UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Linhaça e lignanas: efeito do consumo sobre indicadores nutricionais e inflamatórios.

Roberta Soares Lara Cassani

Ribeirão Preto

– 2009 –

ROBERTA SOARES LARA CASSANI

Linhaça e lignanas: efeito do consumo sobre indicadores nutricionais e inflamatórios.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Investigação Biomédica.
Área concentração: Clinica Médica.

Orientador: Prof.Dr. Júlio Sérgio Marchini

Ribeirão Preto
– 2009 –

LISTA DE ABREVIATURAS

A.C.	ANTES DE CRISTO
AAS	ÁCIDO ACETILSALICÍLICO
ADA	AMERICAN DIABETES ASSOCIATION
AHA	AMERICAN HEART ASSOCIATION
ALA	ÁCIDO ALFA LINOLÊNICO
AMBEV	AMERICAN BEVERAGE COMPANY
AS	ÂNION SUPERÓXIDO
Aufs	ABSORBANCE UNIT FULL SCALE
AVB	ALTO VALOR BIOLÓGICO
CA	CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL
CB	CIRCUNFERÊNCIA BRAQUIAL
CH	CARBOIDRATOS
cm	CENTRÍMETROS
CMB	CIRCUNFERÊNCIA MUSCULAR BRAQUIAL
CQ	CIRCUNFERÊNCIA QUADRIL
D	DIAS
DAC	DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA
DCV	DOENÇA CARDIOVASCULAR
DM	DIABESTES MELITUS
DNA	ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO
END	ENTERODIOL
ENL	ENTEROLACTONA
EPA	ÁCIDO GRAXO EICOSAPENTAENÓICO
EUA	ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA
FR	FATORES DE RISCO
g	GRAMAS
g/d	GRAMAS POR DIA
g/mm^2	GRAMAS POR MILÍMETRO AO QUADRADO
GT	GORDURAS TOTAIS
H_2SO_4	ÀCIDO SULFÚRICO
HAS	HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA
HCl	ÁCIDO CLORIDRICO
HDL-c	LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE (HIGH DENSITY LIPOPROTEIN-CHOLESTEROL)
HMGA	ÁCIDO HIDROXIMETILGLUTÁRICO
HOMA	HOMEOSTASIS MODEL ASSESSMENT – MODELO HOMEOSTÁTICO DA AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA À INSULINA

HPLC	CROMATROGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE OU ALTA PRESSÃO
ICAM	MOLÉCULA DE ADESÃO INTRACELULAR
IG	ÍNDICE GLICÊMICO
IL-6	INTERLEUCINA 6
IMC	ÍNDICE DE MASSA CORPORAL
IR	INSULIN RESISTENCE
Kcal	QUILO CALORIA
Kcalorias/dia	QUILO CALORIAS POR DIA
Kg	QUILOGRAMAS
Kg/m²	QUILOGRAMA POR METRO AO QUADRADO
LARI	LARICIRESINOL
LDL-c	LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE (LOW DENSITY LIPOPROTEIN – CHOLESTEROL)
Lp(a)	LIPOPROTEÍNA A
Ltda	LIMITADA
m	METROS
mAbs	MILIVOLTS BY ABSORBANCE
MAT	MATAIRESINOL
mcU/mL	MICRO UNIDADES POR MILILITRO
MeOH	METANOL
mg	MILIGRAMAS
MG	MINAS GERAIS
mg/d	MILIGRAMAS POR DIA
mg/dL	MILIGRAMAS POR DECILITRO
mg/L	MILIGRAMAS POR LITRO
mg/mL	MICROGRAMAS POR MILILITRO
microgramа/mL	MICROGRAMA POR MILILITRO
microIU/mL	MICRO UNIDADES INTERNACIONAIS POR MILILITROS
ml	MILILITRO
mm	MILÍMETRO
mm/Hg	MILÍMETROS DE MERCÚRIO
mmol/L	MILIMOLES POR LITRO
MUFA	ÁCIDOS GRAXOS MONOINSATURADOS
n-3	ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3
nanogramas/Ml	NANOGRAMAS POR MILILITRO
NAD	NICOTINAMIDA ADENINA DINUCLEOTIDEO
NaOH	HIDRÓXIDO DE SÓDIO

NCEP III	EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TREATMENT PANEL III, 2001
NEPA	NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO
ng	NANOGRAMA
NHANES	NATIONAL HEALTH AND NUTRITION EXAMINATION SURVEY
nm	NANÔMETRO
nmol/L	NANOMOL POR LITRO
NO	ÓXIDO NÍTRICO
ºC	GRAUS CELSIUS
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE
p	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA
Pab	PREGA ABDOMINAL
PAD med	PRESSÃO ARTERIAL DISTÓLICA MÉDIA
PAS med	PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA MÉDIA
Pbicip	PREGA BICIPITAL
PCR	PROTEÍNA C- REATIVA
PE	FICOERITRINA-STREPTAVIDINA
pg/Ml	PICOGRAMAS POR MILILITRO
pH	POTENCIAL HIDROGÊNIO-IÔNICO
PINO	PINORESINOL
pm	PESO MOLECULAR
PPAR-y	PEROXISOME PROLIFERATOR ACTIVATED RECEPTOR Y
Psubes	PREGA SUBESCAPULAR
Psupra	PREGA SUPRAILÍACA
PTN	PROTEÍNAS
Ptric	PREGA TRICIPITAL
PUFA	ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
r	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO
RAQ	RELAÇÃO ENTRE A CIRCUNFERÊNCIA DO ABDÔMEN E A CIRCUNFERÊNCIA DO QUADRIL
RCV	RISCO CARDIOVASCULAR
RL	RADICAL LIVRE
rpm	ROTAÇÕES POR MINUTO
SDG	SEICOISOLARICIRESINOL DIGLUCOSÍDEO
TACO	TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS
TCLE	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
TG	TRIGLICÉRIDES
TNF-α	FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA
UAN	UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO

µg/mL	MICROGRAMAS POR MILILITRO
µL	MICROLITROS
µL	MICROLITROS
µm	MILIMICRON (UNIDADE DE POROSIDADE)
UNICAMP	UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
USP	UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
v/v	VOLUME POR VOLUME
VCAM -1	MOLÉCULA DE ADESÃO CELULAR VASCULAR – 1
WHO	WORLD HEALTH ORGANIZATION

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO 21

1.1. A Dieta Inflamatória: Binômio Ingestão de Alimentos/Inflamação..... 23

1.2. Indicadores Inflamatórios, Hormonais e Antropométricos e suas Associações com FR Cardiovascular..... 26

1.2.1. O Papel da Dieta: Modificação dos Indicadores Inflamatórios, Hormonais e Antropométricos sobre a Prevenção dos FR Cardiovascular..... 28

1.2.2. A Dieta Nutricionalmente Antiinflamatória..... 28

1.2.2.1. Polifenóis: Lignanas..... 28

1.2.2.1.1. Fontes Dietéticas de Lignanas, Ácidos Graxos e Fibras: Semente de Linhaça..... 30

1.2.2.1.2. Propriedades Antioxidantes e Antiinflamatórias da Semente de Linhaça: ção da Enterolactona e Enterodiol..... 33

2. OBJETIVOS 38

2.1. Objetivo Geral..... 39

2.2. Objetivos Específicos..... 39

3. MATERIAL E MÉTODOS 40

3.1. Desenho Experimental..... 41

3.1.1. Estruturação do Estudo..... 45

3.2. Protocolo de Pesquisa..... 46

3.2.1. Recrutamento e Seleção dos Sujeitos de Pesquisa..... 47

3.2.2. Palestra Dirigida: Entrega e Recebimento do TCLE Assinado, Distribuição dos Funcionários em Diferentes Grupos de Pesquisa, Entrega e Identificação de Frasco para Coleta de Urina de 24horas e Agendamento do Início do Protocolo..... 49

3.2.2.1. Palestra Dirigida 49

3.2.2.2. Entrega e Recebimento do TCLE Assinado 50

3.2.2.3. Distribuição dos Sujeitos de Pesquisa em Diferentes Grupos..... 51
3.2.2.4. Agendamento do Inicio do Protocolo e Entrega de Frascos Identificados para Coleta de Urina de 24horas..... 54

3.2.3. Logística da Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) e Laboratório Central..... 55
3.2.3.1. Trituração da Semente de Linhaça e do Arroz Cru..... 56
3.2.3.2. Montagem dos Balcões para Porcionamento dos Itens Alimentares e Fornecimento das Dietas a Cada Sujeito de Pesquisa 57
3.2.3.3. Carrinhos Térmicos 60
3.2.4. Entrevista Padronizada 60
3.2.4.1. Ficha de Avaliação de Condição de Saúde 60
3.2.4.1.1. Identificação..... 61
3.2.4.1.2. Presença de Fatores de Risco (FR)..... 61
3.2.5. Antropometria..... 63
3.2.5.1. Peso e Altura..... 63
3.2.5.2. Pregas Cutâneas: Subescapular, Supra-ilíaca e Abdominal..... 65
3.2.5.3. Circunferência Abdominal e Circunferência de Quadril 66
3.2.6. Pressão Arterial Sistêmica..... 67
3.2.7. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Referentes aos Fatores de Risco Cardiovascular, Inflamatórios e Hormonais..... 68
3.2.8. Coleta de Urina de 24 horas..... 74
3.3. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Nutricionais: Enterolignanas Séricas e Urinárias..... 75
3.4. Cálculo da Composição Nutricional das Dietas Utilizadas no Momento Basal e Durante a Intervenção Nutricional..... 78
3.5. Cálculo das Dietas Utilizadas pelos Sujeitos de Pesquisa no Momento Basal (Tempo 1: dia zero) e no Momento Final (Tempo 7: 42 d) do Estudo.. 80
3.6. Validação das Dietas Fornecidas Durante a Intervenção Nutricional aos Sujeitos de Pesquisa..... 81
3.6.1. Congelamento e Homogeneização das Dietas Oferecidas..... 81
3.6.2. Validação da Composição Química Nutricional das Dietas Oferecidas..... 82

3.6.2.1. Método de Determinação do Nitrogênio Total..... 83
3.6.2.2. Método de Determinação da Gordura Total 83
3.6.2.3. Método de Determinação da Umidade e Cinzas..... 84
3.7. Validação da Composição Química Nutricional das Dietas Oferecidas pelos Testes Laboratoriais..... 85
3.8. Análise Estatística..... 86

4. RESULTADOS 88
4.1. Indicadores Demográficos da População..... 89
4.2. Comparação dos Grupos no Momento Basal e entre os Momentos Basal (Tempo 1) e 42 Dias (Tempo 7) 91
4.2.1. Indicadores Antropométricos 91
4.2.2. Indicadores Relacionados à Ingestão de Nutrientes nos Tempos 1 e 7..... 94
4.2.3. Indicadores Bioquímicos 97
4.2.3.1. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Nutricionais: Enterolignanas Séricas e Urinárias..... 97
4.2.3.1.1. Enterolignanas Séricas e Urinárias..... 98
4.2.3.2. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Referentes aos Fatores de Risco Cardiovascular..... 101
4.2.3.2.1. Glicemia, Ácido Úrico, Insulina, Homa Beta e Homa IR..... 103
4.2.3.2.2. Colesterol Total, LDL-c, HDL-c e Triglicérides..... 104
4.2.3.3. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Inflamatórios 105
4.2.3.3.1. Proteína C- Reativa, Fator de Necrose Tumoral-α e 8.Iso- Prostaglandin F2α (Isoprostane Sérico)..... 105
4.2.3.4. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Hormonais..... 108
4.2.3.4.1. Leptina e Adiponectina..... 108
4.3. Indicadores Clínicos: Pressão Arterial Sistêmica (PAS e PAD) 111
4.4. Considerações Finais de Interesse no Grupo IV 111

5. DISCUSSÃO 131
5.1. Indicadores Antropométricos 132
5.2. Indicadores Clínicos: Pressão Arterial Sistêmica..... 136

5.3. Indicadores Bioquímicos 137
5.3.1. Em Relação aos FR Cardiovascular..... 138
5.3.1.1. Glicemia 139
5.3.1.2. Colesterol Total, LDL-c e HDL-c..... 140
5.3.1.3. Triglicérides, Insulina e PCR: uma Tríade de Variáveis de Risco Aterôgenicas não Tradicionais..... 144
5.3.1.4. Ácido Úrico..... 150
5.3.2. Em Relação aos Indicadores Inflamatórios 151
5.3.2.1. Fator de Necrose Tumoral-α (TNF-α)..... 151
5.3.2.2. *8*.Iso-Prostaglandin F2α (Isoprostane sérico) 154
5.3.3. Em Relação aos Indicadores Hormonais 156
5.3.3.1. Leptina 156
5.3.3.2. Adiponectina 159
5.3.4. Em Relação aos Indicadores Nutricionais: Lignanas, Enterolactona (ENL) e Enterodiol (END)..... 162
5.3.4.1. Comportamento dos Grupos que Apresentaram Acréscimo dos Níveis de Enterolignanas Séricas e Urinárias..... 165
5.3.5. Em Relação aos Indicadores da Ingestão de Nutrientes da Dieta Utilizada no Momento Pré e Pós Intervenção Nutricional 167
5.4. Comportamento do Grupo IV: Adição de Semente de Linhaça e Redução de CH..... 173
5.5. Limitações 178
5.6. Perspectivas Futuras 183

6. CONCLUSÕES 184
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 188
8. ANEXOS..... 206

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Compostos de degradação das lignanas: Seicoisolariciresinol, Matairesinol, Enterodiol, e Enterolactona (MEAGHER et al., 1999)..... 31

Figura 2 - Desenho Experimental..... 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da semente de linhaça contida em uma porção, referente a 100 g..... 31

Tabela 2 - Principais fontes de seicoisolariciresinol diglucosideo (SDG (mg/ 100 g de alimento)..... 32

Tabela 3 - Composição Nutricional das dietas fornecidas aos grupos II (amarelo), III (azul) e IV (verde)..... 53

Tabela 4 - Classificação de peso em adultos, de acordo com o IMC, conforme classificação da OMS (WHO, 1998)..... 65

Tabela 5 - Caracterização da amostra, segundo o grupo de estudo..... 89

Tabela 6 - Frequências absolutas (%) do uso de medicação e fatores de risco, segundo o grupo de estudo..... 91

Tabela 7 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores antropométricos, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças. 93

Tabela 8 - Valores de média e desvio-padrão da composição nutricional, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças..... 96

Tabela 9 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores nutricionais, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças..... 97

Tabela 10 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores bioquímicos, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças..... 102

Tabela 11 - Valores de média e desvio-padrão de insulina, Homa beta e Homa IR, após a retirada dos outliers do grupo III, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças..... 104

Tabela 12 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores inflamatórios, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças..... 106

Tabela 13 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores hormonais, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças..... 109

Tabela 14 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre as variáveis de indicadores nutricionais antropométricos e bioquímicos, relacionados a fatores de risco cardiovascular, hormonais e nutricionais, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV..... 113

Tabela 15 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre a variável TNF alfa e indicadores bioquímicos relacionadas a FR cardiovascular, hormonais e antropométricas, referentes as diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV..... 116

Tabela 16 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre as variáveis de indicadores nutricionais (END e ENL), bioquímicos relacionados à FR cardiovascular e hormonais, e antropometria, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV..... 120

Tabela 17 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis de indicadores hormonais e bioquímicos relacionados a FR cardiovascular e antropometria, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV..... 123

Tabela 18 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre as variáveis referentes à ingestão nutricional, bioquímicas relacionadas à FR cardiovasculares e hormonais, e antropometria, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias, para o grupo IV..... 127

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Níveis de Enterodiol Sérico (ng/100mL), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 98

Gráfico 2- Níveis de Enterolactona Sérica (ng/100mL), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 99

Gráfico 3- Níveis de Enterodiol Urinário (ng/diurese de 24h), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 100

Gráfico 4- Níveis de Enterolactona Urinária (ng/diurese de 24h), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 101

Gráfico 5- Níveis de PCR (mg/dL), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 107

Gráfico 6- Níveis de TNF- α (pg/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 107

Gráfico 7- Níveis de Isoprostane Sérico (pg/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 108

Gráfico 8- Níveis de Leptina (ng/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 110

Gráfico 9- Níveis de Adiponectina (ug/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação..... 110

Gráfico 10- Correlação da Variação de CA (cm) x Variação da Adiponectina (ug/mL)..... 114

Gráfico 11- Correlação da Variação de CA (cm) x Variação da Leptina (ng/mL)..... 114

Gráfico 12- Correlação da Variação de IMC (kg/m^2) x Variação do Ácido Úrico (mg/dL)..... 115

Gráfico 13- Correlação da Variação do TG (mg/dL) x Variação do TNF alfa (pg/mL)..... 117

Gráfico 14- Correlação da Variação da Insulina (microIU/mL) x Variação do TNF alfa (pg/mL)..... 117

Gráfico 15- Correlação da Variação do HOMA IR x Variação do TNF alfa (pg/mL)..... 118

Gráfico 16- Correlação da Variação do HOMA Beta x Variação do TNF alfa (pg/mL)..... 118

Gráfico 17- Correlação da Variação do LDL (mg/dL) x Variação do Enterodiol Urinário (ng/diurese de 24h)..... 121

Gráfico 18- Correlação da Variação do Ácido Úrico (mg/dL) x Variação do Enterolactona Urinária (ng/diurese de 24h)..... 121

Gráfico 19- Correlação da Variação do TG (mg/dL) x Variação do Enterolactona Urinária (ng/diurese de 24h)..... 122

Gráfico 20- Correlação da Variação do Ácido Úrico (mg/dL) x Variação da Adiponectina (ug/mL)..... 124

Gráfico 21- Correlação da Variação da CA (cm) x Variação da Adiponectina (ug/mL)..... 124

Gráfico 22- Correlação da Variação do IMC (kg/m^2) x Variação da Leptina (ng/mL)..... 125

Gráfico 23- Correlação da Variação do Carboidrato (g) x Variação do PCR (mg/dL)..... 128

Gráfico 24- Correlação da Variação de Kilocalorias (Kcal) x Variação da Leptina (ng/mL)..... 128

Gráfico 25- Correlação da Variação de Kilocalorias (Kcal) x Variação do IMC (kg/m^2)..... 129

Gráfico 26- Correlação da Variação de Kilocalorias (Kcal) x Variação do HDL-c (mg/dL)..... 129

RESUMO

O processo inflamatório subclinico encontra-se associado à prevenção e controle de um agrupamento de fatores de risco (FR) nutricionais, entre eles, dislipidemia e aumento de depósito de gordura visceral. Indicadores nutricionais, inflamatórios e metabólicos parecem estar associados com o estilo de vida. A semente de linhaça tem sido reconhecida como um alimento rico em fibras e ω-3, entretanto, um novo constituinte de sua composição nutricional tem merecido atenção, pelo seu papel antiinflamatório e antioxidante. Este componente é chamado de lignanas, um polímero complexo e o principal constituinte não-carbohidrato de plantas vasculares. Está ligado a fibras de celulose, e é responsável por reforçar a estrutura das paredes celulares, o que previne o colapso das mesmas. Lignanas, em contato com a microflora intestinal humana transformam-se em enterolignanas, especialmente, enterodiol e enterolactona. O presente trabalho tem por hipótese que o teor de lignanas dietético pode interferir no perfil metabólico, e alterar fatores de riscos envolvidos no estado nutricional, e consequentemente na saúde. O conhecimento de que diferentes características na composição nutricional de macronutrientes da dieta poderiam modificar o perfil inflamatório, independentemente, da presença das enterolignanas provenientes da semente de linhaça também constituíram o objetivo deste estudo. Por 42 dias, foram avaliados 52 funcionários, pertencentes ao sexo masculino, com idade média de 37± 9 anos, de uma indústria de grande porte, na cidade de Itu-SP. Os voluntários foram divididos em 4 grupos de pesquisa, sendo, um grupo controle, e três grupos com dietas isocalóricas e diferentes proporções no % de carboidratos (CH), e acréscimo de semente de linhaça em pó ou arroz cru triturados (protocolo duplo cego). Foi preenchida ficha de coleta de informações sobre dados pessoais e conhecimento de fatores de risco (hipertensão, dislipidemia e diabetes), comportamentos de risco (tabagismo e sedentarismo) e antecedentes familiares. Foi também realizada avaliação clinico - laboratorial, no qual se obteve o registro de medidas antropométricas, medida da pressão arterial e coleta de sangue venoso em jejum de 12 h para avaliação de indicadores bioquímicos referentes à FR cardiovascular, tais como, colesterol total e frações (LDL-c e HDL-c), triglicérides, glicemia, insulina, Homa-beta e Homa-IR, ácido úrico, bem como, para avaliação de indicadores inflamatórios (Proteína C Reativa (PCR), Fator de Necrose Tumoral (TNF-α) e Isoprostane Sérico), hormonais (Leptina e Adiponectina) e nutricionais (Enterodiol e Enterolactona séricas e urinárias). Observou-se que para redução significativa das medidas antropométricas estudadas e indicador de estresse oxidativo não houve diferenças entre os grupos que receberam intervenção dietética. Entretanto, para a melhora do perfil bioquímico, inflamatório, hormonal e nutricional, diferentes respostas foram encontradas. Os grupos que receberam dietas com redução de CH total (32% e 35%) mostraram benefícios, no que se refere ao perfil bioquímico, especialmente, colesterol total, LDL-c e ácido úrico, como também, para o perfil hormonal, referente aos níveis de adiponectina ($p < 0,05$). Com relação aos níveis de PCR e TNF-α, apenas os grupos que tiveram acréscimo de semente de linhaça na dieta apresentaram redução significativa ($p<0,05$). Para os níveis de triglicérides, somente o grupo com adição de semente de linhaça e 32 % de CH total apresentou

diminuição significativa ($p<0,05$). Foi observado que com 32 % de CH total ingerido e adição de um alimento rico em lignanas constituiu-se uma *estratégia nutricional* relevante, para prevenção primária de fatores de risco metabólicos e controle da inflamação subclinica, o que pode contribuir na redução da morbi-mortalidade a eles associada.

SUMMARY

The control of subclinical inflammatory process is associated with the prevention nutritional RF (risk factor), such as dislipidemia and the increase of visceral fat deposition. Nutritional, inflammatory and metabolic indicators seem also to related to life style. The linseed has been recognized as rich in fibers and ω-3. However, a new component in its nutritional composition has deserved the attention for its anti- inflammatory and antioxidant roles. This component is called lignans, a complex polymer and the main non-carbohydrate constituent of vascular plants. It is binded to cellulose fibers and is responsible for reinforcing cell walls structure, preventing them from collapsing. Plant lignans, in contact with the human intestinal flora, become enterolignans, specially enterodiol and enterolactone. This present work hypothetically that the amount of dietetic plant lignans interfere in the metabolic profile, altering the risk factors involved in the nutritional health state and consequently, the welfare state. Therefore, the objective of this study is to know if different diet nutritional composition characteristics can change the inflammatory profile, independently of the presence of enterolignans from the linseed. For 42 days, 52 male volunteers, average 37±9 years old, from a industrial city of Itu-SP, were evaluated. The volunteers were divided into 4 research groups; one control group and 3 groups on isocaloric diets with different proportion of carbohydrate (CH) and the addition of powdered linseed or ground raw rice (a double blind protocol). Personal data, RF (hypertension, dislipidemia and diabetes), habits (smoking and sedentary) and family antecedents were collected. A nutritional-laboratorial evaluation was performed in order to get anthropometric data; blood pressure checked and blood samples (after 12 hours fast) for total cholesterol and fractions (LDL-c and HDL-c), triglycerides, glycemia, insulin, Homa-beta and Homa-IR, uric acid, inflammatory indicators (Reactive-C Protein (PCR) , Tumoral Necrosis Factor (TNF-a) and Seric Isoprostane), hormonal (Leptin and Adiponectin), enterodiol and enterolactone seric and urinary enterolignins. It was observed a reduction of the studied anthropometric measures and for the oxidative stress indicators. A significant change occurred in the anthropometric measurements and the oxidative stress marker evaluated for all groups, but no difference among them was noted. On the other hand, biochemical, inflammatory, hormonal and nutritional profile significant differences among groups was observed. The groups that received diets with the reduction of the total CH (32% and 35%) showed improvements in the biochemical profile, specially in the total cholesterol, LDL-c and uric acid, as well as the hormonal profile, in the levels of adiponectin ($p< 0,05$) . The levels of PCR and TNF-a, only the groups that had the linseed, showed a reduction ($p< 0,05$). For the triglycerides levels, only the group with the addition of linseed and 32% of total CH showed a decrease. It was observed with 32% of CH and the addition of food lignans constitute a nutritional relevant strategy for the primary prevention of metabolic risk factors and control of subclinical inflammation, contributing to the reduction of the associated morbi-mortality.

1 - INTRODUÇÃO

Existem indícios de que a obesidade seja a grande epidemia, e sério problema de saúde pública, em todas as partes do mundo, no terceiro milênio (LOVEGROVE & GITAU, 2008; WING et al, 2009). Torna-se, portanto, necessário o estabelecimento de estratégias de intervenção para a prevenção, não só da obesidade, mas também de fatores de risco (FR) associados a diferentes doenças nutricionais (CASSANI et al., 2009), nas quais, se inclui a própria obesidade, bem como, distúrbios metabólicos relacionados à dislipidemia e resistência periférica aumentada à insulina (JOLLIFFE & JANSSEN, 2007; KAHN et al., 2005).

Ingestão aumentada de carboidratos (CH), principalmente, os de rápida absorção, desequilíbrio entre a oferta de lípides, e os demais nutrientes, está associada ao aumento da freqüência de hipercolesterolemia, de hipertensão arterial sistêmica (HAS), bem como, da resistência periférica à ação da insulina, o que leva à maior ocorrência de doenças crônicas nutricionais. Outro aspecto importante é a associação de disfunção endotelial caracterizada por inflamação, aumento da oxidação de lipoproteínas, proliferação de células espumosas, deposição da matriz extracelular e acúmulo de lipídios, ativação da adesividade de plaquetas, e formação de trombos (LIBBY; RILDKER & MASERI, 2002; LIBBY, 2006). Estas características contribuem para o desenvolvimento de aterosclerose e doença cardiovascular (DCV) (BALLANTYNE & NAMBI, 2005; GAMI et al., 2007). Muitos destes estudos têm associado obesidade, e demais doenças cardio metabólicas com o aumento de ácidos graxos não esterificados e de indicadores do processo inflamatório, tais como, a proteína C reativa (PCR) (BROWNING, 2003; KUSHNER & DOERFLER, 2008).

O *tecido adiposo, per si,* é um importante órgão secretor de peptídeos ativos com ação metabólica (RADULIAN et al., 2009). São exemplos, leptina, adiponectina, resistina, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) (JANG et al., 2001; HALBERG, WERNSTEDT-ASTERHOLM &

SCHERER, 2008), o que resulta em um estímulo ao *processo inflamatório* (KARELIS et al., 2005; KEOGH et al., 2008).

Evidências sugerem que o *binômio ingestão de alimentos/inflamação* é o maior contribuinte para o desenvolvimento da aterosclerose, e, consequentemente, das DCV (AJANI & FORD, 2006; ST-ONGE et al., 2008).

Entretanto, poucos são os estudos que *correlacionam citocinas inflamatórias, marcadores de estresse oxidativo, FR cardiovascular, e prevenção ou controle por intervenções nutricionais*. *Estas intervenções são caracterizadas por alterações nos indicadores metabólicos nutricionais e inflamatórios (PASCHOS et al., 2007), bem como, por modificações nutricionais e antropométricas, em diferentes grupos populacionais* (CASSANI et al., 2005, 2006, 2009).

1.1. A Dieta Inflamatória: Binômio Ingestão de Alimentos/ Inflamação

O papel do perfil dietético tem sido demonstrado na predição do risco para a DCV (HOWARD; MANSON & STEFANICK, 2006; ORDOVAS, 2006; 2007; 2009). Um perfil dietético prudente, como aparentemente observado na Dieta do Mediterrâneo (TRICHOPOULOUS; BARNIA & TRICHOPOULOUS, 2005) é caracterizado pela escolha de alimentos que tenham como estratégia a redução do risco cardiovascular (RCV), tais como, maior ingestão de frutas, vegetais, legumes, grãos integrais, aves, peixes e azeite de oliva (HALKJAER et al, 2006; SOTOS PRIETO; ZULET ALZÓRRIZ & CORELLA 2009).

Na grande maioria dos sujeitos uma dieta inadequada tem sido reconhecida como a maior causa da inflamação crônica, de origem nutricional (O'KEEFE, GHEEWALA & O'KEEFE, 2008; ORDOVAS, 2009). Muitas linhas de evidências sugerem que uma nova condição, denominada *dismetabolismo nutricional pós-prandial*, é um importante não-reconhecido distúrbio envolvido na gênese da inflamação e da aterosclerose (AUGUSTIN et al, 2002; O'KEEFE & BELL, 2007). Refeições com elevada densidade calórica, ricas em alimentos processados, facilmente digeridos e

rapidamente absorvidos ocasionam elevações muito intensas nos níveis de glicose e triglicérides (TG) sanguíneos (MILDER et al, 2007; O'KEEFE & BELL, 2007). Este importante substrato calórico gerado neste tipo de refeição altera a capacidade metabólica da mitocôndria, nos tecidos musculares e adiposos (ESPOSITO, 2002; ESPOSITO, CIOTOLA & GIUGLIANO, 2006; GIUGLIANO, CERIELLO & ESPOSITO, 2006). Glicose e ácidos graxos em abundância estimulam a produção excessiva de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), o qual desequilibra a capacidade de fosforilação oxidativa, e na seqüência direciona a transferência de elétrons para oxigênio, gerando radicais livres (RL), tais como, o anion superóxido (AS) (MONNIER & COLETTE, 2006, O'KEEFE, GHEEWALA & O'KEEFE, 2008).

O aumento de glicose pós-prandial encontra-se diretamente correlacionado com o aumento de RL. O estresse oxidativo agudo gerado pela elevação de tais RL ocasiona alterações aterogênicas, que incluem aumento na oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e vasoconstrição (CHRISTOU et al., 2005; WEISSMAN et al., 2006). *O processo inflamatório induzido pela refeição é evidenciado pelo aumento imediato dos níveis de PCR e citocinas* (O'KEEFE & BELL, 2007).

Elevação dos níveis de glicose e triglicérides pós-prandiais, por intermédio da ingestão de vegetais, frutas, oleaginosas, sementes e grãos ocorrem em níveis bem inferiores, do que aqueles que decorrem da utilização de alimentos processados (JENKINS et al, 2008; THOMAS & ELLIOT, 2009). Desta forma, os CH ideais para melhorar o *dismetabolismo nutricional pós-prandial* incluem aqueles com menor índice glicêmico (IG), menor densidade calórica e maior teor de fibras e água. Este conjunto de características repercute em uma menor liberação de glicose pós prandial. Além disto, a presença de fitonutrientes antioxidantes pode reduzir o estresse oxidativo e a resposta nutricional inflamatória (MITROU et al., 2007; WESTMAN et al., 2006). Em contrapartida, o excedente de CH refinados leva a um ciclo vicioso, com picos de glicose e insulina sanguíneos pós prandias, acarretando hipoglicemia reativa e menor saciedade (KRIS-

ETHERTON et al., 2001; 2004; O'KEEFE & BELL, 2007; O'KEEFE, GHEEWALA & O'KEEFE, 2008).

O consumo crônico de uma dieta rica em CH processados leva ao excesso de gordura visceral, aumento da resistência à insulina e atividade inflamatória, bem como, predispõe ao DM, HAS, e DCV (ARORA & McFARLANE, 2005; KRONMALL & GRAHAM BARR, 2006). Estudos recentes sugerem que a restrição de CH refinados na dieta pode melhorar os níveis pós-prandiais de glicose e TG séricos, e ainda reduzir a gordura intra-abdominal, especialmente em sujeitos com resistência à insulina (BREHM & D'ALESSIO, 2008; RADULIAN et al., 2009).

