

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
DOUTORADO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

RENATA OLIVEIRA NEVES

**PREFERÊNCIAS ALIMENTARES ENTRE CRIANÇAS SUBMETIDAS A
DIFERENTES MÉTODOS DE INTRODUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO
COMPLEMENTAR NOS PRIMEIROS ANOS DE VIDA: ACEITAÇÃO DE
SABORES, POLIMORFISMOS GENÉTICOS E FATORES ASSOCIADOS**

Porto Alegre
2023

RENATA OLIVEIRA NEVES

**PREFERÊNCIAS ALIMENTARES ENTRE CRIANÇAS SUBMETIDAS A
DIFERENTES MÉTODOS DE INTRODUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO
COMPLEMENTAR NOS PRIMEIROS ANOS DE VIDA: ACEITAÇÃO DE
SABORES, POLIMORFISMOS GENÉTICOS E FATORES ASSOCIADOS**

A apresentação desta tese é requisito parcial para título de doutor do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof^a. Dra. Juliana Rombaldi Bernardi

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Meirelles Nunes

Porto Alegre

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

Neves, Renata Oliveira

Preferências alimentares entre crianças submetidas a diferentes métodos de introdução da alimentação complementar nos primeiros anos de vida: aceitação de sabores, polimorfismos genéticos e fatores associados / Renata Oliveira Neves. -- 2023.

130 f.

Orientadora: Juliana Rombaldi Bernardi.

Coorientador: Leandro Meirelles Nunes.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Alimentação complementar. 2. Preferências alimentares. 3. Percepção gustatória. 4. Polimorfismo de nucleotídeo único. 5. Ensaio clínico controlado randomizado. I. Bernardi, Juliana Rombaldi, orient. II. Nunes, Leandro Meirelles, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RENATA OLIVEIRA NEVES

**PREFERÊNCIAS ALIMENTARES ENTRE CRIANÇAS SUBMETIDAS A
DIFERENTES MÉTODOS DE INTRODUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO
COMPLEMENTAR NOS PRIMEIROS ANOS DE VIDA: ACEITAÇÃO DE
SABORES, POLIMORFISMOS GENÉTICOS E FATORES ASSOCIADOS**

A apresentação desta tese é requisito parcial para título de doutor do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof^a. Dra. Juliana Rombaldi Bernardi

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Meirelles Nunes

Porto Alegre, 04 de agosto de 2023.

BANCA EXAMINADORA:

Professora Doutora Lavínia Schüler Faccini
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Professora Doutora Estela Beatriz Behling
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Doutora Fernanda Rauber
Universidade de São Paulo (São Paulo – SP)

Às mulheres pesquisadoras, pela perfeita
junção da força e da delicadeza.

AGRADECIMENTOS

Ao Nilo, meu noivo, por acreditar em mim e no meu potencial;

À minha família e aos meus amigos, por compreenderem minha ausência e dedicação ao doutorado;

A todas as famílias que participaram da pesquisa e nos confiaram à alimentação dos seus filhos;

Às minhas colegas de pesquisa e amigas, sempre prestativas e apoiadoras;

Ao PPGSCA – UFRGS e ao HCPA, por permitir o planejamento e execução do meu projeto;

Ao professor Marcelo Z. Goldani, que gentilmente me acolheu no início do doutorado;

À pós doutora Ciliana Rechenmacher, por responder prontamente a todas as minhas dúvidas com calma e paciência;

Ao professor Leandro M. Nunes, por me acompanhar desde a defesa do meu mestrado, acreditar e confiar em mim, e me permitir evoluir;

Finalmente, à professora Juliana R. Bernardi, por ser a melhor orientadora que eu poderia ter. Por me ver como mais que uma aluna, mas sim um ser humano completo, com suas falhas e qualidades. Por ouvir e compreender meus anseios pessoais e profissionais. Por me ajudar a crescer e amadurecer. Por me guiar desde 2015, ano em que iniciei a escrita do Trabalho de Conclusão de Curso na graduação de Nutrição. Por ser uma inspiração para mim.

“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos.”

Marie Curie

RESUMO

Introdução: As preferências aos sabores dos alimentos são moldadas desde o início da vida, e a introdução da alimentação complementar configura um momento importante para o estabelecimento de aceitação a sabores variados e práticas alimentares saudáveis ao longo da vida. **Objetivo:** Analisar as preferências alimentares relacionadas aos sabores predominantes entre crianças submetidas a diferentes métodos de introdução da alimentação complementar nos primeiros anos de vida, e avaliar polimorfismos relacionados à sensibilidade aos sabores amargo e doce. **Métodos:** Ensaio clínico randomizado com mães e seus lactentes, que ainda não houvessem iniciado a introdução alimentar, envolvendo três grupos distintos em relação ao método de alimentação complementar: método tradicional/ *Parent-Led Weaning* (PLW), *Baby-Led Introduction to Solids* (BLISS); e método Misto: ambas as técnicas PLW e BLISS. Participaram do estudo famílias residentes de Porto Alegre e região metropolitana, de 2019 a 2023. A intervenção ocorreu aos 5,5 meses de vida do lactente. Aos 12 meses, foi aplicado o Questionário de Preferências Alimentares (QPA). Entre 12-35 meses procedeu-se o Teste de Aceitação de Sabores (TAS) e houve coleta de mucosa oral. A genotipagem de genes selecionados ocorreu por meio de PCR em tempo real. Os dados foram analisados por intenção de tratar. As análises principais foram realizadas pelo teste qui-quadrado de Pearson e Regressão de Poisson, ajustada por variáveis confundidoras preconizadas por *Directed Acyclic Graph*. **Resultados:** A amostra constituiu-se na randomização de 140 pares mãe-lactente, sendo que 45 (32,1%) foram alocados no grupo PLW, 48 (34,3%) no grupo BLISS e 47 (33,6%) no grupo Misto. Em comparação ao método PLW, a preferência por alimentos predominantemente azedos foi estatisticamente diferente do método Misto, (RP 1,23, IC 95% 1,034-1,466, $p=0,02$). Houve associação entre o consumo das soluções e suas respectivas reações hedônicas na maioria das soluções ofertadas ($p<0,001$ no sabor doce, $p=0,029$ no sabor azedo, $p=0,005$, no salgado, $p=0,026$ no umami e $p=0,811$ no amargo). Além disso, as preferências relacionadas ao sabor amargo se associaram à aceitação da solução com o mesmo sabor (RP 1,12, IC 95% 1,002-1,246, $p=0,046$). Em relação aos polimorfismos genéticos, o tempo de aleitamento materno exclusivo foi associado ao rs35744813 ($p=0,039$), e o tipo de leite consumido aos 12 meses de vida obteve associação com rs9701796 ($p=0,022$) e com o número de polimorfismos relacionados à sensibilidade ao sabor doce ($p=0,013$). Quanto ao QPA, houve associação entre o polimorfismo rs35744813 com a preferência a alimentos de sabor azedo ($p=0,040$), e entre rs846672 com preferência a alimentos de sabor umami ($p=0,042$). Relativo ao TAS, a reação do lactente ao sabor amargo esteve associada ao rs9701796 ($p=0,021$), ao rs307355 ($p=0,008$) e na contagem de polimorfismos relacionados à sensibilidade ao sabor doce ($p=0,037$); além da reação ao sabor azedo estar associada à contagem de polimorfismos relacionados à sensibilidade ao sabor amargo ($p=0,048$). **Conclusões:** As preferências alimentares estão relacionadas à aceitação dos sabores, e o método de alimentação complementar pode influenciar nas preferências aos mesmos. Ademais, os polimorfismos genéticos podem atuar na aceitação e preferência aos alimentos, de acordo com seu sabor predominante.

Palavras-chave: Alimentação Complementar. Preferências Alimentares. Percepção Gustatória. Comportamento Infantil. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. Ensaio Clínico Controlado Randomizado.

ABSTRACT

Introduction: Preferences for food tastes are shaped from the beginning of life, and the introduction of complementary foods is an important moment for establishing acceptance of varied flavors and healthy eating practices throughout life. **Aim:** To analyze food preferences related to predominant flavors among children submitted to different complementary feeding methods in the first years of life, and to evaluate polymorphisms related to the sensitivity of bitter and sweet tastes. **Methods:** Randomized clinical trial with mothers and their infants, who had not yet started food introduction, involving three distinct groups of children regarding the method of complementary feeding: conventional technique/Parent-Led Weaning (PLW); Baby-Led Introduction to SolidS (BLISS); and Mixed technique: both PLW and BLISS techniques. Families residing in Porto Alegre and the metropolitan region, from 2019 to 2023, participated in the study. The intervention took place at 5.5 months of the infants' life. At 12 months old, the Feeding Preferences Questionnaire (FPQ) was applied. Between 12-35 months old, the Taste Acceptance Test (TAT) was performed and oral mucosa was collected. The DNA genotyping was performed by real-time PCR. Data were analyzed by intention to treat. The main analyses were performed using Pearson's chi-square test and Poisson Regression, adjusted for confounding variables recommended by the Directed Acyclic Graph. **Results:** The sample consisted of the randomization of 140 mother-infant pairs, of which 45 (32.1%) were allocated to the PLW group, 48 (34.3%) to the BLISS group, and 47 (33.6%) to the Mixed group. Compared to the control method PLW, infants' preferences for foods with a predominant sour taste were statistically different in the Mixed method, specifically (PR 1.23, 95% CI 1.034-1.466, $p=0.02$). There was an association between the consumption of the solutions and their respective hedonic reactions in most of the offered tastes ($p<0.001$ in sweet taste, $p=0.029$ in sour taste, $p=0.005$ in salty taste, $p=0.026$ in umami taste and $p=0.811$ in bitter taste). Moreover, feeding preferences related to the bitter taste were associated with the acceptance of the solution with the same flavor (PR 1.12, 95% CI 1.002-1.246, $p=0.046$). Regarding genetic polymorphisms, the duration of exclusive breastfeeding was associated with rs35744813 ($p=0.039$), and the type of milk consumed at 12 months of life was associated with rs9701796 ($p=0.022$) and with the number of polymorphisms related to the sweet taste sensibility ($p=0.013$). As for the FPQ, there was an association between the polymorphism rs35744813 with the preference for sour-tasting foods ($p=0.040$), and between rs846672 with the preference for umami-flavored foods ($p=0.042$). Concerning the TAT, the infant's reaction to the bitter taste was associated with rs9701796 ($p=0.021$), with rs307355 ($p=0.008$), and with the count of polymorphisms related to the sweet taste sensibility ($p=0.037$); in addition, the reaction to the sour taste was associated with the count of polymorphisms related to the bitter taste sensibility ($p=0.048$). **Conclusions:** Feeding preferences are related to taste acceptance, and the method of complementary feeding can influence the preferences of the tastes. Furthermore, genetic polymorphisms may act on infant food acceptance and preferences, according to their predominant taste.

Keywords: Complementary Feeding. Food Preferences. Gustatory Perception. Infant Behavior. Single Nucleotide Polymorphism. Randomized Clinical Trial.

LISTA DE FIGURAS

Tese:

Figura 1 - Diagrama esquemático das papilas linguais e um botão gustativo...24

Quadro 1 - Grupos alimentares e seus respectivos sabores predominantes.....44

Original article 1:

Figure 1 – Directed Acyclic Graph for estimating the total effect of the acceptance test on feeding preferences.....76

Figure 2 – Study flowchart of the randomized clinical trial.....77

LISTA DE TABELAS

Original article 1:

Table 1 – Sociodemographic characteristics of the sample, according to the complementary feeding group randomization. Porto Alegre, Brazil.....	78
Table 2 – Prevalence ratio of the Feeding Preferences Questionnaire, according to the complementary feeding group randomization (n=132).....	80
Table 3 - Volume consumed in the Taste Acceptance Test, in relation to the infant reaction to the same substances (n=92).....	81
Table 4 – Univariate and multivariate prevalence ratios of the Feeding Preferences Questionnaire, according to the Taste Acceptance Test reaction (n=92).....	82

Original article 2:

Table 1 – Sociodemographic characteristics of the sample. Porto Alegre, Brazil.....	104
Table 2 – Frequencies of the polymorphisms in the sample (n=96).....	106
Table 3 – Number of polymorphisms related to sweet and bitter taste perception (n=96).....	107
Table 4 – Infant feeding characteristics related to the polymorphisms and the total count of polymorphisms related to sweet and bitter perception (n=96).....	108
Table 5 – Association of the preference for each taste at the Feeding Preferences Questionnaire with the polymorphisms and the total count of polymorphisms related to sweet and bitter perception.....	110
Table 6 – Association of the acceptance for each taste at the Taste Acceptance Test with the polymorphisms and the total count of polymorphisms related to sweet and bitter perception.....	112

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC – Alimentação complementar

AM – Aleitamento materno

AVI – Alanina-valina-isoleucina

BLISS – Baby-Led Introduction to SolidS

BLW – Baby-Led Weaning

CAAE – Certificado de Apresentação de Apreciação Ética

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

cAMP – Adenosina-monofosfato cíclico

COVID-19 – Doença do coronavírus 2019

CPC – Centro de Pesquisa Clínica

CRG – Células receptoras gustativas

DAG - Directed Acyclic Graph

DM – Diabetes Mellitus

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

ECR – Ensaio Clínico Radomizado

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IMC – Índice de Massa Corporal

LPT – Laboratório de Pediatria Translacional

PA – Preferências alimentares

PAV – Prolina-alanina-valina

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

pH – Potencial hidrogeniônico

PKD2L1 – Canal catiônico potencial receptor transitório Policistina 2 Tipo 1

PLW – Parent-Led Weaning

PROP – 6-n-propiltioraucil

PTC - Feniltiocarbamina

ReBEC – Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos

SNP – *single nucleotide polymorphism*

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

WHO – World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 ALIMENTAÇÃO COMPLEMENTAR	19
2.2 PREFERÊNCIAS ALIMENTARES	22
2.2.1 Formação do paladar	23
2.2.2 Preferências inatas.....	27
2.2.3 Formação e modificação das preferências alimentares	28
2.2.4 Polimorfismos associados	32
3. JUSTIFICATIVA	36
4. HIPÓTESE	37
5. OBJETIVOS	38
5.1 OBJETIVO GERAL	38
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
6. METODOLOGIA	39
6.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA.....	39
6.2 CONTEXTO	39
6.3 LOCAL DO ESTUDO	39
6.4 POPULAÇÃO	39
6.5 TAMANHO AMOSTRAL.....	40
6.6 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	40
6.7 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	40
6.8 LOGÍSTICA	41
6.8.1 Intervenção.....	41
6.8.2 Acompanhamento	43
6.9 INSTRUMENTOS.....	43

6.10 VARIÁVEIS EM ESTUDO	47
6.10.1 Desfecho	47
6.10.2 Exposição	47
6.10.3 Covariáveis.....	48
6.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
6.12 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	49
REFERÊNCIAS.....	50
7. RESULTADOS.....	52
7.1 ARTIGO 1.....	Erro! Indicador não definido.
7.2 ARTIGO 2.....	Erro! Indicador não definido.
8. CONCLUSÕES	55
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
APÊNDICES	57
APÊNDICE A	57
APÊNDICE B	60
APÊNDICE C	62
APÊNDICE D	68
APÊNDICE E	69
ANEXOS	70
ANEXO A.....	70
ANEXO B.....	71

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a compreensão dos fatores que influenciam as preferências aos sabores dos alimentos na infância ganhou atenção significativa, devido às suas implicações na promoção de comportamentos alimentares saudáveis e na prevenção de problemas relacionados à nutrição infantil (DIPASQUALE & ROMANO, 2020). Atualmente, a alimentação infantil é reconhecida como um dos maiores fatores de risco modificáveis para consequências na saúde a longo prazo (CONSALES *et al.*, 2022). A introdução dos alimentos complementares, que são apresentados ao lactente em torno dos seis meses de vida, desempenha papel crítico na formação das preferências alimentares; no entanto, a aceitação dos sabores durante este período crucial pode variar significativamente entre as crianças (MAIER-NÖTH, 2023).

