square test; ** Variance Analysis (ANOVA); *** Kruskal-Wallis Test;

The most frequent medication in all groups was clozapine, accounting for 50% of the medication used by the patients (table 2). Median for time of medication use was 5, 8 and 9 years in groups A, B and C, respectively. Median for age at the start of medication use was 18 years in groups B and C and 23 years in group A. There was

no statistically significant difference between groups regarding the medications assessed.

Tables 3a and 3b show the associations between the BDNF variations and the continuous and ordinal variables studied.

In the total sample, there was significantly positive association between the mean equivalent medication dose and the variation of BDNF levels ($r=0.515$; $p=0.001$), i.e., the higher the mean equivalent dose, the higher the increase in BDNF levels from one year to the next.

In group A (diet at both assessments), there was positive association between BMI variation ($r=0.536$; $p=0.022$), antipsychotic drug dose ($r=0.597$; $p=0.009$) and weight variation ($r=0.608$; $p=0.007$) with BDNF variation, i.e., the higher the increase in BMI, weight and antipsychotic drug dose, the higher the increase in BDNF levels from one year to the other.

In group B (diet at some moment), associations with BDNF levels were not significant.

Regarding group C (with no diet), BDNF variation was inversely and significantly associated with sodium variations ($r_s=-0.577$; $p=0.039$), fibers ($r=-0.767$; $p=0.001$), iron ($r_s=-0.635$; $p=0.015$), MFAs ($r=-0.662$; $p=0.010$), zinc ($r_s=-0.600$; $p=0.023$), SFAs ($r_s=-0.534$; $p=0.049$) and folic acid ($r=-0.729$; $p=0.003$), i.e., the higher the reduction in sodium, fibers, iron, MFAs, zinc, SFAs and folic acid, the higher the increase in BDNF levels after a 2-year follow-up. Therefore, just like in the other associations, the relationship between medication dose and the variation in BDNF levels was positive and significant ($r=0.552$; $p=0.039$), and the higher the mean medication dose, the higher the increase in BDNF levels from one year to the next.

Table 3a – Associations between BDNF variations with studied variables according to Pearson or Spearman correlation coefficient

Variables	Δ BDNF – Total sample		Δ BDNF – Group A		Δ BDNF – Group B		Δ BDNF – Group C	
	Correlation coefficient	P	Correlation coefficient	P	Correlation coefficient	P	Correlation coefficient	P
ΔVitamin E	$r_s=0.023$	0.891	$r_s=0.009$	0.971	$r_s=-0.371$	0.468	$r_s=0.148$	0.629
ΔVitamin C	$r_s=0.047$	0.784	$r_s=-0.148$	0.559	$r_s=-0.314$	0.544	$r_s=0.176$	0.566
ΔVitaminA	$r_s=0.122$	0.472	$r_s=-0.263$	0.291	$r_s=0.200$	0.704	$r_s=0.511$	0.074
ΔSodium	$r_s=0.046$	0.788	$r_s=0.292$	0.240	$r_s=-0.029$	0.957	$r_s=-0.577$	0.039*
ΔSelenium	$r_s=0.065$	0.704	$r_s=0.160$	0.526	$r_s=-0.257$	0.623	$r_s=-0.170$	0.578
Δ BMI	$r=0.020$	0.903	$r=0.536$	0.022*	$r=0.159$	0.764	$r=-0.500$	0.069
ΔTotal cholesterol	$r=0.067$	0.688	$r=-0.015$	0.952	$r=0.439$	0.384	$r=-0.074$	0.803
Δ HDL-cholesterol	$r=0.080$	0.635	$r=-0.307$	0.215	$r=-0.173$	0.742	$r=0.365$	0.199
Δ LDL-cholesterol	$r=0.020$	0.904	$r=-0.053$	0.835	$r=0.413$	0.416	$r=-0.210$	0.471
ΔTriglycerides	$r_s=0.083$	0.622	$r_s=0.251$	0.315	$r_s=0.371$	0.468	$r_s=-0.123$	0.675
ΔGlycemia	$r=0.121$	0.470	$r=0.269$	0.280	$r=-0.167$	0.752	$r=0.006$	0.983
ΔCalories	$r=-0.054$	0.747	$r=0.070$	0.787	$r=0.039$	0.941	$r=-0.419$	0.136
ΔCH (%)	$r=0.030$	0.860	$r=-0.024$	0.924	$r=0.139$	0.793	$r=0.184$	0.530
Δ PTN (%)	$r=-0.189$	0.255	$r=-0.054$	0.832	$r=-0.218$	0.678	$r=-0.435$	0.120
Δ LIP (%)	$r=0.046$	0.783	$r=0.045$	0.858	$r=0.271$	0.604	$r=-0.065$	0.826
Δ WC	$r=0.128$	0.445	$r=0.394$	0.106	$r=0.309$	0.552	$r=-0.056$	0.849
ΔWHR	$r=0.118$	0.479	$r=0.005$	0.984	$r=-0.317$	0.540	$r=0.344$	0.228
Mean equivalent dose	$r=0.515$	0.001*	$r=0.597$	0.009*	$r=-0.327$	0.527	$r=0.552$	0.041*
Δ Equivalent dose	$r_s=0.212$	0.202	$r_s=0.054$	0.830	$r_s=0.559$	0.249	$r_s=0.187$	0.522
Illness time	$r=-0.103$	0.539	$r=-0.021$	0.934	$r=-0.026$	0.962	$r=-0.234$	0.421
Age	$r=-0.086$	0.609	$r=0.003$	0.990	$r=0.326$	0.528	$r=-0.321$	0.263
Education	$r_s=0.218$	0.188	$r_s=0.376$	0.124	$r_s=-0.353$	0.492	$r_s=0.235$	0.419

Table 3b – Associations between BDNF variations according to Pearson or Spearman correlation coefficient