Estudos recentes têm tentado elucidar possíveis associações entre ingestão de energia total e calorias provenientes de macronutrientes, em diferentes subgrupos de fontes alimentares, e a resposta obtida na circunferência abdominal (CA) (ARTS & HOLLMAN, 2005, HALKJAER et al., 2006). Associação negativa foi observada entre ingestão de energia total e medidas da CA, entretanto, calorias provenientes de diferentes subgrupos de macronutrientes mostraram associações positivas, os quais indicaram que a *fonte alimentar de energia*, *e não energia total pode ser importante na resposta ao acúmulo de gordura abdominal* (GALGANI, AGUIRRE & DIAS, 2006; JIANG et al, 2006). Este dado corrobora outro estudo recente (LUDWIG, 2000), que demonstrou que o conceito de que *"caloria é caloria",* pode ser errôneo, pois, as *fontes de nutrientes*, ou até mesmo, *subgrupos de um mesmo nutriente* podem apresentar *diferentes respostas de insulina, mediante a ingestão de tipos variados de carboidratos* (ESMAILLZADEH et al, 2006; McMILLAN-PRICE et al, 2006).

Desta forma, o cuidado com a quantidade e tipo de CH na dieta, bem como, a presença de *fibras, gorduras monoinsaturadas, e proteínas de alto valor biológico (AVB)* constituiriam características nutricionais antiinflamatórias relevantes (EBBELING et al., 2005; MA et al., 2006; RICCARDI & RIVELLESE, 2000). A substituição de CH refinados por gorduras monoinsaturadas (oleaginosas ou azeite de oliva) reduz a hiperglicemia e hipertrigliceridemia pós-prandial, aumentam a lipoproteína de

alta densidade (HDL-c), e diminuem o estresse oxidativo (FITO et al, 2007; O'KEEFE, GHEEWALA & O'KEEFE, 2008).

Em relação às proteínas, estudos recentes as têm sugerido como um componente importante para uma dieta nutricionalmente cardioprotetora e antiinflamatória (KUSHNER & DOERFLER, 2008; TAY et al., 2008). A escolha da fonte protéica é fundamental para a redução do dismetabolismo pós-prandial, e melhora da resposta inflamatória: carnes e queijos mais gordos são ricos em calorias e gorduras saturadas, enquanto, proteínas magras de alto valor biológico atuam na redução da liberação de glicose pós refeição, melhoram a saciedade, e apresentam efeito termogênico (BREHM & D'ALESSIO, 2008; O'KEEFE, GHEEWALA & O'KEEFE, 2008).

Poucos estudos intervencionais referentes à modificação do perfil de risco cardiovascular e processo inflamatório utilizaram alimentos funcionais, tais como, antioxidantes (PRASAD, 2001, 2005). A falta de definição da quantidade para consumo, como parte de uma dieta adequada, em diferentes grupos populacionais, bem como, a não quantificação de gorduras saturadas na dieta, e a ausência de avaliação periódica, para quantificação mais precisa da dieta ingerida na maior parte destes estudos poderia explicar, em parte, resultados conflitantes e inconclusivos. Possivelmente, a combinação de diferentes características dietéticas, tais como, a redução de carboidratos facilmente digeridos e absorvidos, a presença de fibras solúveis e redução de gorduras saturadas, poderia permitir que as *propriedades funcionais dos alimentos* atuassem em um meio ambiente mais favorável, sendo mais efetivos sobre a *redução do processo inflamatório nutricional, diminuição de gordura visceral e FR cardiovascular*.

1.2. Indicadores Inflamatórios, Hormonais e Antropométricos e suas Associações com FR Cardiovascular

Recentemente (BREHM & D'ALESSIO, 2008) foi verificada uma correlação positiva entre massa adiposa e expressão do gene pro inflamatório, *Fator Alfa de Necrose Tumoral (TNF- α)* (HALBERG; WERNSTEDT-ASTERHOLM & SCHERER, 2008; STIENSTRA et al., 2007).

Na obesidade também se encontra aumento dos níveis plasmáticos de vários outros marcadores inflamatórios, tais como, citocinas e proteínas de fase aguda, tais como, a *PCR* (HANSSON, 2001; COUILLARD et al., 2005).

Adiponectina e leptina são proteínas secretadas pelo tecido adiposo, e apresentam-se associadas ao metabolismo nutricional e a inflamação (KOPP et al., 2005; SHAIBI et al., 2007). Maiores níveis de adiponectina têm sido associados à redução do risco de infarto do miocárdio, possivelmente, por estarem relacionados à diminuição de TG e a melhora da resistência à insulina, presentes na condição de excesso de gordura corporal (FANTUZZI & MAZZONE, 2007; FUKUMITSU et al., 2008; IM et al.; 2006). A adiponectina, também, se apresenta correlacionada de forma negativa com o TNF-α e com o índice de massa corporal (IMC) (PASCHOS et al., 2007; SHOELSON; LEE & GOLDFINE, 2006). Seus níveis são aumentados com a perda de peso, ou com o uso de tratamento farmacológico para resistência à insulina (FANTUZZI & MAZZONE, 2007; RADULIAN et al, 2009). Em contrapartida, as concentrações plasmáticas de leptina são positivamente relacionadas com gordura corporal e IMC, e parecem contribuir favoravelmente na etiologia da hiperinsulinemia, síndrome de resistência à insulina, injúria vascular e elevação de níveis de TNF-α, e consequentemente a DCV (GONZALES & ORLANDO, 2008; SUGIURA et al., 2008).

Diante de tais questões, encontra-se como um potencial desafio, o *estabelecimento de estratégias dietoterápicas que possam modular nutricionalmente o processo inflamatório, seja pela redução de marcadores inflamatórios, tais como, PCR, IL-6 e TNF-α* (ORDOVAS, 2007)*, bem como, pela secreção adequada de adipocinas (adiponectina e leptina)* (FRANKEL et al., 2009; SUGIURA et al., 2008). Entretanto, considerando-se a inflamação, um possível FR modificável, um maior número de estudos intervencionais seria necessário para verificação da eficiência de modificações de estilo de vida, tais como, perda de gordura visceral e adequação dietética, na redução do estado inflamatório de sujeitos com maiores riscos para DCV (ESMAILLZADEH; MIRMIRAN & AZIZI, 2005; ESMAILLZADEH et al., 2006; LEMIEUX et al., 2001).

1.2.1. O Papel da Dieta: Modificação dos Indicadores Inflamatórios, Hormonais e Antropométricos sobre a Prevenção dos FR Cardiovascular

A associação entre dieta, particularmente ingestão de gordura, e risco cardiovascular têm sido bem demonstrada, em diversos estudos epidemiológicos e intervencionais (OH et al., 2008; TALEB et al., 2006).

O processo inflamatório é o componente chave para aterogênese. Diante desta assertiva, a *resposta inflamatória pode ser alterada tanto pelas modificações dietéticas, como também, por modulações de mecanismos pró e antiinflamatórios* (ORDOVAS, 2007; TAY et al, 2008). Os possíveis mecanismos relacionados a estes efeitos protetores incluiriam o controle de FR nutricional/cardiovascular, tais como, redução da concentração de colesterol, TG séricos e pressão arterial sistêmica, modulação das respostas de glicose e insulina, controle do peso corporal, com diminuição do acúmulo de gordura visceral, e da medida de circunferência abdominal (CA). Estas modificações seriam efetivas para a redução de marcadores inflamatórios, tais como, PCR, TNF-α, e hiperinsulinemia, bem como, possivelmente poderiam modular a secreção de adipocinas, com aumento dos níveis sanguíneos de adiponectina e redução dos níveis de leptina (MAURIGERI, et al, 2002; O'KEEFE, GHEEWALA & O'KEEFE, 2008; STEFFES et al, 2006) (ANEXO 1).

1.2.2. A Dieta Nutricionalmente Antiinflamatória

1.2.2.1. Polifenóis: *Lignanas*

Estudos prospectivos têm confirmado que um maior consumo de alimentos vegetais, tais como, frutas, verduras, nozes, sementes e grãos integrais está associado a menor risco de DCV (GIUGLIANO, CERIELLO & ESPOSITO, 2006; HU, 2003). Os efeitos protetores são mediados por nutrientes contidos nestes alimentos, tais como, ácidos graxos mono e

poliinsaturados (ácidos graxos ω-3), vitaminas, minerais, fibras e fitoquímicos antioxidantes, entre eles, os *polifenóis* (KILKKINEN et al., 2001; PRASAD et al., 1998; PRASAD, 2001; 2005). Tais compostos apresentam diferenças estruturais que determinam suas propriedades biológicas, como, biodisponibilidade, ação oxidante, especialmente sobre a captação de RL, regulação de óxido nítrico (NO) e interações com receptores celulares (BLOENDON & SZAPARY, 2004; BLOENDON et al., 2008; VANHARANTA et al, 1999, 2003). Em particular, dentre os polifenóis, *as lignanas* têm despertado interesse, pelas suas possíveis ações protetoras, em relação ao processo inflamatório, e consequentemente, a DCV (ARTS & HOLLMAN, 2005; PAN et al., 2008).

Lignanas, um tipo de fitoestrógeno, são compostos bifenólicos encontrados em alimentos de origem vegetal. Grãos integrais, vegetais, oleaginosas, sementes, e bebidas, tais como, chás, café, e vinho são fontes dietéticas de lignanas (HALLUND et al., 2008; HIDGON & FREI, 2003). Após o consumo humano, a microflora intestinal converte por meio de reações metabólicas enzimáticas, as lignanas em lignanas mamárias ou enterolignanas, tais como: *Enterodiol (END) e Enterolactona (ENL).* Por cerca de duas décadas, apenas seicoisolariciresinol diglucosídeo (SDG) e matairesinol (MAT) eram conhecidos como sendo precursores de enterolignanas, mas recentemente têm sido mostrados que pinoresinol (PINO) e lariciresinol (LARI) são eficientemente convertidos em enterolignanas (KILKKINEN et al., 2003; MILDER et al., 2007).

Dentre os alimentos que contêm lignanas, a *semente de linhaça*, tem merecido especial atenção, por apresentar um papel na prevenção da doença cardiovascular aterosclerótica, devido as suas propriedades antiinflamatórias. Em sua composição química, também se encontra *ácido α-Linolênico (ALA) e fibra solúvel* (BLOENDON et al., 2008; PAN et al., 2008).

1.2.2.1.1. Fontes Dietéticas de Lignanas, Ácidos Graxos e Fibras: *Semente de Linhaça*

No Brasil, o cultivo de linhaça (Linun usitatissimum) é realizado principalmente no Rio Grande do Sul. A semente de linhaça contém em torno de 41% de gordura, 28% de fibra dietética, 21% de proteína, e minerais, vitaminas e carboidratos. O óleo da semente de linhaça apresenta 73% de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), 18% de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), e 9% de ácidos graxos saturados, além de ser reconhecida fonte de ácidos graxos omega-3 (18:3, ω-3), ácido α-Linolênico (ALA), o qual compreende aproximadamente 55% do total de ácidos graxos (MORRIS, 2001). O óleo de semente de linhaça difere do grão integral, e do pó da semente, por ser destituído de fibras e lignanas (Tabela 1) (BLOENDON et al., 2008; MAURIGERI et al., 2002). A porcentagem de ALA na semente de linhaça é 5,5 vezes maior do que o encontrado nas nozes, e no óleo de canola, duas outras importantes fontes deste nutriente (KITTS et al., 1999). A porção de fibra dietética da semente de linhaça contém fibra insolúvel e solúvel. Dentre os efeitos cardioprotetores da linhaça, alguns são também atribuídos à fibra solúvel conhecida como mucilagem (goma), que corresponde a aproximadamente 25% da fibra dietética total (MORRIS, 2001).

A semente de linhaça contém uma importante concentração de *fitoestrógenos* (*lignanas),* ao qual, o carboidrato conjugado, especialmente, a forma glicosídica e seus glicosídeos são hidrolizados pelas bactérias, no cólon, para originar lignanas “mamárias” bioativas, *enterolactona e enterodiol* (ADLERCREUTZ & WILTOD, 1997), conforme pode ser observado na Figura 1 (MEAGHER et al, 1999).

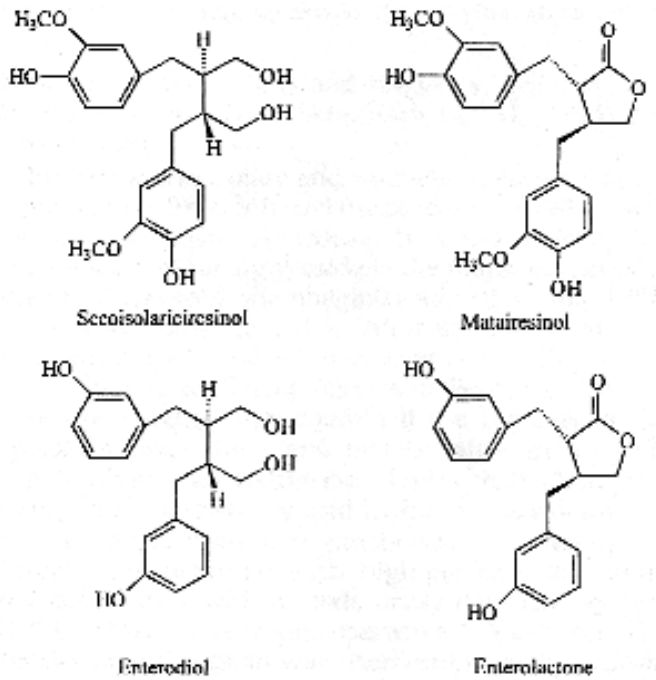


Figura 1. Compostos de degradação das lignanas: Seicoisolariciresinol, Matairesinol, Enterodiol, e Enterolactona (MEAGHER et al., 1999)

Tabela 1 - Composição da semente de linhaça contida em uma porção, referente a 100 g

Forma da Semente de Linhaça	***Peso (g)***	***Energia (kcal)***	***ALA§ (g)***	***Fibra Dietética Total (g)***	***Fibra Solúvel (g)****	**Conteúdo de SDG (mg)**
Grão Completo	100	83	23	27	7	80
Óleo de Semente de Linhaça	100	886	57	0,0	0,0	0,0

Fonte: Adaptado de *BLOENDO & SZAPARY, 2004*
***** Fibra solúvel calculada em cima de 25% do conteúdo de fibra dietética total.
§ ALA: Ácido α-Linolênico (18:3, ω-3); g: gramas; Kcal: kilocalorias; mg: miligramas.

Estas enterolignanas ou lignanas mamárias são derivadas dos precursores matairesinol e, principalmente, Seicoisolariciresinol Diglucosídeo

(SDG), que é encontrado em grande quantidade no grão completo da semente de linhaça (ADLERCREUTZ & WILTOD, 1997; PRASAD, 2005), conforme observado na Tabela 1. As lignanas conjugadas são excretadas por meio da urina e bile, e podem passar pela circulação enterohepática (BLOENDON & SZAPARY, 2004). O complexo lignana da semente de linhaça é constituído por SDG (34 a 38%), Ácido Diglucosídeo Cinâmico (15 a 21%), e de Ácido Hidroximeltilglutárico (HMGA) (9,6 a 11%). SDG é um antioxidante, ácido cinâmico e HMGA apresentam atividade hipolipidêmica (PRASAD, 2005).

A semente de linhaça é a principal fonte de SDG (0,2 a 5,3 g/ 100 g de semente de linhaça). A tabela 2 apresenta valores esperados de lignanas (SDG) em alimentos, tais como, algumas frutas, vegetais, nozes e grãos, bem como, alimentos rotineiramente consumidos pela nossa população, como o arroz e feijão. A quantidade de SDG encontrada nestes alimentos, entretanto, é muito menor, conforme pode ser verificado na Tabela 2 (BLOENDON & SZAPARY, 2004). Os níveis urinários de enterodiol, enterolactona, e lignanas totais apresentam-se positivamente associados a ingestão de semente de linhaça (PAN et al., 2008; PRASAD, 2005).

Tabela 2 - Principais fontes de seicoisolariciresinol diglucosideo (SDG) (mg/ 100 g de alimento)

Fonte Alimentar	**Conteúdo SDG (mg/ 100 g)**
Semente de linhaça (pó)	20 – 370
Morango	1.6
Semente de girassol	0.6
Cenoura	0.5
Arroz branco	0.3 - 0.6
Brócolis	0.4
Nozes	0.3
Trigo	0.1
Feijão	0.013 – 0.27

Fonte: Adaptado de BLOENDON & SZAPARY, 2004.
* SDG: seicoisolariciresinol diglucosídeo; mg: miligramas; g: gramas.

1.2.2.1.2. Propriedades Antioxidantes e Antiinflamatórias da Semente de Linhaça: Ação da Enterolactona e Enterodiol

A semente de linhaça é um potencial alimento, reconhecido pela American Heart Association (AHA) por sua ação antioxidante, diminuição da hipercolesterolemia e dos níveis de glicemia (KRIS-ETHERTON; HARRIS & APPEL, 2002). As propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antiplaquetárias, hipoglicemiantes, e redutoras da pressão arterial sanguínea (BLOENDON et al., 2008; LIN, 2008) possivelmente decorrem da presença conjunta de seus componentes (ácido α-linolênico, fibras, lignanas e seus produtos de degradação), ou por um deles em especial, como a *lignana.*

Lignanas podem reduzir o colesterol sérico pela modulação de enzimas, 7 α-Hidroxilase e Acil Coa Transferase Colesterol,envolvidas no metabolismo de colesterol (TARPILA et al, 2002; VANHARANTA et al., 1999). Sua ação antioxidante inibe a peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) *in vitro* (PRASAD, 2005), o que determina diminuição da oxidação de LDL-c (MAURIGERI et al, 2002; PRASAD, 2001). Níveis plasmáticos de SDG têm sido associados com efetivo papel na retardação da aterosclerose hipercolesterolêmica e redução no estresse oxidativo (PRASAD, 2001; 2005). Recentes testes clínicos mostraram que a adição da semente de linhaça na dieta reduziu os níveis lipídicos em sujeitos hipercolesterolêmicos (VANHARANTA et al., 2003). Evidenciaram ainda que linhaça triturada adicionada à dieta (50 g/dia) reduziu o colesterol total e LDL-c entre 1,6 e 18%, em hipercolesterolêmicos e normocolesterolêmicos, sem um efeito significativo sobre os níveis de HDL-c e TG (PRASAD, 2001; 2005). Outro estudo, duplo cego e randomizado, comparou os efeitos da semente de linhaça e de girassol (grupo controle) em 38 mulheres pós-menopausadas moderadamente hiperlipidêmicas. As pacientes receberam durante 6 semanas, 38 gramas de semente de linhaça ou girassol triturados acrescidos em pães, e no final, após duas semanas de intervalo, os sujeitos recebiam a outra semente, por mais 6 semanas. Os resultados encontrados mostraram 15 % de redução ($p < 0,001$) no LDL-c, no grupo tratado com

semente de linhaça comparado ao grupo controle (ARJMANDI; KHAN & JUMA, 1998). Entretanto, uma limitação do estudo foi a ausência de dados sobre a ingestão de gorduras saturadas entre os períodos de tratamento.

As propriedades antioxidantes do SDG, END e ENL podem estar relacionadas à capacidade destas enterolignanas em capturar os radicais livres (RL), bem como, prevenir a peroxidação lipídica no fígado (FUKUMITSU et al., 2008; KIVELÃ et al., 2008; OGAWA et al., 2006).

A linhaça e seus componentes (lignanas, fibra solúvel e ácido α-Linolênico (ALA)) determinam aumento nos níveis de ácido eicosapentaenóico (EPA), nos fosfolípides plasmáticos (PENUMATHSA et al., 2007; PRASAD, 2005), o que sugere que o ALA dietético pode apresentar efeitos fisiológicos adicionais sobre os FR aterogênicos (TARPILA et al., 2002). O papel do ALA é amplamente reconhecido sobre a modificação na produção de eicosanóides pró-inflamatórios e pró-agregatórios (prostaglandina E2, tromboxane Ax2, e leucotriene B4) (WESTCOTT & MUIR, 2003), o que leva a redução da resposta inflamatória, inibição da agregação plaquetária e trombose, diminuição da pressão sanguínea, melhora dos lipídios séricos, e prevenção de arritmias cardíacas (BROWNING, 2003; CUNNANE et al., 1995).

Um aspecto interessante em relação à semente de linhaça baseia-se em estudo recente que utilizou dois tipos de semente de linhaça, com diferentes conteúdos de ALA, respectivamente, 51 a 55% e 2 a 3%. Os resultados mostraram redução na hipercolesterolemia, com diminuição dos níveis de colesterol total e LDL-c. Esta atividade antiaterogênica ocorreu nos dois grupos avaliados, o que possivelmente sugere que outros constituintes da semente de linhaça tenham apresentado esta ação, independentemente dos conteúdos de ALA (BLOENDON et al., 2008; FUKUMITSU et al, 2008). A atividade antiinflamatória, e consequentemente, antiaterogênica poderia então ser atribuída a outros componentes da semente de linhaça, tais como, a **lignana e seus derivados** (HALLUND et al., 2008; PAN et al., 2008).

Pouquíssimos estudos na literatura estudaram a relação das lignanas, por meio da ingestão de semente de linhaça, e a modificação de indicadores antropométricos, bioquímicos, inflamatórios, hormonais e nutricionais e a

redução de FR cardiovascular. Pan e colaboradores (2008), avaliaram 28 homens e 45 mulheres pós menopausadas com DM 2, por meio de um estudo duplo cego, com suplementação de cápsulas de lignanas em pó (360mg/d), derivadas da semente de linhaça, por 12 semanas, em comparação a um placebo. PCR e IL-6 foram estudadas, sendo que, sugeriu-se que as lignanas poderiam modular os níveis de PCR nestes sujeitos (0,88 para 0,92 mg/l), em relação ao grupo com placebo (0,80 para 1,10 mg/l) (PAN et al. 2008). Em outro estudo (HALLUND et al., 2008), o objetivo específico foi avaliação do efeito do complexo isolado de lignana, proveniente da semente de linhaça, sobre os marcadores inflamatórios. Os resultados mostraram redução dos níveis sanguíneos de PCR, em 22 mulheres pós menopausadas, que ingeriram 500 mg/d de SDG, por meio de uma preparação culinária assada (bolo), em 6 semanas, quando comparadas àquelas que receberam o bolo, sem a adição de SDG. Os marcadores inflamatórios avaliados, além da PCR foram IL-6, TNF-α, Molécula de Adesão Intracelular -1 (ICAM-1), Molécula de Adesão Celular Vascular-1 (VCAM-1), entretanto, somente as concentrações de PCR foram reduzidas de forma significativa (HALLUND et al., 2008).

Bloendon e colaboradores (2008) estudaram 62 sujeitos, entre homens e mulheres pós-menopausadas, com LDL-c, entre 130 a 200 mg/dL. Foram fornecidos 40 g/d de semente de linhaça, em pó, adicionadas a preparações culinárias assadas (bolos), e comparadas a outro grupo que recebeu as mesmas preparações, com adição de 40 g/d de farinha de trigo, por 10 semanas. No grupo que recebeu os bolos enriquecidos com semente de linhaça observou-se redução modesta dos níveis de LDL-c, diminuição mais significativa na Lipoproteina A (Lp (a)), e melhora da sensibilidade à insulina (BLOENDON et al., 2008).

Os estudos citados anteriormente (BLOENDON et al., 2008; HALLUND et al., 2008; PAN et al., 2008) sugerem que as lignanas, derivadas da semente de linhaça, apresentam um efeito antiinflamatório significativo, em alguns marcadores inflamatórios. Alguns estudos têm proposto que as lignanas da semente de linhaça reduziriam o acúmulo de gordura visceral, especificamente, no fígado, bem como,

hipercolesterolemia, hiperinsulinemia e hiperleptinemia (FUKUMITSU et al., 2008).

Ao partir-se do principio, que tecido adiposo visceral secreta uma variedade de hormônios específicos (adipocitocinas), estudos mais recentes (LEE et al., 2008; SUGIURA et al., 2008) têm avaliado possiveis associações entre a secreção de adipocitocinas e doenças relacionadas ao estilo de vida moderno, nos quais, os fatores nutricionais apresentam-se amplamente envolvidos (YANAGAWA et al., 2006; YATURU et al., 2006). Desta forma, um desequilíbrio na expressão de adipocitocinas, tais como, elevação dos níveis de leptina e redução da concentração de adiponectina, pode constituir FR independentes para a DCV, após o ajuste a outros FR (SUGIURA et al., 2008). As lignanas da semente de linhaça têm sido associadas à indução da expressão de adiponectina, no tecido adiposo branco em ratos (FUKUMITSU et al., 2008), por meio da regulação da expressão gênica relacionada à adipogenese, bem como, pelo aumento da atividade do DNA ligado ao PPAR y (FUKUMITSU et al., 2008; SUGIURA et al., 2008).

Diante de tal questão, hipotetizamos que a ingestão de lignanas derivadas da semente de linhaça possa ser uma fonte dietética importante na modulação da expressão de adipocitocinas, e que, teriam uma ação significativa na regulação e resposta nutricional da homeostase metabólica e do processo inflamatório, bem como, no desenvolvimento de doenças ateroscleróticas (FUKUMITSU et al., 2008; OGAWA et al., 2008). Tais efeitos seriam mais relevantes quando acompanhada da redução de adiposidade abdominal e modificações dietéticas que restrinjam CH processados e gorduras não saudáveis (saturadas e trans), e que incluam fibras.

Em nosso meio, pouco são os estudos que avaliaram em sujeitos saudáveis, o papel das lignanas sobre indicadores antropométricos, inflamatórios, hormonais e nutricionais (BLOENDON et al., 2008; PAN et al.; 2008). Desta forma, estudos intervencionais que avaliem o papel da linhaça e suas lignanas sobre os indicadores nutricionais e inflamatórios tornam-se necessários para o estabelecimento de estratégias nutricionais preventivas.

2 - OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos das enterolignanas da semente de linhaça sobre os indicadores nutricionais e inflamatórios, em trabalhadores do sexo masculino de uma indústria de alimentos.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Verificar se diferenças percentuais de macronutrientes da dieta convencional contribuem para um perfil inflamatório independentemente da presença das enterolignanas da semente de linhaça.

2.2.2. Observar o impacto da educação alimentar, por meio de intervenção nutricional.

2.2.3. Investigar os efeitos da intervenção nutricional sob os indicadores antropométricos, inflamatórios, hormonais e nutricionais dos trabalhadores avaliados.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Delineamento Experimental

Trata-se de um estudo prospectivo, duplo cego e intervencional com a finalidade de avaliar os efeitos das enterolignanas da semente da linhaça, sobre os indicadores nutricionais e inflamatórios, em trabalhadores de uma indústria de alimentos. Diferenças percentuais de macronutrientes da dieta, independentemente da presença das enterolignanas da semente de linhaça; o impacto da educação nutricional, e os efeitos da intervenção nutricional sob os indicadores antropométricos, inflamatórios, hormonias e nutricionais foram também verificados.

O estudo foi realizado na cidade de Itu, uma estância turística localizada 101 quilômetros a nordeste da cidade de São Paulo, com 135.366 habitantes, ocupando uma área de 640 quilômetros quadrados (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2000), cujas principais atividades econômicas são indústria, comércio e turismo. A cidade apresenta várias indústrias, entre elas, a matriz da Indústria de Cervejas e Refrigerantes Primo Schincariol, que atua na produção de cervejas, refrigerantes, água mineral e bebidas energéticas. Sua produção anual chega a 4,5 milhões de hectolitros de cerveja, 36 mil hectolitros de refrigerantes, 1,5 milhões de hectolitros de água mineral e 2 milhões de hectolitros de chope. Esta unidade concentra ainda todas as atividades administrativas e funciona de modo contínuo, em turnos, sendo que, o turno de trabalho para a parte administrativa da empresa ocorre das 7h35min até as 17:00 h. Os funcionários da área de produção trabalham em três turnos, sendo o primeiro das 6:00 às 14:00 h, o segundo das 14:00 às 22:00 h e o

terceiro das 22:00 às 6:00 h. Atualmente, o número de funcionários da empresa se encontra em torno de mil e trezentas pessoas, em diferentes funções, sendo 1180 funcionários próprios da empresa, e o restante atuam em serviços terceirizados (nutrição e dietética, limpeza e segurança).

Dentro da unidade, existe um Serviço de Atendimento Médico, onde são realizadas avaliações nutricionais preventivas e educacionais, além de atendimento em nível primário de ocorrências relacionadas a acidentes de trabalho ou outras afecções de saúde.

Foram recrutados 118 sujeitos, do sexo masculino, pelo serviço médico e assistente social. Como critérios de inclusão, os participantes deveriam apresentar entre 20-60 anos, índice de massa corporal (IMC) entre 21 e 45 Kg/m², e pelo menos três fatores de risco cardiovascular, observados previamente, por meio de exame médico e bioquímico. Estes fatores incluíam: alteração para colesterol total (≥ 200 mg/dL) **,** LDL-colesterol (Low Density Lipoprotein) (≥ 130 mg/dL) e HDL- colesterol (High Density Lipoprotein (< 40 mg/dL) **,** Triglicérides (≥ 150 mg/dL) **,** intolerância à glicose e glicemia (≥100 mg/dL) , pré-hipertensão e hipertensão arterial sistêmica (≥130-139 mm/Hg/ ≥80-89 mm/Hg) , associada a maior risco para eventos cardiovasculares e ao aparecimento posterior de HAS, circunferência abdominal (≥ 90 cm) e sobrepeso ou obesidade (IMC ≥ 25 kg/m²). Como critérios de exclusão não foram selecionados funcionários que utilizassem medicações hipolipemiantes, ou estivessem em tratamento prévio para perda de peso, em uso de medicações, nos últimos três meses que antecederam o recrutamento. Voluntários que receberiam férias ou com viagens de trabalho agendadas previamente, no decorrer do período do

protocolo não poderiam participar, pois tais períodos de ausência invalidariam sua participação adequada em todas as etapas do estudo.

Aleatoriamente foram selecionados 52 sujeitos. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Assim como, foram informados de que o estudo seria constituído por quatro grupos, um controle e três com diferentes características dietéticas e adição de um alimento em pó, que deveria ser utilizado continuamente durante todo período de realização do estudo. Por meio de sorteio, os 52 participantes foram divididos nos quatro grupos (I, II, III e IV), com ou sem acompanhamento nutricional durante o período de 42 dias. O primeiro dia do protocolo de estudo foi denominado dia zero (Tempo 1) e o último, 42 d (Tempo 7).

A figura 2 apresenta o delineamento experimental.

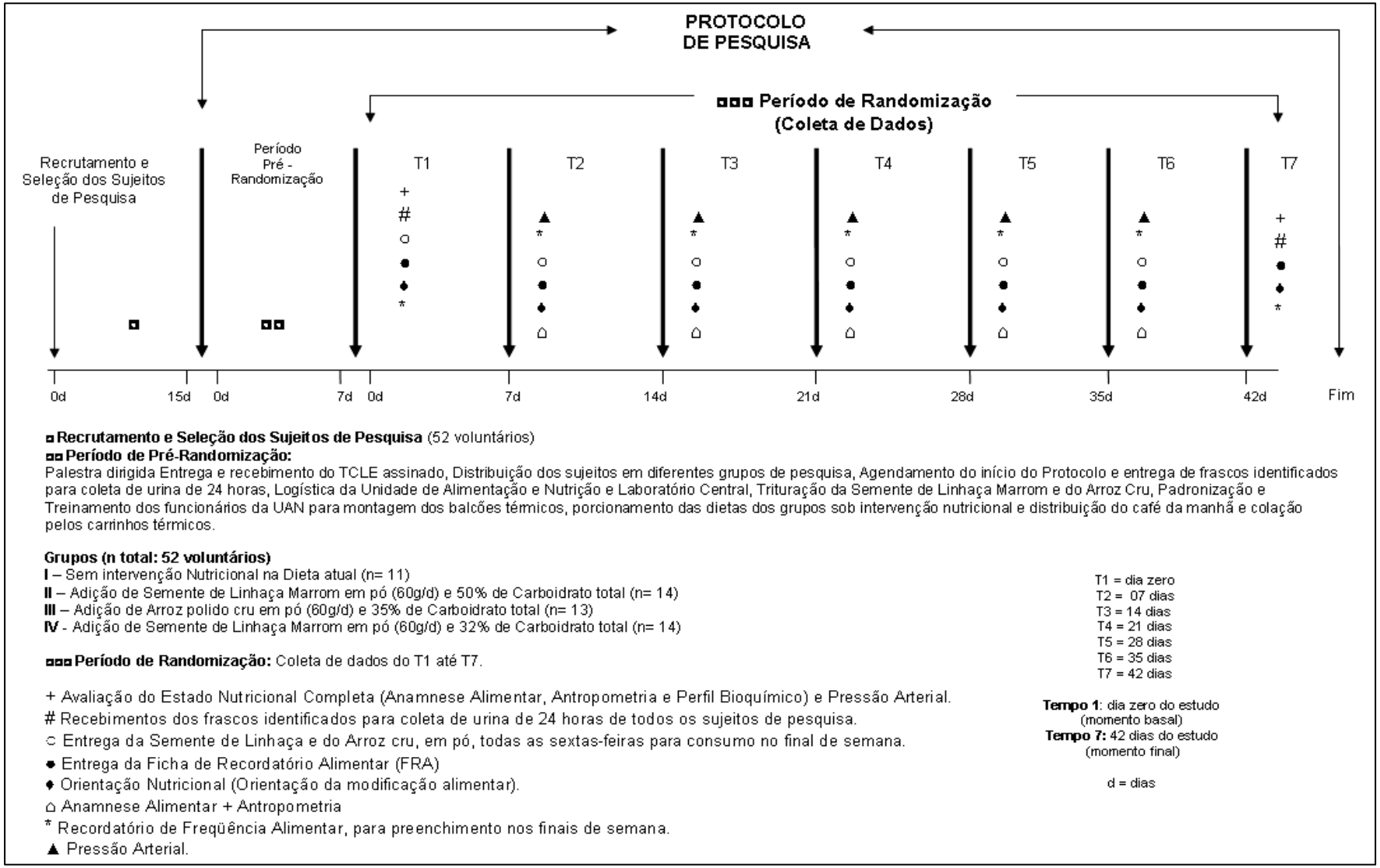


Figura 2. Delineamento experimental detalhado.