Tradicionalmente, a introdução alimentar ocorre com alimentos em forma de papa, ofertado aos lactentes com auxílio de uma colher (WRIGHT *et al.*, 2011). Todavia, abordagens contemporâneas, como o Baby-Led Weaning e o Baby-Led Introduction to SolidS, incentivam os lactentes a se autoalimentarem com alimentos macios em forma de palito, levando o próprio alimento à boca; neste caso, os cuidadores apresentam um papel menos ativo, de observador, estimulando o protagonismo do lactente (SPYRELI, MCKINLEY & DEAN, 2021). Autores alegam que estes diferentes métodos podem expor as crianças a diversos sabores, texturas e experiências sensoriais, influenciando potencialmente a preferência a diferentes sabores a longo prazo (FANGUPO *et al.*, 2016; FEWTRELL *et al.*, 2017).

Outro possível fator de influência às preferências alimentares são os polimorfismos genéticos. Foi demonstrado que os polimorfismos desempenham função na percepção dos sabores, em que certas variações genéticas podem tornar os indivíduos mais ou menos sensíveis a cada sabor, influenciando no gosto ou aversão a determinados alimentos (DOS SANTOS *et al.*, 2017; CONT *et al.*, 2019). Ao examinar este tópico, esta pesquisa busca lançar luz sobre os fatores biológicos que contribuem para as diferenças individuais na percepção do gosto e na aceitação de sabores.

Esta tese tem como objetivo analisar as preferências alimentares infantis relacionadas aos sabores predominantes entre crianças submetidas a diferentes métodos de introdução da alimentação complementar nos primeiros anos de vida, e avaliar polimorfismos relacionados à aceitação dos sabores amargo e doce. Complementarmente, explora as características maternas e dos lactentes relacionadas às preferências alimentares e associa os resultados dos diferentes testes aplicados. Os resultados desta pesquisa pretendem contribuir para o conhecimento existente sobre o tema, visando fornecer recomendações baseadas em evidências para pais, profissionais de saúde e formuladores de políticas, para otimizar as práticas alimentares infantis e promover comportamentos alimentares saudáveis entre as crianças.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ALIMENTAÇÃO COMPLEMENTAR

A introdução da alimentação complementar (AC) se dá quando o leite materno ou a fórmula infantil deixam de ser considerados suficientes para a nutrição da criança (FEWTRELL *et al.*, 2017), ocorrendo uma redução progressiva do aleitamento materno (AM) ou da fórmula, enquanto os alimentos sólidos são gradualmente introduzidos (D'AURIA *et al.*, 2020).

As práticas saudáveis nesta etapa da vida podem atuar na regulação fisiológica e comportamental do crescimento e metabolismo infantil, além de alterar, a longo prazo, a programação metabólica e a composição corporal (DIPASQUALE & ROMANO, 2020). Os hábitos alimentares formados neste período são propensos a persistir durante a infância e vida adulta, indicando que intervenções que melhorem a qualidade da dieta, aceitação alimentar e comportamento alimentar devem iniciar cedo, juntamente à introdução da AC (THOMPSON, 2020).

Considera-se que o melhor momento para a introdução da AC seja no sexto mês de vida, período sensível para aceitação de grande variedade de sabores (QASEM, FENTON & FRIEL, 2015; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Uma recente revisão sistemática, realizada em países industrializados ocidentais em crianças em AM e uso de fórmula infantil, concluiu que a introdução da AC antes dos seis meses de vida não é necessária nem desejável, visto que o leite materno e a fórmula infantil são nutricionalmente adequadas até este marco, e a AC introduzida antes dos quatro meses de vida não demonstra diferenças no crescimento e nos níveis sanguíneos de ferro aos 12 meses de idade; no risco de sobrepeso e obesidade aos três anos e no risco de desenvolvimento de diabetes Mellitus (DM) tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica aos seis anos (VERGA *et al.*, 2022).

A literatura demonstra que houve um crescente interesse e preocupação das famílias em relação ao modo de oferta da AC e à possível prevenção de doenças crônicas não-transmissíveis, como sobrepeso e obesidade, doenças

alérgicas, doença celíaca ou DM tipo II (DIPASQUALE & ROMANO, 2020). A adoção de uma forma adequada de introdução alimentar é fator crucial para a manutenção da saúde ao longo da vida, podendo reduzir o risco de distúrbios nutricionais e outros problemas de saúde, além de estar relacionado ao desenvolvimento das preferências e comportamentos alimentares (NUZZI *et al.*, 2022).

Tradicionalmente, a introdução da AC tem sido baseada na exposição gradual a alimentos sólidos com diferentes texturas. A orientação é de que as crianças recebam alimentos com textura de papas e purês, antes de progredir para alimentos picados ou em pedaços ao longo dos meses seguintes, até chegar na consistência da família aos 12 meses de idade (WRIGHT *et al.*, 2011).

Nos últimos anos, porém, constatou-se que aos seis meses de idade a criança já tem maturidade fisiológica para mastigar, sentar sem suporte e levar os próprios alimentos à boca, surgindo então a proposta do método Baby-Led Weaning (BLW) (WRIGHT *et al.*, 2011), que consiste na oferta de alimentos complementares em pedaços, tiras ou bastões, permitindo que a AC não seja influenciada pela imposição dos cuidadores, que geralmente supõem o que e quanto a criança precisa e deve comer (ALVARENGA *et al.*, 2015). Pais e responsáveis participantes de estudos de BLW referiram a alimentação convencional como sendo forçada e associada a um certo nível de pressão, enquanto o BLW foi visto como um modo mais divertido de alimentar-se (SPYRELI, MCKINLEY & DEAN, 2021).

Estudo transversal realizado no Reino Unido com 180 crianças de seis a 12 meses, demonstrou que lactentes no primeiro ano de vida que tiveram sua alimentação complementar introduzida pelo método BLW foram mais expostas a legumes e alimentos fontes de proteínas, enquanto que as expostas ao método tradicional receberam mais refeições completas, com diferentes grupos alimentares (ROWAN, LEE & BROWN, 2019). Do mesmo modo, revisão da literatura, publicada em 2020, identificou que o método BLW teve associação significativa com a saciedade do lactente, início da alimentação complementar no momento adequado, adequação do ganho de peso e melhor controle do apetite. Famílias seguindo este método parecem ter práticas alimentares mais saudáveis, com melhor aderência às recomendações da Organização Mundial

de Saúde (WHO), menor seletividade alimentar, ingestão mais diversa de frutas e hortaliças e maior prazer ao se alimentar (MORISON *et al.*, 2016; THOMPSON, 2020). Um recente estudo, todavia, apontou que os benefícios da técnica BLW dependem da alimentação familiar; portanto, se a dieta da família é inadequada, este método expõe a criança ao risco de consumo excessivo de sódio, gorduras saturadas e proteínas, com aumento do risco para obesidade durante a infância e adolescência (NUZZI *et al.*, 2022).

Apesar disso, surgiram questionamentos pelas famílias e pesquisadores de que estas crianças poderiam estar com maior risco de deficiências de ferro, zinco e vitamina B12 (GOMEZ *et al.*, 2020). Os primeiros alimentos comumente introduzidos no BLW, incluindo frutas e hortaliças, são naturalmente baixos na quantidade de ferro. Em contraste, a consistência dos alimentos ricos neste mineral, como a carne, pode dificultar a autoalimentação do lactente, pelo risco de engasgos, e risco de déficit de crescimento (NUZZI *et al.*, 2022).

A fim de elucidar esse aspecto, um grupo de pesquisadores neozelandeses propuseram uma versão modificada do BLW, chamada Baby-Led Introduction to SolidS (BLISS), atentando para a prevenção de engasgos, a oferta calórica e o aporte de alimentos fontes de ferro (FANGUPO *et al.*, 2016; MORISON *et al.*, 2016).

Famílias de estudos relacionados à alimentação guiada pelo bebê (BLW e BLISS) referem que o método pode não ser adequado para todos os momentos, pela bagunça gerada até que as habilidades motoras da criança sejam satisfatórias. Os participantes da pesquisa descreveram também como um desperdício de alimentos, o que poderia desencorajar as famílias a oferecerem alimentos mais caros. A dificuldade de medir a ingestão é outro fator preocupante para as famílias (SPYRELI, MCKINLEY & DEAN, 2021). Uma revisão sistemática com metanálise demonstrou que os métodos de alimentação complementar (convencional, BLW ou BLISS) podem não estar associados ao ganho de peso para estatura, ou ter efeito preventivo no excesso de peso a longo prazo. Por outro lado, estilos parentais de alimentação responsiva podem resultar em adequado ganho de peso e menor incidência de excesso de peso nos dois primeiros anos de vida (BERGAMINI *et al.*, 2022).

Assim dizendo, juntamente ao momento e composição da AC, é provável que a forma como os alimentos são ofertados à criança e a interação entre pais e lactentes durante a mesma influenciem desfechos como aceitação de diferentes sabores, preferências alimentares (PA) e regulação do apetite (FEWTRELL *et al.*, 2017).

2.2 PREFERÊNCIAS ALIMENTARES

A alimentação é essencial para a sobrevivência, e a percepção dos sabores influencia fortemente nos comportamentos alimentares (FU, MINOKOSHI & NAKAJIMA, 2021). O principal papel das sensações no paladar é ajudar na decisão se um potencial alimento é benéfico e deve ser consumido, ou se o mesmo é perigoso e deve ser rejeitado. Assim, acredita-se que o sentido do paladar evoluiu para garantir que os animais escolham alimentos apropriados para suas necessidades corporais (BEAUCHAMP, 2016). Por exemplo, o sabor amargo, como mecanismo de defesa, deve prevenir a ingestão de compostos tóxicos estruturalmente distintos nos alimentos (LI, 2013). Já o sabor doce é capaz de identificar alimentos ricos em energia, mais precisamente carboidratos (BEAUCHAMP, 2016).

Entretanto, as experiências sensoriais, começando cedo na vida, podem moldar as PA. Durante a infância, os preditores conhecidos mais fortes das PA são 1) se as crianças gostam de como os alimentos têm gosto, 2) por quanto tempo foram amamentadas e se suas mães consumiram esses alimentos e 3) se estavam comendo esses alimentos em uma idade precoce (MENNELLA, 2014).

A percepção dos sabores tornou-se de grande interesse nos anos recentes, como o maior determinante dos padrões de aceitação alimentar entre as crianças (MAIER-NÖTH, 2023). O gosto serve como um poderoso estímulo para elucidar respostas afetivas, porque desempenha um papel crítico como “porteiro” do corpo, guardando contra o consumo de substâncias perigosas, incentivando o consumo de leite materno e outros alimentos que contêm energia. De forma similar, a preferência para gostos salgados e azedos, desenvolvida na infância, nos atrai para alimentos ricos em minerais, vitaminas e proteínas,

importantes para o crescimento e desenvolvimento (FORESTELL & MENNELLA, 2017).

Portanto, as escolhas alimentares estão fortemente associadas às propriedades sensoriais, levando à aceitação ou aversão a determinado alimento (OVERBERG *et al.*, 2012); sendo a sensação dos sabores formada pela junção das informações gustativas, olfatórias e somatossensoriais do organismo (PALHETA NETO *et al.*, 2011).

2.2.1 Formação do paladar

O corpo humano consegue reconhecer um grande espectro de diferentes *flavors* alimentares. Estes são o resultado da percepção do gosto (pelo córtex gustatório), do olfato (pelo nervo olfatório) e da textura (pelo nervo trigêmeo). Em contraste, somos capazes de perceber apenas cinco qualidades de sabores – doce, salgado, azedo, amargo e umami (PODZIMEK *et al.*, 2018).

As papilas gustativas, na cavidade oral, processam os primeiros sinais que afetam a regulação da ingestão de alimentos, apetite e saciedade; desempenhando papel crucial em relação a como os alimentos são transmitidos ao cérebro (ROHDE, SCHAMAREK & BLÜHER, 2020). A principal função destes receptores é reconhecer os compostos exógenos, converter seus sinais químicos em respostas biológicas e gerar informações quimiossensoriais (KI & JEONG, 2022).

A superfície dorsal da língua contém numerosas papilas linguais, que podem ser divididas em quatro tipos: filiformes, fungiformes, circunvaladas e foliadas. Exceto nas papilas filiformes, todas as demais apresentam corpúsculos gustativos (KIERSZENBAUM, 2008).

Há evidências de que exista entre 2.000 e 5.000 papilas gustativas (**Figura 1**) ao longo da superfície frontal e posterior da língua, e cada papila gustativa é revestida por 50 a 100 células de botões gustativos (CHAMOUN *et al.*, 2018a). Os botões gustativos são estruturas em forma de cebola, compostas por células que expressam diferentes tipos de receptores gustativos (FU, MINOKOSHI & NAKAJIMA, 2021).