Variable	Δ BDNF – Total sample		Δ BDNF – Group A		Δ BDNF – Group B		Δ BDNF – Group C	
	R	P	R	P	r	P	r	P
Time of nutritional monitoring	$r_s=0.158$	0.343	$r_s=0.109$	0.667	$r_s=-0.290$	0.577	$r_s=0.284$	0.325
Time of medication use	$r_s=-0.146$	0.380	$r_s=-0.121$	0.632	$r_s=0.029$	0.957	$r_s=-0.176$	0.548
ΔWeight	$r=0.031$	0.854	$r=0.608$	0.007*	$r=0.319$	0.538	$r=-0.478$	0.084
Age at start of medication	$r_s=0.069$	0.682	$r_s=0.129$	0.609	$r_s=0.464$	0.354	$r_s=-0.330$	0.249
Hours of sleep	$r=0.029$	0.861	$r=-0.317$	0.200	$r=0.280$	0.591	$r=0.244$	0.400
Δ Diet cholesterol	$r=-0.101$	0.547	$r=-0.219$	0.383	$r=-0.676$	0.141	$r=-0.158$	0.590
ΔFibers	$r=-0.158$	0.344	$r=0.108$	0.669	$r=-0.570$	0.238	$r=-0.767$	0.001*
ΔCalcium	$r=0.139$	0.406	$r=0.196$	0.436	$r=-0.361$	0.482	$r=0.037$	0.900
ΔMagnesium	$r=-0.040$	0.811	$r=-0.103$	0.683	$r=0.286$	0.583	$r=-0.497$	0.071
Δ Iron	$r_s=-0.072$	0.667	$r_s=-0.040$	0.874	$r_s=-0.257$	0.623	$r_s=-0.635$	0.015*
ΔZinc	$r_s=-0.172$	0.303	$r_s=-0.046$	0.855	$r_s=-0.257$	0.623	$r_s=-0.600$	0.023*
ΔSaturated fatty acids	$r_s=-0.081$	0.628	$r_s=0.051$	0.842	$r_s=0.143$	0.787	$r_s=-0.534$	0.049*
ΔPolyunsaturated fatty acids	$r_s=-0.071$	0.670	$r_s=0.073$	0.773	$r_s=-0.143$	0.787	$r=-0.468$	0.091
ΔMonounsaturated fatty acids	$r_s=-0.020$	0.905	$r_s=0.230$	0.358	$r_s=-0.086$	0.872	$r=-0.662$	0.010*
ΔVitamin B ₁₂	$r_s=0.145$	0.384	$r_s=-0.222$	0.376	$r_s=0.086$	0.872	$r_s=0.437$	0.118
ΔFolic acid	$r=-0.143$	0.479	$r=0.093$	0.714	$r=-0.674$	0.142	$r=-0.729$	0.003*
ΔVitamin D	$r_s=0.064$	0.701	$r_s=-0.051$	0.842	$r_s=-0.371$	0.468	$r_s=0.319$	0.267

Table 4 – Comparison of biochemical parameters between groups at both assessments (year 1 and year 2)

Variables	Group A (diet 2 assessments)	Group B (diet at 1 assessment)	Group C (with no diet)	p _{group x time}	p _{time}	p _{group}
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD			
BDNF				0.673	0.330	0.408
Basal	26.1 ± 1.6	28.6 ± 2.6	27.0 ± 1.5			
1-Year	25.2 ± 1.9	29.2 ± 2.9	23.2 ± 2.5			
Total cholesterol(mg/ dL)				0.631	0.440	0.465
Basal	189.2 ± 9.2	192.0 ± 16.1	182.1 ± 7.7			
1-Year	188.5 ± 10.0	189.7 ± 7.9	171.7 ± 9.3			
HDL-cholesterol* (mg/ dL)				0.092	0.598	0.040
Basal	44.0 ± 2.8	36.7 ± 2.2	39.2 ± 2.2			
1-Year	42.5 ± 2.2	36.7 ± 1.0	43.1 ± 3.9			
LDL-cholesterol (mg/ dL)				0.498	0.764	0.677
Basal	114.8 ± 8.7	110.3 ± 12.4	112.7 ± 6.5			
1-Year	113.7 ± 8.9	119.2 ± 6.2	100.5 ± 9.0			
Triglycerides (mg/ dL)				0.373	0.273	0.319
Basal	151.9 ± 17.9	225.7 ± 44.1	151.4 ± 15.4			
1-Year	173.7 ± 22.1	169.0 ± 21.8	141.2 ± 20.1			
Glycemia (mg/ dL)				0.655	0.554	0.468
Basal	99.3 ± 2.7	106.5 ± 10.9	96.9 ± 4.4			
1-Year	102.9 ± 6.8	99.7 ± 7.0	94.6 ± 2.9			

* significant difference between group A and group B

Table 5 – Comparison of anthropometric parameters between groups

Variables	Group A (diet 2 assessments)	Group B (diet 1 assessment)	Group C (with no diet)	P _{group x time}	P _{time}	P _{group}
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD			
Weight (kg)						
Basal	78.2 ± 3.7	84.3 ± 6.6*	82.1 ± 3.8	<0.001	0.020	0.886
1-Year	79.5 ± 3.8	80.8 ± 7.1	78.8 ± 4.7			
BMI (kg/m ²)						
Basal	27.6 ± 1.1	29.0 ± 2.1*	26.6 ± 1.1	<0.001	0.017	0.543
1-Year	27.8 ± 1.1	27.8 ± 2.3	25.8 ± 1.3			
WC (cm)						
Basal	96.5 ± 3.3	105.2 ± 3.6	100.4 ± 3.2*	0.026	0.097	0.413
1-Year	97.8 ± 3.5	103.0 ± 5.0	95.9 ± 3.9			
WHR						
Basal	0.95 ± 0.02	1.06 ± 0.02	0.98 ± 0.02	0.262	0.892	<0.001
1-Year	0.97 ± 0.03	1.06 ± 0.01	0.97 ± 0.02			
% BF						
Basal	29.2 ± 1.4	27.9 ± 1.2*	24.6 ± 1.5	0.013	0.310	0.081
1-Year	33.8 ± 4.0	26.1 ± 1.8	26.1 ± 1.9			

* significant reduction (p<0.05); ** significant increase (p<0,05)

BMI: body mass index; WC: waist circumference; WHR: waist-to-hip ratio; BF: body fat

Table 6 – Multivariate Linear Regression Analysis (Backward) to assess associated factors regardless BDNF variation

Group	Variables	b (CI 95%)	β	P
Group A	ΔBMI	3.20 (-0.24 a 6.63)	0.372	0.066
	Mean dose	0.02 (0.004 a 0.04)	0.477	0.022
	Education	2.39 (0.45 a 4.32)	0.438	0.019
Group C	ΔFolic acid	-0.03 (-0.04 a -0.01)	-0.729	0.003

BMI: body mass index

After adjustment for the multivariate model (table 6), group A antipsychotic dose and level of education remained associated with BDNF levels. The higher the individual's antipsychotic drug dose and higher education, the most increase in BDNF levels from one year to the other (figures 1 and 2).

Regarding BMI, there was borderline association, showing that individuals who increased BMI tended to display increased BDNF levels at one-year follow-up and vice-versa (figure 3).

In group C, only the folate variation remained negatively associated with the variation in BDNF levels, i.e., the higher the reduction in folate intake, the higher the increase in BDNF levels along time (figure 4).