O detalhamento do estudo experimental pode ser verificado nos subitens a seguir.

3.1.1. Estruturação do Estudo

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (ANEXO 2).

Os procedimentos do estudo foram realizados pela autora e por uma estagiária, devidamente treinada, por um período de dez meses prévios ao inicio do estudo, para conduzir as diversas etapas da coleta de informações e dos dados clínicos. Este treinamento prévio propiciou que a logística do estudo fosse estruturada, detalhadamente, por etapas, o que possibilitaria evitar situações que pudessem prejudicar a realização e qualidade do estudo. Desta forma, o trabalho conjunto entre a autora e a estagiária, bem como, com a assistente social da empresa possibilitou reuniões freqüentes, em todas as fases da implantação do projeto, o que facilitou a observância e discussão de vários pontos relevantes da coleta de dados, sempre visando uma melhor fidedignidade dos mesmos.

A coleta do material utilizado neste estudo foi realizada, pela autora e pela estagiária, em cinco períodos semanais (todas as manhãs), de segunda a sexta feira, conforme agendamento prévio realizado pela autora, coincidindo com a presença dos funcionários no Serviço Médico, em seus turnos de trabalho. Os procedimentos relacionados à verificação da pressão

arterial sistêmica e coleta bioquímica foram realizados por profissionais aptos a estas atividades.

3.2. Protocolo de Pesquisa

O protocolo de pesquisa pode ser dividido em etapas distintas: seleção de funcionários com fatores de risco (FR) cardiovasculares, previamente avaliados em campanha de prevenção à doença cardiovascular (DCV), realizada dentro da empresa há menos de um mês antes do estudo iniciar; sequencialmente foram agendadas palestras dirigidas aos sujeitos selecionados, bem como, a entrega e orientações do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1). Distribuição dos funcionários nos diferentes grupos a serem pesquisados, agendamento do inicio do protocolo com entrega e identificação de frascos para coleta de urina de 24 horas, estabelecimento da logística da Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) e Laboratório Central, realização da entrevista padronizada, antropometria, medida da pressão arterial sistêmica, perfil bioquímico e entrega da coleta final de urina de 24 horas também fizeram parte do protocolo de pesquisa.

Os procedimentos relativos ao estudo, que foram realizados dentro do Serviço Médico, tiveram uma duração aproximada de 25 minutos. Todas estas etapas foram realizadas em seqüência pré-determinada, de modo a não alterar a rotina do funcionário dentro da empresa, e foram detalhadas a seguir.

3.2.1. Recrutamento e Seleção dos Sujeitos de Pesquisa

Esta etapa contou com a ajuda dos funcionários do Serviço Médico (médicos e técnicos de enfermagem), e da assistente social. Mediante a solicitação médica, a assistente social recrutou por meio de ligações telefônicas e envio de mensagens eletrônicas (e-mail), voluntários à pesquisa, do sexo masculino, e seus respectivos chefes de seção.

Tais voluntários deveriam apresentar pelo menos três fatores de risco cardiovasculares, observados previamente, por meio de antropometria (altura, peso corporal e circunferência abdominal) e exames bioquímicos, o que permitiu que o estudo fosse aleatório**.** Não foram selecionados funcionários que estivessem em tratamento para perda de peso com medicações ou fórmulas manipuladas, nos últimos três meses que antecederam o inicio do protocolo. Voluntários que utilizassem medicações hipolipemiantes, também não foram selecionados, bem como, aqueles que receberiam férias ou com viagens de trabalho agendadas previamente, durante o período do protocolo.

Foi considerada como presença de fator de risco cardiovascular, circunferência abdominal (≥ 90 cm) (CASSANI et al., 2005; HARMER & CHIDA, 2009), e sobrepeso ou obesidade caracterizado por IMC ≥ 25 kg/m² (WHO, 1998). Com relação aos exames bioquímicos considerou-se alteração para colesterol total ≥ 200 mg/dL**,** LDL- colesterol ≥ 130 mg/dL (lipoproteina de baixa densidade) e HDL-colesterol < 40 mg/dL (lipoproteina de alta densidade)**,** triglicérides ≥ 150 mg/dL (EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD

CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TREATMENT PANEL III, 2001), glicemia ≥100 mg/dL (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2005) e hipertensão arterial sistêmica caracterizada por pressão arterial sistólica ≥130-139 mm/Hg e/ou pressão arterial diastólica ≥80-89 mm/Hg (CHOBANIAN et al., 2003).

Uma lista de espera foi criada, incluindo 118 voluntários. Tal lista de espera contava com o nome do funcionário, e seu ramal telefônico dentro da empresa (APÊNDICE 2. Ficha de recrutamento de funcionários para participação no protocolo de pesquisa).

Esta lista de excedentes teria como objetivo recrutar rapidamente, por meio de sorteio aleatório, um funcionário que atendesse aos critérios necessários ao estudo, mediante uma situação de desistência. Entretanto, foi pré-requisito da empresa que não fossem recrutados um número maior do que 50 funcionários, devido ao distanciamento do trabalho, no momento dos atendimentos, e também, a possíveis elevações de custo financeiro gerados pelas alterações na rotina alimentar, e na logística da UAN. No momento, em que os funcionários eram recrutados via ligação telefônica e/ou e-mail, as informações de uma data, horário e a identificação de uma sala eram feitos. Desta forma, duas datas foram agendadas, possibilitando a realização de duas reuniões, com 25 funcionários em cada uma delas. A sugestão para que fossem realizadas duas reuniões foi acordado entre a autora e a assistente social, pois, a mesma contaria com uma palestra dirigida, com explicações de todas as etapas do protocolo de pesquisa, bem como, a distribuição dos sujeitos em diferentes grupos de estudo. Outro ponto importante, é que não se poderia recrutar para uma mesma reunião,

cinqüenta funcionários, ao mesmo tempo, o que causaria transtornos ao funcionamento dos diferentes setores da empresa.

Foram selecionados aleatoriamente 52 voluntários para o estudo, com a preocupação de que possíveis desistências pudessem ocorrer no decorrer do protocolo. Desta forma, para as reuniões, 52 sujeitos foram recrutados.

3.2.2. Palestra Dirigida: Entrega e Recebimento do TCLE Assinado, Distribuição dos Funcionários em Diferentes Grupos de Pesquisa, Entrega e Identificação de Frasco para Coleta de Urina de 24 horas e Agendamento do Início do Protocolo.

3.2.2.1. Palestra Dirigida

Na data e horário, anteriormente estabelecidos, os funcionários compareciam à reunião, em sala já previamente preparada, com disponibilização de recursos áudio-visual solicitados pela autora. A palestra era dirigida aos funcionários, com foco na relevância da prevenção da DCV, em sua grande maioria, por meio do controle de FR cardiovascular. Para isto, foi necessário identificar aos voluntários presentes, quais seriam estes FR, e a importância do recrutamento dos mesmos para aquela reunião.

Foi marcadamente comentado que o estudo apresentaria duração de 42 dias, e que eles seriam divididos em 4 subgrupos, sendo que, apenas um deles não receberia intervenção nutricional. Para aqueles que receberiam orientação para modificação dietética foi salientado que, além da

alteração na quantidade e qualidade da alimentação, o acréscimo de um pó na dieta, proveniente de um alimento triturado, seria realizado, duas vezes ao dia, conforme será descrito no item referente à distribuição dos grupos. O período de 42 dias seria, possivelmente, um período suficiente para modificação do peso, e das alterações laboratoriais e clinicas, conforme, observado em literatura recente (PRASAD et al., 1998; PRASAD 2001, 2005).

Cada etapa do projeto era devidamente explicada, para que os futuros sujeitos de pesquisa pudessem questionar todos os procedimentos que seriam realizados. A importância da participação, e se possível não desistência, no decorrer do projeto foi bastante salientada pela autora, já que tínhamos uma lista de espera significativa, de outros funcionários com muito interesse em participar.

Logo após, o término da palestra, com duração de aproximadamente 30 minutos, era questionado aos funcionários ali presentes, se existia alguma dúvida, e se eles teriam interesse em participar do estudo que se iniciaria na semana seguinte.

3.2.2.2. Entrega e Recebimento do TCLE Assinado

Todos os presentes nas duas reuniões aceitaram participar do estudo verbalmente. Nesta ocasião, a autora e a estagiária entregavam o TCLE, no qual, oficialmente, os funcionários eram convidados a participar do estudo, por meio de uma explicação detalhada dos procedimentos (APÊNDICE 1). Após completar a leitura, eventuais dúvidas eram

novamente esclarecidas e, em caso de anuência, assinavam o TCLE, que em seguida, era recolhido e arquivado pela autora e estagiária, e, desta forma iniciavam o protocolo de pesquisa.

3.2.2.3. Distribuição dos Sujeitos de Pesquisa em Diferentes Grupos

Nesta etapa, era explicado pela autora que cada grupo de pesquisa seria identificado por uma cor, para facilitar o atendimento e montagem dos pratos, pelos funcionários da UAN, e também, a rápida identificação de cada funcionário por grupo, pela estagiária.

Desta forma, eles receberam um adesivo da cor referente ao seu grupo, que foi colado no crachá de identificação da empresa, ao qual, o funcionário deveria manter ao seu uniforme, continuamente, durante toda a jornada de trabalho. Outro adesivo estaria fixado ao prato recebido pelo sujeito de pesquisa, e nos balcões de montagem dos pratos, localizados no interior da UAN. Portanto, este seria o procedimento utilizado para o *estabelecimento de um processo de identificação entre sujeitos de pesquisa, estagiária do projeto e Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN).*

Por se tratar de um estudo *intervencional, randomizado* e *duplo-cego,* a autora, neste momento, se retira da sala, para que a estagiária realize o procedimento de identificação dos sujeitos de pesquisa. As cores utilizadas para identificação dos voluntários, por seus respectivos grupos foram: vermelho, amarelo, azul e verde. A distribuição dos sujeitos de pesquisa por grupos foi aleatória, por sorteio, feito pela estagiária durante a reunião. Os sujeitos que ficaram no grupo vermelho foram aqueles que não

receberiam intervenção nutricional, portanto, denominado grupo controle. Os grupos amarelo, azul e verde receberam nesta etapa a descrição da sua intervenção nutricional, que constituía de um planejamento alimentar calculado pela autora do estudo, distribuída em seis refeições (café da manhã, colação, almoço, lanche da tarde, jantar e ceia), juntamente, com uma lista de substituições de alimentos e porcionamento por medidas caseiras (APÊNDICE 3. Orientação nutricional fornecida por grupo de pesquisa, lista de substituições e porcionamento por medidas caseiras).

As refeições realizadas na empresa eram o café da manhã, colação, almoço e lanche da tarde, somente o jantar e a ceia eram realizados em casa, conforme a orientação dietética fornecida (APÊNDICE 3).

A composição nutricional das dietas fornecidas aos grupos II, III e IV apresentava valores calóricos semelhantes, com diferenças na distribuição dos macronutrientes. Os planejamentos alimentares fornecidos para os grupos de pesquisa apresentavam as seguintes características: para o grupo II (amarelo) a orientação nutricional foi constituída de 1990 Kcalorias/dia, sendo, 50% provenientes de carboidratos, 31% de gorduras totais e 19% de proteínas; para o grupo III (azul) foram sugeridas 1920 Kcalorias/dia, sendo 35% de carboidratos, 46% de gorduras totais e 19% de proteínas; para o grupo IV (verde) a orientação dietética foi composta de 1850 Kcalorias/dia, com 32% de carboidratos, 47% de gorduras totais e 21% de proteínas. A quantidade de fibra alimentar foi de 47 g, 17,5 g e 36,5 g, respectivamente, para os grupos II, III e IV, como pode ser observado na Tabela 3**.**

Tabela 3 - Composição Nutricional das dietas fornecidas aos grupos II (amarelo), III (azul) e IV (verde)

Nutrientes (g/d)	**Dieta com inclusão da Semente de Linhaça em pó.**	**Dieta com inclusãodo Placebo (arroz cru em pó) e redução de CH.**	**Dieta com inclusãoda Semente de Linhaça em pó e redução de CH.**
	Grupo II (Amarelo) n=14	**Grupo III (Azul) n=13**	**Grupo IV (Verde) n=14**
Carboidratos	250	170	148
Gorduras totais	68	98	93
Ácidos graxos Monoinsaturados	30	56	42
Ácidos graxos Poliinsaturados	20	19	32
Ácidos graxos saturados	17,5	18	17
Proteínas	95	90	97
Fibra alimentar	47	17,5	36,5
Ácido 18:3, ω3	14	3	15
Ácido 18:2, ω 6	15	16	17
Nutrientes (%)	**Grupo II**	**Grupo III**	**Grupo IV**
Carboidratos	50%	35%	32%
Gorduras totais	31%	46%	47%
Proteínas	19%	19%	21%
Valor calórico	**Grupo II**	**Grupo III**	**Grupo IV**
Kcal/d	1990	1920	1850

g/d: gramas/ por dia; n: numero de voluntários; ω-3: ácidos graxos Omega 3; ω-6: ácidos graxos Omega 6; Kcal/d: Kilolocalorias/dia; %: percentual.
Fonte: Diet pro4, Viçosa, MG;

Para os grupos amarelo e verde, o pó utilizado foi a semente de linhaça marrom crua, comprada a granel, em fardos de 100 Kg, e posteriormente triturada. Para o grupo azul, o pó adicionado à dieta foi proveniente de arroz cru (marca Pateko®; Santa Cruz do Rio Pardo, SP)

triturado (placebo). O procedimento de moagem da semente de linhaça e do arroz será descrito, no item referente à logística da UAN e Laboratório Central. A adição dos pós foi realizada na colação (40 g adicionada ao leite) e no almoço (20g adicionada ao feijão cozido) (APÊNDICE 3).

A autora do trabalho desconhecia qual o tipo de pó era recebido pelos diferentes grupos, o que caracterizava o estudo como duplo-cego. A estagiária foi responsável por este controle.

3.2.2.4. Agendamento do Início do Protocolo e Entrega de Frascos Identificados para Coleta de Urina de 24 horas

Após, a entrega dos planejamentos alimentares propostos, a cada voluntário, a estagiária pedia para que fosse feita a leitura das orientações, e questionava se havia alguma dúvida referente a elas. Depois de realizados os esclarecimentos necessários, a estagiária forneceu os telefones de contato, para qualquer dúvida que pudesse surgir no decorrer do protocolo. Neste momento, a estagiária reforçou a necessidade de que a autora do estudo não poderia saber a qual grupo, cada sujeito de pesquisa pertenceria, e por isso, qualquer dúvida sobre o planejamento alimentar recebido, bem como, sobre os pós adicionados à dieta deveriam ser remetidas a ela, para que posteriormente a autora tomasse conhecimento e solucionasse os questionamentos, sem que para isto, a mesma viesse a conhecer o grupo ao qual o voluntário pertencia. Os funcionários desconheciam inicialmente qual tipo de pó receberiam.

A autora do estudo, nesta etapa retorna a sala de reunião, e cada funcionário recebe o agendamento de sua ida ao ambulatório médico, com um roteiro por escrito, com a data e horário para comparecimento, orientações referentes à coleta da urina de 24 horas, e a necessidade de estarem em jejum de 12 horas, para a coleta de sangue (APÊNDICE 4. Orientações para o agendamento e procedimento para coleta de urina de 24 horas).

Concomitantemente, era realizada a entrega do frasco de coleta para urina de 24 horas (2 litros), devidamente esterilizado, e identificado com o nome do sujeito de pesquisa, e a data da coleta inicial, com etiquetas impermeáveis. A data de coleta inicial do estudo foi denominada *"Tempo 1" (dia zero)* . O estudo foi iniciado em uma segunda feira, para que a coleta de urina de 24 h pudesse ser realizada em casa, no domingo, para se evitar possíveis perdas da amostra. O procedimento para esta coleta foi explicado pela autora do estudo, durante a reunião, de forma bastante minuciosa, para que se evitasse a perda da primeira urina, do dia seguinte, ao inicio da coleta, o que completaria adequadamente a coleta de 24 horas.

3.2.3. Logística da Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) e Laboratório Central

Por se tratar de um estudo intervencional e duplo cego, reuniões prévias por três meses, antes do inicio do protocolo, entre a autora, a estagiária, assistente social, e profissionais da UAN, especialmente, a nutricionista e a diretora da empresa responsável pela terceirização do

serviço realizado na unidade, cozinheiros chefes e auxiliares de cozinha foram fundamentais para que se garantisse a qualidade da reprodução das dietas planejadas, bem como, os procedimentos de entrega das dietas corretas a cada funcionário, fornecimento dos pós (semente de linhaça e arroz cru triturados) durante as refeições e finais de semana.

O contato prévio entre a autora, sua estagiária, e a chefia da UAN com funcionários do Laboratório Central da empresa, também foram primordiais, para que a semente de linhaça e o arroz cru pudessem ser devidamente triturados e acondicionados, em granulagem adequada, o que facilitaria a adesão dos voluntários às orientações dietéticas realizadas. O estabelecimento da rotina destes procedimentos será descrito a seguir:

3.2.3.1. Trituração da Semente de Linhaça e do Arroz Cru

Para que a semente de linhaça e o arroz cru pudessem ser adicionados ao leite, na colação, e ao feijão cozido, no almoço, sem alterar significativamente o sabor e consistência destes alimentos, a autora optou pela possibilidade de trituração destes alimentos in natura, em aparelho utilizado para a trituração de alimentos, com mínima granulometria (APENDICE 5. Procedimento de trituração da semente de linhaça e arroz cru).

Desta forma, utilizou-se como recurso, Aparelho Tipo Moinho DLF 1® W22060, série 20353836, produzido pela empresa UNIVERSAL BUHLER, CMBH (Alemanha) e Vibratório MAQ ®, modelo 2221, série 10.04, produzido pela empresa BERTEL® (Brasil). Este aparelho, também

disponibilizava de peneiras apropriadas para moagem de grãos finos, com graduação do equipamento a 250 mm/micrometros (mm/milionésima parte do metro), empresa UNIVERSAL BUHLER®, CMBH (Alemanha).

Após a trituração, a semente de linhaça e o arroz cru eram pesados em balança semi-analitica, OHAUS® (Alemanha). Este procedimento ocorria no Laboratório Central, semanalmente, e em seguida a este procedimento, os produtos eram acondicionados em sacos plásticos apropriados (APENDICE 6. Semente de linhaça crua triturada acondicionada em embalagem apropriada), e transportados novamente a UAN, na qual ficavam originalmente armazenados, em condições apropriadas para se evitar a oxidação do produto.

3.2.3.2. Montagem dos Balcões para Porcionamento dos Itens Alimentares e Fornecimento das Dietas a cada Sujeito de Pesquisa

Após treinamento, com três funcionários da UAN, que participariam do projeto optou-se pela montagem de balcões, equipados com os itens alimentares, que seriam fornecidos na dieta de cada grupo, durante o almoço, juntamente, com um roteiro diário, para porcionamento dos pratos, conforme, cada grupo de pesquisa (APENDICE 7. Balcões equipados com os itens alimentares a serem fornecidos aos sujeitos de pesquisa) e (APENDICE 8. Roteiro diário utilizado pelos funcionários da UAN, para porcionamento das refeições, conforme, cada grupo de pesquisa).

Um dos balcões disponibilizados pela UAN, para o protocolo dispunha de dois recipientes, providos de adesivos, com as cores

respectivas para identificação dos grupos. Desta forma, o recipiente destinado à semente de linhaça crua triturada recebia um adesivo verde e um amarelo, e o adesivo azul era colocado no recipiente que acondicionava o arroz cru triturado (APENDICE 9. Balcão com recipientes identificados para semente de linhaça crua e arroz cru triturados).

A entrega do almoço era realizada, posteriormente, a formação de uma fila indicada, pelo funcionário da UAN, o que propiciava o recebimento da refeição, sem atraso, para não prejudicar o tempo que dispunham para o almoço, além, de evitar que outros alimentos pudessem compor a dieta, caso a confecção dos pratos fossem realizadas pelos próprios voluntários, nos balcões de alimentos disponíveis, aos demais funcionários da empresa (APENDICE 10. Balcões térmicos de alimentos, locados no refeitório, disponíveis aos funcionários da empresa), como ocorria com os voluntários pertencentes ao grupo vermelho (sem intervenção nutricional) (APENDICE 11. Voluntário de pesquisa pertencente ao grupo vermelho, no momento, de sua seleção e porcionamento de alimentos, referente ao almoço).

Os sujeitos de pesquisa mostravam o crachá de identificação, com o adesivo referente ao seu grupo de pesquisa, e o funcionário da UAN procedia ao porcionamento do prato a ser oferecido.

As refeições eram servidas em bandejas. A dieta fornecida aos voluntários era constituída dos seguintes alimentos ou preparações culinárias: arroz cozido, feijão cozido, legumes, carnes e verduras, duas frutas, sendo uma delas como sobremesa, e a outra para o primeiro lanche do período da tarde, e o pó, de semente de linhaça ou arroz (placebo). A salada era servida em prato separado, o tempero era feito pelos próprios

sujeitos, com exceção, do azeite, que era colocado pelos funcionários da UAN, conforme, a orientação dietética recebida. O feijão cozido, que continha a semente de linhaça ou o arroz cru triturados (APENDICE 12. e APENDICE 13. Semente de linhaça e arroz cru triturados para serem acrescentados ao feijão cozido) era servido em pequenos recipientes, separadamente, do restante da refeição, para que pudesse ser observada a ingestão real destes pós, e não houvesse perdas do produto, caso fossem misturados a outros itens alimentícios (APENDICE 14. Dieta fornecida ao sujeito de pesquisa: Grupo Verde) e (APENDICE 15. Dieta fornecida ao sujeito de pesquisa: Grupo Azul).

Posteriormente ao término da refeição, as bandejas eram devolvidas ao funcionário da UAN.

As sextas feiras, juntamente com a entrega do almoço, eram fornecidas 120 gramas de pó devidamente pesados (linhaça ou arroz) e acondicionados, em sacos plásticos apropriados, com etiquetas referentes às cores dos grupos de pesquisa, e com a quantidade em gramas existente, para que fosse consumido no final de semana (APENDICE 14 e 15). Semanalmente, era checada pela autora e estagiária, a escala de trabalho dos sujeitos de pesquisa, em cada setor da empresa, para verificação, daqueles que teriam folga no decorrer da semana. Caso isto fosse constatado, o funcionário receberia a quantidade de semente de linhaça ou arroz cru triturados, necessárias para ser consumida em casa, e desta forma, dar seqüência corretamente ao protocolo.

A implantação desta logística dentro da UAN, embora muito trabalhosa, permitiu que a intervenção nutricional fosse realizada, de forma

contínua, durante todo período de protocolo de pesquisa (APENDICE 16. Entrega da refeição individual (almoço) ao sujeito de pesquisa).

3.2.3.3. Carrinhos Térmicos

Para o fornecimento do leite desnatado com adição da semente de linhaça ou do arroz cru triturado (colação) e da fruta (segundo lanche da tarde) foram disponibilizados dois funcionários da UAN, com carrinhos térmicos, que porcionavam tais refeições, para cada voluntário, em seu setor. Estes funcionários da UAN foram treinados pela autora e estagiária, para padronização das medidas caseiras utilizadas (copos e colheres de sopa) para que, as quantidades de leite, e de pó fossem devidamente corretas. Os copos utilizados para o fornecimento da colação (leite desnatado + pó) eram descartáveis, conforme as normas de segurança sugeridas pela empresa (APENDICE 17. Entrega do café da manhã e colação (leite com adição de pó) aos voluntários de pesquisa).

3.2.4. Entrevista Padronizada

3.2.4.1. Ficha de Avaliação de Condição de Saúde

Esta ficha (APÊNDICE 18. Ficha de Avaliação de Condição de Saúde) foi preenchida por meio de entrevista dirigida ao funcionário, pelo examinador, e era subdividida em cinco itens (APENDICE 19. Entrevista

dirigida (preenchimento da Ficha de Avaliação de Condição de Saúde). As informações obtidas nesta ficha podem ser observadas a seguir.

3.2.4.1.1. Identificação

Consistiu em coleta de dados pessoais, visando à identificação e possibilidade de estabelecer contato futuro, e a obtenção de informações relativas à educação e renda familiar:

Nome, idade, sexo, profissão, cargo que ocupa na empresa, carga horária, turno de trabalho, grau de instrução (1º, 2º ou grau universitário), data de admissão na empresa, renda familiar expressa em salários – mínimos, número de pessoas que moram na mesma casa, distribuição etária dos familiares, em faixas pré-estabelecidas (crianças até 12 anos, adolescentes de 13 a 17 anos e adultos).

3.2.4.1.2. Presença de Fatores de Risco (FR)

A entrevista continha ainda perguntas relacionadas à presença de fatores de risco:

- *História familiar de doença cardiovascular precoce (infarto, angina ou morte súbita)* – Considerada positiva se presente em homens com menos de 55 anos ou mulheres com menos de 65 anos, em parentes de primeiro grau.
- *Tabagismo* - Questionou-se sobre a situação atual. Em caso de tabagismo vigente, foram anotados dados relativos à duração do

hábito e quantidades consumidas. Ex-tabagistas foram questionados sobre a duração do período de abstenção.

- *Hipertensão Arterial Sistêmica* – Questionou-se sobre o conhecimento em relação aos valores da pressão arterial sistêmica e o diagnóstico prévio de hipertensão arterial, estabelecido por médico. Questões sobre controle da pressão, utilização e tipo de medicamentos completavam a avaliação do tópico em caso de resposta afirmativa.
- *Sedentarismo* – Caracterizou-se como a ausência de atividade física realizada durante lazer, em pelo menos três períodos de no mínimo trinta minutos, semanalmente. Em todos os indivíduos que responderam positivamente ao questionamento sobre a realização de atividade física foi registrado o tipo de atividade praticada, a freqüência semanal e a duração em minutos de cada atividade.
- *Diabetes Melito* – Interrogou-se o conhecimento sobre a presença da patologia em si ou em familiares, bem como o grau de parentesco em casos de resposta afirmativa. Em caso de ser diabético, o voluntário foi solicitado ainda a informar o tratamento ao qual estava sendo submetido.
- *Dislipidemia* – Os funcionários foram inquiridos sobre o conhecimento prévio de alterações. Em caso positivo, informações sobre o tipo de alteração identificada e tratamento foram coletadas.

Ao final desta entrevista, o voluntário iniciava a avaliação antropométrica.

3.2.5. Antropometria

O exame antropométrico teve como objetivo determinar medidas de dimensão corpórea (VANNUCCHI et al., 1996). As medidas foram obtidas com o funcionário em pé, descalço, e sem a parte superior do vestuário.

As medidas antropométricas foram realizadas, semanalmente, durante os 42 dias de protocolo do estudo, conforme as normas recomendadas pelo Manual de Procedimentos Antropométricos produzido pelo National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), revisado em dezembro de 2000, (NHANES III, 2000). *Considerou-se como denominação para dia inicial e final do protocolo de estudo, respectivamente, dia zero (Tempo 1) e 42 dias (Tempo 7)* (APÊNDICE 20. Planilha de avaliação antropométrica dos sujeitos de pesquisa, no Tempo 1 (dia zero) ao tempo 7 (42 dias)).

3.2.5.1. Peso e Altura

Utilizou-se balança mecânica Filizzola®, modelo 31, com precisão de 0,1 Kg e capacidade máxima para 150 Kg, com plataforma e haste, calibrada manualmente no início de cada período de coleta (APENDICE 21. Pesagem do voluntário de pesquisa).

Para a obtenção da estatura, foi empregada a haste da balança, que apresentava escala centesimal com marcações a cada meio centímetro, apresentando como capacidade mínima de 95 cm e máxima de 190 cm. O voluntário permanecia em pé, sobre a plataforma da balança, com os pés em paralelo, estando os glúteos, escápulas e cabeça encostados na haste da balança. O examinador, com a mão no queixo do funcionário, segurava a cabeça de modo que a parte inferior da órbita ocular ficasse posicionada no mesmo plano horizontal da borda superior do orifício externo do ouvido. A parte superior da haste era posicionada de modo a encostar-se à cabeça do indivíduo e, em seguida, a leitura da medida era feita atentamente, utilizando sempre a medida da altura de 0,5 em 0,5 cm, aproximando para o meio centímetro superior (APENDICE 22. Verificação da estatura do sujeito de pesquisa).

Os dados de peso e estatura permitiram calcular o Índice de Massa Corporal (IMC), que foi obtido dividindo-se o peso em quilogramas pelo quadrado da estatura em metros (WHO, 1998; VANNUCCHI et al., 1996) e classificados conforme descrito na TABELA 4.

Tabela 4. Classificação de peso em adultos, de acordo com o IMC, conforme classificação da OMS (WHO, 1998)

Classificação de Peso	**IMC (Kg/m²)**
Baixo peso	< 18,5
Normalidade	18,5 - 24,9
Sobrepeso	≥ 25
Pré-obeso	25,0 – 29,9
Obesidade classe I	30,0 – 34,9
Obesidade classeII	35,0 – 39,9
Obesidade classe III	≥ 40,0

IMC – Índice de Massa Corporal; OMS – Organização Mundial de Saúde
kg/m²- quilogramas por metro quadrado.

3.2.5.2. Pregas Cutâneas: Subescapular, Supra-ilíaca e Abdominal.

Na avaliação das pregas cutâneas foi utilizado um compasso Lange (Beta Technology Incorporated, EUA), com escala de 0-60 mm, pressão constante em 10 g/mm^2. O lado direito foi utilizado para todas as medidas. O procedimento para medir a espessura da prega cutânea consistiu em segurar firmemente, com o polegar e o indicador de uma das mãos, dobra de pele e gordura subcutânea na região a ser avaliada, destacando-se o tecido muscular subjacente, seguindo o contorno natural da prega cutânea de gordura. O compasso era então aplicado cerca de um centímetro abaixo do ponto tomado, entre o ápice e a base da prega cutânea. A prega cutânea era medida duas vezes, consecutivamente, e o valor da segunda medida era o registrado. A leitura do compasso foi obtida após dois segundos da aplicação, com aproximação de 0,5 mm.

Em caso de valores com discrepância maior que 1 mm, o procedimento era novamente realizado.

A obtenção da prega cutânea subescapular era realizada com o avaliado em pé, curvando o braço para trás, de modo a facilitar o processo de pinçamento. O ponto tomado para a medida desta prega localizava-se imediatamente abaixo do ângulo inferior da escápula e o compasso posicionado obliquamente ao eixo longitudinal (NHANES III, 2000; VANNUCCHI et al., 1996).