O sabor, por sua vez, é determinado pela sensação causada pela reação química de uma substância com as células receptoras gustativas (CRG) presentes nos botões gustativos. Cada CRG tem múltiplos receptores para cada um dos sabores básicos, mas comumente apenas um ou dois receptores estão ativos na célula (LI, 2013; PODZIMEK *et al.*, 2018; ROHDE, SCHAMAREK & BLÜHER, 2020).

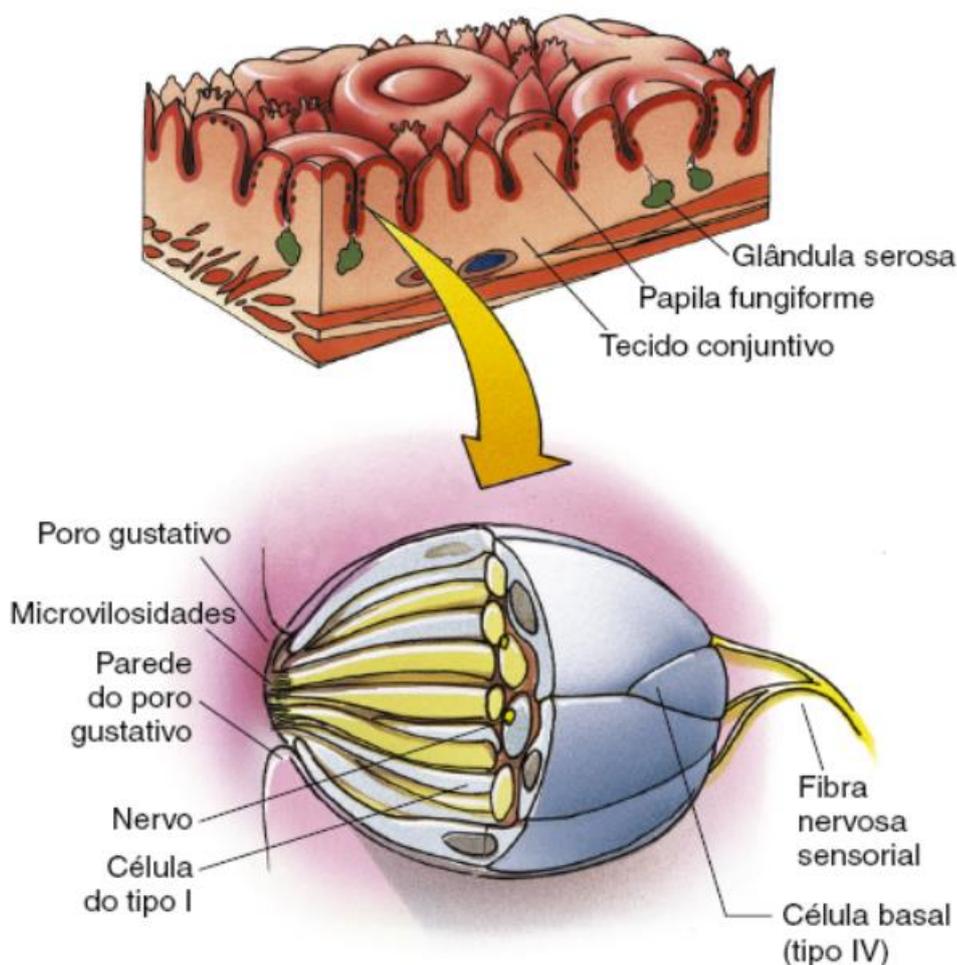


Figura 1: Diagrama esquemático das papilas linguais e um botão gustativo.

Fonte: GARTNER, 2022.

Desta forma, o paladar se inicia quando substâncias químicas solúveis, chamadas gustantes, se difundem pelos poros gustativos nos corpúsculos gustativos e interagem com as subunidades α , β e γ da proteína G gustaducina, levando à transdução do sabor (KIERSZENBAUM, 2008; MENNELLA & BOBOWSKI, 2015; LUMENG & FISHER, 2018).

Após os saborizantes interagirem com os receptores da superfície celular, eles iniciam cascatas de sinalização que transduzem a energia química do ligante em fluxos de íons, resultando em mudanças no potencial de membrana (ROHDE, SCHAMAREK & BLÜHER, 2020). O mecanismo molecular da transdução do paladar difere para cada gosto, mas todos causam liberação de transmissor e aumento do disparo do nervo aferente (PODZIMEK *et al.*, 2018; WOODING, RAMIREZ & BEHRENS, 2021). Os mecanismos moleculares específicos de cada sabor são:

- Sabor salgado: íons de sódio entram nos receptores celulares via canais de sódio amiloidessensitivos. Isto causa despolarização e um influxo de cálcio através de canais de cálcio sensíveis à voltagem, o que leva à liberação do transmissor;

- Sabor doce: a ligação ao receptor ativa a adenilil ciclase e a elevação da adenosina-monofosfato cíclico (cAMP), causando fosforilação de canais de potássio mediados pela proteína quinase dependente de cAMP. O cálcio entra na célula por meio dos canais de cálcio ativados pela despolarização e causam a liberação do transmissor;

- Sabor azedo: canal detector de ácido PKD2L1 (*polycystin 2 like 1 channel*), controlado pelo pH (concentração de íons de hidrogênio);

- Sabor amargo: a ligação aos receptores T2R ativa a proteína G. Então, diacilgliceróis e inositol trifosfato, como segundos mensageiros, medeiam a liberação de cálcio do armazenamento interno, que causa a liberação do transmissor e aumenta o disparo do nervo aferente primário;

- Sabor umami: a ligação ao receptor ativa uma proteína G, elevando o cálcio intracelular.

Estas células receptoras estão em contato sináptico com as terminações nervosas aferentes derivadas dos nervos facial, glossofaríngeo e vago. O nervo facial transmite as cinco sensações de sabores; já o glossofaríngeo, apenas as sensações dos sabores doce e amargo (KIERSZENBAUM, 2008; FU, MINOKOSHI & NAKAJIMA, 2021). Um mesmo neurônio pode servir a mais células simultaneamente, para que possa transmitir diferentes gostos (PODZIMEK *et al.*, 2018). Como consequência, é gerado um sinal que ativa os

circuitos cerebrais geradores de prazer, onde a percepção de sabor e hedônica surgem (LUMENG & FISHER, 2018).

O receptor doce, por exemplo, é composto por dois receptores de proteínas G acopladas, denominados T1R2 e T1R3 (família de receptores gustativos 1, receptores 2 e 3) (LUMENG & FISHER, 2018; FU, MINOKOSHI & NAKAJIMA, 2021); seus genes associados são TAS1R2 e TAS1R3 (MENNELLA & BOBOWSKI, 2015).

Enquanto a familiaridade das proteínas receptoras do sabor doce se mantém pequena, com poucos genes conhecidos, há em torno de 25 receptores de proteína G acopladas diferentes na sinalização do gosto amargo (T2Rs), com genes agrupados principalmente nos cromossomos 7 e 12. Dos cinco sabores básicos, o amargo é o mais diverso, tanto a nível de análises psicofísicas, como sensibilidade a um ligante particular, genética, variação no número de haplótipos e numerosos receptores (MENNELLA & BOBOWSKI, 2015).

A maioria dos receptores são ativados por mais de um composto amargo, e um composto de sabor amargo pode ativar mais de um receptor. Porém, sugere-se que ainda existem muitos receptores amargos a serem descobertos (LUMENG & FISHER, 2018). Os TAS2Rs, genes relacionados aos receptores T2R, se localizam na superfície das células receptoras, desencadeando uma cascata de transdução composta por duas vias paralelas; juntas, essas vias despolarizam a célula receptora, produzindo um sinal transmitido ao sistema nervoso (WOODING, RAMIREZ & BEHRENS, 2021).

De forma geral, no momento em que um sabor é ingerido, ele gera um traço de memória gustativa, que é a representação neural do sabor, e provavelmente permanece armazenado temporariamente em paralelo ao longo de várias regiões cerebrais. Este traço de memória gustativa tem pelo menos dois componentes – seguro e aversivo. Uma vez que as consequências da ingestão do sabor tenham sido estabelecidas, forma-se uma memória gustativa, podendo ser segura ou aversiva. Quando um novo sabor é apresentado sem consequências aversivas, posteriormente passa a ser reconhecido como um sinal seguro, levando a um aumento no seu consumo nas apresentações seguintes. Já quando é associado a mal-estar pós-ingestão, a memória o reconhece como aversivo e evita seu consumo, denominando-se aversão ao

sabor condicionada (RAMÍREZ-LUGO, NÚNEZ-JARAMILLO & BERMÚDEZ-RATTONI, 2007).

2.2.2 Preferências inatas

O desenvolvimento dos receptores gustatórios geralmente inicia no primeiro trimestre da gestação, entre sete e oito semanas, estando maduros na décima sétima semana gestacional. A deglutição, por sua vez, inicia por volta da décima segunda semana de gestação; e a sucção não-nutritiva por volta da décima oitava semana. Ao final da gestação, portanto, o feto engole uma quantidade significativa de líquido amniótico. Entre as 22-25 semanas, os sinais gustativos são transmitidos ao sistema nervoso central, podendo o feto reagir aos diferentes sabores ligados à dieta materna (PODZIMEK *et al.*, 2018). Sugere-se, então, que as experiências sensoriais de gosto iniciam ainda dentro do útero, em que o líquido amniótico ingerido é saborizado pela alimentação materna (SCAGLIONI *et al.*, 2018).

Uma revisão sistemática demonstrou que sabores específicos, como álcool, erva-doce, cenoura e alho originários da dieta materna durante a gravidez podem ser transferidos e saborizar o líquido amniótico, e esta exposição fetal aumenta a aceitação de alimentos semelhantes quando reexpostos durante a infância (SPAHN *et al.*, 2019). Percebe-se que, logo após o nascimento, os indivíduos mostram características diferentes em relação as preferências sensoriais: os sabores doce, salgado e umami provocam respostas hedônicas positivas; já os sabores azedo e amargo provocam respostas negativas (VENTURA & WOROBEY, 2013). De uma perspectiva evolutiva, as expressões faciais hedônicas inatas desempenham um importante papel adaptativo, permitindo que os lactentes transmitam aos cuidadores informações sobre as características sensoriais dos alimentos (FORESTELL & MENNELLA, 2017).

Essas preferências de gosto podem refletir um impulso biológico em relação a alimentos que são calóricos e ricos em proteínas e uma aversão a alimentos que são venenosos ou tóxicos (VENTURA & WOROBEY, 2013); e predispõe os lactentes a inicialmente rejeitar alimentos considerados saudáveis, como carboidratos complexos e folhas verde-escuras, que não são doces,

salgados ou ricos em energia (D'AURIA *et al.*, 2020); mas, apesar de representarem uma vantagem adaptativa em ambientes de escassez alimentar, eles resultam em uma desvantagem no ambiente alimentar moderno (VENTURA & WOROBEY, 2013). O abastecimento de alimentos atual é caracterizado por abundância de alimentos altamente concentrados em açúcar e pobre em nutrientes, além de adoçantes não nutritivos que podem perturbar o equilíbrio entre sabor, nutrientes e apetite (VENTURA & MENNELLA, 2011).

Alguns sabores, como álcool, erva-doce, cenoura, eucalipto, alho e hortelã, semelhante ao que ocorre no líquido amniótico, também são transmitidos e saborizam o leite materno, de maneira tempo-dependente. Os lactentes podem detectar sabores transmitidos pelo leite materno dentro de horas após uma única ingestão materna, dentro de dias após a ingestão materna repetida, e dentro de um a quatro meses pós-parto, após ingestão materna repetida durante a lactação (SPAHN *et al.*, 2019). Assim sendo, a aceitação dos sabores básicos durante a AC pode ser diferente entre crianças amamentadas e não amamentadas, uma vez que a fórmula láctea provém um sabor constante, predominantemente doce (D'AURIA *et al.*, 2020).

Este mecanismo se mostra o mesmo para preferências a alimentos não saudáveis. Deste modo, visando obter grande aceitação alimentar e uma dieta variada, os cuidadores devem desencorajar as preferências inatas do lactente, oferecendo a ele alimentos saudáveis (como frutas, verduras e cereais integrais), sem adição de sal ou açúcar, e evitando ingredientes com alta densidade energética (D'AURIA *et al.*, 2020).

A maturação do sabor e suas consequências no comportamento alimentar parecem ser influenciadas na infância pela genética, pelas experiências ambientais e culturais. Já na fase adulta, as experiências ambientais e culturais parecem prevalecer na percepção do sabor em relação à genética. Os comportamentos aprendidos, portanto, podem sobrepor a predisposição genética ao longo da vida (CHAMOUN *et al.*, 2018a).

2.2.3 Formação e modificação das preferências alimentares

O comportamento alimentar pode ser classificado como uma alimentação homeostática, visando manter o peso corporal e a função metabólica; ou alimentação hedônica, impulsionada pela percepção sensorial ou por prazer. Estes sistemas podem ser ativados separadamente ou simultaneamente, e o padrão de ativação pode mudar de acordo com o gosto do alimento (palatável ou aversivo) e com o estado fisiológico (fome ou saciedade) (MUTHMAINAH *et al.*, 2021). Da mesma forma, o alimento se torna mais palatável no estado de fome, assim como há maior sensibilidade aos sabores doce, azedo e salgado. Empiricamente, durante o estado de fome, alimentos comuns são percebidos como mais atrativos, e há menor aversão aos alimentos que normalmente se desgosta (FU, MINOKOSHI & NAKAJIMA, 2021).

Observa-se que os comportamentos alimentares são influenciados por fatores intrínsecos, como peso ao nascimento, gênero, predisposição genética; e ambientais/familiares, como renda, etnia, nível socioeconômico, exposição à mídia, dentre outros (DE COSMI, SCAGLIONI & AGOSTINI, 2017; SCAGLIONI *et al.*, 2018). A biologia não predispõe a favorecer as dietas ricas em legumes e verduras, pobres em açúcar e baixo teor de sódio, tornando as crianças especialmente vulneráveis ao atual ambiente alimentar de alimentos ricos em sal e açúcares refinados (MENNELLA, 2014).

Em uma revisão da literatura, há evidências demonstrando que as crianças que consomem alimentos complementares antes dos quatro meses de vida tendem a ter maior consumo de alimentos não-saudáveis aos 12 meses de idade, independente das características sociodemográficas do lactente. Ao encontro disto, um estudo de coorte prospectivo demonstrou que lactentes com introdução da AC antes dos quatro meses tiveram menor habilidade em reconhecer os sinais de saciedade aos cinco anos de idade, enquanto que a introdução da AC após os seis meses se associou a menor prazer e resposta alimentar (D'AURIA *et al.*, 2020).