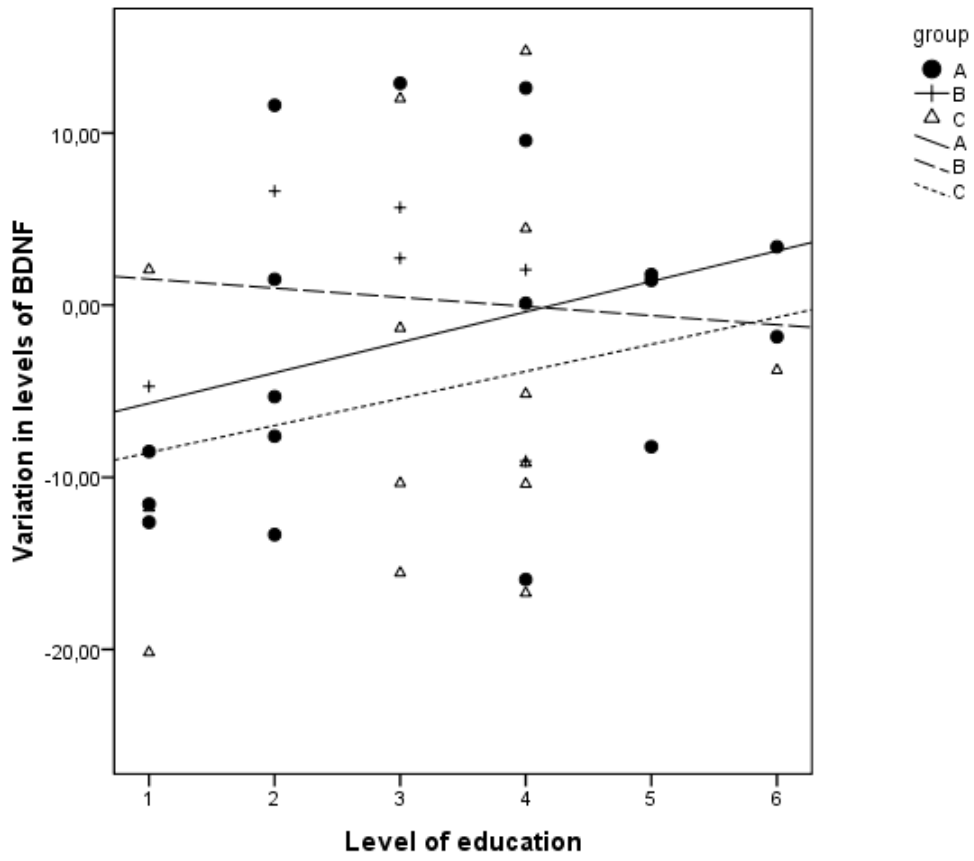


Figure 2 – Association between education and BDNF levels in the 3 groups.

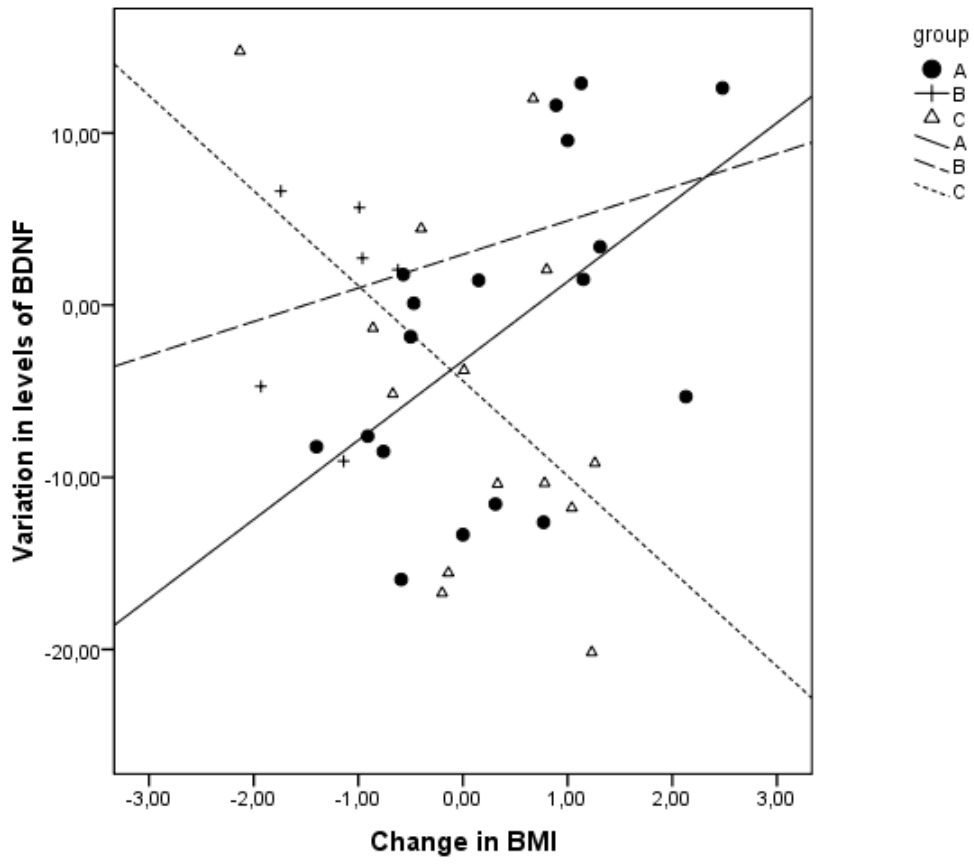


Figure 3 – Association between BDNF levels and BMI in the 3 groups.