A prega cutânea supra-ilíaca (VANNUCCHI et al., 1996) foi determinada no ponto localizado cerca de 1 a 2 centímetros acima da crista ilíaca ântero-superior, na linha axial média. Esta medida foi feita horizontalmente, pinçando a pele e o tecido subcutâneo (HEYMSFIELD et al., 2003; NHANES III, 2000).

A obtenção da prega cutânea abdominal foi obtida no ponto localizado 2 centímetros à direita da cicatriz umbilical. Esta medida foi feita na direção do eixo transversal (NHANES III, 2000) (APENDICE 23. Verificação da medida de prega cutânea abdominal no sujeito de pesquisa).

3.2.5.3. Circunferência Abdominal e Circunferência de Quadril

As circunferências avaliadas foram as de abdômen e quadril, utilizando-se a fita métrica inextensível, com marcadores a cada milímetro, sendo, a medida registrada aquela aproximada para o centímetro inteiro mais próximo. O examinador posicionava-se em frente ao sujeito avaliado, que permanecia em pé, com os braços ligeiramente afastados do corpo e

com os pés unidos, conforme as normas previamente descritas (HEYMSFIELD et al., 2003; NHANES III, 2000).

A circunferência abdominal (CA) foi medida com a fita métrica posicionada no ponto médio entre a crista ilíaca e o rebordo costal inferior. O abdômen deveria estar relaxado, ao final da expiração (NHANES III, 2000) (APENDICE 24. Verificação da circunferência abdominal no sujeito de pesquisa).

A circunferência do quadril (CQ) foi definida como a maior circunferência entre a cintura e os joelhos, medida na altura dos pontos trocantéricos (direito e esquerdo) passando pela proeminência glútea.

A relação entre a circunferência do abdômen e a circunferência do quadril (RAQ) foi calculada mediante, respectivamente, o quociente destes valores.

3.2.6. Pressão Arterial Sistêmica

Ao final das avaliações antropométricas, foi medida a pressão arterial, pelo técnico de enfermagem do trabalho, presente no serviço médico, por meio da utilização de aparelho automático OMRON®-Modelo HEM 705-CP (Japão), seguindo metodologia descrita pelas IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (MION JR. et al., 2004).

O avaliado recebia a recomendação para permanecer em silêncio durante o procedimento, sendo colocado sentado, em posição confortável, com o membro superior direito apoiado em plataforma, de modo que o braço ficasse na altura do precórdio. A manga da camisa foi levantada de modo a

não causar compressão do membro superior direito. Conforme necessidade foi solicitada à retirada da camisa. O manguito do esfigmomanômetro, adequado à circunferência braquial, era posicionado e aguardava-se cinco minutos, em silêncio, até a realização da primeira medida (APÊNDICE 18). Três medições, com intervalo mínimo de um minuto entre elas foram realizadas e o resultado final expresso pela sua média aritmética.

A avaliação da pressão arterial sistêmica foi realizada em todos os sujeitos de pesquisa, semanalmente. APÊNDICE 25. (Planilha dos valores médios obtidos da avaliação de 3 medidas da pressão arterial sistólica e diastólica, referentes aos Tempo 1 ao Tempo 7, do protocolo de estudo).

3.2.7. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Referentes aos Fatores de Risco Cardiovascular, Inflamatórios e Hormonais

O perfil bioquímico dos sujeitos de pesquisa foi realizado, no inicio e no final do protocolo do estudo, ou seja, mantendo-se a consideração descrita anteriormente, sendo Tempo 1 (dia zero) e Tempo 7 (42 d) . Os funcionários foram avisados previamente, conforme já descrito, da necessidade de estarem em jejum de 12 horas, anteriormente, a coleta de sangue.

Após a chegada do funcionário ao Serviço Médico da empresa, o mesmo era questionado sobre a condição de estar em jejum. Após esta verificação, iniciava-se a coleta de sangue. Todas as amostras de sangue, de cada funcionário foram colocadas em 2 eppen-dorff (duplicata), com 5 ml em cada frasco, identificados com o nome do sujeito de pesquisa, e a data,

em etiquetas impermeáveis, próprias para congelamento dos frascos. Para melhor controle das coletas de amostra de sangue e de urina de 24 horas, uma ficha em duplicata (APÊNDICE 26. Ficha para controle e identificação das coletas de amostras de sangue referentes aos FR cardiovascular e urina de 24 h, dos sujeitos de pesquisa) foi confeccionada previamente, pela a autora, e entregue para o biomédico responsável pelas coletas. Esta ficha continha nome do sujeito de pesquisa, data da coleta e entrega do frasco de urina de 24 horas, e ramal telefônico, para localização do funcionário dentro da empresa, caso necessário. Este recurso para controle das amostras foi utilizado, tanto nas coletas realizadas no Tempo 1 (dia zero), quanto no Tempo 7 (42d).

Posteriormente, ao término da coleta e checagem da ficha controle, todo material era enviado, diretamente para o Laboratório de Análises Clínicas ITULAB (ITU-SP), devidamente acondicionados.

As amostras de sangue foram colocadas em dois eppen-dorff (duplicatas), devido à necessidade de que, outras análises bioquímicas seriam realizadas em diferentes laboratórios, sendo eles, Laboratório de Espectometria de Massa, pertencente à Divisão de Nutrologia, Departamento de Clinica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, e Laboratório Gênese Produtos e Diagnósticos Ltda., localizada na cidade de São Paulo, SP. Todo material referente à coleta de sangue e urina, tanto para o Tempo 1 (dia zero), como para o Tempo 7 (42 d), do protocolo de estudo foram armazenados no laboratório de análises clinicas ITULAB (ITU), em condições adequadas para tal, em freezer a – 80 ºC, marca INDREL®, linha Ultra Low Temp (-86 ºC), Modelo IULT 2430 D,

com capacidade para 250 litros, e temperatura regulável para -50 ºC a-86 ºC. Para todos os exames de sangue realizados, nos diferentes laboratórios citados anteriormente utilizou-se o soro.

A análise do perfil bioquímico dos sujeitos de pesquisa foi feita para avaliação de diferentes aspectos, nas quais, as metodologias foram descritas no decorrer desta secção.

A determinação de glicemia, por método enzimático, foi realizada com o aparelho HITACHI 912 ®- ROCHE (Japão) e o reativo utilizado foi Glucose GOD-PAD (Roche) (Japão). Os valores de referência utilizados foram de 70 a 99 mg/dL, (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2005).

Para determinação do colesterol total e Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-c), por método enzimático, foi realizada com o HITACHI 912 ® - ROCHE (Japão). O reativo utilizado para dosagem do colesterol total foi CHOD-PAP, ROCHE (Japão), e para HDL-colesterol foi o Bioclin K071 (Japão).

Os valores de referência utilizados para o colesterol total, em sujeitos com idade acima de 19 anos foram: menores que 200 mg/dL (faixa desejável), 200 a 239 mg/dL (faixa limítrofe), e acima de 239 mg/dL (elevado) (EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TREATMENT PANEL III, 2001). Para os valores de HDL - colesterol utilizou-se como referência: menor que 40 mg/dL (risco aumentado), maior que 40 mg/dL (desejável) e maior que 60 mg/dL (ótimo) (EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TREATMENT PANEL III, 2001).

Para a determinação dos valores de Lipoproteína de Baixa densidade (LDL) foi utilizada a Fórmula de Friedewald:

(LDL= Colesterol total – HDL- (triglicérides (TG)/5)

Para os voluntários que apresentavam valores de TG ≥ 400 mg/dL, a determinação de LDL-colesterol, por método enzimático, foi realizada com o HITACHI 912 ® - ROCHE (Japão). O reativo utilizado foi Randox - LDL Colesterol Direto CH 2656, fabricado por Randox Laboratories (Reino Unido). Os valores de referência utilizados para sujeitos acima de 19 anos foram: inferior a 100 mg/dL (ótimo), de 100 a 129 mg/dL (Sub-ótimo), de 130 a 159 mg/dL (limítrofe), de 160 a 189 mg/dL (elevado) e superior a 189 mg/dL (muito elevado) (EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TREATMENT PANEL III, 2001).

Para determinação dos triglicérides, por método enzimático, foi realizado com o HITACHI 912 ® - ROCHE (Japão). O reativo utilizado foi CHOD-PAP, ROCHE (Japão). Os valores de referência utilizados para os triglicérides, em sujeitos com idade acima de 19 anos foram: menores que 150 mg/dL (normal), 150 a 199 mg/dL (faixa limítrofe), de 200 a 499 mg/dL (elevado) e acima de 499 mg/dL (muito elevado) (EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TREATMENT PANEL III, 2001).

A determinação do ácido úrico, por método enzimático, foi realizada com o HITACHI 912 ® - ROCHE (Japão). O reativo foi o Ácido Úrico Plus (URICASE) (Japão). Os valores de referência utilizados para o gênero masculino foram de 3,4 a 7,0 mg/dL.

Para detecção de insulinemia, por quimioluminescência, utilizou-se o IMMULITE 1000 SYSTEMS® – SIEMENS MEDICAL SOLUTIONS DIAGNOSTICS (SIEMENS) (Los Angeles, EUA). O reativo empregado foi o INSULIN (EUA). Os valores de referência foram 2,5 a 28,4 microIU / mL .

O índice de HOMA baseia-se nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina basal, em jejum, com a finalidade de predizer a resistência à insulina (HOMA-IR), e a capacidade funcional das células beta pancreáticas (HOMA BETA), como percentuais de uma população de referência normal. Para obtenção dos índices do HOMA são utilizadas fórmulas (VASQUES,. 2008).

A determinação dos níveis de PCR ultra-sensível, por imunoturbidimetria, foi realizada com COBAS MIRAPLUS® - ROCHE (EUA), com 0,03 mg/l, como limite máximo de detecção, e com coeficiente de variação intra ensaio de 10%. O reativo utilizado foi TURB-PCR, fabricante ERBRAM Prods. Laboratoriais Ltda. (SÃO PAULO, BRASIL). Os valores de referência em relação a risco cardiovascular foram: maior que 3 mg/mL (risco alto), 1 a 3 mg/mL (risco médio), menor que 1 mg/mL (risco baixo).

Os valores obtidos para perfil bioquímico em relação aos indicadores referentes aos fatores de risco cardiovascular, para os sujeitos de pesquisa, no Tempo 1 (dia zero) e no Tempo 7 (42 d) podem ser observados no APÊNDICE 27 (Planilha referente ao perfil bioquímico, em relação aos FR cardiovascular, para os sujeitos de pesquisa no Tempo 1 (dia zero) e no Tempo 7 (42 d)).

As determinações de TNF-α, *8*-Iso-Prostaglandin F2α (Isoprostane sérico), adiponectina e leptina forma feitas pelo Laboratório da

empresa Gênese Produtos Diagnósticos Ltda, localizada na cidade de São Paulo (SP). O transporte das amostras de sangue, do Laboratório de Análises Clinicas de Itu para o Laboratório da empresa Gênese, foi realizado de forma, que os eppen-dorf estivessem devidamente acondicionados, em isopores com gelo seco, para que a integridade das amostras fosse mantida.

Todas as análises realizadas no Laboratório da empresa Gênese foram efetuadas em duplicatas. A metodologia compreendia kits com 96 poços para colocação de amostras, sendo que, 20 poços eram destinados para realização da curva padrão. Desta forma, a quantidade de poços disponíveis para dosagem dos indicadores de inflamação sub-clínica foi de 76 poços. Destes, 38 sujeitos de pesquisa tiveram suas amostras de sangue analisadas, sendo, uma amostra referente ao Tempo 1 (dia 0), e outra referente ao Tempo 7 (42 d), o que totalizou 76 poços. Estes 38 sujeitos foram escolhidos aleatoriamente entre os 4 grupos do protocolo de pesquisa. Sendo que, o número de voluntários provenientes de cada grupo foram 9 para o vermelho, 9 para o azul, 10 para o amarelo, 10 para o verde. Estes voluntários foram identificados numericamente, por meio de uma ficha padrão sugerida pela empresa Gênese (APÊNDICE 28. Ficha para Controle e Identificação das Amostras de Sangue Referentes aos Indicadores Inflamatórios e Hormonais).

O Fator de Necrose Tumoral (TNF-α), leptina, e adiponectina foram determinados pelo metódo enzimaimunoensaio, com utilização dos kits da LINCOPLEX-LUMINEX ®, fabricado por Millipore Corporation (EUA), com diluição das amostras, apenas para adiponectina (1:400). A determinação de 8-Iso-Prostaglandin F2α foi realizada por enzimaimunoensaio, com kit

ASSAYS DESIGNS®, Inco, EUA (APÊNDICE 29. Planilha Referente ao Perfil Bioquímico, em Relação aos Indicadores Inflamatórios e Hormonais, para os Sujeitos de Pesquisa, no Tempo 1 (dia zero) e no Tempo 7 (42 d)).

3.2.8. Coleta de Urina de 24 horas

No momento da entrega deste material, pelo voluntário no ambulatório médico da empresa, a autora e a estagiária questionavam se a coleta havia sido feita, conforme as orientações previamente realizadas. Mediante esta verificação, o frasco era entregue (já previamente identificado). Este material, assim como, ocorreu para as amostras de sangue foi levado para o Laboratório de Análises Clinicas ITULAB (Itu, SP), tanto para o Tempo 1 (dia zero), quanto para o Tempo 7 (42d), do protocolo de estudo.

Neste laboratório, estas amostras de urina de 24 horas eram homogeneizadas (manualmente), e depois, separadas em 4 pequenos recipientes plásticos descartáveis, apropriados para acondicionamento deste material. Este procedimento foi necessário, pois, uma parte da amostra seria destinada, posteriormente, para o Laboratório de Espectometria de Massa, pertencente à Divisão de Nutrologia, Departamento de Clinica Médica, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, para a análise de lignanas. Tais amostras ficaram congeladas a - 80º C, até o momento de sua análise.

Os valores referentes à coleta de urina de 24 h, para os sujeitos de pesquisa, no Tempo 1 (dia zero) e no Tempo 7 (42 d) podem ser observados no APÊNDICE 30. Planilha dos Valores Referentes à Coleta de Urina de 24

h, para os Sujeitos de Pesquisa, no Tempo 1 (dia zero) e no Tempo 7 (42 d)).

3.3. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Nutricionais: Enterolignanas Séricas e Urinárias.

A determinação da concentração de enterolignanas, enterodiol (END) e enterolactona (ENL), no soro e na urina, e nas dietas fornecidas no estudo, no arroz, e na semente de linhaça foi feita utilizando-se a Cromatografia Liquida de Alta Performance ou Alta Pressão (HPLC), para qual foi utilizado o aparelho SHIMADZU® Corporation, modelo LC 10AD (Japão). O aparelho consta de 2 bombas responsáveis pelo fluxo contínuo no sistema, e pelo gradiente entre as fases móveis (tampões): fase A e a fase B, para a eluição na coluna cromatográfica. A fase A, era composta por água super pura, e o ácido acético glacial na proporção de 99,8/0,2 (v/v), com pH ajustado para 2,50, e a fase B era acetonitrila e água, na proporção de 80:20 (v/v). Tais condições foram ajustadas, e adaptadas pelo químico do laboratório, conforme a literatura recente (AOAC, 1980; STUMP & ADLERCREUTZ, 2003). Todas as soluções de eluição foram filtradas em filtro de 0,45 µm de porosidade, em sistema de vácuo. A proporção do gradiente de eluição era formada pela CBM 10A, unidade responsável pela % entre as fases A e B, de acordo, com a programação prévia no modulo do computador (APENDICE 31. Proporção de Gradiente de Eluição).

O fluxo das fases utilizado na cromatografia foi de 0,70 mL / minuto, e o tempo total da corrida de 20 minutos, o que inclui a limpeza da coluna, após

cada análise. A coluna de eluição utilizada foi GROM-SIL 80 ODS -2 FE®, de 125 mm x 4 mm ID, com 3 µm de tamanho da partícula, adquirida da GROM ANALYTIK® (Alemanha), mantida a 34 ± 1 ºC, em um forno de aquecimento, modelo CTO-10ª (Japão).O detector utilizado foi SHIMADZU® modelo SPD-10A, UV-VIS (Japão), e a detecção foi monitorada em 283 nm. O valor de cada amostra de sangue ou urina foi de 200 µL, as quais foram incubadas com 2 mL de uma mistura enzimática, a 36,5±2 ºC por 20h. Após o período "overnight", as lignanas, da urina e do soro foram extraídas com 2 mL de éter dietílico, em agitação, no vortex, marca Phenix® (Brasil) por 2 minutos / tubo, e colocados na centrífuga, marca Juan®, modelo MR 1812 (USA), a 4500 rpm por 10 minutos, a uma temperatura de 0ºC. O extrato do sobrenadante (fase etílica) foi removido, cuidadosamente, com micro-pipeta, e colocado em outro tubo previamente marcado (AOAC, 1980; STUMP & ADLERCREUTZ, 2003). Este procedimento foi repetido, e o sobrenadante foi removido, e adicionado ao anterior.

A fase etílica foi evaporada com fluxo de nitrogênio gasoso. Sequencialmente, os tubos foram colocados na estufa, a 50±2 ºC, por 2 a 3hs, para total evaporação do éter, e em seguida re-suspenso com 200µL de uma mistura de fase A / MeOH (50:50 v/v), agitado em vortex, por 1 minuto, e filtrado em tubos-filtros de 0,22 µm, de micro-centrifuga Millipore® (USA), a 4500 rpm, por 10 minutos (MILDER et al., 2004; VASILEV, 2004).

Logo após, foram retirados 40 µL de cada amostra, para análise, sempre precedidos da análise de um padrão. O gráfico cromatográfico era impresso, e as concentrações do enterodiol e da enterolactona eram determinadas, em relação a suas áreas, e comparadas com as do padrão

analisado (APENDICE 32. Fluoxagrama de Extração do Enterodiol e Enterolactona após as Hidrólises Enzimáticas e Quimicas) e (ANEXO 3. Gráficos gerados pelo HPLC, Referentes as Curvas de Enterolactona e Enterodiol, no Soro, Urina, Arroz, e Semente de Linhaça e nas Dietas Oferecidas aos Grupos Azul e Amarelo).

Os valores detectados para as enterolignanas séricas e urinárias (100 mL e em 24 h) para os sujeitos de pesquisa no Tempo 1 (dia zero) e no Tempo 7 (42 d) podem ser observados no APÊNDICE 33. Planilha Referente ao Perfil Bioquímico, em relação as Enterolignanas Séricas e Urinárias, para os Sujeitos de Pesquisa no Tempo 1 (dia zero) e no Tempo 7 (42 d).

Os testes de níveis de detecção, de quantificação, de recuperação, bem como, a curva padrão de calibração para o soro e urina avaliados (APÊNDICE 34. Planilha com os Testes de Detecção, Quantificação, Recuperação e Curvas Padrão de Calibração para o Pool de Amostras no Soro e Urina de alguns Sujeitos de Pesquisa) foram realizados, de acordo, com metodologias internacionais de validação do método (AOAC, 1980; STUMP & ADLERCREUTZ, 2003). O nível de detecção é de 3 vezes o sinal do ruído, que foi em torno de 0,025mAbs (Aufs), o que corresponde a 2 picomoles para END e 4 picomoles para ENL. O limite de quantificação determinado no Laboratório de Espectometria de Massa (USP, Ribeirão Preto) foi de 4 picomoles para END e de 7 picomoles para ENL, conforme descrito na literatura (NURMI & ADLERCREUTZ, 1999). O teste de recuperação para o soro foi de 81,22% e 70,14 %, respectivamente, para END e para ENL. Na urina, estes valores foram de 83,33 % para END e 77,80 % para ENL, o que corrobora com poucos dados encontrados na

literatura, nos quais, os valores encontrados para teste de recuperação foram 91 % para END no soro e 84% na urina, e 68,5% para ENL no soro e 72% na urina (NURMI & ADLERCREUTZ, 1999; NURMI et al., 2003).

A utilização de um padrão interno nesta metodologia não foi realizada, devido à ausência, na literatura de estudos que tenham feito uso deste tipo de padrão, possivelmente, por não ter sido identificada uma molécula, que apresentasse comportamento físico - químico semelhante aos produtos derivados das lignanas, após a extração, e hidrólise. Hidrólises químicas e enzimáticas foram realizadas para as dietas fornecidas aos sujeitos de pesquisa, para o arroz cru, e para a linhaça (APENDICE 32). A enterolactona foi detectada apenas por hidrólise enzimática (APENDICE 32), sendo assim, outra forma de extração foi utilizada (PIRISI et al., 2000). Os valores para a enterolactona e enterodiol estão no APENDICE 35. Valores de Enterolactona e Enterodiol Encontrados na Semente de Linhaça, Arroz e Dietas Oferecidas aos Sujeitos de Pesquisa, por Hidrólise Enzimática e APENDICE 36. Valores de Enterolactona e Enterodiol Encontrados na Semente de Linhaça, Arroz e Dietas Oferecidas aos Sujeitos de Pesquisa, por Hidrólise Química.

3.4. Cálculo da Composição Nutricional das Dietas Utilizadas no Momento Basal e Durante a Intervenção Nutricional

O cálculo de composição de nutrientes, para as dietas utilizadas no momento basal (antes do inicio do protocolo) e durante a intervenção nutricional (APÊNDICE 3. Orientação Nutricional Fornecida por Grupo de

Pesquisa, Lista de Substituições e Porcionamento por Medidas Caseiras) foi realizado com a utilização do Programa Diet PRO, versão 4 , produzido pela Agromídia Empresa de Base tecnológica® (Viçosa, MG) (APÊNDICE 37. Planilha do Cálculo da Composição Nutricional de Nutrientes Consumidos pelos Grupos de Pesquisa, nos Diferentes Tempos do Protocolo de Pesquisa). Os nutrientes calculados pelo software Diet PRO, para este estudo foram calorias (Kcal), carboidratos (g), proteínas (g), lipídios (gorduras totais) (g), monoinsaturados (g), polinsaturados(g), saturados (g), ω-3 (18:3, n-3) (g), ω-6 (18:2-n-6) (g), colesterol (mg), fibras (g), umidade (g) e cinzas (g) (APÊNDICE 37).

Pelo fato, de que diferentes anamneses alimentares foram calculadas, nos diferentes grupos estudados, vários alimentos precisaram ser adicionados ao Programa Diet Pro. Desta forma, utilizamos como referência a Tabela TACO ®, versão 2 (Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA / Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 2006) para inclusão de novos itens alimentares no software utilizado, bem como, a Tabela Para Avaliação De Consumo Alimentar (PINHEIRO et al., 2001), para inserção de novas medidas, que não estivessem presentes na Tabela Taco, e no Programa Diet PRO. Este procedimento nos permitiu que a grande maioria, dos itens alimentares utilizados pelos sujeitos estudados pudessem ser compilados.

3.5. Cálculo das Dietas Utilizadas pelos Sujeitos de Pesquisa no Momento Basal (Tempo 1: dia Zero) e no Momento Final (Tempo 7: 42 d) do Estudo.

Para avaliação do consumo alimentar destes sujeitos, nos momentos citados acima, foi utilizada uma Ficha de Avaliação de Ingestão Alimentar (APÊNDICE 38), validada durante anterior estudo da autora (CASSANI et al., 2009)**.** O cálculo das dietas utlizadas por cada grupo estudado, no momento basal, foi realizado pela obtenção da média dos alimentos, utilizados no dia em que foi realizado esta anamnese alimentar (APÊNDICE 37), no local do estudo, já que não existia grande diversidade, nos gêneros alimentícios oferecidos (APÊNDICE 39. Exemplo de Cardápio de um Dia Alimentar Fornecido pela Empresa, aos Sujeitos de Pesquisa, sob Intervenção Nutricional).

No momento final do protocolo do estudo (42 d), a obtenção do cálculo da composição química das dietas foi realizada pela média dos alimentos utilizados por cada grupo, no decorrer das anamneses realizadas entre os tempos 2 até 7. A média final destes valores para cada nutriente foi colocada, com a denominação tempo 7 (anamnese final (42 d)) (APENDICE 37), por meio da utilização da Ficha de Avaliação de Ingestão Alimentar (APÊNDICE 38), já que observamos que não existiam modificações significativas, entre as ingestões alimentares, referentes ao tempo 2 até o tempo 7 do protocolo de pesquisa.

Semanalmente, era realizada no local do estudo, pela autora, a avaliação da ingestão alimentar (APENDICE 38), com entrega de

recordatório de 24 horas realizados aos finais de semana, pelo funcionário (APÊNDICE 40. Recordatório Alimentar para o Final de Semana), bem como, a avaliação da Ficha de Freqüência de Consumo de Alimentos (APÊNDICE 41), ambos validados durante estudo anteriormente realizado pela autora, na mesma empresa (CASSANI et al., 2009). Estes procedimentos eram realizados, para que a avaliação do consumo alimentar destes sujeitos pudesse ser estimada de forma fidedigna, e para que, qualquer alteração significativa no consumo alimentar pudesse ser observada no decorrer do estudo (ADOLFSSON et al., 2008; MONTEIRO; MONDINI & COSTA, 2000).

3.6. Validação das Dietas Fornecidas Durante a Intervenção Nutricional aos Sujeitos de Pesquisa

Para que pudéssemos validar as dietas oferecidas, aos nossos sujeitos de pesquisa foram realizados testes, no Laboratório de Espectometria de Massa, pertencente à Divisão de Nutrologia, Departamento de Clinica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Os procedimentos realizados são descritos a seguir:

3.6.1. Congelamento e Homogeneização das Dietas Oferecidas

No final do protocolo de pesquisa, foi realizada dentro da UAN, do local do estudo, uma simulação de um dia alimentar completo dos sujeitos de pesquisa, conforme a intervenção nutricional prescrita (APÊNDICE 3).

Foram preparadas as refeições pertinentes a cada grupo de pesquisa avaliado: café-da-manhã, colação, almoço, lanche-da-tarde, jantar e ceia, incluindo a ingestão média de água relatada pelos grupos de pesquisa, conforme observado durante as avaliações realizadas pela Ficha de Avaliação da Ingestão Alimentar (APÊNDICE 38).

Todas as refeições que compreendiam um dia alimentar de cada grupo foi colocada em liquidificador industrial basculante, com capacidade para 15 litros, modelo LQ-15, fabricante METVISA® (Brasil), e devidamente homogeneizadas (APENDICE 42, 43, 44 e 45).

Na seqüência, amostras com peso de 1 kg eram acondicionadas em potes transparentes, hermeticamente fechados, com tampas, com cores correspondentes a cada grupo de pesquisa e devidamente etiquetadas, com a identificação do grupo de pesquisa, e data do procedimento. Após a homogeneização, os potes eram acondicionados em freezer doméstico (Brastemp ®, Modelo Frost Free, 280 litros, - 35 Cº), em compartimento totalmente separado para esta finalidade, sem contato com outros alimentos ou resíduos.

3.6.2. Validação da Composição Química Nutricional das Dietas Oferecidas

Para que os percentuais de proteínas e nitrogênio, gorduras, cinzas e umidade das dietas calculadas pelo Software Diet Pro ®, versão 4, fossem validadas, os seguintes testes foram realizados em laboratório, conforme citado no inicio desta secção.

3.6.2.1. Método de Determinação do Nitrogênio Total

Para a determinação do nitrogênio total no arroz, na semente de linhaça, e nas dietas foi utilizado o método de Micro-Kjeldahl (AOAC, 1980). Cada amostra foi pesada em duplicatas, colocadas em tubos especiais para digestão, com adição de 2 gotas do catalisador , o dióxido de selênio a 5% , mais 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. As amostras foram digeridas a 250 ºC, por 5 horas, e em seguida submetidas ao processo de destilação, por arraste para liberar a amônia. Após a destilação, a fração coletada foi titulada com uma solução padronizada de H_2SO_4,, e a seguir, o cálculo do teor de nitrogênio foi realizado, utilizando a seguinte fórmula**:**

N= (volume de ácido gasto na amostra (mL) - volume de ácido gasto no branco (mL)) x fator) / Peso da amostra digerida (g)

Sendo: N = valor do nitrogênio em gramas / 100 g, e o fator utilizado na titulação foi proveniente, da razão entre a normalidade do ácido padronizado, multiplicado pelo peso molecular do nitrogênio, multiplicado por 100. O nitrogênio determinado foi multiplicado por 6,25 (fator de conversão, pois, cada 100g de proteína apresentam 16g de nitrogênio).

3.6.2.2. Método de Determinação da Gordura Total

A determinação de gordura total no arroz, na semente de linhaça, e nas dietas foi realizada pelo micro método de Soxhlet (AOAC, 1980). As amostras foram pesadas em duplicata, em papel de filtro Whatman, que foi

dobrado, e introduzido no extrator do Soxhlet. Seguidamente, foi adicionado o éter de petróleo, até que fosse feito o refluxo para o balão, e, em seguida, a operação foi repetida. Na seqüência, o conjunto foi colocado em aquecimento constante, a uma temperatura de 70ºC, para que ocorresse, continuadamente, o refluxo do éter. Conforme, ocorria o refluxo do éter para o balão, o óleo era arrastado para o mesmo. Este procedimento foi realizado durante 6 horas. Finalmente, o éter foi separado do balão, e recuperado. Logo após, o balão foi levado para uma estufa a 55ºC "overnight", para total evaporação do mesmo, até a obtenção do peso constante. O teor de óleo foi calculado pela diferença de peso entre o balão no início, e ao final do procedimento, e seguidamente, foi realizado o cálculo para 100g de amostra.

3.6.2.3. Método de Determinação da Umidade e Cinzas

A determinação da umidade (teor de água), no arroz, na semente de linhaça, e nas dietas foi realizada pelo método descrito pelo AOAC, 1980. As amostras foram pesadas em duplicatas, colocadas em cadinhos de porcelana, previamente numerados. Na seqüência, foram colocados em uma mufla, à temperatura de 105ºC, no qual permaneceram por 12 horas. Finalizado este período, a mufla foi desligada, e esfriada normalmente. Os cadinhos foram retirados, e colocados em um dessecador, no qual foi realizado vácuo previamente, para que se evitasse absorção de vapor de água. Em seguida, foram pesados, e pela diferença de peso, o teor de água foi determinado. Seguidamente, os cadinhos foram recolocados na mufla,

para determinar as cinzas. A temperatura foi elevada, gradativamente, até 550ºC, permanecendo desta forma, por 12 horas para total queima. Ao final, a mufla foi desligada, esfriada normalmente. Os cadinhos foram retirados, e colocados no dessecador, com o vácuo realizado previamente. Finalmente, os cadinhos foram pesados, sendo que, pela diferença de peso foi determinado o teor de cinzas.

3.7. Validação da Composição Química Nutricional das Dietas Oferecidas pelos Testes Laboratoriais

Após a realização dos procedimentos descritos acima foi realizada a comparação entre o cálculo realizado pelo software Diet Pro ®, versão 4 e pelos resultados obtidos no Laboratório de Espectometria de Massa. Os valores encontrados pelos testes realizados no laboratório, não apresentaram diferenças significativas dos valores obtidos, pelo cálculo realizado por meio do software utilizado. Para umidade foram encontradas diferenças não relevantes entre os resultados, devido à adição de água, referente à ingestão média de cada grupo de pesquisa realizada no momento da homogeinização e congelamento das dietas (APÊNDICE 46. Tabela Comparativa entre os Resultados Obtidos pelas Análises da Composição Nutricional Realizadas pelo Software Diet Pro 4 e pelos Testes Realizados no Laboratório de Espectometria de Massa).

Apresentamos como limitação neste aspecto, o fato de não termos realizado a detecção laboratorial de carboidratos nas amostras, devido à complexidade exigida pelo método (DUBOIS et al., 1956).

3.8. Análise Estatística

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas, esta análise foi feita através do cálculo de médias e desvios-padrão. Para as variáveis qualitativas calcularam-se freqüências absolutas e relativas.

Para a comparação de médias dos grupos no momento basal foi utilizada a ANOVA a um fator (Análise de Variância a um fator) (ROSNER, 1986), quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada a variável foi transformada através da função logarítmica. Quando mesmo assim a normalidade dos dados não foi observada utilizou-se do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (ROSNER, 1986).

Para a comparação dos momentos basal e 42 dias, em cada grupo, foi utilizado o teste t pareado (ROSNER, 1986). Entretanto, quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada (após a transformação da variável) foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon (ROSNER, 1986).

Para se testar a homogeneidade entre as proporções foi realizado o teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher (quando ocorreram freqüências esperadas menores de 5) (ROSNER, 1986).