A alimentação infantil pós-natal é única, na medida em que é tipicamente exclusiva à base de leite, sendo o mesmo materno, artificial ou ambos. No entanto, as fórmulas infantis não são homogêneas, visto que a principal diferença entre elas é a forma da sua proteína. Os sabores aos quais as crianças são expostas durante o consumo de fórmula dependem do tipo e marca da fórmula,

que afetará a aceitação e preferência aos alimentos (FORESTELL & MENNELLA, 2017). As fórmulas à base de proteína extensamente hidrolisada, que contém maiores concentrações de pequenos peptídeos e aminoácidos livres, resultam em maior proeminência nos sabores salgado, amargo e azedo, quando comparado a fórmula de leite de vaca intacta. Consequentemente, estas crianças desenvolvem maior preferência a estes sabores, demonstrando menos expressões faciais de aversão (MENNELLA & CASTOR, 2012).

O AM também se caracteriza como fator que confere vantagem na aceitação inicial dos alimentos, mas apenas se a mãe consumir o alimento regularmente. Após, lactentes que recebem exposição alimentar repetida a um alimento, o consome mais e pode aprender a gostar do sabor do mesmo. Entretanto, porque as crianças, de forma inata, demonstram expressões faciais de incômodo em resposta a certos alimentos, os cuidadores podem hesitar em continuar a oferta (FORESTELL & MENNELLA, 2007).

A convergência de achados de diversos estudos experimentais indica que a exposição repetida a um alimento, entre oito e dez vezes, familiariza a criança com aquele alimento e aumenta a disposição ao seu consumo. Ou seja, a criança precisa provar o alimento para aprender a gostar dele (FORESTELL & MENNELLA, 2007). Igualmente, uma revisão sistemática evidenciou que o efeito desta exposição repetida pode se generalizar para outros alimentos de uma mesma categoria (SPILL *et al.*, 2019); sendo esta a forma mais efetiva de promover a aceitação de novos sabores e alimentos (D'AURIA *et al.*, 2020). Ademais, a exposição a modelos de expressões faciais positivas pode aumentar a aceitação e consumo de alimentos nutritivos vistos originalmente como ruins, como as hortaliças (EDWARDS *et al.*, 2022).

Outro fator que pode influenciar na modulação das PA é o papel da família. Uma revisão sistemática sobre experiências parentais na AC trouxe à luz que os pais observam os gostos alimentares iniciais para orientar na escolha de oferta dos alimentos complementares. Os pais podem, até mesmo, priorizar a oferta destes alimentos que parecem ter respostas positivas no lactente, em detrimento de alimentos mais nutritivos (SPYRELI, MCKINLEY & DEAN, 2021).

O sistema familiar que envolve a vida doméstica de uma criança tem um papel ativo no estabelecimento e promoção de comportamentos alimentares,

que persistirão ao longo da sua vida. Em outros termos, os hábitos alimentares parentais exercem grande influência nas escolhas e comportamentos alimentares infantis, devendo os mesmos atuar como modelos positivos aos seus filhos (SCAGLIONI *et al.*, 2018). Filhos de pais com consumo alimentar desfavorável tendem a consumir mais doces, alimentos gordurosos e processados, e ter menor escore de adesão a uma dieta saudável (PODZIMEK *et al.*, 2018).

Evidencia-se que crianças preferem níveis mais altos de açúcares, como sacarose, frutose e sucralose do que adultos, com esta preferência declinando durante a adolescência, que coincide com a cessação do crescimento físico. A preferência pela maior concentração de açúcar na infância se relaciona significativamente com o nível de doçura preferida em bebidas, cereais e doces, tornando as crianças mais vulneráveis ao consumo excessivo de alimentos e bebidas adoçados que os adultos (LUMENG & FISHER, 2018).

As preferências aos sabores, principalmente ao sabor doce, parece ser um dos fatores determinantes para o sobrepeso e obesidade em crianças e adultos. Um estudo com 239 crianças de 8-15 anos demonstrou que, no grupo de crianças que preferiram preparos com sabor doce elevado, havia o dobro de crianças obesas comparado ao grupo que preferia menor sabor doce (SOBEK *et al.*, 2020). Já em indivíduos adultos, a maior sensibilidade ao doce se relaciona à maior preferência por alimentos doces e carboidratos, e menor preferência a alimentos ricos em proteínas, em indivíduos eutróficos e com sobrepeso (HAN *et al.*, 2020).

Percebe-se, portanto, que existem diferenças individuais genéticas nos níveis percebidos e aceitos de doçura, e limitar o consumo dos alimentos altamente doces pode ser mais difícil para algumas pessoas (VENTURA & MENNELLA, 2011). As variações na percepção do paladar entre os indivíduos podem, desta forma, moldar as preferências ao sabor, influenciando a ingestão dietética e os hábitos alimentares a longo prazo (DOS SANTOS *et al.*, 2017).

Já em relação ao amargo, usualmente rejeitado pelas crianças, pesquisas revelam que a relação genótipo-fenótipo das alterações genéticas pode ser modificada com a idade, em que crianças do mesmo genótipo são mais sensíveis que os adultos, com o padrão adulto emergindo durante a adolescência

(MENNELLA & BOBOWSKI, 2015; SMAIL, 2019). Os perfis individuais de percepção do sabor amargo interagem para afetar o comportamento alimentar, fenômeno este que é visto especialmente nos primeiros anos da vida. A maior sensibilidade ao gosto amargo pode levar os indivíduos a evitar o consumo de legumes e verduras ricos em compostos antitumorais e antioxidantes e, conseqüentemente, levar a um maior consumo de alimentos doces e gordurosos como substitutos. Esse comportamento alimentar tem o potencial de aumentar o risco de doenças cardiovasculares, obesidade e câncer (CHAMOUN *et al.*, 2018a).

Muitos fatores influenciam a sensação do gosto amargo, como a alimentação, idade, sexo, etnia, diversas doenças (como neoplasias, traumatismo craniano, infecções do trato superior), medicações e estilo de vida (SMAIL, 2019). Devido aos múltiplos receptores amargos e à capacidade dos compostos amargos de se ligarem a mais de um receptor, talvez seja enganoso descrever um indivíduo como sendo “sensível ao amargo”, visto que muitas pessoas podem ser muito sensíveis a um composto, mas não a outro (LUMENG & FISHER, 2018).

Outro grande fator de influência na sensibilidade aos sabores são as variações genéticas que atuam na percepção do paladar (NAVARRO-ALLENDE, KHATAAN & EL-SOHEMY, 2008); podendo, inclusive, ser associadas à regulação do peso corporal, de acordo com um recente estudo de revisão (ROHDE, SCHAMAREK & BLÜHER, 2020). Demonstra-se que existem certos genótipos que podem modular a aceitação dos diferentes sabores entre cada organismo (CONT *et al.*, 2019). Alguns exemplos de receptores gustativos envolvidos são o TAS2R38 e o TAS2R50 na percepção do gosto amargo, TAS1R nos gostos doce e umami, PKD1L3 e PKD2L1 no azedo e CD36 na percepção de alimentos ricos em gordura. Estas modificações nos genes ocorrem pela influência de SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeo Único), como por exemplo o SNP rs713598 no receptor TAS2R38 (CHAMOUN *et al.*, 2018b).

2.2.4 Polimorfismos associados

A variação genética do gosto surge de fatores herdados ou variações espontâneas. Embora cerca de 99% do DNA seja o mesmo entre os indivíduos, principalmente nas famílias, os polimorfismos genéticos podem ocorrer, sendo que cada filho tem em média 60 novas variações em relação aos pais. Estes polimorfismos podem resultar na mudança de função do receptor. A genotipagem gustativa realizada em crianças concentra-se em mudanças em SNPs, que são alterações na sequência de nucleotídeos. A presença de um alelo mutado é suficiente para modificar a percepção dos sabores, sendo estes alelos caracterizados como dominantes (LUMENG & FISHER, 2018).

De acordo com uma revisão sistemática publicada, os genes responsáveis pelas PA dividem-se em sete categorias, sendo elas: genes responsáveis pela digestão e absorção de carboidratos e gorduras; genes associados às intolerâncias alimentares; genes responsáveis pelo metabolismo de vitaminas; genes responsáveis pelo metabolismo de xenobióticos; genes responsáveis pelos vícios alimentares; genes responsáveis pelo descontrole da ingestão alimentar e genes responsáveis pelas sensações de sabor (VESNINA *et al.*, 2020).

Avanços recentes demonstram que SNPs nos receptores do sabor doce T1R2 podem alterar a percepção do gosto doce, os comportamentos alimentares, a incidência de cáries dentárias e o maior consumo de alimentos ricos em carboidratos (HAN, KEAST & ROURA, 2017; CHAMOUN *et al.*, 2018b). Os receptores mais conhecidos por estarem envolvidos na percepção do sabor doce são T1R2 e T1R3; e seus genes associados são TAS1R2 e TAS1R3, respectivamente (LUMENG & FISHER, 2018). Essas proteínas transmembrana permitem aos humanos sentir uma variedade de substâncias doces, como açúcares de origem natural, glicosídeos, adoçantes, dentre outros. Os SNPs em T1R3 são responsáveis por 16% da variabilidade da população na percepção de doces (CHAMOUN *et al.*, 2018a). Alguns SNPs examinados até o momento são rs35874116, rs35744813 e rs307355 (LUMENG & FISHER, 2018).

No que se refere ao sabor amargo, a percepção da maioria dos compostos amargos não é uma função simples de compatibilidade entre um agonista e um único receptor, mas uma função complexa do conjunto completo de TAS2Rs - temos 25 ao todo (WOODING, RAMIREZ & BEHRENS, 2021). Os receptores

referentes ao gosto amargo estão relacionados principalmente à percepção das substâncias feniltiocarbamina (PTC) e 6-n-propiltioraucil (PROP); em que se estima que 75% da população percebam estas substâncias como amargas e 25% como relativamente sem gosto (NAVARRO-ALLENDE, KHATAAN & EL-SOHEMY, 2008).

Embora existam vários tipos diferentes de T2Rs para percepção do gosto amargo nas células das papilas gustativas, como o T2R16 e o T2R50, apenas o T2R38 foi associado a um estado de sabor amargo predeterminado geneticamente. A degustação do sabor amargo, neste gene, é principalmente uma combinação dos SNPs rs713598, rs1726866 e rs10246939; resultando em um haplótipo de aminoácidos PAV (prolina-alanina-valina), AVI (alanina-valina-isoleucina) e seus intermediários. A homozigose para o haplótipo de aminoácidos PAV é considerada como um ultrasensível – pessoas que experienciam o amargor com intensidade muito maior que a média da população; enquanto os que são homozigotos para o haplótipo AVI são insensíveis a este sabor, e os heterozigotos têm fenótipos intermediários (CHAMOUN *et al.*, 2018a).

O efeito do gene TAS2R38 demonstra sofrer um declínio no fenótipo e, por sua vez, na sensibilidade ao sabor, com a idade; ou seja, há um número menor de crianças insensíveis que adultos, tanto as heterozigóticas quanto homozigóticas (LUMENG & FISHER, 2018). Em uma pesquisa realizada na Itália com pais e filhos, a sensação gustativa das crianças diferiu da dos adultos, com maior frequência de ultrasensibilidade entre crianças, mesmo nas díades mãe-filho com os mesmos diplótipos; em que uma porcentagem maior de crianças sensíveis evitava verduras amargas em comparação aos adultos. As crianças sensíveis ao sabor foram associadas ao IMC-por-idade eutrófico, e nenhuma das crianças obesas era ultrasensível (NEGRI *et al.*, 2012).

Interessantemente, crianças com sensibilidade ao amargo preferem concentrações mais altas de açúcares nos alimentos que as crianças não sensíveis ao amargo (PAWELLEK *et al.*, 2016). Porém, essa preferência não se relacionou aos limiares de detecção ou de sensibilidade ao doce (JOSEPH, REED & MENNELLA, 2016).

Estudos demonstraram que as variações genéticas relacionadas ao gosto amargo podem estar relacionadas à aceitação da introdução da AC (CONT *et al.*, 2019), à seletividade alimentar (COLE *et al.*, 2017) e à maior densidade energética diária proveniente de *snacks* em crianças de dois a cinco anos (CHAMOUN *et al.*, 2018b). SNPs no receptor do gosto amargo T2R38 demonstram influenciar o gosto das hortaliças brássicas, podendo levar à evitação do consumo de alimentos amargos, ricos em antioxidantes, e compensar com o consumo maior de alimentos doces e gordurosos, aumentando o risco para doenças crônicas e afetar a regulação metabólica hormonal. Além da modificação fenotípica com o avançar da idade, o papel da genética na percepção do paladar pode ser mais impactante em crianças, devido à falta de influência cultural em comparação com os adultos (CHAMOUN *et al.*, 2018a; VESNINA *et al.*, 2020).

Levando em conta o que foi explanado acima, não há na literatura, ao que se sabe, estudos que explorem as diferentes formas de introdução alimentar e a modulação ambiental às preferências alimentares na infância, quando analisados a aceitação de sabores, os polimorfismos genéticos e os fatores associados.

3. JUSTIFICATIVA

As preferências e os hábitos alimentares são fortemente influenciados pela percepção do gosto (CHAMOUN *et al.*, 2018a). Embora o gosto continue sendo o principal motivo de decisão de consumo de alimentos entre os adultos, a importância do sabor na escolha dos alimentos é mais evidente entre crianças – elas comem o que gostam e deixam o resto (LUMENG & FISHER, 2018). Ademais, diferenças genéticas na habilidade de percepção dos sabores podem impactar o comportamento alimentar e o consumo nutricional (CHAMOUN *et al.*, 2018a, SCAGLIONI *et al.*, 2018).

Não há na literatura internacional ou nacional, ao que se sabe, estudos que explorem as diferentes formas de introdução alimentar e a modulação ambiental às preferências alimentares na infância, quando analisados a aceitação de sabores, os polimorfismos genéticos e os fatores associados.

4. HIPÓTESE

Os diferentes métodos de introdução da alimentação complementar exercem influência sobre a aceitação dos diferentes sabores e as preferências alimentares infantis, nos primeiros anos de vida, que por sua vez podem ser influenciadas por aspectos genéticos.