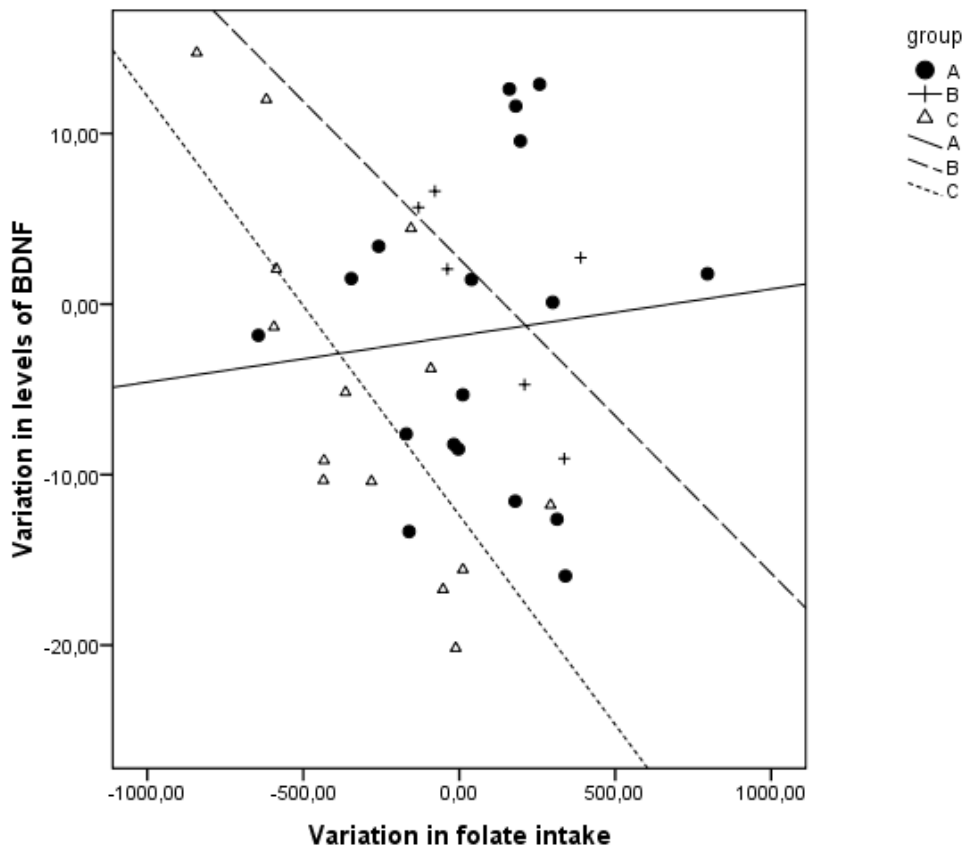


Figure 4 – Association between acid folic intake and BDNF levels in the 3 groups

Discussion

It is important to highlight that there was reduction in the consumption of calories in all groups ($p=0.004$). Here the time effect is observed, which shows there was an effect regarding the moment assessed – the application of questionnaires and nutritional assessment may have interfered in the groups, as other additional factors such as social changes in nutritional habits due to media advertising and health campaigns, somehow leading them to a reduction the consumption of calories. As group A received continued nutritional monitoring, it is possible to say that the group followed correct prescriptions and instructions over time. In groups B and C, it may have operated a Hawthorne effect, of a positive effect of the questionnaire, somehow leading participants to reflect and review their eating habits after undergoing the nutritional assessment questionnaires and FFQ, and-or after watching programs in TV, reading newspapers or listening to radio broadcasting. We may state that this reduction in calories is beneficial for all groups, once the excess of calories is recognized to be deleterious to general health and also to the brain, where it can reduce synaptic

plasticity and increase cell damage^(29,30). In addition, several studies have previously described increased BDNF levels after caloric restriction^(3,4,5).

Metabolic disorders such as obesity, dyslipidemia, hyperglycemia and metabolic syndrome are highly prevalent in individuals with BDNF deficiency, and dysregulation of expression of BDNF gene have been identified and metabolic and schizophrenia disorders separately⁽³¹⁾. However, the exact mechanism of these metabolic disorders is not clear, although there is large evidence about these disorders increasing the development of cardiovascular diseases, thus increasing mortality in schizophrenic patients due to cardiovascular problems.

Group C significantly reduced the consumption of calories, saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, magnesium, iron, fibers, folic acid and zinc (interaction effects) from one year to the next when compared to the other groups.

Studies have shown that schizophrenic patients' diet is poor in fibers and vitamins (sources of antioxidants) and rich in fat when compared to the general population⁽³²⁾, reflecting their poor dietary choices and their association with obesity⁽³³⁾. Some minerals such as Mg, Fe and zinc play an important role in metabolic pathways and have altered concentrations in schizophrenic patients' plasma^(34,35,36). Some studies point that the excess or deficiency of some of these minerals might be related to the pathophysiology of schizophrenia^(18,32).

Regarding the reduction in the consumption of calories in this group, one may suppose that, although it had no intervention, there was an effect of change in their eating habits after undergoing the nutritional assessment questionnaire and FFQ, once patients would think about their eating habits and question whether they were ingesting too much or not enough food. There was significant positive association between the antipsychotic dose and the variation in BDNF levels ($r=0.515$; $p=0.001$), i.e., the higher the dose, the higher the increase in BDNF levels from one year to the next. Regarding schizophrenia, many studies have shown that unmedicated patients have reduced BDNF expression through the ELISA test and western blotting^(37, 38). Other studies show similar reduction in BDNF in chronic medicated schizophrenic patients^(39,40), with reduction in BDNF and TrkBmRNA receptor in the prefrontal cortex and hippocampus in such cases⁽⁸⁾. The present results corroborate previous studies that showed a positive effect of neuroleptic dose over BDNF levels^(41,42).

In group A, our results showed a significantly positive association of BMI variation ($r=0.536$; $p=0.022$), neuroleptic dose ($r=0.597$; $p=0.009$) and weight change ($r=0.608$; $p=0.007$) with changes in BDNF levels. The higher the increase in BMI, weight and neuroleptic dose, the higher the increase in BDNF levels from one year to the next. There is evidence of the correlation of antipsychotic drugs with the increase in BDNF

levels and these results corroborate some hypotheses that there is a positive relationship between the dose of antipsychotic drugs, especially clozapine, and blood levels of BDNF^(41,42). However, when inserted in the multivariate analysis model, only the neuroleptic dose remained associated with BDNF.

There was association between education and BDNF, i.e., the higher the education, the higher the increase in BDNF levels from one year to the next. Within this context, it is known that a higher educational level leads to higher adherence to the treatment, therefore improving the patients' clinical condition.

In group C, only the variation of folic acid remained associated with the variation in BDNF levels, i.e., the higher the intake of folic acid, the higher the increase in BDNF levels. It is important to highlight that these patients did not have deficient basal intake, once the amount of folic acid recommended is 400µg, and this group was ingesting more than twice (832.6±77.8) the amount of folic acid at baseline and 581.9±48.3µg in the next year (p=0.004), almost half of the initial amount. As the proper intake of folic acid is vital for homeostasis and cell division, when it is deficient, either due to poor intake or absorption problems, all carbon metabolism reactions will be impaired at several degrees, depending on the relative affinities between the enzymes and the involved respective molecules⁽⁴³⁾. For this reason, folic acid deficiency is associated to anomalies and harmful consequences to carbon metabolism, with further accumulation of substrates and intermediary metabolic elements, producing hyperhomocysteinemia⁽⁴⁴⁾.

Homocysteine is a sulfuraminoacid derived from methionine demethylation, abundantly present in plant and animal protein and the main source of protein sulfur atoms. Homocysteine can be either converted into methionine, a process that uses folate and vitamin B12 as coenzymes, or, when in excess, catabolized by transsulfuration in cystathionine, which uses vitamin B6 as a coenzyme⁽⁴⁵⁾. High levels of homocysteine are associated with CNS diseases, such as depression⁽⁴⁶⁾ and the first episode of schizophrenia⁽⁴⁷⁾. The acquired causes of hyperhomocysteinemia include deficiencies in coenzymes (vitamins B12, B6 and folate), advanced age, diseases such as renal failure and hypothyroidism, medications that interfere with the metabolism of vitamins B12, B6 or folate, as well as lifestyle factors, such as smoking, alcoholism, diet and lack of physical activity⁽⁴⁸⁾.