Para avaliarmos as correlações existentes entre as diferenças entre o momento basal e 42 dias, nas variáveis analisadas, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman (ROSNER, 1986).

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

4-RESULTADOS

4.1. Indicadores Demográficos da População

Um total de 52 funcionários do sexo masculino participou do estudo, correspondendo a 44% (118) dos sujeitos que pertencia a listagem para participação do estudo de forma voluntária. A idade média da população foi de 37±9 anos.

Na tabela 5 estão apresentados os valores descritivos das variáveis de caracterização da amostra por grupo de estudo. Os grupos de estudo não apresentam diferença significativa em relação à idade, escolaridade, ocupação e renda.

Tabela 5 - Caracterização da amostra, segundo o grupo de estudo

		Grupo				
Variável	**Categoria**	**I (n=11)**	**II (n=14)**	**III (n=13)**	**IV (n=14)**	**p**
Idade (anos)		39,5±6,3	37,0±8,1	33,4±10,1	39,8±9,4	0,229(1)
	1º Incompleto	1 (9%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7%)	
	1º Completo	1 (9%)	1 (7%)	0 (0%)	0 (0%)	
Escolaridade	2º Incompleto	1 (9%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7%)	0,096(2)
	2º Completo	7 (64%)	6 (43%)	4 (31%)	2 (14%)	
	3º Incompleto	0 (0%)	1 (7%)	2 (15%)	3 (21%)	
	3º Completo	1 (9%)	6 (43%)	7 (54%)	7 (50%)	
Ocupação	Operacional	9 (82%)	6 (43%)	4 (31%)	5 (36%)	0,056(3)
	Administrativo	2 (18%)	8 (57%)	9 (69%)	9 (64%)	
Renda (R$)		2200±965	4301±3016	3654±2186	4771±2952	0,077(1)

(1) nível descritivo de probabilidade da Analise de Variância a um fator
(2) nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher
(3) nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado
n: numero de voluntários; p: nível significância.

Em relação ao uso de medicações, pudemos verificar por meio da frequência absoluta e relativa dos casos avaliados, segundo o grupo de pesquisa, que não houve diferença significativa entre os grupos estudados (Tabela 6). As medicações mais referidas foram Higroton® (12,5 mg ao dia), Artenopril® (200 mg ao dia), AAS® infantil (100 mg ao dia), Angiopress® e Tenoretic® (50 mg ao dia), respectivamente, para os grupos II, III e IV.

No que se refere à presença de fatores de risco, por meio da observação das frequências absolutas e relativas dos casos avaliados, segundo o grupo de estudo (Tabela 6), pudemos verificar que não ocorreu diferença significativa entre os grupos. Os fatores de risco que apareceram com maior freqüência, nos diferentes grupos de estudo foram sedentarismo (82%), diabetes na família (60%), história familiar para DCV (60%) e dislipidemia (29 %).

As características demográficas avaliadas mostraram que os grupos de estudo apresentavam-se com homogeneidade, o que possibilitou que o estudo se iniciasse de forma aleatória.

Tabela 6 - Frequências absolutas (%) do uso de medicação e fatores de risco, segundo o grupo de estudo

Variável	Grupo				p
	(n=11)	II (n=14)	III (n=13)	IV (n=14)	
Uso de Medicação	0 (0%)	1 (7%)	3 (23%)	2 (14%)	0,407(2)
História familiar DCV	7 (64%)	8 (57%)	5 (39%)	7 (50%)	0,632(3)
Tabagismo	1 (9%)	2 (14%)	1 (8%)	0 (0%)	0,614(2)
Hipertensão	1 (9%)	3 (21%)	3 (23%)	4 (29%)	0,704(2)
Sedentarismo	10 (91%)	11 (79%)	8 (62%)	13 (93%)	0,209(2)
Diabetes	0 (0%)	1 (7%)	2 (15%)	0 (0%)	0,384(2)
Diabetes na família	7 (64%)	10 (71%)	7 (54%)	7 (50%)	0,659(3)
Dislipidemia	1 (9%)	3 (21%)	5 (39%)	6 (43%)	0,238(2)

(1) nível descritivo de probabilidade da Analise de Variância a um fator
(2) nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher
(3) nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado
DCV: Doença cardiovascular; n: número de voluntários; p: nível significância.

4.2. Comparação dos Grupos no Momento Basal e entre os Momentos Basal (Tempo 1) e 42 dias (Tempo 7)

4.2.1. Indicadores Antropométricos

Em relação aos indicadores antropométricos estudados pode-se observar que para todos os grupos de pesquisa havia diferenças significativas em relação ao momento basal. O grupo I, como grupo controle, mostrou-se diferente dos demais grupos, para todos os indicadores antropométricos estudados, conforme pode ser verificado na Tabela 7.

Nos que se refere ao Tempo 1 e Tempo 7, para os indicadores antropométricos pode-se observar que todas as variáveis avaliadas apresentaram decréscimo significativo nos grupos de pesquisa II, III e IV.

O grupo I mostrou alteração significativa, entre o momento basal e final, apenas para a variável prega cutânea subescapular (p=0, 019), sendo que, se observou um acréscimo significativo nesta variável no final dos 42 dias de estudo (Tabela 7).

Tabela 7 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores antropométricos, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças

		Grupo			
Variável	**Tempo**	**I (n=11)**	**II (n=14)**	**III (n=13)**	**IV (n=14)**
Peso (Kg)	**1**	78±12	98,0 ± 19,9 *#	94,9 ± 11,2*	96 ±14*#
	7	79±12	92,4 ± 20,1	88,1 ± 10,2	90±14
Diferença		*0,6*	*-5,6*	*-6,8*	*-5,8*
IMC (kg/m^2)	**1**	27±4	33,5 ± 6,4*	32,1 ± 2,8 *#	32±3 *#
	7	28±4	31,6 ± 6,5	29,8 ± 2,5	30±4
Diferença		*0,5*	*-1,9*	*-2,3*	*-1,9*
CA (cm)	**1**	96±10	113±17*#	107±8*	108±8*
	7	96±11	98±14	93±6	95±8
Diferença		*0,1*	*-15,5*	*-13,7*	*-12,8*
CQ (cm)	**1**	99±7	109±11*#	108±7*	106±8*
	7	100±6	105±10	104±6	103±7
Diferença		*0,7*	*-3,8*	*-4,1*	*-2,2*
RQA	**1**	0,97±0,06	1,03±0,06*#	0,99±0,05*	1,02±0,03*
	7	0,96±0,07	0,92±0,05	0,90±0,04	0,92±0,04
Diferença		*-0,01*	*-0,11*	*-0,10*	*-2,28*
Prega	**1**	20±7*	40±14 *#	41±13*#	38±11*#
Subescapular (mm)	**7**	24±9,0	19±5	18±3	20±5
Diferença		*3,7*	*-20,6*	*-23,3*	*-17,9*
Prega	**1**	20±11	38±11*#	33±12*	37±9*#
Supra ilíaca (mm)	**7**	22±15	18±6	15,2±4	16±4
Diferença		*1,3*	*-19,5*	*-17,3*	*-21,3*
Prega	**1**	58±14	67±3*#	65±5*	66±3*
Abdominal (mm)	**7**	56±16	26±5	23±4	25±5
Diferença		*-1,3*	*-40,7*	*-42,0*	*-40,4*

Tempo1: dia zero do estudo (momento basal); Tempo7: 42 dias de estudo (momento final).
(*) diferença significativa entre os tempos 1 e 7 ($p < 0,05$).
(#) diferença significativa em relação ao grupo I ($p < 0,05$), no tempo 1.
n:número de voluntários; kg: quilograma; IMC: índice de massa corporal; kg/m^2 : quilograma por metro ao quadrado; CA: circunferência abdominal; CQ: circunferência de quadril; RQA: relação entre a circunferência do abdômen e a circunferência do quadril; cm: centímetros; mm: milímetros.

4.2.2. Indicadores Relacionados à Ingestão de Nutrientes nos Tempos 1 e 7

Para estes indicadores foram observadas diferentes respostas, conforme a avaliação da ingestão alimentar basal, e no decorrer da intervenção nutricional, o que pode ser verificado na Tabela 8.

No que se referem à ingestão de energia diária ($p=0,143$), de proteínas ($p=0,259$), de gorduras totais ($p=0,385$), de ácidos graxos monoinsaturados ($p=0,659$), ω-6 ($p=0,848$) e de ácidos graxos saturados ($p=0,309$) observou-se que não ocorreu diferença significativa no período inicial do estudo, e após a intervenção nutricional, o grupo I não apresentou alteração significativa da ingestão diária destes nutrientes ($p>0,05$), enquanto que, os demais grupos mostraram decréscimo significativo em sua ingestão diária ($p<0,05$) (Tabela 8).

Em relação a carboidratos verificou-se que havia diferença significativa no momento basal, entre os grupos estudados ($p=0,018$). Após os 42 dias de estudo intervencional, o grupo I apresentou um acréscimo significativo ($p=0,013$), enquanto que, os demais grupos diminuíram significativamente sua ingestão de carboidratos ($p<0,001$) (Tabela 8).

Para ω-3 pode-se observar que não havia diferença significativa no momento inicial do estudo entre os grupos ($p=0,444$), entretanto, após a intervenção dietética, apenas os grupos II e IV apresentaram incremento significante ($p<0,001$) (Tabela 8).

A ingestão diária de ácidos graxos poliinsaturados e fibras não apresentaram diferença estatística no momento basal ($p=0,880$), enquanto

que, após a realização do estudo, somente o grupo III mostrou decréscimo significativo, sendo, $p=0,009$ e $p= 0,003$, respectivamente, para gorduras poliinsaturadas e fibras. Os demais grupos mantiveram-se inalterados ($p>0,05$) (Tabela 8).

Em relação ao colesterol não se observou diferença estatística no momento basal, enquanto que, após a realização do estudo, os grupos II, III e IV mostraram decréscimo significativo ($p< 0,05$). O grupo I manteve-se inalterado (Tabela 8).

Tabela 8- Valores de média e desvio-padrão da composição nutricional, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças

		Grupo			
Variável	**Tempo**	**I (n=11)**	**II (n=14)**	**III (n=13)**	**IV (n=14)**
Kilocalorias	**1**	3454±367	4188±931*	3869±1012*	3665±713*
Kcal/d	**7**	3722±497	1830±400	1765±193	1578±213
Diferença		*268*	*-2358*	*-2104*	*-2087*
Carboidratos	**1**	417±105*	550±121*#	451±118*	478±73*
(g/d)	**7**	476±95	233±52	201±32	159±28
Diferença		*59*	*-317*	*-251*	*-319*
Proteínas	**1**	183±49	183±48*	187±53*	152±55*
(g/d)	**7**	194±41	94±22	122±22	118±23
Diferença		*11*	*-89*	*-65*	*-34*
Gorduras	**1**	118±31	150±52*	135±62*	127±37 *
Totais (g/d)	**7**	117±22	50±12	54±15	55±11
Diferença		*-0,9*	*-92*	*-81*	*-72*
Ácidos Graxos	**1**	39±12	47±18*	43±20*	42±12*
Monoinsaturados (g/d)	**7**	39±9	26±7	26±9	19±6
Diferença		*-0,4*	*-21*	*-17*	*-23*
Ácidos Graxos	**1**	27±7	27±12	25±13*	24±9
Polinsaturados (g/d)	**7**	28±6	24±4	12±6	24±5
Diferença		*1*	*-3*	*-12*	*-0,8*
ω-3 (g/d)	**1**	4±3	3±2*	3±2	4±3*
	7	4±3	10±1	3±2	14±2
Diferença		*0,3*	*7*	*-0,4*	*10*
ω-6 (g/d)	**1**	24±7	24±11*	22±11*	22±8*
	7	25±5	11±3	9±5	10±4
Diferença		*1*	*-14*	*-13*	*-12*
Acidos Graxos	**1**	41±14	58±26*	51±27*	51±16*
Saturados (g/d)	**7**	41±9	15±4	13±3	12±3
Diferença		*-1*	*-44*	*-39*	*-39*
Colesterol (mg/d)	**1**	620±249	607±203*	569±220*	583±313*
	7	597±177	277±69	267±67	248±59
Diferença		*-23*	*-331*	*-302*	*-335*
Fibras (g/d)	**1**	45±13	41±16	41±15*	42±14
	7	46±10	44±5	26±6	41±5
Diferença		*1*	*3*	*-15*	*-1*

Tempo1: dia zero do estudo (momento basal); Tempo7: 42 dias de estudo (momento final);
(*) diferença significativa entre os tempos 1 e 7 ($p < 0,05$);
(#) diferença significativa em relação ao grupo I ($p < 0,05$), no tempo 1;
n:número de voluntários; Kcal/d: Kilocaloria por dia; g/d: gramas por dia; ω-3: ácidos graxos ômega 3; ω-6: ácidos graxos ômega 6; mg/d: miligramas por dia.

4.2.3. Indicadores Bioquímicos

Em relação aos indicadores bioquímicos diferentes resultados foram obtidos, e serão descritos a seguir.

4.2.3.1. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Nutricionais: Enterolignanas Séricas e Urinárias

Tabela 9 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores nutricionais, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças

		Grupo			
Variável	**Tempo**	**I (n=9)**	**II (n=9)**	**III (n=9)**	**IV (n=11)**
END Sérico (ng/100mL)	**1**	118±83	69±41#*	202±132*	87±61#*
	7	149±79	140±76	103±77	215±122
Diferença		*31,5*	*72*	*-100*	*128*
ENL Sérica (ng/100mL)	**1**	69±64	45,4 ± 57,8*	88±74	43±17*
	7	56±40	104±107	58±35	89±50
Diferença		*-13*	*59*	*-30*	*47*
END Urinário (ng/diurese/24h)	**1**	9188±11717	8917±14115	4789±4734	10051±11112
	7	8724±19288	9101±7817	4628±4455	14572±26772
Diferença		*-465*	*184*	*-162*	*4521*
ENL Urinária (ng/diurese/24h)	**1**	6770±4583	6927±9161	6059±4797*	4406±3726*
	7	4891±10137	3824±3143	2351±3289	12990±16916
Diferença		*-1879*	*-3103*	*-3707*	*8584*

Tempo1: dia zero do estudo (momento basal); Tempo7: 42 dias de estudo (momento final);
(*) diferença significativa entre os tempos 1 e 7 ($p < 0,05$).
(#) diferença significativa em relação ao grupo III ($p < 0,05$), no tempo 1.
n:número de voluntários; END: Enterodiol; ENL: Enterolactona; ng/100mL: nanograma por 100 mililitro; ng/diurese/24 h: nanograma por diurese de 24 horas.

4.2.3.1.1. Enterolignanas Séricas e Urinárias

Em relação ao *enterodiol sérico* os grupos apresentaram diferença significativa no momento basal (p=0,001). Verificou-se que o grupo III apresentou diferença significativa em relação ao grupo II (p<0,05) e IV(p<0,05). Após a intervenção nutricional observaram-se diferentes respostas entre os grupos (Gráfico 1). O grupo II e IV apresentou acréscimo significativo de enterodiol em seus níveis séricos, sendo, p< 0, 001 para ambos os grupos. O grupo III mostrou decréscimo significativo (p= 0, 011), como pode ser verificado na Tabela 9 e Gráfico 1.

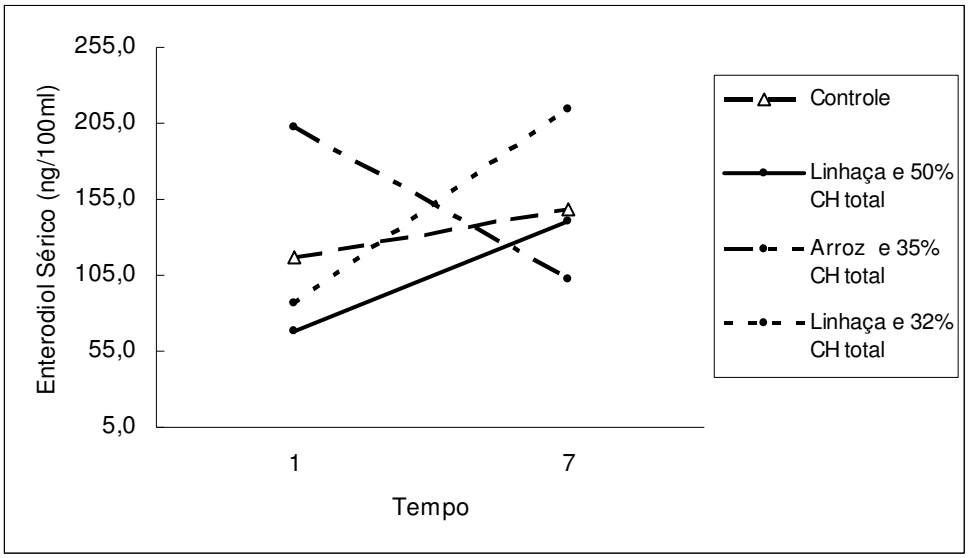


Gráfico 1. Níveis de Enterodiol Sérico (ng/100mL), segundo o grupo e o momento de avaliação

No que se refere aos níveis de *enterolactona sérica* não foram observadas alterações significativas no momento basal, entre os grupos de

pesquisa (p=0, 110). Após a intervenção nutricional verificou-se alteração significativa, apenas para os grupos II e IV, nos quais ocorreu incremento significativo, nos níveis de enterolactona sérica (p< 0, 001) (Tabela 9 e Gráfico 2).

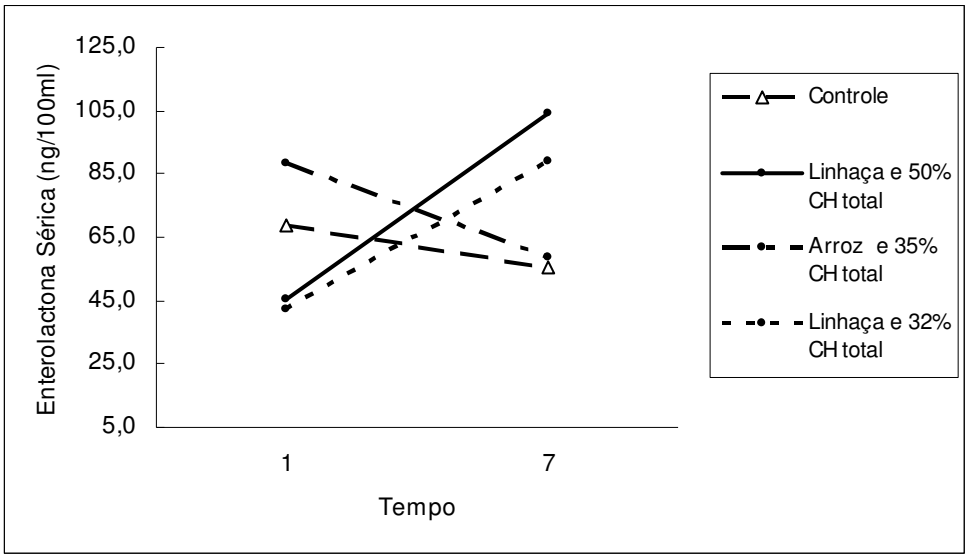


Gráfico 2. Níveis de Enterolactona Sérica (ng/100mL), segundo o grupo e o momento de avaliação

Para os níveis de *enterodiol urinário* não se observou diferença significativa no momento basal (p=0, 711), entre os grupos; e este mesmo comportamento foi mantido após a intervenção dietética (Tabela 9 e Gráfico 3).

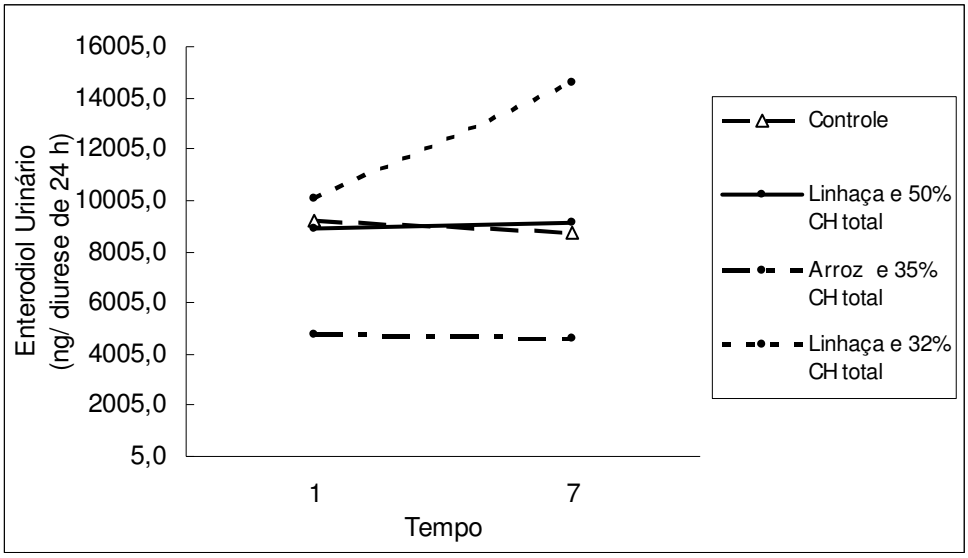


Gráfico 3. Níveis de Enterodiol Urinário (ng/diurese de 24h), segundo o grupo e o momento de avaliação

Não foi verificada diferença significativa entre os grupos em relação à *enterolactona urinária,* no momento inicial do estudo (p=0,543). Após a intervenção nutricional observou-se que apenas os grupos III e IV apresentaram alterações significativas, sendo respectivamente, decréscimo (p=0,019) e acréscimo (p=0,030) dos níveis de enterolactona urinária (Tabela 9 e Gráfico 4).

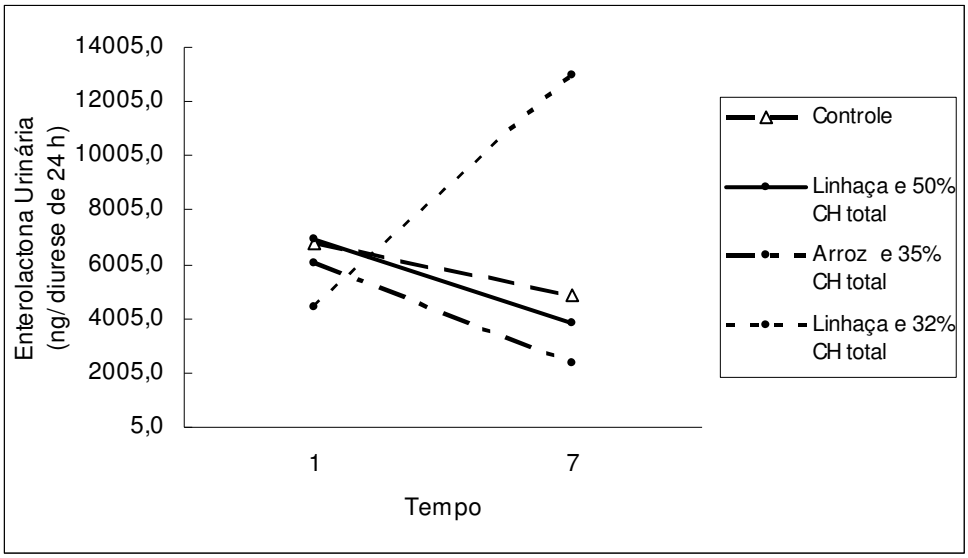


Gráfico 4. Níveis de Enterolactona Urinária (ng/diurese de 24h), segundo o grupo e o momento de avaliação

O volume de diurese de 24 horas foi verificado para que as dosagens de enterolignanas urinárias pudessem ser avaliadas. Com relação ao volume de diurese de 24 horas observou-se que não houve alterações significativas, entre os grupos, no momento basal, assim como, no momento final. O volume médio de diurese de 24 h, no momento basal (Tempo 1), entre os grupos foi de 1760 ml. Para o tempo 7 este volume médio foi de 1560 ml.

4.2.3.2. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Referentes aos Fatores de Risco Cardiovascular

Em relação a este perfil bioquímico observamos que para a maioria das variáveis, os grupos não apresentaram diferença significativa no momento basal (Tabela 10).

Tabela 10 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores bioquímicos, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças

		Grupo			
Variável	**Tempo**	**I (n=11)**	**II (n=14)**	**III (n=13)**	**IV (n=14)**
Glicemia (mg/dL)	1	92±12	93±11	98±16	90±15
	7	88±13	92±9	91±12	88±10
Diferença		-4	-13	-7	-1
Colesterol Total (mg/dL)	1	225±41	191±34	205±36*	223±50*
	7	219±47	180±39	180±31	186±41
Diferença		-6	-10	-25	-37
LDL-c (mg/dL)	1	163±53	120±29	135±50*	151±59*
	7	155±60	107±35	110±26	116±37
Diferença		-9	-13	-25	-34
HDL-c (mg/dL)	1	44±10*	41±6	44±9	42±5*
	7	39±8	40±4	42±7	38±4
Diferença		-4	-1	-2	-5
Triglicérides(&) (mg/dL)	1	276±334	146±67	241±264	215±110*
	7	264±178	146±52	144±56	153±83
Diferença		-12	0	-97	-62
Ácido Úrico (mg/dL)	1	6±1	6±1	7±1*	7±2*
	7	6±2	6±2	6±1	6±3
Diferença		-0,1	-0,4	-0,6	-0,8
Insulina(&) (micro IU/mL)	1	8±8	13±8	18±14#*	12±8
	7	13±21	11±7	7±5	9±5
Diferença		5	-2	-11	-3
HOMA beta(&)	1	27±25	47±35	60±40#*	49±55
	7	43±63	39±27	25±16	31±18
Diferença		16	-8	-35	-19
HOMA IR (&)	1	2±2	3±2	5±5#*	3±1
	7	3±6	3±2	2±1	2±1
Diferença		1,2	-0,2	-3,0	-0,6

Tempo1: dia zero do estudo (momento basal); Tempo7: 42 dias de estudo (momento final);
(*) diferença significativa entre os tempos 1 e 7 ($p < 0,05$),
(#) diferença significativa em relação ao grupo I ($p < 0,05$), no tempo 1.
(&) variável analisada com transformação log.
n: número de voluntários; LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: Lipoproteína de alta densidade; mg/dL: miligramas por decilitro; microIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro; HOMA: Modelo homeostático da avaliação de resistência à insulina.

4.2.3.2.1. Glicemia, Ácido úrico, Insulina, Homa Beta e Homa IR

Com relação à glicemia, não houve diferença significativa após a intervenção nutricional, em nenhum dos grupos avaliados (Tabela 10).

No que se refere aos níveis de ácido úrico, apenas os grupos III e IV apresentaram decréscimo significativo, após a intervenção nutricional (Tabela 10).

Para a análise de insulina, Homa beta e Homa IR foram necessárias a transformação de log. Apenas para estes indicadores relacionados a fator de risco cardiovascular foi observada diferença significativa, no momento basal ($p< 0,05$) (Tabela 10). A utilização do teste de Bonferroni mostrou que o grupo III apresentou valor significativamente maior que o grupo I tanto para insulina, quanto para Homa beta e Homa IR ($p<0,05$). Após a intervenção nutricional, apenas o grupo III apresentou decréscimo significativo do Tempo 1 para o Tempo 42 dias, no que se refere a estes indicadores (Tabela 10).

Pelo fato de que, a insulina, e consequentemente, Homa beta e Homa IR terem sido as únicas variáveis relacionadas a fator de risco cardiovascular que apresentaram diferença significativa no momento basal (Tabela 10) optou-se pela realização de uma análise com exclusão dos outliers para estas variáveis, em relação ao grupo III.

Esta análise possibilitou observar se a diferença significativa ocorrida no momento basal entre os níveis de insulina, Homa beta e Homa IR, no grupo III poderia ser atenuada em relação aos outros grupos, com a retirada dos outliers observados no grupo III. Pode-se verificar que os grupos não diferiram no momento basal ($p >0,05$), e que o grupo III manteve o

decréscimo significativo destas variáveis observadas na Tabela 10, enquanto, que os demais grupos não apresentaram alteração significativa, independentemente, da retirada dos outliers do grupo III (Tabela 11).

Tabela 11 - Valores de média e desvio-padrão de insulina, Homa beta e Homa IR, após a retirada dos outliers do grupo III, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças

		Grupo			
Variável	**Tempo**	**I (n=11)**	**II (n=14)**	**III (n=13)**	**IV (n=14)**
Insulina(&) (micro IU/mL)	**1**	8±8	13±8	15±10*	12±8
	7	13±1	11±7	8±5	9±5
Diferença		*5,3*	*-1,7*	-7,6	*-3,2*
HOMA beta(&)	**1**	27±25	47±35	54±34*	49±55
	7	43±63	37±27	26±17	31±18
Diferença		*16,4*	*-8,1*	-27,7	*-18,5*
HOMA IR (&)	**1**	2±2	3±2	4±3*	3±1
	7	3±6	3±2	2±1	2±1
Diferença		*1,2*	*-0,2*	-1,9	*-0,6*

Tempo1: dia zero do estudo (momento basal); Tempo7: 42 dias de estudo (momento final);
(*) diferença significativa entre os tempos 1 e 7 ($p < 0,05$),
(&) variável analisada com transformação log.
n:número de voluntários; microIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro; HOMA: Modelo homeostático da avaliação de resistência à insulina

4.2.3.2.2. Colesterol Total, LDL- c, HDL- c e Triglicérides

Para estes indicadores observou-se que houve redução significativa para os níveis de colesterol sérico e LDL-c nos grupos III e IV, após a intervenção dietética (Tabela 10). Em relação ao HDL-c, apenas os grupos I e IV apresentaram um decréscimo significativo (Tabela 10). Somente, o

grupo IV mostrou redução significativa em relação aos níveis de triglicérides, após o período de intervenção nutricional (Tabela 10).

4.2.3.3. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Inflamatórios

4.2.3.3.1. Proteína C- Reativa, Fator de Necrose Tumoral - α e *8*. Iso - Prostaglandin F2α (Isoprostane Sérico)

Para a análise dos níveis de *PCR ultra-sensível* foi realizada a transformação de log. Não foi observada diferença significativa no momento basal entre os grupos.

Foram verificados decréscimos significativos apenas nos grupos II e IV (Tabela 12 e Gráfico 5), durante o período de intervenção nutricional.

No que se refere aos níveis de *TNF-α* foi observado diferença significativa entre os grupos no momento basal ($p<0,001$), sendo que o grupo I diferia significativamente dos grupos II ($p<0,05$) e IV ($p< 0,05$). Somente os grupos II e IV mostraram decréscimo significativo, entre os Tempos 1 e 7, conforme pode ser observado na Tabela 12 e Gráfico 6, sendo, $p= 0,008$ e $p=0,003$, respectivamente, para os grupos II e IV.

Em relação às concentrações de *8*. Iso - Prostaglandin F2α (Isoprostane Sérico) foi verificado que os grupos apresentaram diferença significativa no momento basal ($p<0, 001$). Observou-se que o grupo II apresentava diferença significativa em relação aos demais grupos ($p< 0,05$) (Tabela 12). Apenas o grupo I não apresentou alteração significativa entre o momento basal e 42 dias, diferentemente, do que ocorreu para os grupos II,

III e IV, respectivamente, p=0,028, p=0,021 e p=0,003 (Tabela 12 e Gráfico 7).