Espera-se que as crianças alocadas nos diferentes grupos de introdução alimentar tenham aceitação a diferentes sabores e preferências alimentares variadas em relação aos demais grupos. Pressupõe-se que o tipo de leite consumido pelo lactente, além de outras características, infira na aceitação dos sabores. Supõe-se que o consumo das soluções saborizadas, a resposta hedônica a ele e as preferências alimentares estejam relacionadas. Além disto, acredita-se que haja diferença entre os grupos na modulação ambiental à aceitação dos sabores, quando analisados os polimorfismos genéticos e os fatores associados a isto.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Analisar as preferências alimentares infantis relacionadas aos sabores predominantes entre crianças submetidas a diferentes métodos de introdução da alimentação complementar nos primeiros anos de vida, e avaliar polimorfismos relacionados à aceitação dos sabores amargo e doce.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a associação entre os métodos de alimentação complementar com a aceitação dos sabores e as preferências alimentares;
- Aferir o tipo de leite consumido (leite materno, fórmula infantil e leite de vaca) e sua relação com a aceitação dos sabores;
- Avaliar se o consumo das soluções saborizadas é condizente com as reações hedônicas ao mesmo;
- Avaliar se a aceitação dos sabores presentes na solução gustativa é condizente com a preferência dos alimentos daquele sabor predominante;
- Associar a aceitação dos sabores e as preferências alimentares relacionadas ao sabor predominante com a influência de características socioeconômicas familiares, maternas e infantis;
- Avaliar e caracterizar polimorfismos relacionados à aceitação do sabor amargo (rs1726866, rs713598, rs10246939, rs1376251 e rs846672) e do sabor doce (rs35874116, rs9701796, rs307355 e rs35744813), associando-os com as preferências alimentares.

6. METODOLOGIA

6.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Trata-se de um ensaio clínico randomizado (ECR), envolvendo três grupos distintos de crianças com relação ao método de introdução alimentar: (A) introdução alimentar através de método tradicional/Parent-Led Weaning (PLW); (B) introdução alimentar mediante técnica BLISS; e (C) introdução alimentar utilizando técnica mista: parte BLISS e parte convencional.

6.2 CONTEXTO

Este projeto utilizou a amostra do estudo intitulado “Métodos de Introdução Alimentar em Crianças: um Ensaio Clínico Randomizado”. O protocolo do estudo, juntamente às demais informações pertinentes, estão publicadas em NUNES *et al.*, 2021a e NUNES *et al.*, 2021b. A coleta de dados ocorreu de abril de 2019 a janeiro de 2023, sendo o recrutamento, randomização e intervenções até março de 2020 e os acompanhamentos até janeiro de 2023.

6.3 LOCAL DO ESTUDO

Os participantes foram recrutados para o estudo através da internet por meio de redes sociais, páginas e grupos direcionados às mães, anúncio em jornal e cartazes divulgados em ambientes oportunos a este fim. O acompanhamento e intervenções ao longo do estudo ocorreram em clínica de nutrição particular, por questionários online, à domicílio e no Centro de Pesquisa Clínica (CPC) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), conforme combinação prévia e disponibilidade das mães ou responsáveis.

6.4 POPULAÇÃO

A população-alvo foi constituída por mães e seus filhos em fase de lactação que ainda não tivessem iniciado o processo de alimentação complementar e que atendessem aos critérios de elegibilidade do estudo.

A randomização das mães se deu em blocos de três (três braços) até atingir o número de pares mães-lactentes calculado, gerada por computador no site www.randomization.com.

Após a aquiescência da mãe ou responsável em participar do estudo e depois da entrevista inicial, esta foi sorteada a compor o grupo do método PLW, grupo do método BLISS ou grupo do método misto conforme randomização prévia. Um membro do grupo de pesquisa, que não foi responsável pela intervenção e nem pela coleta de dados, ficou responsável por gerar a lista para alocação das mães.

6.5 TAMANHO AMOSTRAL

O cálculo do tamanho amostral foi realizado para o desfecho primário do ECR, sendo este a avaliação do crescimento infantil aos 12 meses de vida do lactente. Considerando um desvio padrão unitário igual a 1,4, com poder de 80% e um nível de significância de 5%, o cálculo amostral resultou em 48 pares de mães/lactentes para cada um dos três grupos de intervenção, totalizando uma amostra de 144 pares de mães e seus respectivos filhos. Para este cálculo foi utilizado o *software* PSS Health (BORGES *et al.*, 2021). A definição do tamanho amostral considerou estudos sobre o assunto anteriormente realizados e divulgados (DANIELS *et al.*, 2015; TAYLOR *et al.*, 2017).

6.6 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram consideradas elegíveis para participar do estudo mães residentes em Porto Alegre, região metropolitana e Vale do Rio dos Sinos, com recém-nascidos saudáveis, a termo, não gemelares e com peso de nascimento igual ou superior a 2500 gramas, que ainda não tivessem iniciado a introdução alimentar, com idades entre 0 e 4 meses.

6.7 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Para este estudo, foram excluídas crianças com alergias ou intolerâncias alimentares.

6.8 LOGÍSTICA

A seleção da amostra ocorreu via internet, sendo fornecido um endereço de e-mail e um número de *WhatsApp* para que as mães interessadas pudessem fazer um primeiro contato com os pesquisadores, demonstrando interesse em participar.

Uma vez que a mãe se interessasse em participar da pesquisa, ela foi convidada a participar do estudo por meio de ligação telefônica (nesse momento o pesquisador explicou todos os passos do projeto, e retirou quaisquer dúvidas sobre a pesquisa), e assinou o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), enviado de forma online.

A partir do primeiro contato e após a assinatura do TCLE, ocorreu a randomização eletrônica para alocação dos participantes, sendo os mesmos sequencialmente numerados na randomização de três blocos em iguais números, conforme site mencionado anteriormente. O processo foi feito por pesquisador não envolvido na intervenção ou na coleta de dados. De modo online, as participantes responderam a um questionário padronizado visando à obtenção de informações relativas às características sociodemográficas e a alguns aspectos relacionados ao acompanhamento pré-natal e ao parto, além de questões como escolaridade e renda familiar.

6.8.1 Intervenção

Quando cada braço do estudo estava composto por grupos de 4 a 8 mães, foi agendada uma data para ser realizada a intervenção desse grupo no mesmo local e no mesmo dia. Nesse momento foi entregue o TCLE impresso para a mãe assinar em duas vias, ficando uma com os pesquisadores e outra com a mãe. Apenas no momento da intervenção as famílias ficaram cientes de seu grupo de alocação. Devido à pandemia de COVID-19, a intervenção passou a ser realizada de forma online.

A intervenção foi realizada por uma equipe formada por três nutricionistas para orientações sobre introdução alimentar e fonoaudióloga para orientações sobre prevenção e manejo de engasgos; com lactentes aos 5,5 meses. Nela, foi explicado como deveria ser realizada a introdução alimentar infantil, de acordo com o método de randomização. Isto ocorreu por meio de palestra e workshop

em cozinha experimental, realizando preparações dietéticas com exemplos de refeições e atentando à consistência das mesmas. Da mesma forma, atentou-se para o risco de engasgos durante a introdução alimentar e como agir diante do fato. Cada grupo de intervenção recebeu material impresso personalizado ao final da mesma.

As informações básicas contidas na intervenção, aplicadas a todos os grupos de AC, foram:

- Encorajamento ao aleitamento materno exclusivo até o sexto mês de vida, e complementado até os dois anos de idade ou mais;
- Não iniciar a AC antes do sexto mês de vida;
- Atentar aos sinais de prontidão do lactente antes de iniciar a introdução alimentar, como sentar de forma ereta, e sempre ter supervisão de adulto enquanto se alimenta;
- Técnicas alimentares específicas para aumento da biodisponibilidade de ferro e energia dos alimentos;
- Evitar a oferta de mel, açúcar, cafeína, sucos, alimentos processados e alimentos com baixo valor energético, como sopas, nos primeiros dois anos de vida;
- Aos seis meses de idade, ofertar frutas em dois momentos diferentes do dia, além de uma refeição principal. Adicionar a segunda refeição principal aos sete meses;
- Não coar nem liquidificar nenhum alimento;
- Não oferecer alimentos com potencial risco de engasgo, como pipoca ou oleaginosas, ou alimentos que pudessem ficar pegajosos na boca, como pasta de amendoim.

Além das informações gerais, cada grupo de introdução alimentar recebeu orientações específicas de acordo com o método:

- PLW: As famílias alocadas neste método foram estimuladas a alimentar os lactentes com alimentos na forma de purê, com o auxílio de uma colher. A consistência do alimento deveria progredir, gradualmente, até que a textura da refeição fornecida à família fosse alcançada, aos 12 meses de idade da criança. As famílias também foram instruídas a não misturar os alimentos, para garantir que o lactente fosse capaz de aprender a diferença entre os sabores.

- BLISS: Os cuidadores alocados no método BLISS aprenderam a preparar alimentos moldados em forma de tiras ou bastões, permitindo à criança se autoalimentar sem a interferência do adulto. Apesar disto, foi enfatizado a importância da supervisão do adulto no momento da refeição.

- Misto: Este grupo foi instruído a combinar os dois métodos explorados acima, de acordo com os desejos da criança. A família deveria primeiramente ofertar os alimentos segundo o método BLISS. Caso a criança demonstrasse insatisfação ou desinteresse pelo alimento, de acordo com o método BLISS, os mesmos deveriam ofertar o alimento utilizando o método PLW, na mesma refeição.

6.8.2 Acompanhamento

A sessão de acompanhamento aos 12 meses ocorreu por meio de questionário online, em que foi aplicado o Questionário de Preferências Alimentares. Após, entre os 12 e 35 meses da criança, no CPC do HCPA ou à domicílio, ocorreu o encontro para a aplicação do teste relacionado à aceitação dos sabores, além de coleta de amostra da mucosa oral do lactente. Tendo finalizado o acompanhamento, os pesquisadores enviaram às famílias, por e-mail, o resultado do estado nutricional da criança e dicas para que a mesma seguisse recebendo alimentação saudável após a primeira infância.

6.9 INSTRUMENTOS

- Questionário de Preferências Alimentares:

Teste traduzido e adaptado de SCHWARTZ *et al.*, 2011, em forma de questionário estruturado aplicado pelo pesquisador aos pais ou responsáveis da criança. A adaptação ocorreu de forma a retirar da tradução do teste os alimentos que não são consumidos no Brasil. O questionário continha exemplos de grupos de alimentos conforme seu sabor predominante, e foi analisado conforme a mesma escala utilizada para a avaliação de aceitação dos sabores: 1) forte rejeição, 2) leve rejeição, 3) reação neutra, 4) leve aceitação, e 5) forte aceitação; além da alternativa 6) não provou.

A divisão dos alimentos conforme o sabor predominante se deu conforme a tabela abaixo:

Quadro 1: Grupos alimentares e seus respectivos sabores predominantes.

Grupos de alimentos	Sabor predominante
Legumes mistos sem sal; legumes com cereais	Doce
Cenoura; repolho; feijão	Doce e Amargo
Legumes com sal	Salgado
Tomate; berinjela	Azedo
Espinafre, nabo, brócolis, chicória sem sal	Amargo
Legumes com caldo; ensopado	Salgado e Umami
Espinafre, nabo, brócolis, chicória com sal	Salgado e Amargo
Presunto; batata frita; queijo; pão; salgadinho	Salgado
Limão; iogurte natural; abacaxi	Azedo
Damasco; laranja; pêsego; morango	Azedo
Pêra; maçã; banana	Doce
Biscoitos; mingau; cereal infantil	Doce
Suco natural; iogurte saborizado; bebida láctea	Doce

Fonte: SCHWARTZ *et al.*, 2011.

A análise das preferências ocorreu por junção dos grupos alimentares relacionados ao seu sabor predominante.

- Teste de Aceitação dos Sabores:

Teste proposto por SCHWARTZ, ISSANCHOU & NICKLAUS, 2009 e adaptado, com oferta de soluções com cada um dos sabores básicos predominantes: doce, salgado, azedo, amargo e umami. A adaptação do teste

ocorreu de forma a diminuir o tempo e a quantidade de cada solução ofertada aos lactentes, visto que o estudo original havia sido proposto para crianças de mais idade.

As soluções foram compostas por água mineral e saborizantes cujas moléculas possam ser facilmente encontradas no líquido amniótico durante a gestação, no leite materno, na fórmula infantil ou na alimentação complementar: lactose para o sabor doce, cloreto de sódio para o sabor salgado, ureia para sabor amargo, ácido cítrico para o sabor azedo e glutamato monossódico para o sabor umami.

As concentrações deveriam gerar moderada intensidade de sabor, diluindo-se em 50ml de água mineral: 3,42g de lactose, 0,25g de cloreto de sódio, 0,057g de ácido cítrico e 0,085g de glutamato monossódico; e diluindo-se em 15ml de água mineral 0,16g de ureia. Para a realização do teste, os pais foram orientados a ofertar leite ou água 30 minutos antes do teste, e então não oferecer mais nenhum alimento ou bebida; a fim de limitar a variabilidade de sede e fome e seu potencial impacto na aceitação de diferentes sabores.

As soluções foram ofertadas em recipiente que a criança estivesse acostumada a consumir (mamadeira ou copo), com os utensílios pertencentes à pesquisa; portanto, a oferta não poderia ser realizada no copo ou mamadeira própria da criança. Para realização do teste, a criança foi orientada a sentar na cadeira ou no colo dos pais (de costas para os mesmos), de frente para o pesquisador. Durante a realização dos mesmos, os pais foram orientados a não ofertar brinquedos à criança, assim como não fornecer acesso a celular e outros aparelhos eletrônicos.

A oferta se deu do seguinte modo: oferta de solução por 30 segundos, com pausa de 15 segundos, e oferta de água, seguido de pausa de 15 segundos para a oferta da próxima solução; na ordem: doce, azedo, salgado, umami e amargo. As soluções foram ofertadas por pesquisador cegado, e medidas antes e depois do teste. O consumo das soluções saborizadas se deu por vontade da criança, não sendo forçado por parte do pesquisador ou dos pais caso a mesma se negasse a ingerir as bebidas.

A avaliação da aceitação dos sabores se deu por dois modos: cálculo do volume ingerido e escala de aceitação por escala hedônica, proposta pelo

mesmo estudo original de SCHWARTZ, ISSANCHOU & NICKLAUS, 2009. Esta se baseou nas reações faciais e corporais da criança, em uma escala de 5 pontos: 1) forte rejeição, 2) leve rejeição, 3) reação neutra, 4) leve aceitação, e 5) forte aceitação.