Therefore, one possible explanation of reduced folic acid intake and increased BDNF levels can be found in putative metabolic pathway compensation mechanism in the patients with excess folic acid intake (twice the indicated). Consequently, individuals with higher folate at the first assessment of the study, maybe in conjunction with low vitamin B12, when adjusting folate intake to normal values, would suffer a

metabolic pathway compensation mechanism of increased transsulfuration, which in turn would stimulate BDNF levels, perhaps through oxygen species modification. Although homocysteine was not measured in our study, it is suggested that over the year of follow-up these patients suffered a new balance between both pathways (remethylation and transsulfuration) with normalization (reduction) of folate intake. Thus, it is possible that these results point to an additional mechanism of regulation of neuroplasticity and BDNF involving folic acid cycle and reduced calory intake. However, this must be a cautious speculation, once folic acid and homocysteine were not measured in these patients. Thus, the confirmation of this hypothesis will require further studies that include the measurement of these factors and the activities of their regulating enzymes before and after nutritional monitoring. This type of study may benefit from platform technologies of multiple substance measures, such as multi-array and micro-RNAs with assessment of multiple changes over different methabolic pathways, and reveal processes in neuropsychiatric diseases and additional types of drugs for the treatment of schizophrenia and psychosis.

References

1. Lebrun, B., Bariohay, B., Moyses, E., Jean, A. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: A minireview. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 126-127 (2006) 30-38
2. Zhang, XY, et al. Serum BDNF levels and weight gain in schizophrenic patients on long-term treatment with antipsychotics. *Journal of Psychiatric Research* xxx (2006) xxx-xxx
3. Lee, J., Duan, W., Long, JM., Ingram, DK., Mattson, MP., Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression, in the dentate gyrus of rats. *J MOL Neurosci* 2000 Oct; 15(2):99-108
4. Duan, W., Guo, Z., Jiang, H., Ware, M. & Mattson, M.P.. Reversal of behavioral and metabolic abnormalities, and insulin resistance syndrome, by dietary restriction in mice deficient in brain-derived neurotrophic factor. *Endocrinology*. 2003 Jun; 144(6):2446-53
5. Koizumi, H., Hashimoto, K., Iyo, M.. Dietary restriction changes behaviours in brain-derived neurotrophic factor heterozygous mice: role of serotonergic system. *European Journal of Neuroscience*, Vol. 24, pp.2335-2344, 2006
6. Tan YL, Zhou DF, Cao LY, Zou YZ, Zhang XY. Decreased BDNF in serum of patients with chronic schizophrenia on long-term treatment with antipsychotics. *Neurosc. Lett.* 2005; 382:27-32.
7. Zhang, XY; Tan, YL; Zhou, DF; Cao, LY; Wu, GY; Xu, Q; Shen, Y; Haile, CN; Kosten, TA; Kosten TR. Serum BDNF levels and weight gain in schizophrenic patients on long-term treatment with antipsychotics. *J Psych Res* 2007; 41(12): 997-1004.
8. Favalli, G; Li, J; Belmonte-de-Abreu, P; Wong, AHC; Daskalakis, ZJ. The role of BDNF in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research* 2012. Vol. 46(1): 1-11.
9. Gama, CS; Andreazza, AC; Kunz, M; Berk, M; Belmonte-de-Abreu, PS; Kapczinski, F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neuroscience Letters* 2007; 420(1), 45-48.
10. Monteleone, P., Fabrazzo, M., Martiadis, V., Serritella, C., Pannuto, M. & Maj, M. Circulating brain-derived neurotrophic factor is decreased in women with anorexia and bulimia nervosa but not in women with binge-eating disorder: relationship to co-morbid depression, psychopathology and hormonal variables. *Psychol. Med.* 2005; 35, 897-905
11. Mattson, M.P. Energy intake, meal frequency, and health: a neurobiological perspective. *Annu. Rev. Nutr.*, 2005; 25, 237-260
12. Guimarães, LR; Felice, NJ; Gama, CS; Berk, M; Leitão-Azevedo, CL; Guerra Belmonte de Abreu, M; Lobato, MI; Andreazza, AC; Ceresér, KM; Kapczinski, F;

Belmonte-de-Abreu, PS. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia on a hypocaloric diet. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32 (2008) 1595–1598

13. Gama, CS; Salvador, M; Andreazza, AC; Lobato, MI; Kapczinski, F; Belmonte-de-Abreu, PS. Elevated serum thiobarbituric acid reactive substances in clinically symptomatic schizophrenic males. *Neuroscience Letter*. 2008; 433:270-273.

14. Herken, H; Uz, E; Ozyurt, H; Sogut, S; Virit, O; Akyol, O. Evidence that the activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes and the products of forms of schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2001; 6(1):66-73.

15. Gama, CS; Salvador, M; Andreazza, AC; Kapczinski, F; Belmonte-de-Abreu, PS. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia; a study of patients treated with haloperidol or clozapine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006; 30(3):512-15.

16. Mahadik, SP; Evans, D; Lal, H. Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2001; 25(3):463-493.

17. Volchegorskii, IA; Mester, NV. The influence of 3-oxypyridine antioxidants on depression in patients with diabetes mellitus. *Klin Med (Mosk)*. 2007; 85(2): 40-45.

18. Yanik, M., et al., *Plasma Manganese, Selenium, Zinc, Copper, and Iron Concentrations in Patients with Schizophrenia*. *Biological Trace Element Research*, 2004. 98(0163-4984): p. 109-117.

19. Mattson, M.P., Shea, T.B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Neuroscience*, 26, 137-146, 2003.

20. Coppen, A., Bolander-Gouaille, C. Treatment of depression: time to consider folic acid and vitamin B12. *J Psychopharm.*, 19, 59-65, 2005.

21. McNulty, H. Folate requirements for health in different population groups. *Brit J Biomed Sci.*, 52, 110–119, 1995.

22. Ramaekers, V., Blau, N. Cerebral folate deficiency. *Dev Med Child Neurol.*, 46, 843- 51, 2004.

23. Iskandar, B.J., Nelson, A., Resnick, D., Pate Skene, J.H., Gao, P., Johnson, C., Cook, T.D., Hariharan, N. Folic acid supplementation enhances repair of the adult central nervous system. *Ann Neurol.*, 56, 221-227, 2004.