Tabela 12 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores inflamatórios, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças

		Grupo			
Variável	**Tempo**	**I (n=9)**	**II (n=9)**	**III (n=9)**	**IV (n=11)**
PCR (&) (mg/dL)	1	2,6±2,4	3,4±3,1*	2,8±2,5	2,0±1,5*
	7	2,3±2,4	2,1±1,7	2,0±2,1	1,5±0,9
Diferença		-0,3	-1,3	-0,8	-0,5
TNF-α (pg/mL)	1	4±2*	31±18#*	26±16	13±15#*
	7	12±9	15±10	22±17	7±10
Diferença		*7,7*	*-15,9*	*-3,5*	*-5,0*
Isoprostane sérico (pg/mL)	1	102930±75080	155736±1120*#	152474±1715*	152059±2015*
	7	99134±71222	143097±33113	151438±1829	135596±36456
Diferença		-3796	-12639	-1036	-16463

Tempo1: dia zero do estudo (momento basal); Tempo7: 42 dias de estudo (momento final);
(&) variável analisada com transformação log.
(*) diferença significativa entre os tempos 1 e 7 (p< 0,05).
(#) diferença significativa em relação aos demais grupos (p< 0,05), no tempo 1.
n: número de voluntários; PCR: proteína C-reativa ultra-sensivel; mg/dL; TNF-α: fator de necrose tumoral; pg/mL: picograma por mililitro

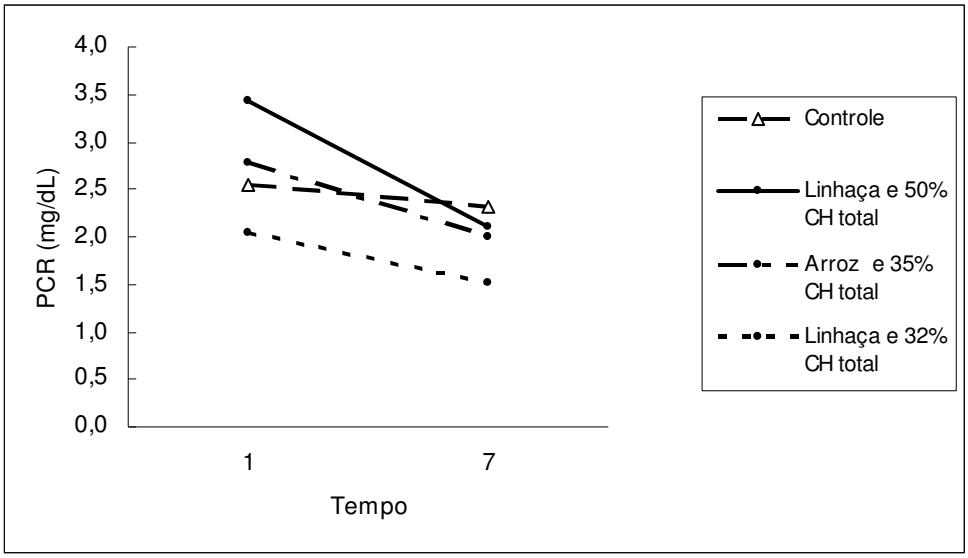


Gráfico 5. Níveis de PCR (mg/dL), segundo o grupo e o momento de avaliação

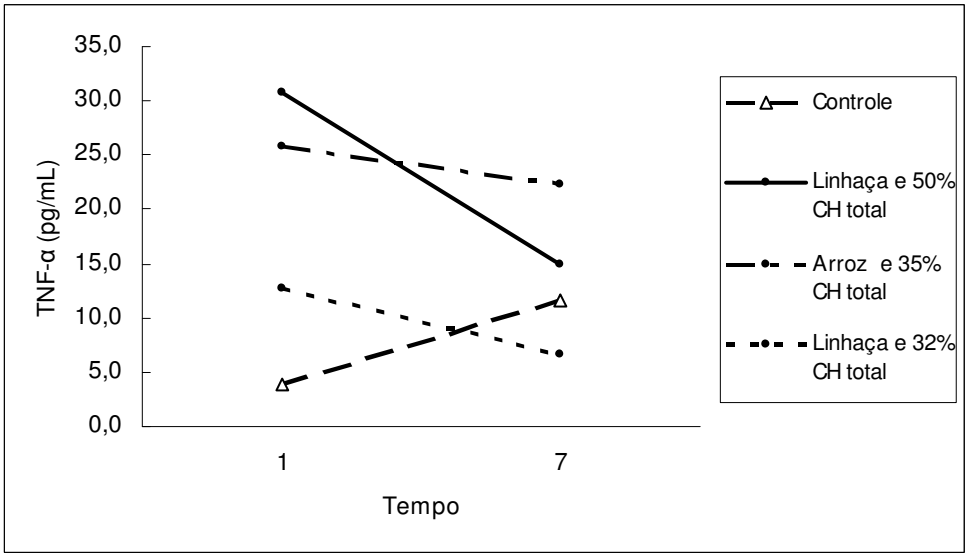


Gráfico 6. Níveis de TNF- α (pg/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação

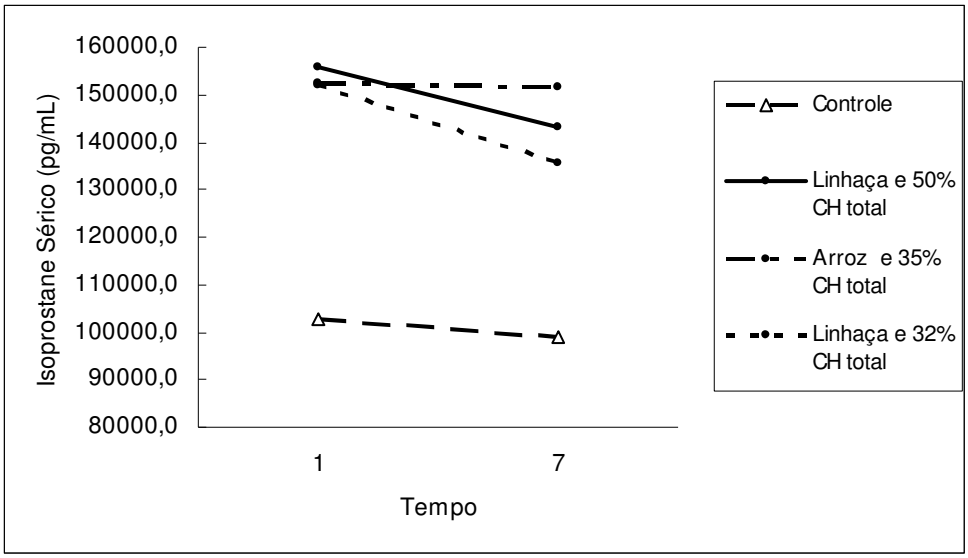


Gráfico 7. Níveis de Isoprostane Sérico (pg/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação

4.2.3.4. Perfil Bioquímico em Relação aos Indicadores Hormonais

4.2.3.4.1. Leptina e Adiponectina

Em relação aos níveis de leptina verificou-se que os grupos não apresentaram diferença significativa no momento basal do estudo (p=0, 111). Após a intervenção nutricional observou-se que nenhum dos grupos apresentou alteração significativa para este indicador (Tabela 13 e Gráfico 8).

Para as concentrações de adiponectina não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, no momento inicial do estudo (p=0,308). Verificaram-se acréscimo significativo nos grupos III e IV,

respectivamente, p=0, 047 e p<0, 001, após a intervenção nutricional (Tabela 13 e Gráfico 9).

Tabela 13 - Valores de média e desvio-padrão dos indicadores hormonais, segundo o grupo de estudo e o momento de avaliação (Tempos 1 e 7), e suas respectivas diferenças

		Grupo			
Variável	**Tempo**	**I (n=9)**	**II (n=9)**	**III (n=9)**	**IV (n=11)**
Leptina(&)(ng/mL)	**1**	6,6±5,7	11,5±8,1	12,8±7,3	11,6±6,8
	7	5,1±4,0	9,8±5,1	14,8±10,2	9,4±7,1
Diferença		*-1,5*	*-1,7*	*2,0*	*-2,2*
Adiponectina (µg/mL)(&)	**1**	23,7±9,0	16,1±5,4	21,2±9,5*	19,4±7,3*
	7	20,7±11,3	19,6±7,8	23,1±10,1	23,1±8,1
Diferença		*-3,0*	*3,5*	*1,9*	*3,7*

Tempo1: dia zero do estudo (momento basal); Tempo7: 42 dias de estudo (momento final);
(*) diferença significativa entre os tempos 1 e 7 (p< 0,05).
(#) diferença significativa em relação aos demais grupos (p< 0,05), no tempo 1
(&) variável analisada com transformação log.
n: numero de voluntários; ng/mL: nanograma por mililitro; µg/mL: micrograma por mililitro.

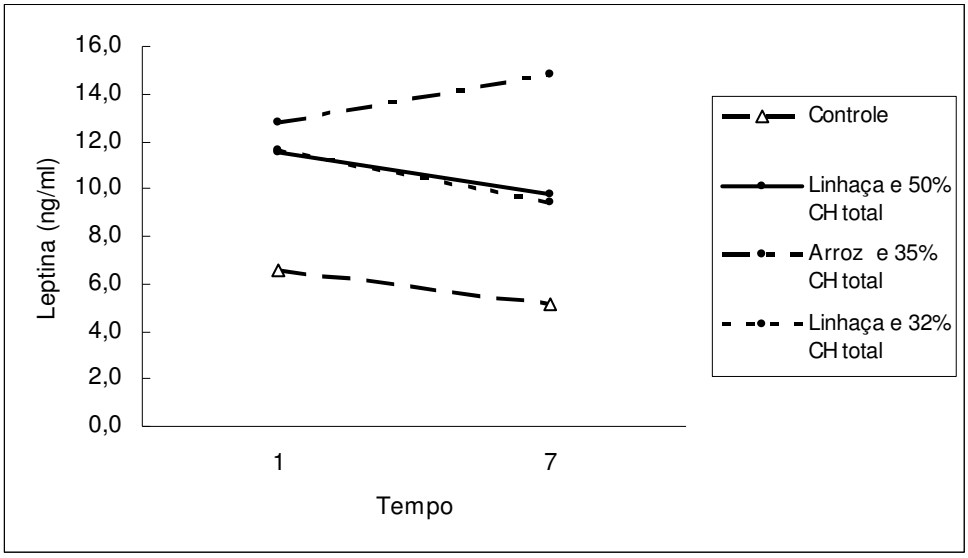


Gráfico 8. Níveis de Leptina (ng/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação

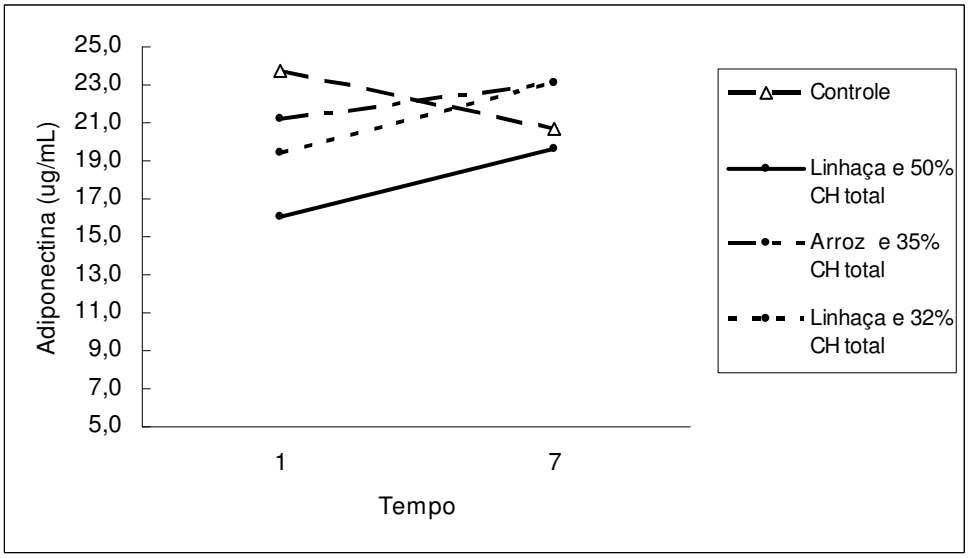


Gráfico 9. Níveis de Adiponectina (ug/mL), segundo o grupo e o momento de avaliação

4.3. Indicadores Clínicos: Pressão Arterial Sistêmica (PAS e PAD)

Com relação à PAS, no momento pré observamos que os grupos não apresentaram diferença significativa, no momento basal. Enquanto que, no final do estudo, todos os grupos apresentaram redução significativa ($p<0,05$). Para PAD verificou-se que os grupos não apresentaram diferença significativa, tanto no momento basal, quanto no final.

4.4. Considerações Finais de Interesse no Grupo IV

Mediante os resultados encontrados no decorrer desta secção optou-se por realizar algumas correlações, para determinadas variáveis de interesse, no grupo IV, já que este foi o grupo que apresentou concomitantemente, resultados significativos, tanto para os indicadores nutricionais, quanto para os relacionados aos FR cardiovascular, inflamatórios, hormonais e nutricionais, conforme pode ser verificado nas tabelas 14, 15, 16, 17 e 18 e nos gráficos 10 até 26.

Foi observada uma correlação negativa para CA e adiponectina, enquanto que para leptina verificou-se um comportamento contrário, conforme pode ser avaliado na Tabela 14 e nos gráficos 10 e 11. A variação da CA correlacionou-se com a variação da adiponectina, de forma negativa, desta forma quanto maior o decréscimo da CA maior é o acréscimo da adiponectina (Tabela 14 e gráfico 10).

A variação da circunferência abdominal se correlaciona com a variação da leptina positivamente, assim quanto maior o decréscimo da CA

maior é o decréscimo da leptina (Tabela 14 e gráfico 11). A variação do IMC se correlaciona com a variação do ácido úrico, de forma positiva. Desta forma, quanto maior o decréscimo do IMC maior o decréscimo do ácido úrico (Tabela 14 e gráfico 12).

Tabela 14 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre as variáveis de indicadores nutricionais antropométricos e bioquímicos, relacionados a fatores de risco cardiovascular, hormonais e nutricionais, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV

	CA (cm)	**Peso (Kg)**	**IMC (kg/m²)**
CT (mg/dL)	0,190	0,240	0,209
LDL-c (mg/dL)	0,095	-0,051	0,020
HDL-c (mg/dL)	0,116	0,182	0,082
TG (mg/dL)	-0,082	0,092	0,020
Äcido Úrico (mg/dL)	0,368	0,532	**0,651***
PCR (mg/dL)	-0,265	-0,112	-0,099
Glicemia (mg/dL)	0,165	0,203	0,291
Insulina (micro IU/mL)	0,249	0,339	0,297
HOMA IR	0,286	0,337	0,334
HOMA beta	0,217	0,356	0,297
Adiponectina (ug/mL)	**-0,627***	-0,409	-0,536
Leptina (ng/mL)	**0,743****	0,469	0,601
END Sérico (ng/100mL)	-0,185	-0,191	-0,248
ENL Sérica (ng/100mL)	0,000	-0,033	-0,064
END Urinário (ng/diurese 24h)	-0,391	0,068	-0,029
ENL Urinária (ng/diurese 24h)	-0,227	-0,033	-0,081

CA: circunferência abdominal; IMC: índice de massa corporal; CT: colesterol total; LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade colesterol; HDL-c: Lipoproteína de alta densidade colesterol; TG: triglicérides; PCR: proteína C reativa; HOMA: modelo homeostático da avaliação de resistência à insulina; END: enterodiol; ENL: enterolactona; cm: centímetros; Kg: quilo; kg/m^2:quilograma por metro ao quadrado; mg/dL: miligramas por decilitro; microIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro; µg/mL: microgramas por mililitro; ng/mL: nanogramas por mililitro; ng/100mL: nanograma por 100 mililitro; ng/diurese 24h: nanograma por diurese de 24 horas.
r: coeficiente de correlação; p: nível de significância;
*: correlação significativa com p< 0,05, **: correlação significativa com p< 0,01.

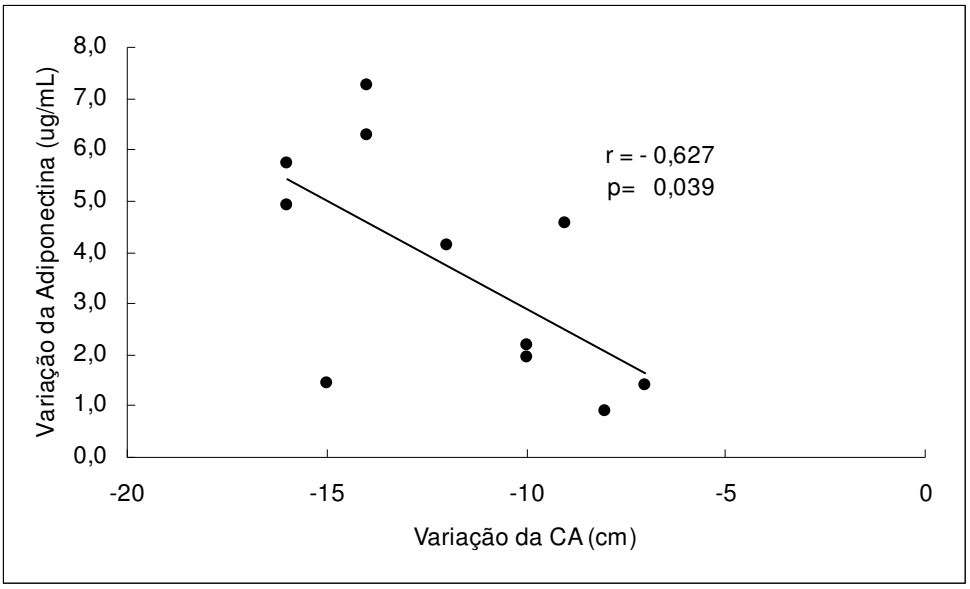


Gráfico 10. Correlação da Variação de CA (cm) x Variação da Adiponectina (ug/mL)

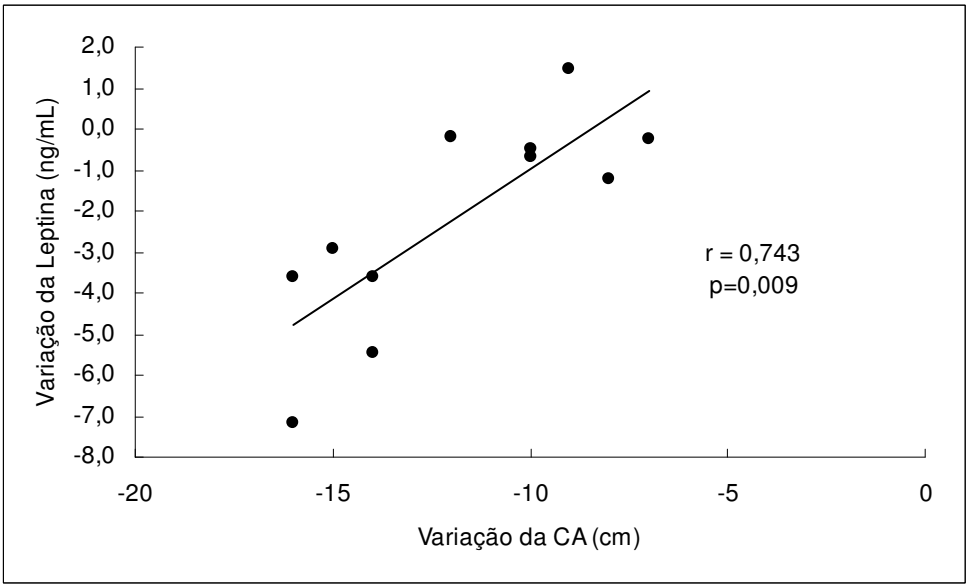


Gráfico 11. Correlação da Variação de CA (cm) x Variação da Leptina (ng/mL)

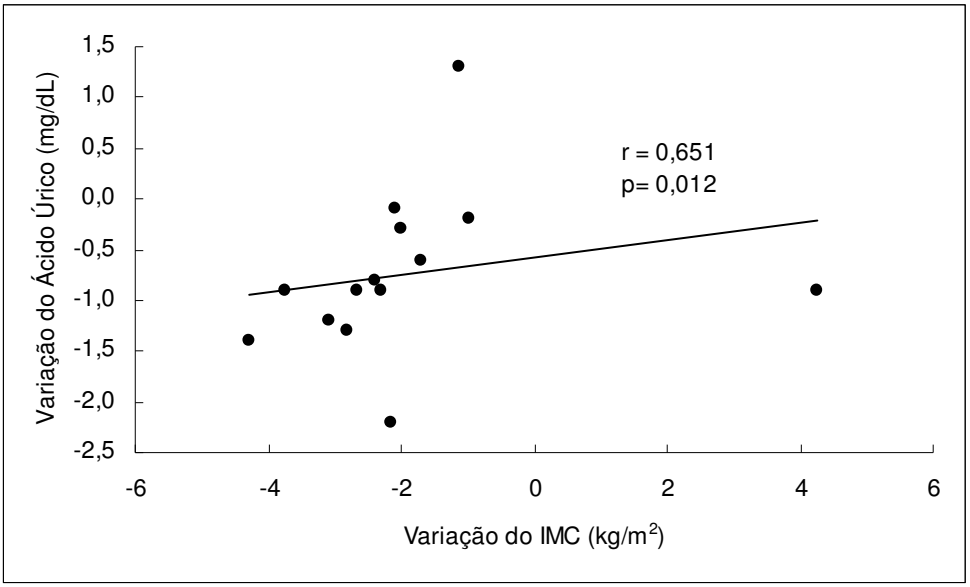


Gráfico 12. Correlação da Variação de IMC (kg/m^2) x Variação do Ácido Úrico (mg/dL)

Os níveis de TNF apresentam decréscimo do tempo 1 para o tempo 7, o mesmo ocorrendo com os níveis de triglicérides (TG), Insulina, HOMA IR e HOMA beta (Tabela 15). Entretanto, verificamos que se ocorrem pequenas variações de TNF-α, ou seja, se as variações de TNF-α não aumentam muito, maiores variações podem ocorrer para insulina, Homa beta, Homa IR e TG. Conforme pode ser observado, na Tabela 15 e nos gráficos 13, 14, 15 e 16.

Tabela 15 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre a variável TNF alfa e indicadores bioquímicos relacionadas a FR cardiovascular, hormonais e antropométricas, referentes as diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV

TG (mg/dL)	**PCR (mg/dL)**	**Acido Urico (mg/dL)**	**CT (mg/dL)**	**LDL-c (mg/dL)**	**HDL-c (mg/dL)**
-0,700*	0,491	0,182	-0,009	0,073	0,379
Insulina (microIU/mL)	**HOMA IR**	**HOMA beta**	**Adiponectina (ug/mL)**	**Leptina (ng/mL)**	**CA (cm)**
-0,691*	**-0,773****	**-0,645***	0,127	-0,159	-0,270
IMC (kg/ m^2)	**ENDS (ng/100mL)**	**ENLS (ng/100mL)**	**ENDU (ng/ diurese/ 24h)**	**ENLU (ng/diurese/24h)**	
-0,336	0,236	-0,518	-0,564	-0,573	

TG: triglicérides; PCR: proteína C reativa; CT: colesterol total; LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade colesterol; HDL-c: Lipoproteína de alta densidade colesterol; HOMA: Modelo homeostático da avaliação de resistência à insulina; CA: circunferência abdominal; IMC: índice de massa corporal; ENDS: Enterodiol sérico; ENLS: Enterolactona sérica; ENDU: Enterodiol urinário; ENLU: Enterolactona urinária; mg/dL:miligramas por decilitro; microIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro; µg/mL: microgramas por mililitro; ng/mL: nanogramas por mililitro; cm:centímetros; kg/m^2: quilograma por metro ao quadrado; ng/100mL: nanograma por 100 mililitro; ng/diurese 24h: nanograma por diurese de 24 horas.

r: coeficiente de correlação; p: nível de significância*; correlação significativa com $p < 0,05$, **: correlação significativa com $p < 0,01$.

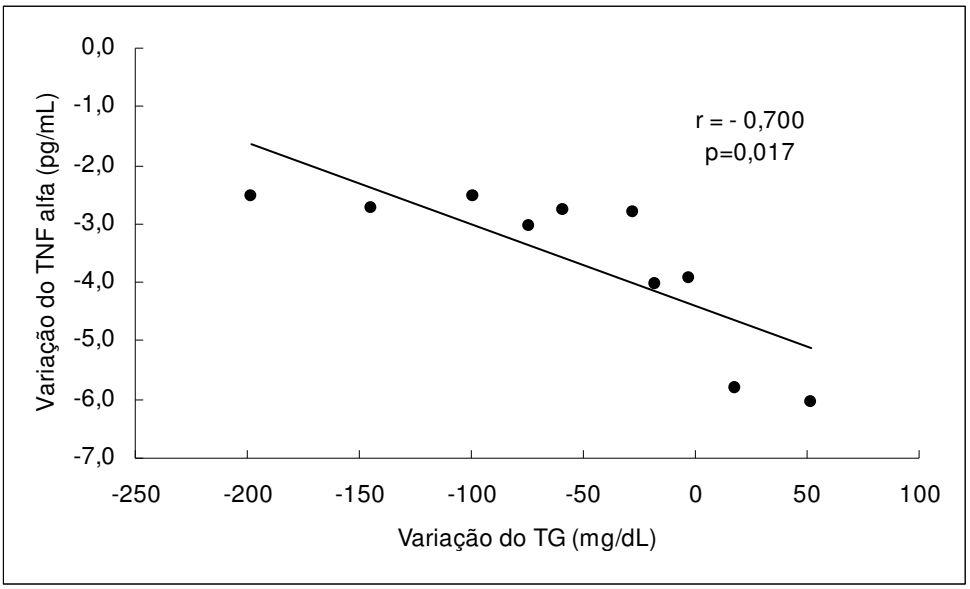


Gráfico 13. Correlação da Variação do TG (mg/dL) x Variação do TNF alfa (pg/mL)

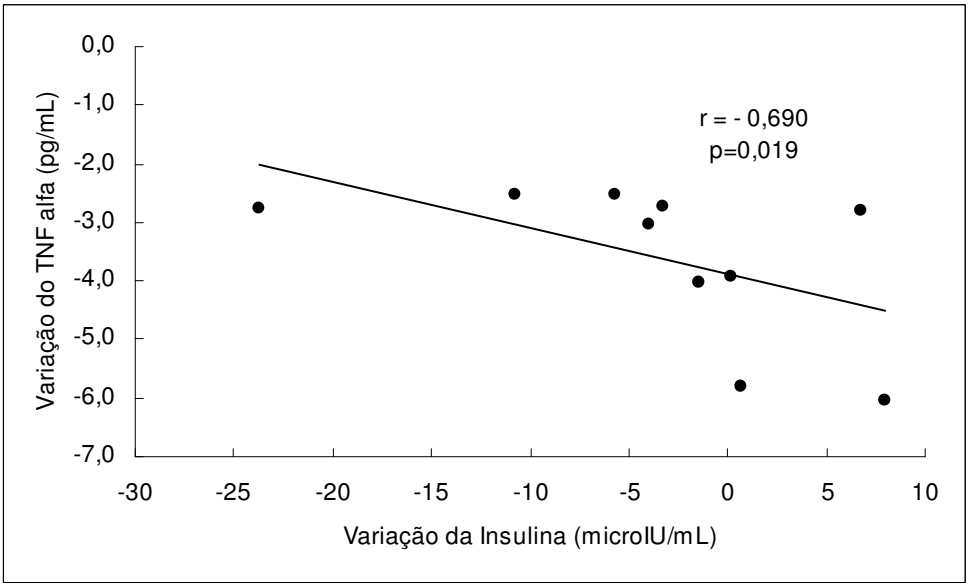


Gráfico 14. Correlação da Variação da Insulina (microIU/mL) x Variação do TNF alfa (pg/mL)

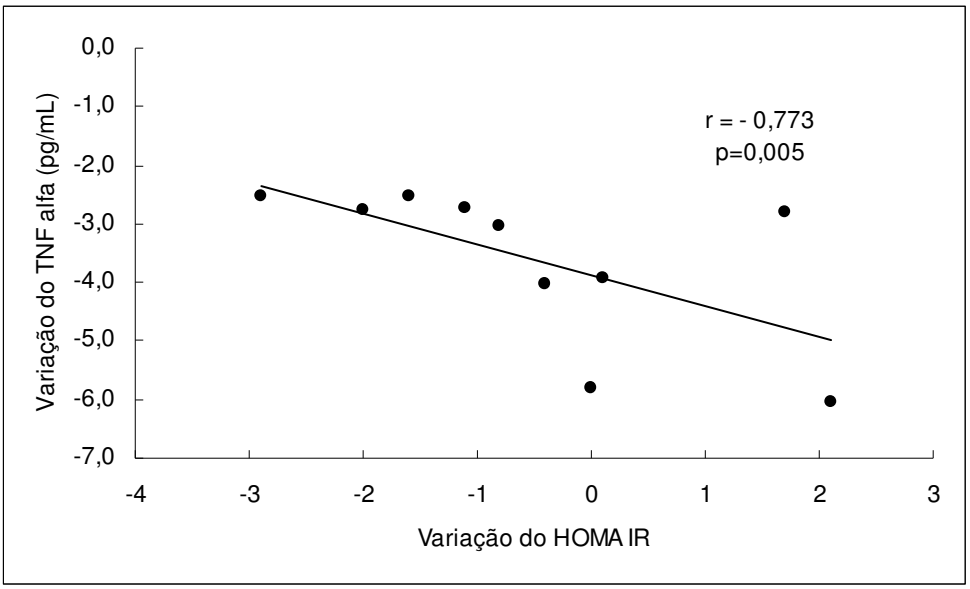


Gráfico 15. Correlação da Variação do HOMA IR x Variação do TNF alfa (pg/mL)

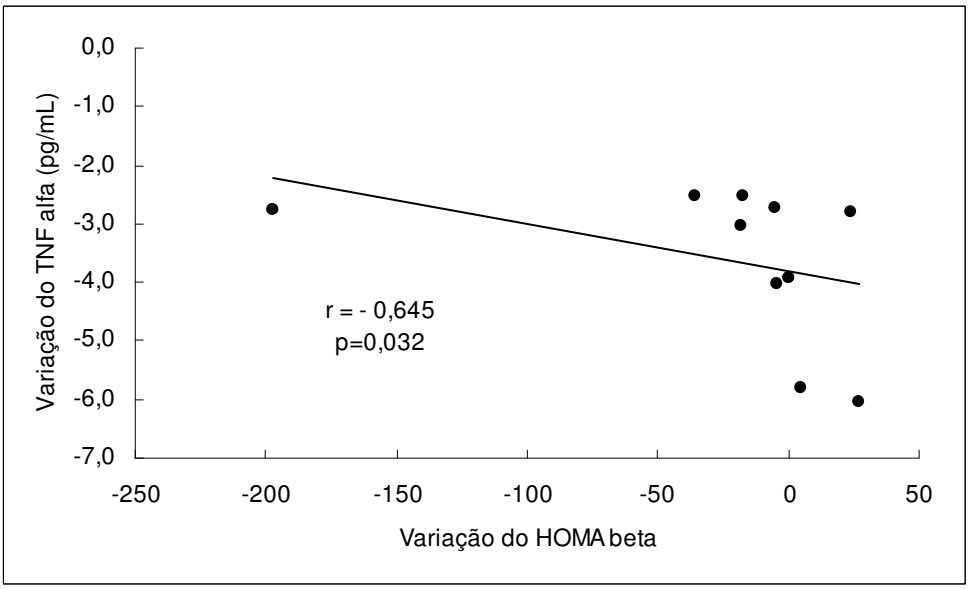


Gráfico 16. Correlação da Variação do HOMA Beta x Variação do TNF alfa (pg/mL)

O END urinário e ENL urinária apresentam uma correlação negativa com LDL-c e ácido úrico (Tabela 16). Desta forma, maiores variações de END e ENL na urina estão associadas a menores variações sangüíneas de LDL-c e ácido úrico, respectivamente, conforme pode ser verificado nos gráficos 17 e 18. Em relação, a variação dos níveis de enterolactona urinária e triglicérides foram observadas uma correlação positiva, desta forma, quanto maior o acréscimo dos níveis de ENL na urina, maior seria a diminuição dos níveis de triglicérides sanguíneos (Tabela 16 e gráfico 19).