Para interpretação e padronização das reações infantis, o teste foi filmado e posteriormente analisado em duplicidade, por meio da concordância de dois pesquisadores treinados; e avaliado conforme as seguintes reações:

1. Forte rejeição: Criança chorar ao primeiro gole.
2. Leve rejeição: Criança, ao primeiro gole, cuspir, franzir a testa, ou afastar o recipiente e parar de beber.
3. Reação neutra: Criança aceitar a bebida 2 vezes, ou 2 goles, e após franzir a testa e parar de beber.
4. Leve aceitação: Beber mais de 2 goles, sem reação específica.
5. Forte aceitação: Aceitar a bebida de primeira e demonstrar bem-estar ao ingerir a bebida, tal como feição relaxada, sorrir ou puxar o copo para si.

- Coleta de mucosa oral e extração de DNA:

O DNA total foi extraído de amostras de células da mucosa oral presentes na saliva, utilizando *swab* estéril em duplicata. A coleta foi realizada anteriormente ao Teste de Aceitação dos Sabores, e as famílias foram orientadas a não alimentar o lactente nos minutos anteriores ao teste e coleta. As amostras foram devidamente armazenadas a -20°C no Laboratório de Pediatria Translacional (LPT) do HCPA em tubos de coleta, até seu processamento. A extração do DNA genômico ocorreu conforme GARBIERI *et al.*, 2017, com modificações. A quantificação foi realizada em aparelho Nanodrop® (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA) e, após, as amostras foram acondicionadas a -80°C.

- Análise dos polimorfismos:

Foram analisados os seguintes SNPs: (rs1726866), (rs713598) e (rs10246939), localizados no gene *TAS2R38*; (rs1376251), localizado no *TAS2R50*; (rs846672), localizado no *TAS2R16*; (rs35874116) e (rs9701796), localizados no *TAS1R2*; (rs307355) e (rs35744813), localizados no *TAS1R3*.

Utilizou-se análise do PCR (StepOne Real-Time PCR System® (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA)) para determinar os genótipos dos polimorfismos, através dos ensaios TaqMan® padronizados.

- Covariáveis:

Participaram das análises covariáveis maternas (etnia (branca/não-branca), situação conjugal (mãe morava/não morava com companheiro), tempo de estudo (em anos), idade materna (em anos), renda familiar mensal (em reais) e IMC no momento da intervenção (recomendado/acima do recomendado)), relacionadas ao parto (paridade (primípara/múltipara), sexo da criança (masculino/feminino)), à introdução da AC (tempo de AM exclusivo (em dias) e início da introdução da AC (em dias) e ao lactente (frequência na pré-escola aos 12 meses (sim/não), principal cuidador aos 12 meses (mãe/outros); tipo de leite consumido aos 12 meses (leite materno/fórmula ou leite de vaca/ambos); idade do lactente no momento do teste de aceitação de sabores (em meses).

6.10 VARIÁVEIS EM ESTUDO

Neste estudo, as análises se dividiram em dois blocos, gerando dois artigos; sendo o primeiro artigo focado nas preferências alimentares e aceitação dos sabores em relação aos métodos de introdução alimentar, e o segundo artigo focado nos polimorfismos associados às preferências alimentares.

6.10.1 Desfecho

Aceitação dos sabores, preferências alimentares infantis e presença de polimorfismos genéticos relacionados à sensibilidade gustativa.

6.10.2 Exposição

No artigo 1: grupos de diferentes métodos de introdução alimentar: PLW, BLISS e Misto.

No artigo 2: lactentes expostos à intervenção sobre introdução alimentar, sem considerar os diferentes grupos de introdução.

6.10.3 Covariáveis

Variáveis socioeconômicas, maternas, relacionadas à gravidez e ao lactente; além de questões alimentares, como oferta de leites, prática do AM e AC.

6.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O banco de dados foi elaborado utilizando o Programa SPSS® - *Statistical Package for the Social Sciences* versão 29.0 com entrada dupla e posterior validação. Adotou-se valor de significância de $p \leq 0,05$.

Inicialmente foi realizada análise descritiva das variáveis contínuas, por meio de teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, seguido de Mann Whitney; e categóricas, por meio do teste qui-quadrado de Pearson. Foram realizadas comparações entre os métodos de introdução alimentar *BLISS* e Misto, com a introdução alimentar tradicional/convencional, sendo este considerado o controle da amostra, no que se refere à aceitação dos sabores e preferências alimentares. As análises foram feitas pela intenção de tratar.

O cálculo da quantidade consumida no teste de aceitação dos sabores, tal como sua associação com a reação ao mesmo, foi feito com o teste Mann Whitney, e a reação ao teste, assim como o teste de preferências alimentares e a associação entre as preferências doce e amargo, pelo qui-quadrado de Pearson.

Modelos de regressão de Poisson com variâncias robustas foram utilizados para avaliar a associação entre o teste de aceitação de sabores e o teste de preferências alimentares, com ajuste das variáveis confundidoras conforme preconizado pelo Directed Acyclic Graph, feito no programa DAGitty® versão 3.0, Johannes Textor (conjunto mínimo de ajuste suficiente: paridade, grupo de introdução alimentar, idade de início da introdução alimentar, tipo de leite consumido aos 12 meses, idade da criança no momento do teste de aceitação dos sabores). O desfecho foi estimado por Razão de Prevalência e seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

Os polimorfismos foram analisados pelo teste qui-quadrado de Pearson para as frequências genóticas, tal qual sua associação com as características alimentares infantis e as preferências alimentares. SNPs relacionados à

percepção do sabor doce (rs35874116, rs9701796, rs307355 e rs35744813), e ao sabor amargo (rs1726866, rs713598, rs10246939, rs1376251 e rs846672) foram somados de acordo com a sua presença (presença de pelo menos um alelo dominante), para a sua quantificação.

A relação entre o tempo de AM exclusivo e os SNPs foi feita com o teste de Kruskal-Wallis. As análises do método de AC, tipo de leite consumido aos 12 meses, reação no TAS e as preferências alimentares, relacionados aos SNPs, foram feitas pelo teste qui-quadrado de Pearson ou pelo teste exato de Fisher, quando alguma célula apresentou frequência esperada menor que cinco.

6.12 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O ECR foi enviado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HCPA, sob número 2019-0230 (CAAE: 01537018.5.0000.5327). Da mesma forma, este projeto foi aprovado pelo CEP-HCPA, sob o número 2019-0540. O ensaio clínico foi submetido ao Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC), sob o número U1111-1226-9516. A pesquisa está de acordo com a resolução 466/2012, sobre as normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Os riscos envolvidos no estudo foram mínimos, como estranheza da criança às bebidas ofertadas e durante a coleta de mucosa oral. Como benefícios aos participantes, os resultados publicados serão divulgados às famílias.

A equipe de pesquisa esclareceu todas as dúvidas das mães participantes sobre os procedimentos da pesquisa antes da assinatura do TCLE, a qual foi realizada após a aceitação verbal e feita em duas vias, sendo uma entregue à participante. Cada dupla de mãe/criança recebeu um número de identificação específico, correspondendo aos questionários e aos exames realizados, mantendo-se desta forma o anonimato dos participantes e a confidencialidade das informações dos mesmos; as quais foram utilizadas apenas para esta pesquisa e guardadas por no máximo 5 anos, sendo totalmente destruídos após esse prazo.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.; FIGUEIREDO, M.; TIMERMAN, F.; ANTONACCIO, C. **Nutrição comportamental**. 1ª edição, [s.l.], editora Manole, 2015.
- BEAUCHAMP, G. K. Why do we like sweet taste: a bitter tale? **Physiology & Behavior**, v. 164, n. Pt B, p. 432-437, 2016.
- BERGAMINI, M. *et al.* Complementary feeding caregivers' practices and growth, risk of overweight/obesity, and other non-communicable diseases: a systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 14, n. 13, 2646, 2022.
- BORGES, R. B. *et al.* Power and sample size for health researchers: uma ferramenta para cálculo de tamanho amostral e poder do teste voltado a pesquisadores da área da saúde. **Clinical & Biomedical Research**, v. 40, n. 4, 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para crianças brasileiras menores de 2 anos**. Brasília: 2019. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/guia_da_crianca_2019.pdf>. Acesso em: 24 maio. 2023.
- CHAMOUN, E. *et al.* A review of the associations between single nucleotide polymorphisms in taste receptors, eating behaviors, and health. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 2, p. 194-207, 2018a.
- CHAMOUN, E. *et al.* Single nucleotide polymorphisms in taste receptor genes are associated with snacking patterns of preschool-aged children in the Guelph Family Health Study: a pilot study. **Nutrients**, v. 10, n. 2, p. 153, 2018b.
- COLE, N. C.; WANG, A. A.; DONOVAN, S. M.; LEE, S. Y.; TERAN-GARCIA, M.; STRONG KIDS TEAM. Variants in chemosensory genes are associated with picky eating behavior in preschool-age children. **Journal of nutrigenetics and nutrigenomics**, v. 10, n. 3-4, p. 84-92, 2017.
- CONSALES, A.; MORNIROLI, D.; VIZZARI, G.; MOSCA, F.; GIANNI, M. L. Nutrition for infant feeding. **Nutrients**, v. 14, n. 9, p. 1823, 2022.
- CONT, G. *et al.* TAS2R38 bitter taste genotype is associated with complementary feeding behaviors in infants. **Genes & Nutrition**, v. 14, p. 13, 2019.
- DANIELS, L. *et al.* Baby-Led Introduction to SolidS (BLISS) study: a randomized controlled trial of a baby-led approach to complementary feeding. **BMC Pediatrics**, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2015.
- D'AURIA, E. *et al.* Complementary feeding: pitfalls for health outcomes. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 21, 7931, 2020.

DE COSMI, V.; SCAGLIONI, S.; AGOSTINI, C. Early taste experiences and later food choices. **Nutrients**, v. 9, n. 2, p. 107, 2017.

DIPASQUALE, V.; ROMANO, C. Complementary feeding: new styles versus old myths. **Minerva Medica**, v. 111, n. 2, p. 141-152, 2020.

DOS SANTOS, M. M.; MARREIROS, C. S.; DA SILVA, H. B. S.; DE OLIVEIRA, A. R. S.; CRUZ, K. J. C. Associations between taste sensitivity, preference for sweet and salty flavours, and nutritional status of adolescents from public schools. **Revista de Nutrição**, v. 30, n. 3, p. 369-375, 2017.

EDWARDS, K. L.; THOMAS, J. M.; HIGGS, S.; BLISSETT, J. Exposure to models' positive facial expressions whilst eating a raw vegetable increases children's acceptance and consumption of the modelled vegetable. **Appetite**, v. 168, 105779, 2022.

FANGUPO, L. J. *et al.* A baby-led approach to eating solids and risk of choking. **Pediatrics**, v. 138, n. 4, 2016.

FEWTRELL, M. *et al.* Complementary feeding: a position paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 64, n. 1, p. 119-132, 2017.

FORESTELL, C. A.; MENNELLA, J. A. Early determinants of fruit and vegetable acceptance. **Pediatrics**, v. 120, n. 6, p. 1247-1254, 2007.

FORESTELL, C. A.; MENNELLA, J. A. The relationship between infant facial expressions and food acceptance. **Current Nutrition Reports**, v. 6, n. 2, p. 141-147, 2017.

FU, O.; MINOKOSHI, Y.; NAKAJIMA, K. I. Recent advances in neural circuits for taste perception in hunger. **Frontiers in neural circuits**, v. 15, 609824, 2021.

GARBIERI, T. F.; BROZOSKI, D. T.; DIONÍSIO, T. J.; SANTOS, C. F.; DAS NEVES, L. T. Human DNA extraction from whole saliva that was fresh or stored for 3, 6 or 12 months using five different protocols. **Journal of Applied Oral Science**, v. 25, n. 2, p. 147-158, 2017.

GARTNER, L. P. **Tratado de histologia**. 5ª edição, [s.l.], editora GEN Guanabara Koogan, 2022.

GOMEZ, M. S.; NOVAES, A. P. T.; DA SILVA, J. P.; GUERRA, L. M.; POSSOBON, R. F. Baby-led weaning, an overview of the new approach to food introduction: integrative literature review. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 38, e2018084, 2020.

HAN, P.; MOHEBBI, M.; SEO, H. S.; HUMMEL, T. Sensitivity to sweetness correlates to elevated reward brain responses to sweet and high-fat food odors in young healthy volunteers. **NeuroImage**, v. 208, 116413, 2020.

HAN, P.; KEAST, R. S.; ROURA, E. Salivary leptin and TAS1R2/TAS1R3 polymorphisms are related to sweet taste sensitivity and carbohydrate intake from a buffet meal in healthy young adults. **The British Journal of Nutrition**, v. 118, n. 10, p. 763-770, 2017.

KI, S. Y.; JEONG, Y. T. Taste receptors beyond taste buds. **International Journal of Molecular sciences**, v. 23, n. 17, 9677, 2022.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. 2ª edição, [s.l.], editora Elsevier, 2008.

LI, F. Taste perception: from the tongue to the testis. **Molecular Human Reproduction**, v. 19, n. 6, p. 349-360, 2013.

LUMENG, J.; FISHER, J. **Pediatric food preferences and eating behaviors**. 1ª edição, [s.l.], editora Elsevier, 2018.

MAIER-NÖTH, A. The development of healthy eating and food pleasure in infancy. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**, v. 97, p. 62-71, 2023.

MENNELLA, J. A. Ontogeny of taste preferences: basic biology and implications for health. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n. 3, p. 704S-711S, 2014.

MENNELLA, J. A.; BOBOWSKI, N. K. The sweetness and bitterness of childhood: insights from basic research on taste preferences. **Physiology & Behavior**, v. 152, n. Pt B, p. 502-507, 2015.

MENNELLA, J. A.; CASTOR, S. M. Sensitive period in flavor learning: effects of duration of exposure to formula flavors on food likes during infancy. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 31, n. 6, p. 1022-1025, 2012.

MORISON, B. J. *et al.* How different are baby-led weaning and conventional complementary feeding? A cross-sectional study of infants aged 6-8 months. **BMJ Open**, v. 6, n. 5, e010665, 2016.

MUTHMAINAH, M.; GOGOS, A.; SUMITHRAN, P.; BROWN, R. M. Orexins (hypocretins): the intersection between homeostatic and hedonic feeding. **Journal of Neurochemistry**, v. 157, n. 5, p. 1473-1494, 2021.