24. Coppen, A., Swade, C., Jones, S.A., Armstrong, R., Blair, J.A., Leeming, R.J. Depression and tetrahydrobiopterin: the folate connection. *J Affect Disord.*, 16, 103-107, 1989.

25. Zanolla AF, Olinto MTA, Henn RL, Wahrlich V, dos Anjos, LA. Avaliação de reprodutibilidade e validade de um questionário de frequência alimentar em adultos residentes em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Publica*, Rio de Janeiro, 25(4):840-848,abr, 2009.
26. Angelucci, F; Aloe, L; Vasquez, PJ; Mathé, AA. Eletroconvulsive stimuli alter nerve growth factor but not brain-derived neurotrophic factor concentrations in brains of a rat model of depression. *Neuropeptides* 2003; 37:51-56.
27. Callegari-Jacques, SM. *Bioestatística princípios e aplicações*. Porto Alegre, Artmed: 2008.
28. Guimarães, LSP & Hirakata, VN. Uso do Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas na Análise de Dados Longitudinais. *Rev HCPA* 2012; 32 (4): 503-511.
29. Vaynman S, Gomez-Pinilla F. Revenge of the "sit": how lifestyle impacts neuronal and cognitive health through molecular systems that interface energy metabolism with neuronal plasticity. *J Neurosci Res*. 2006 Sep;84(4):699-715.
30. Wu A, Ying Z & Gomez-Pinilla F. (2004). Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma* 21, 1457-1467.
31. Nurjono, ; Lee, J, Chong, SA. A Review of Brain-derived Neurotrophic Factor as a Candidate Biomarker in Schizophrenia. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2012 Aug;10(2):61-70. doi: 10.9758/cpn.2012.10.2.61. Epub 2012 Aug 31.
32. McCreadie R, Macdonald E, Blacklock C, Tilak-Singh D, Wiles D, Halliday J, Paterson J. Dietary intake of schizophrenic patients in Nithsdale, Scotland: case-control study. *Br Med J*. 1998;317:784-5.
33. Brown, S; Birtwistle, ; Roe, L; Thompson, C. The unhealthy lifestyle of people with schizophrenia. *Psychol Med*. 1999 May;29(3):697-701.
34. Rahman, M., et al., *Zinc, Manganese, Calcium, Copper, and Cadmium Level in the Scalp Hair Samples of Schizophrenic Patients*. *Biological Trace Element Research*, 2009. **127**: p. 102 - 108.
35. Wolf, T., J. Kotun, and J. Meador-Woodruff, *Plasma copper, iron, ceruloplasmin and ferroxidase activity in schizophrenia*. Elsevier Science B.V., 2006. **86**: p. 167 - 171.
36. Chen, C; Wang, J; Wang, B; Yang, SC; Zhang, CX; Zheng, YL; Li ,YL; Wang, N; Yang, KB; Xiu, MH; Kosten, TR; Zhang, XY. Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in drug-naïve first-episodeschizophrenia: relationship to clinical phenotypes. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009 Dec;207(3):375-80. doi: 10.1007/s00213-009-1665-6. Epub 2009 Sep 29.

37. Pirildar, S; Gönül, AS; Taneli, F; Akdeniz F. Low serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia do not elevate after antipsychotic treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2004 Jul;28(4):709-13.
38. Zhang, XY; Zhou, DF; Cao, LY; Tan, YL; Haile, CN; Li, J; Kosten, TA; Kosten TR. BDNF Levels and Genotype are Associated with Antipsychotic-Induced Weight Gain in Patients with Chronic Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33(9):2200-5.
39. Vinogradov, S; Fisher, M; Holland, C ; Shelly, W; Wolkowitz, O; Mellon, SH. Is serum brain-derived neurotrophic factor a biomarker for cognitive enhancement in schizophrenia? 2009 *Biol Psychiatry*. 2009 Sep 15;66(6):549-53. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.02.017. Epub 2009 Apr 15.
40. Pedrini, M; Chendoa, I; Grandea, I; Lobato, MI; Belmonte-de-Abreu, PS; Lerschb, C; Walz, J; Kauer-Sant'Anna, M; Kapczinski, F; Gama, CS. Serum brain-derived neurotrophic factor and clozapine daily dose in patients with schizophrenia: A positive correlation. *Neuroscience Letters* 491 (2011) 207–210.
41. Green MJ, Matheson SL, Shepherd A, Weickert CS, Carr VJ. Brain-derived neurotrophic factor levels in schizophrenia: a systematic review with meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2011 Sep;16(9):960-72.
43. Mason, J. Folate status: effects on carcinogenesis. In: BAILEY, L.B. (ed). *Folate in Health and Disease*. New York, NY: Marcel Dekker, 1995. p.329-361.
44. Scott, JM; Weir, DG. Folic acid, homocysteine and one-carbon metabolism: a review of the essential biochemistry. *J Cardiovasc Risk.*, 5, 223-227, 1998.
45. Finkelstein, JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr.*, 157 Suppl 2, 40-44, 1998.
46. Troen, AM. The central nervous system in animal models of hyperhomocysteinemia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 29, 1140-1151, 2005.
47. Misiak, B; Frydecka, D; Slezak, R; Piotrowski, P; Kiejna, A. Elevated homocysteine level in first-episode schizophrenia patients-the relevance of family history of schizophrenia and lifetime diagnosis of cannabis abuse. *Metab Brain Dis* (2014) 29:661-670. DOI 10.1007/s11011-014-9534-3
48. Sachdev, P. Homocysteine and neuropsychiatric disorders. *Rev Bras Psiquiatr.*, 26, 50-56, 2004.

Considerações finais

Buscou-se neste trabalho acompanhar longitudinalmente pacientes atendidos no ambulatório do PRODESQ que faziam acompanhamento nutricional e pacientes sem acompanhamento nutricional com o objetivo de comparar os níveis de BDNF e o perfil da dieta destes indivíduos através do QFA.

A escassez de estudos que avaliam a ingestão alimentar de pacientes esquizofrênicos e sua associação com os níveis de BDNF nos instigou a acompanhar estes pacientes. Encontramos uma redução significativa do consumo de calorias no grupo que não realizou dieta ao longo de 1 ano de estudo, o que sugere um efeito *Hawthorne*, ou um efeito de mudança ecológica (*cultural*) neste grupo se verificar que em todos os grupos se observou uma redução da ingestão de calorias. Desta forma, pensamos que o grupo que estava em acompanhamento nutricional vinha há muito tempo em dieta e a participação no estudo lembrou e reforçou o tratamento. Por outro lado, o grupo que fez dieta em algum momento durante o estudo estava com as orientações mais recentes, embora o número de pacientes neste grupo seja muito pequeno, o que nos limita a fazer maiores inferências.