Tabela 16 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre as variáveis de indicadores nutricionais (END e ENL), bioquímicos relacionados à FR cardiovascular e hormonais, e antropometria, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV

	Sérico (ng/100mL)		**Urinário (ng/diurese/24h)**	
	END	**ENL**	**END**	**ENL**
CT (mg/dL)	0,147	0,174	-0,442	-0,046
LDL-c (mg/dL)	0,125	0,095	**-0,622***	-0,253
HDL-c (mg/dL)	-0,227	0,124	-0,462	-0,311
TG (mg/dL)	-0,020	0,312	0,453	**0,609***
Acido Urico (mg/dL)	-0,183	-0,011	-0,267	**-0,559***
PCR (mg/dL)	0,103	-0,411	-0,015	0,081
Glicemia (mg/dL)	0,157	0,483	-0,198	0,359
Insulina (microIU/mL)	-0,013	0,264	0,103	0,284
HOMA IR	0,000	0,409	-0,013	0,255
HOMA beta	0,031	0,178	0,152	0,323
Adiponectina (ug/mL)	0,055	-0,191	0,236	0,300
Leptina (ng/mL)	-0,437	-0,287	-0,333	-0,036
CA (cm)	-0,185	0,000	-0,391	-0,227
IMC (kg/m^2)	-0,248	-0,064	-0,029	-0,081

CT: colesterol total; LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade colesterol; HDL-c: Lipoproteína de alta densidade colesterol; TG: triglicérides; PCR: proteína C reativa; HOMA: modelo homeostático da avaliação de resistência à insulina; CA: circunferência abdominal; IMC: índice de massa corporal; END: Enterodiol; ENL: Enterolactona sérica; mg/dL: miligramas por decilitro; microIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro; µg/mL: microgramas por mililitro; ng/mL: nanogramas por mililitro; cm: centímetros; kg/m^2:quilograma por metro ao quadrado; ng/100mL: nanograma por 100 mililitro; ng/diurese 24h: nanograma por diurese de 24 horas.
r: coeficiente de correlação; p: nível de significância, *: correlação significativa com $p < 0,05$.

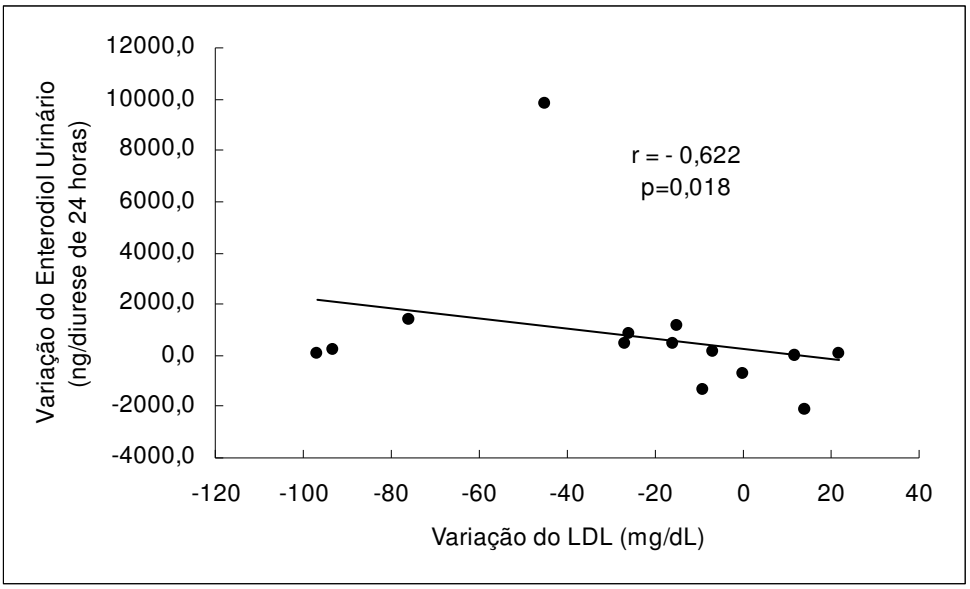


Gráfico 17. Correlação da Variação do LDL (mg/dL) x Variação do Enterodiol Urinário (ng/diurese de 24h)

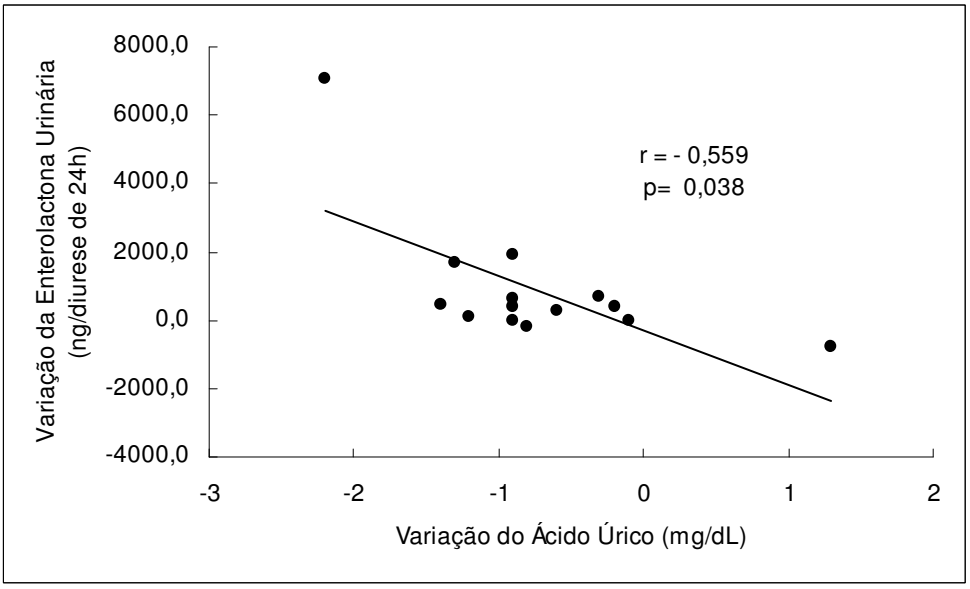


Gráfico 18. Correlação da Variação do Ácido Úrico (mg/dL) x Variação do Enterolactona Urinária (ng/diurese de 24h)

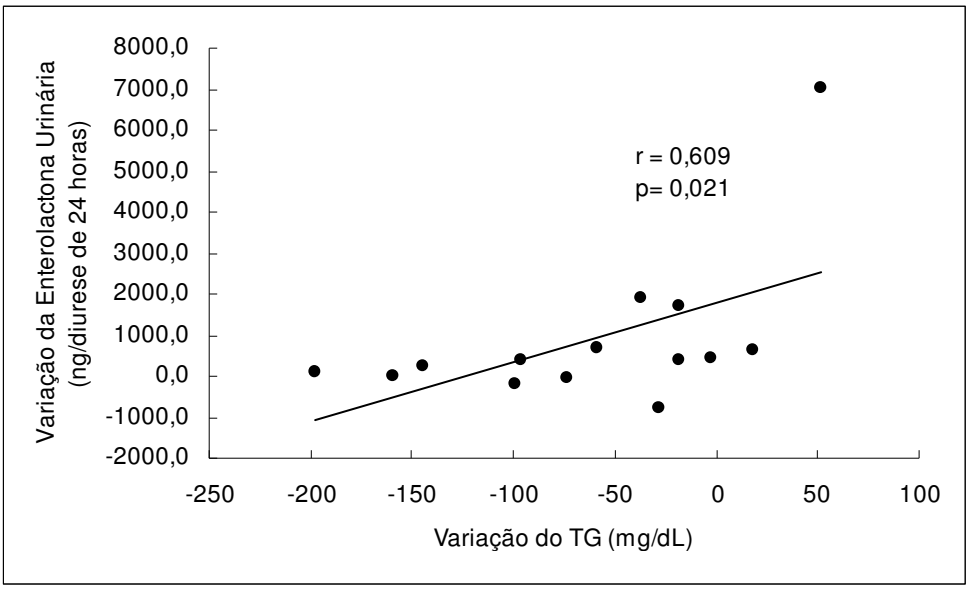


Gráfico 19. Correlação da Variação do TG (mg/dL) x Variação do Enterolactona Urinária (ng/diurese de 24h)

Verificou-se que as concentrações de adiponectina mostraram acréscimo do tempo 1 para o tempo 7. Enquanto que, as variações de leptina, ácido úrico, CA e IMC apresentaram decréscimo (Tabela 17). A variação da adiponectina se correlaciona com a variação do ácido úrico negativamente, assim, quanto maior a variação dos níveis de adiponectina, menor a variação dos níveis de ácido úrico, conforme pode ser observado no gráfico 20. A variação da adiponectina se correlaciona com a variação da CA de forma negativa, sendo que, maiores variações de CA estariam relacionadas a menores variações de adiponectina, conforme pode ser verificado no gráfico 21. A variação da leptina se correlaciona com a variação do IMC positivamente, desta forma, para maiores variações de IMC associam-se maiores variações dos níveis de leptina, conforme verificado a seguir (Gráfico 22).

Tabela 17 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis de indicadores hormonais e bioquímicos relacionados a FR cardiovascular e antropometria, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias para o grupo IV

	Adiponectina (ug/mL)	**Leptina (ng/mL)**
CT (mg/dL)	0,118	0,155
LDL-c (mg/dL)	0,055	0,200
HDL-c (mg/dL)	0,370	-0,396
TG (mg/dL)	0,209	0,082
Acido Úrico (mg/dL)	**-0,609***	0,428
PCR (mg/dL)	0,455	0,223
Glicemia (mg/dL)	-0,206	0,339
Insulina (microIU/mL)	-0,136	0,005
HOMA IR	-0,245	0,018
HOMA beta	-0,082	-0,009
CA (cm)	**-0,627***	**0,743****
IMC (kg/m^2)	-0,536	**0,601***

CT: colesterol total; LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade colesterol; HDL-c: Lipoproteína de alta densidade colesterol; TG: triglicérides; PCR: proteína C reativa; HOMA: modelo homeostático da avaliação de resistência à insulina; CA: circunferência abdominal; IMC: índice de massa corporal; mg/dL: miligramas por decilitro; microIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro; cm: centímetros; kg/m^2:quilograma por metro ao quadrado; µg/mL: microgramas por mililitro; ng/mL: nanogramas por mililitro.

r: coeficiente de correlação; p: nível de significância;

*: correlação significativa com $p < 0,05$, **: correlação significativa com $p < 0,01$.

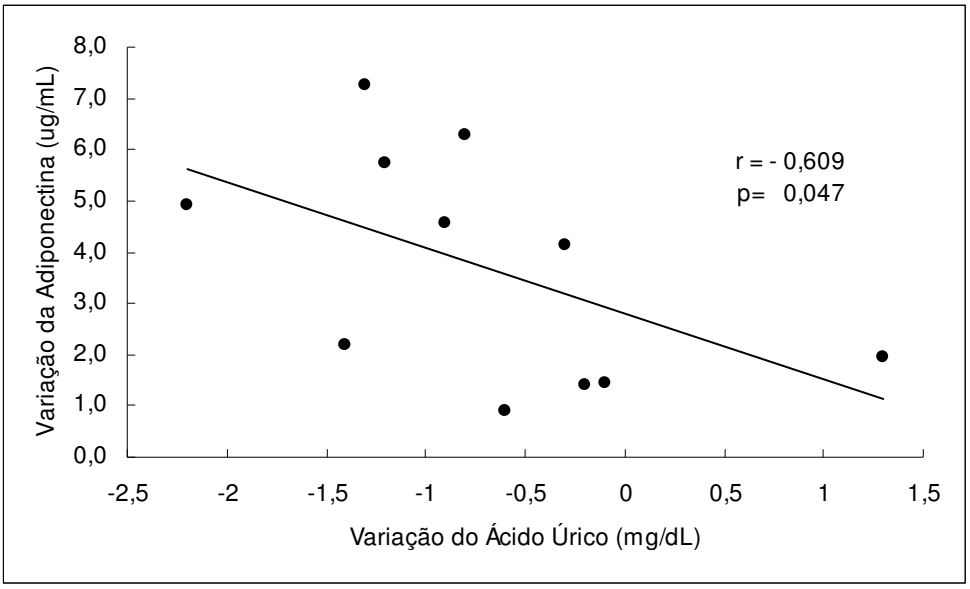


Gráfico 20. Correlação da Variação do Ácido Úrico (mg/dL) x Variação da Adiponectina (ug/mL)

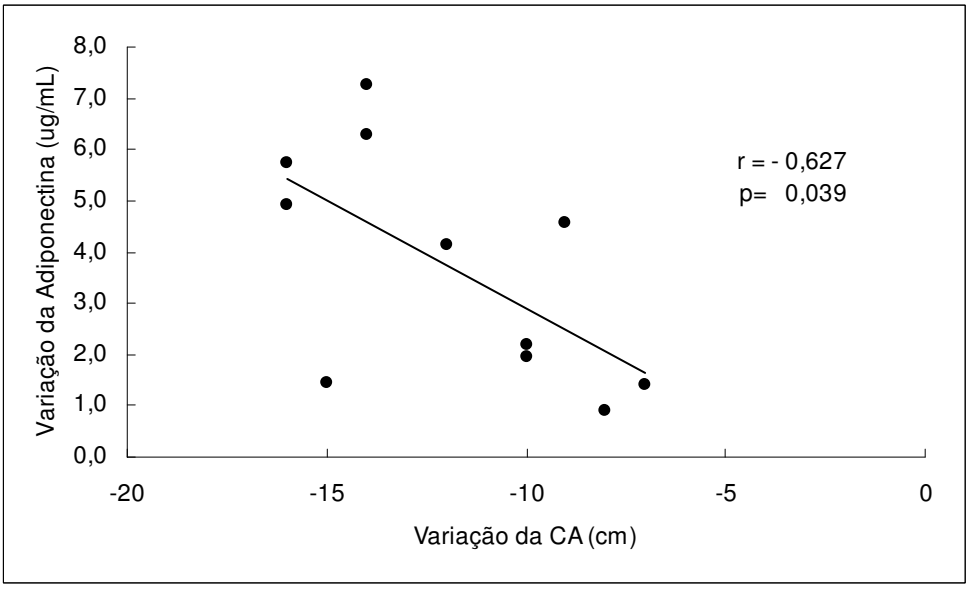


Gráfico 21. Correlação da Variação da CA (cm) x Variação da Adiponectina (ug/mL)

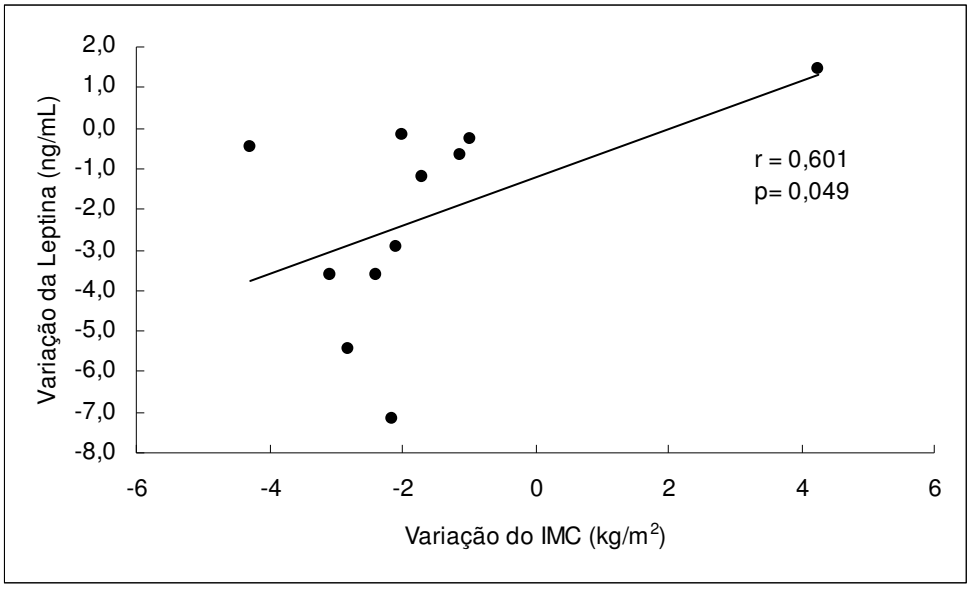


Gráfico 22. Correlação da Variação do IMC (kg/m^2) x Variação da Leptina (ng/mL)

A ingestão de kilocalorias e carboidratos, bem como, os níveis de PCR, leptina e HDL-c, como também, o IMC apresentou decréscimo significativo, durante a intervenção nutricional (Tabela 18).

A variação de carboidrato correlacionou-se positivamente com a variação dos níveis de PCR. Desta forma, o aumento da ingestão de carboidrato na dieta estaria associado à elevação dos níveis de PCR séricos, conforme observado na Tabela 18 e no gráfico 23.

A variação de ingestão de Kilocalorias correlacionou-se com a variação nos níveis de leptina, sendo que a redução de ingestão calórica na dieta associa-se a diminuição nos níveis de leptina (Tabela 18 e gráfico 24). A variação de Kilocalorias, também apresentou correlação positiva com a variação do IMC, conforme observado na Tabela 18 e no gráfico 25. Ainda

sobre a variação de Kilocalorias observou-se uma associação negativa com a variação nos níveis de HDL-c, desta forma, maiores variações na ingestão calórica estariam correlacionadas a menores variações no HDL-c, conforme verificado no gráfico 26.

Tabela 18 - Valores dos coeficientes de correlação de Spearman, entre as variáveis referentes à ingestão nutricional, bioquímicas relacionadas à FR cardiovasculares e hormonais, e antropometria, referentes às diferenças do momento basal e 42 dias, para o grupo IV

	Carboidrato (g)	**Proteina (g)**	**Kilocalorias (Kcal)**
CT (mg/dL)	0,134	0,336	0,178
LDL-c (mg/dL)	0,033	0,393	0,103
HDL-c (mg/dL)	-0,364	-0,231	**-0,556***
TG (mg/dL)	0,227	-0,216	0,178
Acido Urico (mg/dL)	-0,046	0,506	0,386
PCR (mg/dL)	**0,574***	0,086	0,371
Glicemia (mg/dL)	0,229	0,370	0,366
Insulina (microIU/mL)	0,011	-0,361	0,020
HOMA IR	-0,059	-0,242	0,031
HOMA beta	0,057	-0,387	0,033
Adiponectina (ug/mL)	0,064	-0,291	-0,300
Leptina (ng/mL)	0,442	0,128	**0,615***
CA (cm)	0,214	-0,015	0,236
IMC (kg/m^2)	0,226	0,424	**0,569***

CT: colesterol total; LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade colesterol; HDL-c: Lipoproteína de alta densidade colesterol; TG: triglicérides; PCR: proteína C reativa; HOMA: modelo homeostático da avaliação de resistência à insulina; CA: circunferência abdominal; IMC: índice de massa corporal; Kcal: Kilocalorias; mg/dL: miligramas por decilitro; microIU/mL: micro unidades internacionais por mililitro; µg/mL: microgramas por mililitro; ng/mL: nanogramas por mililitro; cm: centímetros; kg/m^2:quilograma por metro ao quadrado; g: gramas;
r: coeficiente de correlação; p: nível de significância; *: correlação significativa com $p < 0,05$.

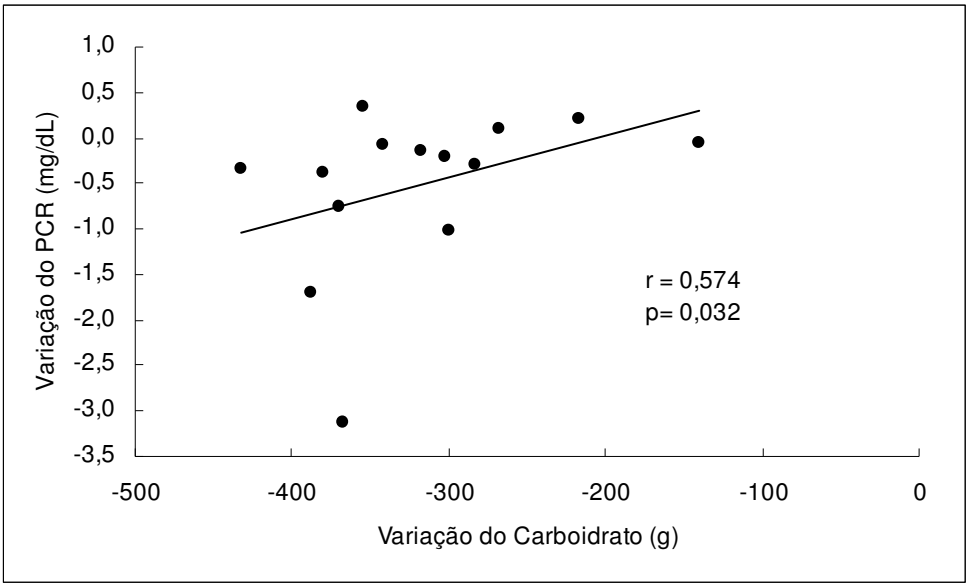


Gráfico 23. Correlação da Variação do Carboidrato (g) x Variação do PCR (mg/dL)

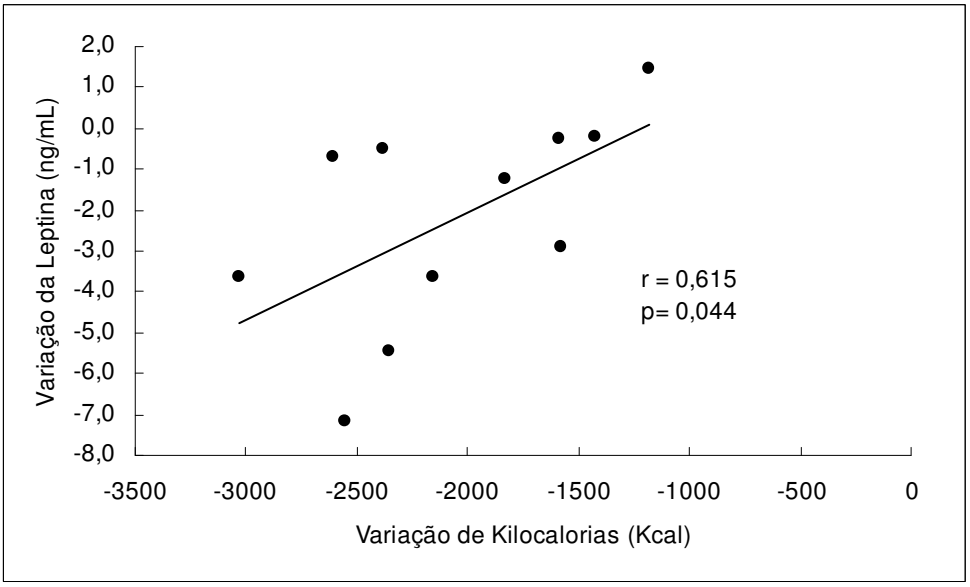


Gráfico 24. Correlação da Variação de Kilocalorias (Kcal) x Variação da Leptina (ng/mL)

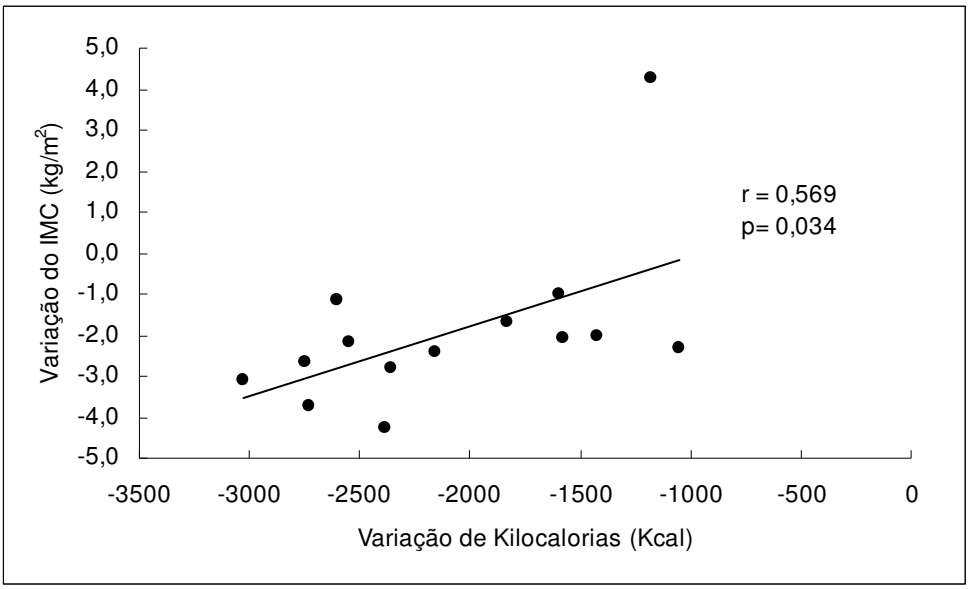


Gráfico 25. Correlação da Variação de Kilocalorias (Kcal) x Variação do IMC (kg/m^2)

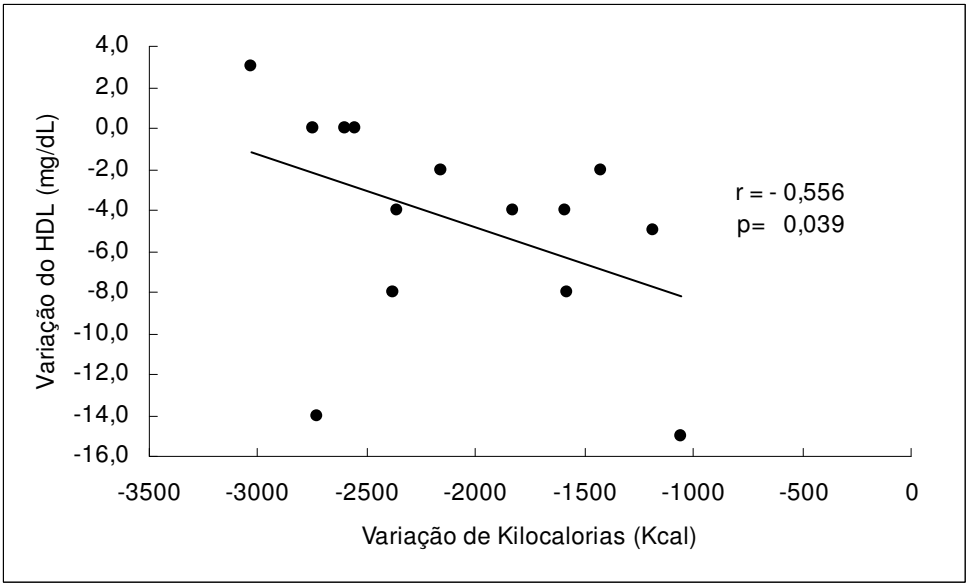


Gráfico 26. Correlação da Variação de Kilocalorias (Kcal) x Variação do HDL-c (mg/dL)

Desta forma, podemos verificar que o grupo IV apresenta correlações significativas que podem explicar a associação de algumas variáveis com alterações metabólicas e pro inflamatórias. Assim como, em contrapartida, neste grupo foram verificadas correlações entre variáveis que podem sugerir estratégias preventivas e antiinflamatórias, por mecanismos nutricionais e hormonais, que consequentemente, se associaram à redução de FR cardiovascular, tais como, colesterol total, LDL-c, TG e ácido úrico.

5 - DISCUSSÃO

Este estudo avaliou uma população de trabalhadores, subdividida em grupos, que se apresentava homogênea em relação aos indicadores demográficos, tais como, idade, renda e nível de escolaridade. Em relação à ocupação, uso de medicações e FR cardiovasculares encontrados com maior freqüência pode-se observar que, também, não havia diferença significativa entre os grupos.

Tais fatores de risco encontrados com maior freqüência corroboram com o verificado em outros estudos, especialmente, no que se refere ao sedentarismo (DE BACKER et al., 2003; DOS SANTOS, DRESSLER & VITERI, 1994; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2005). Diante de tal questão, a população estudada era merecedora de modificações de estilo de vida que pudessem reduzir indicadores de risco modificáveis, bem como, conhecer o comportamento de novos indicadores de risco, por meio de intervenção nutricional, nos diferentes grupos de pesquisa.

5.1. Indicadores Antropométricos

Em nosso estudo o grupo I apresentou-se significativamente diferente dos demais grupos de pesquisa, no momento basal, em relação a todos os indicadores antropométricos avaliados. Embora o IMC do grupo I fosse acima de 25 kg/m², o que caracterizava uma condição de pré-obesidade, os demais grupos apresentaram um maior IMC. Esta condição ocorreu para as demais medidas antropométricas, em relação ao grupo I, o que caracterizou este grupo, como sendo, também portador de medidas antropométricas elevadas. Desta forma, este grupo também apresentava maiores riscos para

alterações metabólicas, assim como os outros, mesmo sendo suas medidas antropométricas menores significativamente.

Os dados antropométricos de nossa população corroboram com recentes estudos (WHITLOCK et al., 2009) que mostram a importância do IMC, como indicador de risco, na detecção de FR cardiovascular e, conseqüentemente, maior mortalidade por diferentes causas.

A média basal para CA no grupo I foi de 96,3 cm, o que se caracteriza tanto pelo conceito do NCEP III (EXPERT PANEL ON DETECTION EVALUATION AND TRATAMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TRATAMENT PANEL III, 2001), quanto pela ADA (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2005), como sendo um marcador de risco metabólico. Estudos recentes (DÉSPRES et al., 2001; MALAVAZOS et al., 2007; PANAGIOTAKOS et al., 2005) demonstraram que aumento de gordura abdominal visceral apresenta-se associado com risco cardiovascular elevado, principalmente, pelo desenvolvimento de desordens metabólicas caracterizadas pela resistência à insulina, o que inclui diabetes tipo II e hipertensão arterial, bem como, alterações na homeostase, fibrinólise, e estado de inflamação crônica de baixo grau (MADSEN et al., 2008).

Em nosso estudo os grupos II, III e IV apresentaram redução significativa de todas as medidas antropométricas, sendo que, a redução de peso foi aproximadamente, 5,7%, 7,2 % e 6,1 %, durante o período de intervenção nutricional, independentemente da dieta oferecida. Em relação às medidas antropométricas que indicam gordura abdominal visceral pudemos observar que a média de redução de CA foi 15,5 cm, 13,7 cm e 12,8 cm, respectivamente, para os grupos II, III e IV.

Em contrapartida, os nossos dados referentes ao período basal, em comparação ao final do estudo mostraram que as circunferências de quadril dos grupos, sob intervenção nutricional reduziram de forma significativa, entretanto, em menor proporção do que as medidas de circunferência abdominal. Tais resultados, conforme estudos realizados anteriormente seriam benéficos (VARADY et al., 2009), já que, sujeitos com maior massa adiposa subcutânea, na região gluteofemural apresentariam menor risco, no desenvolvimento das alterações metabólicas associadas ao tecido adiposo, em relação, aqueles com maior acúmulo de gordura visceral, conforme citado anteriormente.

No que se refere à RAQ obtivemos uma redução significativa para os grupos II, III e IV, o que, de acordo com outros trabalhos (JANSSEN; KATZMARZYK & ROSS, 2002, 2004) mostra-se efetivo no controle de FR, em sujeitos sob intervenção dietética, desde que, a redução de CA tenha sido mais importante, do que a redução de CQ, nos diferentes grupos estudados.

Resultados semelhantes, em relação à redução de peso e CA foram encontrados em recente estudo, no qual, quatro diferentes dietas foram fornecidas a cada grupo, com diferenças nos percentuais de gorduras, proteínas e carboidratos (SACKS et al., 2009). Este recente estudo corrobora com nossos dados, no que se refere ao fato de que, dietas com restrição calórica são efetivas para a perda de peso, sem que se considere ênfase a um determinado macronutriente (GARDNER et al., 2007; SACKS et al., 2009).

No que se refere à gordura subcutânea, a redução após a intervenção dietética ocorreu significativamente para as pregas subcutâneas subescapular, supra-iliaca e abdominal, da mesma forma, que ocorreu para o peso, IMC e CA, nos grupos que receberam intervenção nutricional. Estudos anteriores têm ressaltado a importância sobre a redução de pregas cutâneas truncais no sexo masculino, especialmente a subescapular e abdominal, no controle de alterações metabólicas, tais como, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e intolerância à glicose (CASSANI et al., 2009; JONES et al., 1992).

Uma das explicações para tais questões discutidas sobre a antropometria pode estar relacionada ao fato de que a abordagem para o desenvolvimento de cada dieta, bem como, seu seguimento foi realizada por meio de estudo duplo-cego, o que minimizou possíveis influências.

Outro aspecto importante foi a não utilização de nenhum dos grupos que receberam intervenção dietética, como sendo, um grupo controle, e desta forma, o aconselhamento dietético e a atenção fornecida pelo pesquisador, a cada grupo foram realizados igualmente, durante todo o período do estudo, assim como, foi feito no estudo de SACKS e colaboradores (2009).

Em nosso estudo o grupo I foi considerado controle, e por não receber intervenção dietética, não apresentou modificações significativas na maioria de seus indicadores antropométricos, a não ser um incremento na prega cutânea subescapular (p=0,019), durante o decorrer do estudo, o que possivelmente está associado à não redução de tecido adiposo truncal,

conforme descrito em outros estudos (ALBRINK et al., 1984; BIRMINGHAM et al., 1993).