NAVARRO-ALLENDE, A.; KHATAAN, N.; EL-SOHEMY, A. Impact of genetic and environmental determinants of taste with food preferences in older adults. **Journal of Nutrition for the Elderly**, v. 27, n. 3-4, p. 267-276, 2008.

NEGRI, R. *et al.* Taste perception and food choices. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 54, n. 5, p. 624-629, 2012.

NUNES, L. M. *et al.* Complementary feeding methods in the first year of life: A study protocol for a randomized clinical trial. **Trials**, v. 22, n. 1, p. 687, 2021a.

NUNES, L. M. *et al.* Correction to: Complementary feeding methods in the first year of life: A study protocol for a randomized clinical trial. **Trials**, v. 22, n. 1, p. 819, 2021b.

NUZZI, G.; GERINI, C.; COMBERIATI, P.; PERONI, D. G. The weaning practices: A new challenge for pediatricians? **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 33, Suppl. 27, p. 44-46, 2022.

OVERBERG, J.; HUMMEL, T.; KRUDE, H.; WIEGAND, S. Differences in taste sensitivity between obese and non-obese children and adolescents. **Archives of Disease in Childhood**, v. 97, n. 12, 1048-1052, 2012.

PALHETA NETO, F. X. *et al.* Anormalidades sensoriais: olfato e paladar. **Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia**, v. 15, n. 3, p. 350-358, 2011.

PAWELLEK, I. *et al.* Association of TAS2R38 variants with sweet food intake in children aged 1-6 years. **Appetite**, v. 107, p. 126-134, 2016.

PODZIMEK, Š.; DUŠKOVÁ, M.; BROUKAL, Z.; RÁCZ, B.; STÁRKA, L.; DUŠKOVÁ, J. The evolution of taste and perinatal programming of taste preferences. **Physiological Research**, v. 67, Suppl. 3, p. S421-S429, 2018.

QASEM, W.; FENTON, T.; FRIEL, J. Age of introduction of first complementary feeding for infants: a systematic review. **BMC Pediatrics**, v. 15, n. 1, p. 107, 2015.

RAMÍREZ-LUGO, L.; NÚÑEZ-JARAMILLO, L.; BERMÚDEZ-RATTONI, F. Taste memory formation: role of nucleus accumbens. **Chemical Senses**, v. 32, n. 1, p. 93-97, 2007.

ROHDE, K.; SCHAMAREK, I.; BLÜHER, M. Consequences of obesity on the sense of taste: taste buds as treatment targets? **Diabetes & Metabolism Journal**, v. 44, n. 4, p. 509-528, 2020.

ROWAN, H.; LEE, M.; BROWN, A. Differences in dietary composition between infants introduced to complementary foods using baby-led weaning and traditional spoon feeding. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 32, n. 1, p. 11-20, 2019.

SCAGLIONI, S.; DE COSMI, V.; CIAPPOLINO, V.; PARAZZINI, F.; BRAMBILLA, P.; AGOSTINI, C. Factors influencing children's eating behaviours. **Nutrients**, v. 10, n. 6, p. 706, 2018.

SCHWARTZ, C.; CHABANET, C.; LANGE, C.; ISSANCHOU, S.; NICKLAUS, S. The role of taste in food acceptance at the beginning of complementary feeding. **Physiology & Behavior**, v. 104, n. 4, p. 646-652, 2011.

SCHWARTZ, C.; ISSANCHOU, S.; NICKLAUS, S. Developmental changes in the acceptance of the five basic tastes in the first year of life. **The British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 9, p. 1375-1385, 2009.

SMAIL, H. O. The roles of genes in the bitter taste. **AIMS Genetics**, v. 6, n. 4, p. 88-97, 2019.

SOBEK, G. *et al.* Preferences for sweet and fatty taste in children and their mothers in association with weight status. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 2, p. 538, 2020.

SPAHN, J. M. *et al.* Influence of maternal diet on flavor transfer to amniotic fluid and breast milk and children's responses: a systematic review. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 109, Suppl. 7, p. 1003S-1026S, 2019.

SPILL, M. K. *et al.* Repeated exposure to food and food acceptability in infants and toddlers: a systematic review. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 109, Suppl. 7, p. 978S-989S, 2019.

SPYRELI, E.; MCKINLEY, M. C.; DEAN, M. Parental considerations during complementary feeding in higher income countries: a systematic review of qualitative evidence. **Public Health Nutrition**, v. 24, n. 10, p. 2834-2847, 2021.

TAYLOR, R. W. *et al.* Effect of a baby-led approach to complementary feeding on infant growth and overweight: a randomized clinical trial. **JAMA Pediatrics**, v. 171, n. 9, p. 838-846, 2017.

THOMPSON, A. L. Evaluating the pathways linking complementary feeding practices to obesity in early life. **Nutrition Reviews**, v. 78, Suppl. 2, p. 13-24, 2020.

VENTURA, A. K.; MENNELLA, J. A. Innate and learned preferences for sweet taste during childhood. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 14, n. 4, p. 379-384, 2011.

VENTURA, A. K.; WOROBAY, J. Early influences on the development of food preferences. **Current Biology: CB**, v. 23, n. 9, p. R401-R408, 2013.

VERGA, M. C. *et al.* Timing of complementary feeding, growth, and risk of non-communicable diseases: systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 702, 2022.

VESNINA, A.; PROSEKOV, A.; KOZLOVA, O.; ATUCHIN, V. Genes and eating preferences, their roles in personalized nutrition. **Genes**, v. 11, n. 4, p. 357, 2020.

WOODING, S. P.; RAMIREZ, V. A.; BEHRENS, M. Bitter taste receptors: genes, evolution and health. **Evolution, Medicine, and Public Health**, v. 9, n. 1, p. 431-447, 2021.

WRIGHT, C. M.; CAMERON, K.; TSIAKA, M.; PARKINSON, K. N. Is baby-led weaning feasible? When do babies first reach out for and eat finger foods? **Maternal & Child Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 27-33, 2011.

7. CONCLUSÕES

As preferências alimentares estiveram relacionadas à aceitação dos diferentes sabores entre crianças submetidas a diferentes métodos de introdução da alimentação complementar. Da mesma forma, nesse estudo, os polimorfismos genéticos influenciaram na aceitação dos sabores e nas preferências alimentares nos primeiros anos de vida.

Não foi demonstrada associação entre a aceitação dos sabores e o método de introdução da alimentação complementar. Já em relação às preferências alimentares, o método Misto demonstrou maior preferência a alimentos azedos, quando comparado ao método tradicional.

Grande parte das crianças seguiu em aleitamento materno ao final do primeiro ano. O tipo de leite consumido pela criança aos 12 meses de vida não se associou com a aceitação dos sabores, ou com as preferências alimentares.

O consumo das soluções se associou às reações hedônicas ao mesmo nos sabores doce, azedo, salgado e umami.

Houve relação entre a aceitação do sabor amargo e a preferência a alimentos do mesmo sabor predominante.

Quando ajustado por paridade, grupo de randomização e idade da introdução da alimentação complementar, tipo de leite consumido aos 12 meses e idade da criança no teste de aceitação, a associação entre a aceitação dos sabores e as preferências alimentares diminuiu, perdendo sua significância.

Houve alta prevalência dos polimorfismos analisados, e os mesmos se associaram às características alimentares do lactente (tempo de aleitamento materno exclusivo e tipo de leite consumido aos 12 meses), às preferências a alimentos com sabores predominantes azedo e umami e à aceitação de soluções com sabores azedo e amargo; demonstrando que os polimorfismos atuam na aceitação alimentar infantil, gerando diferenças nas preferências alimentares.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese buscou o entendimento das preferências alimentares infantis relacionadas aos sabores predominantes, levando em consideração fatores extrínsecos, como o método de alimentação complementar e as características familiares, e fatores intrínsecos, ao avaliar polimorfismos que pudessem estar associados às preferências. Ao obter uma compreensão aprofundada destes fatores, pode-se desenvolver estratégias para promover experiências alimentares positivas, incentivar a aceitação de diversos sabores e, finalmente, promover escolhas alimentares saudáveis entre as crianças, durante os primeiros anos de vida.

A pesquisa foi de caráter inovador, por variados motivos. Este foi o primeiro ensaio clínico randomizado brasileiro a abordar três diferentes métodos de alimentação complementar, e acompanhar as crianças ao longo dos primeiros anos de vida. Há escassez de estudos publicados relacionando a aceitação dos diferentes sabores e as preferências alimentares. Ademais, ao que se sabe, não há outra publicação que tenha avaliado um total de nove polimorfismos relacionados às preferências alimentares em sua amostra; e tal quantidade só foi possível pelo projeto ter contado com o financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Este estudo, que foi abrangente e detalhado, servirá de base para outras pesquisas na área de alimentação infantil, enriquecendo a literatura nacional e internacional acerca do tema. Da mesma forma, detalhes que não puderam ser tratados nesta tese poderão ser aprofundados em futuros artigos, como o impacto da pandemia de COVID nas preferências alimentares; o maior foco na diferença de idade dos participantes no teste de aceitação de sabores e suas possíveis consequências; a análise das preferências alimentares relacionada à adesão aos métodos de alimentação complementar; a relação entre os polimorfismos genéticos analisados e o consumo alimentar; e o domínio específico da sensibilidade ao sabor amargo considerando os três principais polimorfismos relacionados ao mesmo sabor.

APÊNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO ECR

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis

Nº do projeto GPPG ou CAAE _____

Título do Projeto: **MÉTODOS DE INTRODUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO COMPLEMENTAR EM CRIANÇAS: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Você e a criança pela qual você é responsável, estão sendo convidados a participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar e comparar 3 diferentes formas de iniciar a alimentação infantil aos 6 meses de idade. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Pediatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você concordar com a participação na pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes:

1º) quando a criança estiver entre **4-6 meses de idade** vocês irão a uma Clínica de Nutrição, em datas e horários pré-agendados, e receberão orientações sobre a introdução da alimentação complementar da criança com profissionais médicos, nutricionistas e fonoaudiólogos. Também participarão de uma oficina de preparação dos alimentos numa cozinha especializada. Neste mesmo dia você responderá perguntas sobre a criança (alimentação e aleitamento materno) e sobre você (alimentação, escolaridade, renda familiar, dados do parto, objetos que tem em casa). Também serão coletados dados de peso, altura ou comprimento e medidas corporais da criança e de você.

2º) quando a criança estiver com **7, 9 e 12 meses de idade** você receberá um telefonema com perguntas sobre a alimentação dela.

3º) quando a criança estiver com **9 meses de idade** vocês receberão uma visita na sua casa para reforçar as orientações sobre a alimentação. Também serão coletados dados de peso, altura ou comprimento e medidas corporais da criança.

4º) quando a criança estiver com **12 meses de idade** serão coletados dados antropométricos de peso, altura ou comprimento e medidas corporais da criança e de você. Também haverá a coleta de 6 milímetros de sangue (menos que 1 colher de sopa) da criança para avaliar se ela está com anemia por falta de ferro. Tudo isso ocorrerá no Centro de Pesquisas Clínicas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em dia e horário pré-agendados.

Em qualquer momento poderá fazer contato com a equipe do estudo com a finalidade de sanar qualquer dúvida que tiver em relação à alimentação.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são mínimos tanto para a criança quanto para você. Nas entrevistas você poderá se sentir constrangido em responder algumas perguntas. Nas medidas do corpo poderá haver um leve desconforto, tanto para você quanto para a criança. A coleta de sangue da criança poderá causar leve sensação de dor e desconforto no local, com presença ou não de mancha roxa (hematoma)

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 1 de 3

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis

que deverá desaparecer em alguns dias. Todos esses desconfortos serão minimizados pela execução por profissionais experientes.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são as orientações médicas, nutricionais e fonoaudiológicas sobre as práticas de introdução alimentar e o acompanhamento nos meses seguintes do processo de alimentação que você e a criança receberão. Além disso, a coleta de sangue permitirá o diagnóstico de uma possível anemia por falta de ferro no sangue. A sua participação também contribuirá para o aumento do conhecimento sobre o assunto estudado e poderá beneficiar futuras crianças, além do(a) seu(a) filho(a).

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e não haverá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá haver ressarcimento por despesas decorrentes da participação (ex.: despesas de transporte e alimentação), cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, o participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, os nomes não aparecerão na publicação dos resultados.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, o participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, os nomes não aparecerão na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Prof. Leandro Meirelles Nunes ou com a pesquisadora Profa. Juliana Rombaldi Bernardi, pelo telefone (51)33598293 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e seu responsável e outra para os pesquisadores.

Nome da criança:

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 2 de 3

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis

Nome do participante (responsável pela criança)

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO PROJETO DE PREFERÊNCIAS ALIMENTARES

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis

Nº do projeto GPPG ou CAAE 2019.0540

Título do Projeto: ANÁLISE DAS PREFERÊNCIAS ALIMENTARES INFANTIS ENTRE CRIANÇAS SUBMETIDAS A DIFERENTES MÉTODOS DE INTRODUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO COMPLEMENTAR AO FINAL DO PRIMEIRO ANO DE VIDA

A criança pela qual você é responsável está sendo convidada a participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar as preferências alimentares ao final do primeiro ano de vida dentre 3 diferentes formas de introdução da alimentação infantil aos 6 meses de idade. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Pediatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), dando continuidade à pesquisa que vocês já estão participando, intitulada "Métodos de Introdução da Alimentação Complementar em Crianças: um Ensaio Clínico Randomizado".

Se você autorizar a participação na pesquisa, serão realizadas as seguintes avaliações:

- Você responderá um questionário sobre as preferências alimentares da criança
- Será realizado um teste de aceitação de sabores, por meio da ingestão de água mineral com saborizantes (lactose, cloreto de sódio, ureia, ácido cítrico e glutamato monossódico).
- Será coletado um pouco de saliva por meio de swab (parecido com um "cotonete"), para análise de genes relacionados às preferências alimentares.

Estes procedimentos serão realizados no Centro de Pesquisa Clínica (CPC) do HCPA, no mesmo momento da aplicação dos demais questionários referentes à pesquisa anterior que vocês já fazem parte.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são as orientações sobre as práticas de introdução alimentar e o acompanhamento do processo de alimentação que você e a criança receberão. A sua participação trará benefícios sobre a compreensão das preferências alimentares infantis, assim como a prevenção de possíveis desvios alimentares na infância. O assunto estudado também poderá beneficiar futuras crianças.