Uma redução na ingestão de calorias leva a uma diminuição de todos os macro e micronutrientes que compõem a dieta. Desta forma, este estudo mostra uma redução estatisticamente significativa em relação ao consumo de AGS, AGP, magnésio, ferro, fibras, folato e zinco de um ano para o outro no grupo que não recebeu dieta. Quando comparamos estes resultados com os níveis de BDNF, observamos que apenas a variação do folato permaneceu fortemente associada com os níveis de BDNF, e de uma forma inversa quanto à variação – diminuição da ingestão de folato associada a aumento de BDNF, inverso do esperado. No entanto podemos entender esta mudança como uma normalização da ingestão, uma vez que estava ocorrendo um excesso basal de ingestão de folato – mais do dobro do recomendado. Assim, o benéfico teria sido o retorno a níveis normais de folato, que antes estaria tóxico. No grupo observado pode ter sido ativado um mecanismo de compensação

pela normalização da via do folato ou vias associadas, como da redução da produção de radicais livres, levando ao aumento de BDNF. No entanto, para que nossas hipóteses sejam testadas, outros marcadores devem ser avaliados como a homocisteína, os níveis séricos de folato, de vitaminas B12 e B6, envolvidos nas vias de remetilação e transulfuração. Estudos adicionais que incluam a medida destes fatores e da atividade de suas enzimas reguladoras antes e depois da intervenção nutricional se faz necessária. Além disso, estudos deste tipo podem ser beneficiados com tecnologias de plataforma de medida de múltiplas substâncias, como multi-arrays e micro-RNAs.

Muitos estudos têm demonstrado que a redução de calorias da dieta leva ao aumento de BDNF, isso tanto em modelos animais como em humanos. No entanto, estes estudos não avaliaram o consumo alimentar através da análise dos macro e micronutrientes consumidos. Dessa forma, este trabalho possui um ineditismo, por avaliar 120 micro e macronutrientes em consumo mensal, semanal e diário, com um questionário validado para população brasileira da região sul do país. No entanto, é preciso estarmos atentos para o viés de memória, já que são perguntas retrospectivas.

Estudos têm demonstrado que quanto maior a média da dose de antipsicóticos maiores os níveis de BDNF. Nossos resultados, após o ajuste pelo modelo multivariado, mostraram uma forte associação da variação dos níveis de BDNF com a dose de antipsicóticos isto é, quanto maior a dose, maior o aumento dos níveis de BDNF de um ano para o outro. Observamos também, neste modelo, que a escolaridade dos indivíduos permaneceu associada com os níveis de BDNF, ou seja, quanto maior a escolaridade, sugerindo um maior efeito da orientação nutricional nos sujeitos com maior educação, seja por via direta, de maior estímulo a neuroplasticidade por estímulo intelectual pela dieta, ou indireto, por maior potencial de aumento de BDNF em sujeitos com maior educação devido a outros fatores, como maior qualidade de vida, melhores condições de saneamento, menor chance de trauma e violência, entre outras.

Vários componentes da dieta têm sido identificados participando de vários processos cerebrais através da regulação de neurotransmissores, transmissão sináptica, fluido de membrana e via da transdução de sinal. Esta tese de estudo do efeito da dieta através de seus micro e macronutrientes sobre neuroplasticidade vem agregar novos achados nesta população. Além disso, os resultados mostram que, mesmo, sem orientação nutricional específica, o grupo que reduziu calorias da dieta teve aumento do BDNF, sendo que neste a normalização da ingestão de folato foi benéfica para o cérebro. É importante destacar que o grupo em dieta foi um grupo que não teve mudanças significativas no consumo alimentar ao longo do estudo, o que reforça a necessidade de manutenção da dieta. Entretanto, não se pode observar o efeito dieta, já que o tempo de seguimento foi em média de 48 meses (tempo de dieta dos pacientes no grupo A), o que é bem significativo em termos de seguimento de orientação nutricional, pois estudos mostram que as mudanças são observadas no início de um tratamento onde o paciente está mais motivado e mais participativo.

APÊNDICE



APÊNDICE A- Ficha da Nutrição

PRODESQ-HCPA Nutrição ANAMNESE ALIMENTAR

1. Dados de Identificação

Nome: _____ N° Prontuário: _____
Data 1ª consulta: _____
Data de nascimento: _____ Idade: _____ Sexo: () M () F
Raça (cor da pele): _____ Filhos: () não () sim Quantos? _____
Profissão: _____ Escolaridade: _____
Estado Civil: () solteiro () casado () divorciado () viúvo
Endereço: _____ CEP: _____
Telefones: _____ e-mail: _____
Nome do acompanhante ou responsável: _____

3. Dados Clínicos

Motivo da consulta: _____
Última consulta médica: motivo _____ mês: _____
Já teve acompanhamento nutricional: () não () sim, por quanto tempo? _____
Patologias do paciente: () DM Tipo I () DM tipo II () HAS () Dislipidemia
() obesidade () pneumopatia () cardiopatia () hepatopatia () HIV/AIDS
() anemia () SM () osteoporose Outras: _____
História familiar: () DM () HAS () Dislipidemia () obesidade
Outras: _____
Tabagista: () não () sim, quantos cig./dia? _____ tempo: _____
Hábito urinário: () normal () alterado: _____
Hábito intestinal: () normal () constipado () diarreia
Náuseas/vômitos: () não () sim obs: _____
Medicações atuais: _____
Dose da medicação: _____ Tempo de uso: _____
Início da doença: _____
Início das medicações e quais? _____
Diagnóstico do OPCRIT: _____ DSM-IV: _____
OBS: _____

2. Avaliação Antropométrica

PA: _____ Kg PU: _____ Kg PI: _____ Kg
Altura: _____ cm IMC: _____ Kg/m²
CC: _____ cm CQ: _____ cm % gordura: _____
Relação Cintura/quadril: _____
Alteração de peso: () não () sim () ganho () perda Qto? _____ Tempo: _____
Classificação: () desnutrido () eutrófico () sobrepeso () obesidade I
() obesidade II () obesidade III