Não são conhecidos riscos pela participação na pesquisa, mas poderá haver algum desconforto relacionado ao tempo envolvido na participação, além de poder causar estranheza à criança o fato de haver uma pessoa desconhecida oferecendo as bebidas, ou desagradar-se dos gostos das bebidas, podendo fazer cara feia ou chorar.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e não haverá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, o participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, os nomes não aparecerão na publicação dos resultados.

O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. Após a realização das análises previstas neste projeto, as amostras serão armazenadas. Este material, além de ser utilizado neste estudo, poderá ser utilizado em outros estudos futuros do nosso grupo.

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 1 de 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis

Neste caso, um novo projeto de pesquisa será submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa, e você poderá ser chamado para reconsentir com o uso do material.

Com relação às amostras biológicas armazenadas:

- Autorizo o armazenamento do material biológico para pesquisas futuras.
 Não autorizo o armazenamento do material biológico para pesquisas futuras.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Profa. Juliana Rombaldi Bernardi, pelo telefone (51) 3359.8293 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359.7640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2229, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e seu responsável e outra para os pesquisadores.

Nome da criança

Nome do responsável pela criança

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data:

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 2 de 2

APÊNDICE C

QUESTIONÁRIO INICIAL

QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO E DEMOGRÁFICO

Nome da Clínica: _____	NUCLINICA _____
Data da entrevista: ___/___/___	GDE ___/___/___
Entrevistador(a): _____	ENTREV _____
A1) Nome da mãe/criança: _____ Endereço: _____ _____ () casa () apartamento Telefone fixo: () _____ Outros telefones para contato: () _____	
Pediatria ou nutricionista da criança: _____	
E-mail: _____	
DADOS GERAIS DA MÃE	
A2) Qual é sua data de nascimento? ___/___/___	PNASC ___/___/___
A3) Cor ou raça da mãe? Declarada (1) branca (2) preta (3) amarela (4) parda (5) indígena Observada (1) branca (2) preta (3) amarela (4) parda (5) indígena	CORMAED _____ _____ CORMAEO _____ _____
A3) Quantas pessoas moram na sua casa, incluindo a mãe e criança? _____	PPESS _____
A4) Dessas, quantas pessoas são adultas? _____	PPESSA _____
A5) Qual a sua situação conjugal atual? (1) Casada ou mora com companheiro (3) Viúva (2) Solteira, sem companheiro ou separada (4) Divorciada	PCONJU _____
A6) Você já engravidou antes? SE NÃO PULE PARA QUESTÃO A38. (0) Não (1) Sim	PFILHOS _____
SE SIM:	
A7) Número de filhos (incluir o atual)? _____ (88) NSA	PANFIL _____
A8) Número de gestações? _____ (88) NSA	PANGES _____
A9) Até que ano da escola você estudou? Série? ____ Grau? ____	PESCOL1 _____ PESCOL2 _____

A10) Qual é a sua profissão? _____		PPROF _____
A11) Qual é a sua ocupação? _____		POCUP _____
A12) Qual é a profissão do pai do(a) seu(ua) filho(a)? _____ (7) Não sabe		PAPROF _____
A13) Qual é a ocupação do pai do(a) seu(ua) filho(a)? _____ (7) Não sabe		PAOCUP _____
A14) No mês passado, quanto ganharam as pessoas que moram na sua casa? (incluir renda de trabalho, benefícios ou aposentadoria)		
Renda: Pessoa 1: R\$ _____ por mês Pessoa 2: R\$ _____ por mês Pessoa 3: R\$ _____ por mês Pessoa 4: R\$ _____ por mês Pessoa 5: R\$ _____ por mês TOTAL: _____ (77) Não sabe		Benefícios: Pessoa 1: R\$ _____ _____ por mês Pessoa 2: R\$ _____ _____ por mês Pessoa 3: R\$ _____ _____ por mês Pessoa 4: R\$ _____ _____ por mês Pessoa 5: R\$ _____ _____ por mês TOTAL: _____ _____ (77) Não sabe
		RDRTOTAL _____
		RDBTOTAL _____
QUESTIONÁRIO DE NASCIMENTO E ALIMENTAÇÃO		
DADOS GERAIS DA CRIANÇA		
A15) Qual o nome da criança? _____ (88) NSA		NOMECR _____
A16) Sexo? (0) Feminino (1) Masculino		CSEX _____
A17) Data de nascimento? ____/____/____		CRDN ____/____/____
A18) Peso ao nascer? _____ gramas		PESOCR _____ g
A19) Comprimento ao nascer? _____ cm		COMPCCR _____ cm
A20) Tipo de parto? (1) Cesárea (2) Vaginal (3) Fórceps		CTPART _____

A21) A criança mamou no primeiro dia de vida? (0) Não (1) Sim	MAMOD1 _____
SE NÃO MAMOU NO PEITO:	
A22) O que recebeu? (0) Solução glicosada via oral (1) Soro glicosado endovenoso (2) Fórmula 1º Semestre (3) Outro, qual? _____ (7) Não sabe (8) NSA	MAMO _____ MAMOQ _____
A22) Qual era seu peso antes de engravidar? _____ kg (7777) Não sabe	PESOAG _____ kg
A23) Qual era o peso antes do parto? _____ kg (7777) Não sabe	PESOAP _____ kg
A24) Qual era a altura antes? _____ cm (7777) Não sabe	ASLTAP _____ cm

B27) Qual? (Respiratória, Alérgica, Cardíaca, Renal, Intestinal, Neurológica) _____ _____ (88) NSA	CDOENQ _____
HISTÓRICO ALIMENTAR DA CRIANÇA	
A28) Alimentação na alta hospitalar: (1) Aleitamento materno exclusivo (2) Aleitamento materno + fórmula infantil (3) Somente fórmula infantil (4) Outro, Qual? _____	ALIAL _____ ALIALQ _____
A29) O seu bebê mama no peito? SE SIM PULE PARA QUESTÃO A32. (0) Não (1) Sim	MAMAP _____
SE NÃO:	
A30) Por quê? _____ (88) NSA	PQNMAMA _____
A31) Quando parou de amamentar? _____ dias (88) NSA	QPAMA _____
A32) Tem horários certos para mamar (leite materno, fórmula ou leite de vaca)? (0) Não. Dou quando ele(a) quer/pede (1) Sim	HCMAMA _____
Quantas vezes mama durante o dia, ou no caso de fórmula/leite de vaca, quantas vezes ao dia está recebendo? _____ vezes Leite Materno _____ vezes Fórmula infantil _____ vezes Leite de vaca	MAMAQD _____ v/d
Quantas vezes mama durante a noite ou no caso de fórmula/leite de vaca, quantas vezes durante a noite está recebendo? _____ vezes Leite Materno _____ vezes Fórmula infantil _____ vezes Leite de vaca	MAMAQN _____ v/n
Além do leite materno/ fórmula/ leite de vaca, você oferece algum outro alimento ou líquido ao seu filho? (0) Não (1) Sim	OUTROAL _____

ANTROPOMETRIA	
A36) Comprimento do bebê (1ª) _____ cm (2ª) _____ cm Média: _____ cm	7COMPCR ____ cm
137) Peso do bebê (1ª) _____ G (2ª) _____ G Média: _____ G	PCCR _____ G

SEGUIMENTO	
DADOS GERAIS SOBRE A CRIANÇA E A FAMÍLIA	
D1) Idade do bebê em dias? _____	IDADCR _
D2) Seu filho vai à creche? <i>SE NÃO PULE PARA QUESTÃO D5.</i> (0) Não (1) Sim	CRECHE _
<i>SE SIM:</i>	
D3) Em qual turno? (1) turno integral (2) meio turno (8) NSA	CRECHET —
D4) Desde quando? _____ dias (88) NSA	CRECHEI —
D5) Na maior parte do tempo quem cuida do seu filho? (1) a própria mãe (2) avós (3) Pai/ companheiro (4) outra pessoa, qual? _____	QMCUID — QMCUIDQ —
D6) Seu filho tem ou teve alguma doença? <i>SE NÃO PULE PARA QUESTÃO D8.</i> (0) Não (1) Sim (2) Em investigação	CDOEN ____
<i>SE SIM:</i>	
D7) Qual? (Respiratória, Alérgica, Cardíaca, Renal, Intestinal, Neurológica) _____ _____ _____ NSA (88)	CDOENQ —
ALIMENTAÇÃO DA CRIANÇA	
D8) O seu bebê mama no peito? <i>SE SIM PULE PARA QUESTÃO D37.</i> Não (1) Sim	MAMAP —
<i>SE NÃO:</i>	
D9) Por quê? _____ (88) NSA	MAMAPN —
D10) Quando parou de amamentar? _____ dias (88) NSA	QPAMA —
D11) Tem horários certos para mamar (leite materno, fórmula ou leite de vaca)?	HCMAMA —

(0) Não. Dou quando ele(a) quer/pede (1) Sim	
D12) Quantas vezes mama durante o dia, ou no caso de fórmula, quantas vezes ao dia está recebendo? ___ vezes Leite Materno ___ vezes Fórmula infantil ___ vezes Leite de vaca	MAMAQD __ v/d
D13) Quantas vezes mama durante a noite ou no caso de fórmula, quantas vezes durante a noite está recebendo? ___ vezes Leite Materno ___ vezes Fórmula infantil ___ vezes Leite de vaca	MAMAQN __ v/d
D14) Seu bebê usa mamadeira (qualquer líquido)? (0) Não (1) Sim	MAMAD _____
D15) Seu bebê come outros alimentos (sólidos)? (0) Não (1) Sim	OALIM _____
<i>SE SIM</i>	
D16) Seu bebê tem horários certos para se alimentar? (0) Não (1) Sim (88) NSA	HORAC _____
D17) O que você faz se a criança recusa algumas refeições? (1) oferece a mesma comida mais tarde (2) espera o horário da próxima refeição (3) substitui por leite materno (4) substitui por mamadeira (5) substitui por outro alimento/especificar _____ (88) NSA	RECUSA _____ RECSUB _____
D18) Como você oferece os alimentos para o bebê? 1. Liquidificados (0) Não (1) Sim 2. Passados na peneira (0) Não (1) Sim 3. Raspados (0) Não (1) Sim (88) NSA 4. Amassados com o garfo (0) Não (1) Sim 5. Picados em pequenos pedaços (0) Não (1) Sim 6. Consistência da família (0) Não (1) Sim	ALPREP1 _____ ALPREP2 __ ALPREP3 __ ALPREP4 __ ALPREP5 __ ALPREP6 __
D19) A quantidade de sal que você usa na comida do bebê é? (1) igual a da sua família (3) maior que a da sua família (2) menor que a da sua família (4) Nada (88) NSA	SAL _____
D20) Quem alimenta o bebê na maioria das vezes? (1) mãe (4) funcionária da creche (2) pai / companheiro (5) outra pessoa/ especificar _____ (3) avós (7) Não sabe (88) NSA	ALIBB _____ ALIBBE _____
D21) Deixa ele levar o alimento à boca por si próprio? (0) Não (1) Sim (88) NSA	COMES _____

APÊNDICE D**TESTE DE ACEITAÇÃO DE SABORES**

Data: _____

Pesquisador: _____

Nome mãe/responsável: _____

Nome criança: _____

Escala de aceitação:

- 1- Forte rejeição
- 2- Leve rejeição
- 3- Reação neutra
- 4- Leve aceitação
- 5- Forte aceitação

	1	2	3	4	5
Solução A					
Solução B					
Solução C					
Solução D					
Solução E					

Volume consumido (em mililitros):

Solução A: _____

Solução B: _____

Solução C: _____

Solução D: _____

Solução E: _____

Água pura: _____

APÊNDICE E

TESTE DE PREFERÊNCIAS ALIMENTARES

Data: _____

Pesquisador: _____

Nome mãe/responsável: _____

Nome criança: _____

Considerando o modo como seu filho(a) reage habitualmente aos alimentos a seguir, escolha uma das seguintes alternativas para cada grupo de alimentos: 1) rejeita fortemente; 2) rejeita levemente; 3) reação neutra; 4) aceita levemente; 5) aceita fortemente.

	1	2	3	4	5
Legumes mistos sem sal; legumes com cereais					
Cenoura; repolho; feijão					
Legumes com sal					
Tomate; berinjela					
Espinafre, nabo, brócolis, chicória sem sal					
Legumes com caldo; ensopado					
Espinafre, nabo, brócolis, chicória com sal					
Presunto; batata frita; queijo; pão; salgadinho					
Limão; iogurte natural; abacaxi					
Damasco; laranja; pêsego; morango					
Pêra; maçã; banana					
Biscoitos; mingau; cereal infantil					
Suco natural; iogurte saborizado; bebida láctea					

ANEXOS

ANEXO A

CARTA DE APROVAÇÃO CEP HCPA PROJETO 2019-0230



HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

Carta de Aprovação

Projeto

2019/0230

Pesquisadores:**LEANDRO MEIRELLES NUNES**

JULIANA ROMBALDI BERNARDI

JORDANA FUHR

ERISSANDRA GOMES

VANESSA THAIS PERES MELO

Número de Participantes: 144**Título:** Métodos de Introdução da Alimentação Complementar em Crianças: Um Ensaio Clínico Randomizado

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG).



Assinado digitalmente por:
PATRICIA ASHTON PROLLA

Grupo de Pesquisa e Pós-graduação
11/06/2019 09:01:39

<https://sig.ufpr.br/portal/publicacao/destaques/conferencia/analise/controle/cep-011062>

ANEXO B

CARTA DE APROVAÇÃO CEP HCPA PROJETO 2019-0540



HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

Carta de Aprovação

Projeto

2019/0540

Pesquisadores:**JULIANA ROMBALDI BERNARDI**

MARCELO ZUBARAN GOLDANI

LEANDRO MEIRELLES NUNES

RENATA OLIVEIRA NEVES

CILIANA RECHENMACHER

Número de Participantes: 144

Título: Análise das Preferências Alimentares Infantis entre Crianças Submetidas a Diferentes Métodos de Introdução da Alimentação Complementar ao Final do Primeiro Ano de Vida

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG).



Assinado digitalmente por:
PATRICIA ASHTON PROLLA

Grupo de Pesquisa e Pós-graduação

07/11/2019 11:47:33

https://agrupos.com.br/portal/pesquisa/publicacao/cadastroapoio/conferenciaArouho.shtml?co_dsig=665562