Data						
Peso						
Altura						
IMC						
CC						
CQ						
%gordura						

4. Atividade física

() não () sim, Qual o tipo? _____ Frequência: _____ Horário: _____
Tempo: _____

5. Inquérito dietético

Quantidade de líquidos/dia? _____ tipo: () água () leite () chá
 () café () refrigerantes () sucos naturais () sucos artificiais
 Usa açúcar: () não () sim, quanto? _____
 Usa adoçante dietético: () não () sim, quantas gotas? _____
 Consumo de bebida alcoólica: () não () sim, frequência: _____
 Tipo: () vinho () cerveja () whisky () outros _____ Doses: _____
 Consumo de sal: () não () sim, quanto? _____
 Consumo de frituras: () não () raramente () frequentemente () diariamente
 Tipo de preparações: _____
 Consumo de doces: () não () raramente () frequentemente () diariamente
 Tipo de preparações: _____
 Alergia, Intolerância ou aversões alimentares () não () sim, a que? _____
 - carnes: _____
 - cereais, pães, massas, etc... _____
 - frutas: _____
 - laticínios: _____
 - leguminosas: _____
 - verduras/legumes _____
 Utiliza suplementação alimentar: () não () sim, qual? _____
 Consome algum alimento entre as refeições: () não () sim, quais? _____
 Quem prepara as refeições: () mãe () empregada () paciente () outros: _____
 Horário do sono: dorme _____ acorda _____
 Acorda para comer a noite: () não () sim, o que? _____
 Dorme durante o dia: () não () sim

6. Recordatório Alimentar de 24h

Refeição	Local/ Hora	Quantidade de alimentos ingeridos
Desjejum		
Colação		
Almoço		
Lanche		
Jantar		
Ceia		

7. Cálculo do VET:

9. Dieta Prescrita:

10. Exames Laboratoriais:

Data					
Colesterol Total					
HDL					
LDL					
Triglicérides					
Glicose					

ANEXO



TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PACIENTES

Número do estudo:

Nome do sujeito:

Data de nascimento:

Cód. de identidade do sujeito:

Supervisor:

Informações sobre o estudo ao paciente

Esta folha tem o objetivo de fornecer a informação mínima para quem considerar participar deste estudo. Ela não elimina a necessidade do pesquisador de explicar, e se necessário, ampliar as informações nela contidas.

Antes de participar deste estudo, gostaríamos que você tomasse conhecimento do que ele envolve. Damos abaixo alguns esclarecimentos sobre dúvidas que você possa ter. Em caso de qualquer dúvida quanto ao estudo, o que ele envolve e sobre os seus direitos, você deverá contatar a Nutricionista Lísia Rejane Guimarães pelo telefone (051) 99149932.

Qual é o objetivo da pesquisa?

Com este estudo buscamos identificar se há relação entre a alimentação de indivíduos portadores de esquizofrenia e a quantidade de uma proteína neuronal, ou seja, uma substância feita de proteína que vem das células do cérebro, chamada BDNF. Para isto será retirado sangue do Sr./Sra. e este material será analisado. Além da coleta de sangue será avaliado seu peso e altura, aplicado um questionário de frequência alimentar e uma anamnese nutricional. Esta coleta será feita duas vezes, no primeiro ano deste estudo e 12 meses após. Caso haja esta relação, esta proteína poderá ser útil para ajudar no entendimento e tratamento da esquizofrenia. Os resultados destas dosagens não indicam se a pessoa tem ou não tem esquizofrenia

Quais são os riscos em participar?

O único risco a que o paciente será submetido é o da punção venosa, que é um procedimento corriqueiro e de baixíssimo risco. Os riscos da punção venosa são um mal-estar passageiro ou mancha roxa no local da coleta de sangue. Serão retirados 20ml de sangue, o que não compromete a saúde do paciente. O procedimento será feito com material esterilizado e descartável por profissionais da área de saúde com competência técnica para tal. Não será feita nenhuma alteração na medicação em uso pelo paciente.

Itens importantes

Você tem a liberdade de desistir do estudo a qualquer momento, sem fornecer um motivo, assim como pedir maiores informações sobre o estudo e o procedimento a ser feito.

O que eu ganho com este estudo?

Sua colaboração neste estudo visa aumentar o conhecimento científico sobre a esquizofrenia. Em curto e médio prazos não há ganho específico pelo paciente ao participar deste estudo.

Quais são os meus direitos?

Os pesquisadores do Serviço de Psiquiatria e os representantes da Comissão de Ética do HCPA podem necessitar examinar os seus registros a fim de verificar as informações para o objetivo deste estudo. No entanto, os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente.

Os resultados deste estudo poderão ser publicados em um jornal científico ou submetido à autoridade de medicamento competente, mas você não será identificado por nome.

Sua participação neste estudo é voluntária, de forma que caso você decida não participar, isso não afetará o tratamento normal ao qual você tem direito.

DECLARAÇÃO:

Eu,declaro que:

1. Concordo total e voluntariamente em fazer parte deste estudo.
2. Recebi uma explicação completa do objetivo do estudo, dos procedimentos envolvidos e o que se espera de mim. O pesquisador me explicou os possíveis problemas que podem surgir em consequência da minha participação neste estudo.
3. Informe ao pesquisador sobre medicamentos que estou tomando.
4. Concordo em cooperar inteiramente com o supervisor.
5. Estou ciente de que tenho total liberdade de desistir do estudo a qualquer momento e que esta desistência não irá, de forma alguma, afetar meu tratamento ou administração médica futura.
6. Estou ciente de que a informação nos meus registros médicos é essencial para a avaliação dos resultados do estudo. Concordo em liberar esta informação sob o entendimento de que ela será tratada confidencialmente.
7. Estou ciente de que não serei referido por nome em qualquer relatório relacionado a este estudo. Da minha parte, não devo restringir, de forma alguma, os resultados que possam surgir neste estudo.

Assinatura do Paciente

Ass: _____

Data:

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Ass: _____

Data:

Assinatura do Familiar Responsável pelo Paciente

Ass: _____

Data:

<Agora vamos conversar sobre seus hábitos alimentares>

Agora, vou ler uma lista de alimentos e gostaria que você lembrasse se consumiu estes alimentos no último mês

Pergunte a frequência: quantas vezes por semana? Se o entrevistado referir pouco consumo, pergunte: Quantas vezes no mês?

Quando você consumiu ..., quantas vezes por dia você comeu?

Sempre pergunte: A cada vez que você consumiu ..., qual a porção que você consumiu?

Alimento Agrupado	SIM	NÃO	Frequência			n° de porções	Medida Caseira
			mês	semana	dia		
FRUTAS	1	0					
bacaxi							fatia
anana							unidade pequena unidade média unidade grande
ranja							unidade média unidade grande
aça							unidade média unidade grande
amão							fatia pequena 1 papaia pequeno
anga							fatia unidade
lância							fatia
lão							fatia
ada de frutas							copo
gerina / bergamota							unidade média unidade grande
							cacho pequeno
SUMOS E VERDURAS	SIM	NÃO					
bora						No. porções	Medida Caseira
							colher de sopa pedaço médio
brinha							colher de sopa colher de servir
n / inhame							pedaço
e/agrião/rúcula							pires de xicara de chá
taba							fatia colher de servir
olis							colher de sopa pegador