Desta forma, em relação aos indicadores antropométricos nosso estudo demonstrou o que já foi verificado em estudos anteriores, no que se refere ao fato de que, a restrição calórica, independentemente, da composição de gorduras, proteínas e carboidratos podem ser eficiente na redução de medidas antropométricas, tais como, peso, e conseqüentemente, IMC, já que tratamos de sujeitos adultos, bem como, na diminuição de medidas antropométricas referentes a tecido adiposo visceral, tais como, CA, RAQ e pregas subcutâneas truncais (SACKS et al., 2009; VARADY et al., 2009).

5.2. Indicadores Clínicos: Pressão Arterial Sistêmica

Em nosso estudo observamos que no momento basal não existiam diferenças entre os grupos estudados, e que em relação à pressão arterial sistólica, a média dos grupos encontrava-se na classificação de pré-hipertensão, de acordo com a classificação proposta pelo VII Joint National Committe (CHOBANIAN et al., 2003). Tal dado torna-se importante por se tratar de uma população com faixa etária média relativamente menor, em relação a outros estudos (BERTOLAMI et al., 1993; MATOS et al., 2004; SABRY; SAMPAIO & SILVA, 2002).

Após a intervenção nutricional realizada, observou-se que apenas a pressão arterial sistólica mostrou um decréscimo significativo, $p= 0,035$, $p=0,020$ e $p<0,001$, sendo respectivamente, para os grupos II, III e IV. Tais

resultados puderam ser verificados em outros estudos, que investigaram a concentração de citocinas antiinflamatórias e sua relação com parâmetros metabólicos, tais como IMC, resistência à insulina, níveis pressóricos em sujeitos não diabéticos e sobrepeso (ALTINOVA et al., 2007; SAKUTA et al., 2005). Em nosso estudo, a redução das médias dos níveis de PAS foi de 130,1 v 122,8 mm/Hg; 134,1v 124,8 mm/Hg e 142 v 127 mm/Hg, enquanto, que no estudo de ALTINOVA e colaboradores (2007) a redução média de PAS verificada foi de 127,5 v 115,7 mm/Hg ($p < 0,05$). Em ambos os estudos esta redução foi considerada significativa.

Em nosso estudo, a intervenção nutricional realizada parece ter apresentado um efeito significativo sobre os níveis médios de PAS, o que não ocorreu para os níveis médios de PAD.

5.3. Indicadores Bioquímicos

Em relação aos diferentes subitens destes indicadores verificaram-se comportamentos distintos aos observados nos indicadores antropométricos, no que, se refere à intervenção nutricional realizada, da mesma forma, como foi observado em outros recentes estudos (SACKS et al., 2009; SVERTEY et al., 2008).

Torna-se importante salientar que a intervenção nutricional realizada foi avaliada sob vários indicadores bioquímicos, tais como, relacionados aos FR cardiovascular, inflamatórios, hormonais e nutricionais.

A questão prioritária é que as diferentes intervenções dietéticas foram efetivas na redução de peso, IMC, circunferência abdominal, RAQ, e pregas

cutâneas truncais de forma similar. Entretanto, ao pensarmos que o tecido adiposo humano na região visceral, não é considerado somente um órgão de estoque para excesso de energia, e sim, também um órgão endócrino ativo conhecido por produzir e liberar adipocinas, tais como, adiponectina, leptina, tumor de necrose tumoral (TNF-α), PCR (van SCHOTHORST et al., 2009; SUNYER, 2006; de LUIS et al., 2007) fica a importância de se verificar se estas intervenções nutricionais, que reduziram igualmente os estoques de tecido adiposo tenham sido também, tão igualmente efetivas, na diminuição ou incremento destes indicadores bioquímicos acima citados.

Para os indicadores bioquímicos estudados diferentes respostas foram encontradas. Poderia tais respostas metabólicas apresentar associações com algumas das características nutricionais encontradas nas diferentes dietas utilizadas?

5.3.1. Em Relação aos FR Cardiovascular

Nosso estudo apresentou como aspecto positivo o fato de que para a grande maioria das variáveis relacionadas à FR cardiovascular não havia diferenças significativas no momento basal. A exceção para tal questão foram os níveis basais de insulina no grupo III, que aleatoriamente, mostraram-se superiores em relação ao grupo I ($p<0,05$), sendo as variáveis HOMA IR e HOMA Beta, derivadas dos valores de insulina, o mesmo ocorreu para tais.

Desta forma, puderam ser observados os efeitos da intervenção nutricional, de forma comparativa entre o momento basal e final do estudo,

bem como, os efeitos no grupo que não recebeu intervenção dietética em relação a estes indicadores, já que para a grande maioria das variáveis existia uma situação de homogeneidade.

5.3.1.1. Glicemia

Em nosso trabalho não observamos diferença significativa em nenhum dos grupos estudados em relação aos níveis de glicose, após o período de estudo, sendo que, o decréscimo verificado nos grupos II, III e IV foi de 1,36 mg/dl, 7,46 mg/dl e 1,14 mg/dl, respectivamente. Tais dados são corroborados por recente estudo que mostra intervenção com dietas de diferentes composições nutricionais para macronutrientes, e que também não demonstraram diferenças significativas para os níveis de glicemia em jejum, sendo que, a redução observada em seis meses de estudo foram 3 mg/dl e 2,6 mg/dl, respectivamente, para dieta reduzida em gordura e normoproteica e para dieta reduzida em gordura e rica em proteína (SACKS et al., 2009). Em contrapartida, outro estudo recente demonstrou diminuição nos níveis de glicemia, em sujeitos diabéticos que utilizaram dietas do estilo do mediterrâneo, reduzidas em calorias e CH, diferentemente, do que ocorreu para aqueles com dieta reduzida em calorias e gorduras (SHAI et al., 2008). Não foram verificadas diferenças significativas nos níveis de glicose plasmática, nos sujeitos não diabéticos deste mesmo estudo, sendo que, as reduções observadas na dieta mediterrânea e na dieta reduzida em gordura foram de 5,6 mg/dl e 2,3 mg/dl, respectivamente (SHAI et al., 2008).

Tais diferenças observadas em diferentes estudos com sujeitos em sobrepeso e aumento de gordura abdominal têm chamado a atenção para o fato, de que, associações mais interessantes têm sido observadas, entre os níveis de glicose pós prandiais, risco cardiovascular e intervenções dietéticas, do que propriamente para associações referentes a níveis de glicose de jejum, alterações metabólicas e intervenção nutricional (DUMESNIL et al., 2001; O'KEEFE & BELL, 2007; SHAI et al., 2008). Possivelmente, pelo fato de que o aumento de gordura abdominal apresenta efeito adverso sobre a ação da insulina e disponibilidade de glicose, com consequente aumento na liberação de ácidos graxos livres para o fígado e circulação sistêmica, o que acarreta a condição de dismetabolismo pós prandial (AUGUSTIN et al., 2002; O'KEEFE & BELL, 2007)

5.3.1.2. Colesterol Total, LDL-c e HDL-c

Em nosso trabalho observamos que ocorreu uma redução significativa, com a intervenção dietética, nos níveis séricos de colesterol total e LDL-c, apenas nos grupos III e IV.

Para os níveis de colesterol observou-se uma redução de 24,8 mg/dL e 37,1mg/dL, respectivamente, para os grupos III e IV. Em relação aos níveis de LDL-c o decréscimo foi significativo (p=0,041) para os grupos III e IV, com diminuição de 25 mg/dL e 34,4 mg/dL, respectivamente.

Nossos grupos III e IV eram classificados como aqueles que apresentavam menor % de CH, respectivamente, 35 % e 32% da energia total da dieta, quando comparados ao grupo II (50 %). Estes dados parecem

ser semelhantes a alguns encontrados em outros estudos, tais como, o que foi realizado em voluntários do sexo masculino, com faixa etária superior (47±11anos) e IMC semelhante (>28 Kg/m²) ao encontrado em nosso trabalho (DUMESNIL et al., 2001).

Neste estudo (DUMESNIL et al., 2001), os voluntários eram submetidos a três tipos de dietas diferentes por um período de 6 dias, acompanhados por um período de wash-out de 2 semanas. A primeira dieta apresentava as características da fase I da American Heart Association (AHA) (GRUNDY et al., 1998) com 30 % da energia proveniente de gorduras, 55 % de carboidratos e 15% de proteínas, a segunda dieta apresentava baixo índice glicêmico, com quantidade reduzida de gorduras e rica em proteínas e a terceira dieta apresentava-se como a primeira, com liberação para CH de baixo índice glicêmico. Com relação aos efeitos sobre o colesterol total verificou-se que nenhum dos tipos de dietas apresentou efeito, enquanto que, para o LDL-c verificou-se um aumento no tamanho da partícula, após os seis dias de intervenção com a dieta de baixo índice glicêmico, baixa em gordura e rica em proteína, em relação às outras dietas fornecidas (DUMESNIL et al., 2001; TCHERNOF et al., 1996).

Em outro estudo (NOAKES et al., 2005) foram observados os efeitos de uma dieta com alta taxa de proteína em relação a carboidrato sobre a composição corporal, FR cardiovascular, estado nutricional e marcadores da função renal. Os voluntários apresentavam IMC e faixa etária semelhante, ao nosso estudo, e recebiam um dos 2 tipos de dieta, por 12 semanas. A dieta 1 apresentava 34 % de proteína, 20% de gordura (<10% proveniente de gordura saturada) e 46 % de carboidrato; a dieta 2 apresentava um alto

% de CH (64%), com 17% de proteína e 20 % de gordura (<10% proveniente de gordura saturada) (NOAKES et al., 2005)

Não foi observado efeito significativo da composição da dieta sobre os níveis de LDL-c, sendo que, a redução global foi em torno de 6%, diferentemente de nosso estudo, no qual a redução observada para os grupos III e IV foram de 18,4% e 23%, respectivamente, em 7 semanas de intervenção nutricional .

Sobre os níveis de HDL-c, em nosso estudo observou-se que todos os grupos apresentavam, no momento basal, níveis inferiores aos recomendados pelo NECP III (< 45 mg/dL) (EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TREATMENT PANEL III, 2001). Tal condição é frequentemente encontrada em sujeitos com sobrepeso, quando comparados a sujeitos com peso normal (YANG et al., 2002).

Verificou-se redução significativa nos níveis de HDL-c apenas nos grupos I e IV, entretanto, acredita-se que para o grupo IV isto não represente relevância clinica, já que, para os grupos II e III esta redução também ocorreu, entretanto sem significância estatística. A redução dos níveis de HDL-c, em relação ao momento basal e final, em nosso estudo foi de 9,8 % e 9,9%, respectivamente, para os grupos I e IV, enquanto que, para os grupos II e III verificou-se uma redução de 3,5% e 5%, respectivamente.

Em estudos recentes observaram-se resultados distintos aos nossos, sendo que, dietas com menor % de CH parecem estar relacionadas à melhora dos níveis de HDL-c, quando comparadas a dietas com baixo teor de gordura ou com características da dieta da AHA (AMERICAN HEART

ASSOCIATION) (GRUNDY et al., 1998) com maior % de CH (DUMESNIL et al., 2001; SACKS et al., 2009; SHAI et al., 2008) o que não corrobora com o que encontramos para o nosso grupo IV, sendo que, um dos fatores que poderiam justificar esta questão seria o curto período de nossa intervenção nutricional. Em estudos com dois anos de intervenção observou-se que nos primeiros seis meses, para dietas com redução de CH houve uma redução significativa de HDL-c, com posterior acréscimo significativo, após 2 anos de manutenção da intervenção realizada (SACKS et al., 2009). Outro estudo realizado por dois anos, com sujeitos do sexo masculino, e IMC semelhante ao nosso estudo mostrou aumento dos níveis de HDL nos 3 grupos que receberam intervenção dietética, sendo elas, reduzida em gordura e restrita em calorias, dieta do mediterrâneo e restrita em calorias ou reduzida em CH e não restrita em calorias (SHAI et al., 2008). As três dietas apresentaram o mesmo comportamento, sendo que, ocorreu um acréscimo pouco significativo nos primeiros seis meses de intervenção, e um aumento significativo no decorrer da perda de peso e manutenção ao longo dos dois anos de estudo. Entretanto, a dieta reduzida em CH e a dieta do Mediterrâneo mostraram-se bem mais efetivas para o acréscimo dos níveis de HDL-c (NORDMANN et al., 2006; ORDOVAS, 2006; SHAI et al., 2008).

Outro estudo que corrobora com estes, e sem dúvida nos leva ao questionamento, que um período mais prolongado poderia ter sido útil para uma melhor avaliação do comportamento dos níveis de HDL-c, em nosso estudo, foi o realizado por DUMESNIL e colaboradores (2001) que mostraram que após a utilização da dieta sugerida pela AHA (AMERICAN HEART ASSOCIATION) (GRUNDY et al., 1998) ocorreu redução nos níveis

de HDL-c e incremento na taxa colesterol total/HDL-c, diferentemente, do que se verificou para a dieta com baixo índice glicêmico, reduzida em gordura e rica em proteínas, em seis dias de intervenção dietética (DUMESNIL et al., 2001).

Um estudo que corrobora nossos dados em relação à diminuição nos níveis de HDL-c, após intervenção dietética demonstrou nenhum efeito da composição da dieta sobre estes níveis, independentemente, se a dieta apresentava maior % de proteínas ou menor % de CH, com a mesma quantidade e qualidade de gorduras (NOAKES et al., 2005). A redução de HDL-c foi em torno de 7%, semelhante ao encontrado em nossos dados, em 12 semanas (NOAKES et al., 2005). Tal estudo apresentou um período de intervenção semelhante ao realizado em nosso trabalho, o que efetivamente também pode ter implicado para uma melhor avaliação do comportamento dos níveis de HDL-c, com uma dieta reduzida em CH.

5.3.1.3. Triglicérides, Insulina e PCR: uma Tríade de Variáveis de Risco Aterogênicas Não Tradicionais

Um agrupamento de alterações metabólicas parece estar envolvido entre triglicérides, hiperinsulinemia e PCR. Pacientes com maior depósito de gordura visceral, na região abdominal, não tem sido frequentemente caracterizados com níveis de colesterol e LDL-c aumentados, e sim, por uma junção de distúrbios metabólicos relacionados à inflamação e aterogênese, os quais incluem as variáveis citadas acima, bem como, a presença de partículas de LDL-c pequenas e densas, com acúmulo de ácidos graxos

livres no plasma, e níveis de PCR aumentados (DUMESNIL et al., 2001; MUSSO et al., 2008; SUNYIER, 2006). PCR tem sido bastante investigada entre os marcadores plasmáticos relacionados à inflamação vascular e alterações cardiometabólicas, e desta forma, intervenções não farmacológicas, tais como, modificações dietéticas têm sido discutidas com maior relevância (DESROCHES et al., 2006; LI & FANG, 2004; HEILBRONN & CLIFTON, 2002).

Vários estudos têm sugerido que as dietas reduzidas em gorduras e ricas em CH acabam por promover uma maior ingestão de CH refinados e açúcares, o qual tem levado à dislipidemia, especialmente, a hipertrigliceridemia e a hiperinsulinemia (RADULIAN et al., 2009; SALTEVO et al., 2007; SHAH et al., 2008). Outros estudos recentes têm demonstrado redução da concentração de PCR, por meio de perda de peso, com dietas ricas em fibras solúveis, e baixas em carga glicêmica, tais como, o padrão da dieta do Mediterrâneo (DESROCHES et al., 2006; LIU et al., 2002).

A literatura recente tem sugerido que a dieta pode apresentar efeitos sobre o processo inflamatório, especialmente, por meio da redução dos níveis de PCR, sendo assim, foi demonstrado que dietas que reduzem a glicose pós-prandial e insulina podem ser efetivas na diminuição das concentrações de PCR plasmática (CLIFTON, 2003).

Em outro estudo observou-se que sujeitos com maior ingestão absoluta de CH apresentavam 6 vezes maior risco de incremento nos níveis de PCR séricos, do que aqueles que ingeriam menor quantidade de CH (LOPEZ- GARCIA et al., 2004).

O consumo de uma dieta baixa em gordura, e com maior percentual de CH, entretanto, com incorporação de polifenóis, proteínas a base de soja e fibras solúveis, foi eficaz para redução das concentrações de PCR plasmáticos em 28,2 %, o qual era similar à redução de 33% nos níveis de PCR induzidos por uma dieta muito baixa em gordura saturada, e com adição de medicação. Quando se utilizou apenas a dieta muito baixa em gordura, uma redução pouco significativa (10%) foi obtida (JENKINS et al., 2003).

DESROCHES e colaboradores (2006) observaram em estudos prévios, que o tipo de CH consumido e a quantidade de fibras da dieta poderiam ser um importante aspecto a ser considerado, em relação ao efeito de dietas reduzidas em gorduras e ricas em CH, sobre os níveis de PCR (DESROCHES et al., 2006). Outro estudo recente relacionado à dieta DASH mostrou que o consumo de uma dieta baixa em gordura em sujeitos, com altos níveis de PCR acarretou em uma elevação nos níveis de triglicérides (ARCHER et al., 2003).

Diferentes estudos (DUMESNIL et al., 2001; PANIAGUA et al., 2007; van SCHOTHORST et al., 2008) têm apresentado resultados que mostram uma ligação entre triglicérides, PCR e resistência à insulina, e possíveis associações com acúmulo de tecido adiposo visceral e composição da dieta, especialmente, em relação à qualidade e quantidade de CH. Em estudo realizado em ratos, uma dieta com redução de CH refinados mostrou melhores resultados na redução de gordura corporal, bem como, diminuição dos níveis de insulina plasmática e triglicérides, e controle da esteatose hepática em 13 semanas (van SCHOTHORST et al., 2008). Em

contrapartida, PANIAGUA e colaboradores (2007) demonstrou em estudo com três diferentes tipos de dietas, por 28 dias cada, um aumento no depósito de gordura truncal, no período em que os voluntários se alimentavam com dietas ricas em CH, em comparação aos períodos em que se utilizaram dietas com maior % de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados (PANIAGUA et al., 2007).

Os estudos citados neste subitem corroboram os resultados encontrados em nosso estudo referentes a esta tríade de alterações metabólicas (Triglicérides, Insulina e PCR).

Após a intervenção nutricional observou-se que os níveis de triglicérides séricos, que se apresentavam de forma homogênea no momento basal do estudo, tiveram uma redução significativa apenas no grupo IV, o que é um ponto relevante pelo fato de que os voluntários do grupo III também receberam uma dieta com baixo % de CH, entretanto, sem o acréscimo das lignanas, provenientes da semente de linhaça. As quantidades de proteínas das dietas II, III e IV eram equivalentes, 19 %, 19% e 21%, respectivamente. A quantidade total de gorduras entre as dietas III e IV que apresentavam % reduzido de CH, respectivamente, 35% e 32%, também era similar, sendo, 46% e 47%. No que se referem às gorduras monoinsaturadas, as dietas III e IV continham quantidades semelhantes, sendo que, o grupo III apresentava um pouco mais deste nutriente, propositalmente, para atenuar o possível efeito do ω-3, acrescidos devido à presença da semente de linhaça, nos grupos II e IV.

Em relação aos valores de ω-3, as dietas III e IV, apresentavam valores distintos, sendo, respectivamente, 3 g e 15 g, enquanto que, a dieta

do grupo II continha 14 g, e também a adição das lignanas. Diante desta questão, possivelmente, a quantidade de ω-3 não teria sido a característica que influenciou a redução dos níveis de triglicérides séricos, já que o grupo II recebeu lignanas e ω-3, nas mesmas quantidades do grupo IV. Possivelmente, a redução significativa dos níveis de triglicérides séricos observada no grupo IV foi a presença da associação de duas características na intervenção dietética: quantidade de CH e adição das lignanas da semente de linhaça.

No que se refere à não redução significativa dos níveis de triglicérides no grupo III, possivelmente, a ausência de lignanas, e consequente diminuição do consumo de fibras pode ter sido um fator significativo.

Para os níveis de insulina plasmáticos, e consequentemente, para os valores derivados desta variável, HOMA IR e HOMA beta, obteve-se após a intervenção nutricional redução para todos os grupos que receberam as dietas, entretanto, diminuição significativa ocorreu apenas no grupo III (p=0, 005). Os estudos discutidos anteriormente neste tópico (PANIAGUA et al., 2007; van SCHOTHORST et al., 2008) corroboram com nossos resultados, no que se refere às dietas com menor % de CH serem efetivas na redução dos níveis séricos de insulina plasmática, Homa IR e Homa beta, o que estaria envolvido na diminuição da resistência à insulina. Entretanto, vale ressaltar que no momento basal, os grupos apresentavam diferença significativa para os níveis séricos de insulina, e conseqüentemente, para Homa IR e Homa beta (p=0,038). Tal questão pode ter influenciado nos resultados obtidos, já que se observou uma tendência para a redução nos níveis de insulina e Homa beta, após a intervenção no grupo IV, o que

efetivamente seria esperado, já que a redução significativa dos níveis de triglicérides ocorreu neste grupo.

Desta forma, optou-se pela realização da avaliação do outlier referentes à insulina, Homa beta e Homa IR, no qual se observou que após a retirada dos pontos de discrepância do grupo III, os demais grupos não apresentaram alteração significativa. Um ponto limitante para a análise destas variáveis pode ter sido a duração do nosso estudo.

Em relação aos níveis de PCR verificou-se que no decorrer dos 42 dias de estudo todos os grupos apresentaram uma redução na média destes níveis, entretanto, apenas os grupos II e IV mostraram decréscimo significativo, respectivamente, $p< 0,001$ e $p=0,009$. Sobre este aspecto, alguns estudos (DESROCHES et al., 2006; PANIAGUA et al., 2007; van SCHOTHORST et al., 2008) corroboram com os resultados obtidos pelo grupo IV, já que níveis de PCR apresentam-se reduzidos na presença de dietas com diminuição de CH (32%), possivelmente, pela característica antiinflamatória destas dietas, como foi verificado também no estudo de FESTA e colaboradores (2001; 2002). Neste estudo foi avaliada a associação entre PCR com níveis de glicose plasmática e pós prandial, em sujeitos não diabéticos, e constatou-se significativa associação entre PCR e níveis de glicose pós prandial, após duas horas de ingestão de dieta rica em CH (FESTA et al., 2001, 2002).

Em contrapartida, o grupo II, que apresentava 50% de CH em sua dieta apresentou decréscimo nos níveis séricos de PCR, o que pode ser atribuído, possivelmente, pela adição de semente de linhaça, já que em outros estudos a redução de PCR apresentou-se associada à adição de

antioxidantes, como as lignanas, que na dieta também apresentam um papel antiinflamatório, segundo recentes estudos (DESROCHES et al., 2006; JENKINS et al., 2003; PAN et al., 2008). Dois outros estudos que confirmaram os nossos resultados mostraram que o consumo diário de alimentos enriquecidos com complexo de lignana (500 mg de seicoisolariciresinol diglucosideo), por seis semanas, reduziu os níveis de PCR em 15% (p=0,028), entre o período de intervenção com lignanas e o período de placebo, nos quais os valores de níveis de PCR plasmáticos passaram de 0,92 mg/L para 0,80 mg/L (HALLUND et al., 2008). Pan e colaboradores (2008) mostraram que a suplementação na dieta com cápsulas de lignanas derivadas da semente de linhaça (360 mg/d), por 12 semanas modulou os níveis de PCR, em diabéticos tipo II, quando comparados ao grupo que recebeu placebo (p=0,021) (PAN et al., 2008).

5.3.1.4. Ácido Úrico

A observação dos níveis de ácido úrico ainda é controversa em relação a seu papel, como sendo, um FR cardiovascular, entretanto, seus níveis elevados apresentam-se associados de forma concomitante, com algumas alterações metabólicas, tais como, obesidade abdominal, hipertrigliceridemia, baixos níveis de HDL-c, resistência à insulina, piora da tolerância à glicose e níveis elevados de leptina (FEIG et al., 2008). Marcadores inflamatórios, tais como, PCR têm sido associados a níveis elevados de ácido úrico, bem como, com a ocidentalização da dieta

caracterizada por maior consumo de alimentos refinados (JOHNSON et al., 2005).

Em nosso estudo os níveis de acido úrico apresentaram-se reduzidos em todos os grupos que receberam intervenção nutricional, entretanto, os grupos III e IV tiveram decréscimo significativo. Possivelmente, os resultados obtidos para estes grupos, em relação aos FR cardiovascular apresentaram como ponto em comum, a redução de CH, que consequentemente, associou-se com diminuição do depósito de gordura visceral, da resistência à insulina, e dos níveis de LDL-c. A maior diminuição das concentrações de ácido úrico ocorreu no grupo IV (11%), enquanto que, nos grupos II e III, a redução foi de 6,6% e 8,3%, respectivamente. O grupo IV, efetivamente, também apresentou decréscimo dos níveis de colesterol total e LDL-c e uma tendência à redução dos níveis de insulina e Homa beta, assim como, no grupo III, mas, especialmente apresentou redução de triglicérides, e PCR, comportamento este não observado para o grupo III.

5.3.2. Em Relação aos Indicadores Inflamatórios

5.3.2.1. Fator de Necrose Tumoral α (TNF-α)

Dentre as adipocinas produzidas e liberadas pelo tecido adiposo humano encontra-se o TNF-α (DANDONA; ALJADA & BANDYOPADHYAY, 2004). O excesso de peso, especialmente, com aumento de gordura visceral e associado a baixo grau de inflamação pode ser causado pela elevação de adipocinas pro-inflamatórias, como o TNF-α, induzido pela ativação do fator

nuclear Kappa B. Associações têm sido observadas entre o aumento de TNF- α e diminuição de adipocinas antiinflamatórias, conhecidas como adiponectina. Tais inter-relações contribuem para complicações em longo prazo, tais como, resistência à insulina, disfunção endotelial, e aterosclerose (MADSEN et al., 2008). Em alguns estudos a redução de TNF-α e aumento dos níveis de adiponectina parecem estar relacionados à perda de peso, e de medidas de gordura corporal (POLAK et al., 2007; YANG et al., 2001).

Em nosso estudo observaram-se diminuição nos níveis séricos de TNF-α, apenas nos grupos que apresentaram redução nas concentrações séricas de PCR, sendo eles, os grupos II e IV. Para os grupos II e IV a diminuição dos níveis séricos de TNF-α foi significativa, sendo respectivamente, p=0,008 e p=0,003.

A associação entre a redução de PCR e TNF-α já havia sido verificada em outros estudos (MALAVAZOS et al., 2007), alguns deles com utilização da dieta do Mediterrâneo (DESROCHES et al., 2006). Outros estudos têm mostrado a relação entre dieta reduzida em CH e diminuição de alguns marcadores inflamatórios, tais como, PCR, TNF-α e IL-6 (RADULIAN et al., 2009). Tais dietas poderiam reduzir a atividade de algumas enzimas envolvidas na síntese de colesterol, por meio, da redução da secreção de insulina, e consequentemente, diminuição de picos de insulina pós prandial (O'KEEFE & BELL, 2007).

Outro estudo que corrobora com tais dados mostrou que dietas ricas em CH e calorias estimulam o estresse oxidativo e modificações inflamatórias, tais como, elevação dos níveis de TNF-α e IL-6, associados à intolerância à glicose, o que promoveria a inflamação subclinica (DANDONA;

ALJADA & BANDYOPADHYAY, 2004; KASIM-KARAKAS et al., 2006). A restrição dietética, por meio da ingestão de glicose, e perda de peso, em resposta a modificações de estilo de vida poderiam ser aspectos positivos na redução do estresse oxidativo agudo e inflamação celular (ESPOSITO et al., 2002; KOH et al., 2005).

Sobre tal aspecto, o estudo de DE LORENZO e colaboradores (2007) mostrou níveis de TNF-α significativamente maiores em sujeitos com peso normal, mas com % de gordura acima de 30% (42, 7 ± 10,54 pg/ml) e em pré- obesos (56, 4 ± 11,77 pg/ml), do que naqueles não obesos e com % de gordura corporal menor do que 30% (20,1 ± 4,95 pg/ml) ($p<0,001$) (DE LORENZO et al., 2007), o que mostrou uma relação menos estreita do TNF-α com IMC. Outro estudo mostrou que sobrepeso e obesidade, especialmente, adiposidade central, apresentam-se correlacionados a marcadores inflamatórios, sendo que, sujeitos do sexo masculino com esta característica apresentaram níveis 30% e 53% maiores de TNF-α e PCR, respectivamente (PANAGIOTAKOS et al., 2005).

Nossos dados mostraram que uma redução significativa dos níveis de TNF-α em torno de 51,5% e 47%, respectivamente, para os grupos II e IV, estava relacionada a pequenas modificações de CA e peso corporal. A diminuição de CA para os grupos II e IV foi de 14% e 12%, respectivamente, enquanto que, a redução de peso foi de 6% para ambos os grupos. A redução dos níveis de PCR acompanhou a redução de TNF-α, sendo, respectivamente, 38,5% e 26% para os grupos II e IV. *Desta forma, pode-se observar que pequenas alterações ocasionadas por mudanças de estilo de*

vida, nos indicadores antropométricos sugeriram importantes modificações nos indicadores inflamatórios.

Em contrapartida, alguns estudos com redução de CH, mostraram diminuição dos níveis de PCR, sem alteração nas concentrações de TNF-α, mesmo, com o uso de antioxidante, proveniente do óleo de linhaça (de LUIS et al., 2007; PASCHOS et al., 2007). Entretanto, o antioxidante utilizado no estudo de PASCHOS e colaboradores (2007) apresentava-se rico em ácido alfa-linolênico (18:3n-3), e não em lignanas (PASCHOS et al., 2007).

Em nosso estudo o papel antioxidante das lignanas, bem como, a redução de CH encontradas na dieta do grupo IV, possivelmente, foram características importantes na redução dos níveis de TNF-α, e conseqüentemente, nos níveis de PCR (HEILBRONN & CLIFTON, 2002), o que mostrou o papel inflamatório do CH e antiinflamatorio das lignanas. Para a redução de TNF-α e PCR, a presença das lignanas pode ter apresentado um papel mandatório, já que para o grupo III que também apresentava redução de CH, tais diminuições significativas de marcadores inflamatórios não foram verificadas, diferentemente, do que ocorreu nos grupos II e IV.

5.3.2.2. *8.* Iso- Prostaglandin F2 α (Isoprostane sérico)

Observamos em nosso estudo, que no momento basal, apenas o grupo II mostrava-se diferente significativamente dos demais grupos ($p<0,05$). Entretanto, todos os grupos apresentavam moderados níveis de isoprostane sérico, em relação a níveis encontrados em outros estudos

recentes, ao qual a média da concentração sérica de isoprostane foi de 290600,0 pg/ml. (VANHARANTA et al., 2002).

Os grupos que receberam intervenção nutricional, em nosso estudo, mostraram redução significativa nos níveis de isoprostane sérico ($p<0,05$). Considerando-se que níveis de isoprostane sérico representam modificações significativas do ácido araquidônico, resultante da atuação de radicais livres nas membranas de fosfolípides ou LDL-c circulantes (ROBERTS & MORROW, 2000) pode-se dizer que a intervenção nutricional atuou igualmente nos grupos estudados, independentemente, das características das dietas fornecidas, em relação a redução de CH ou presença de antioxidante, proveniente da adição da semente de linhaça triturada.

Outros estudos têm demonstrado o papel da dieta, especialmente, das lignanas e seus derivados (enterolactona e enterodiol) na redução da peroxidação lipídica em humanos (HUTCHINS et al., 1995; WAHALA et al., 2001). Outro importante aspecto a ser observado é que enterolignanas são obtidas de outros alimentos ricos em fibras, além da semente de linhaça triturada, tais como, frutas, vegetais e outros grãos, o que poderia explicar a redução dos níveis de isoprostane sérico em todos os grupos que receberam a intervenção dietética.

Desta forma, verificou-se que para que a redução do nível deste biomarcador de peroxidação lipídica ocorresse a presença da intervenção nutricional, bem como, redução de calorias e consumo de fibras, diminuição de peso corporal e adiposidade central foram fundamentais (VANHARANTA et al., 2002).

5.3.3. Em Relação aos Indicadores Hormonais

5.3.3.1. Leptina

Os níveis séricos de leptina em nosso estudo não apresentaram diferença significativa no momento basal (p=0,111). Após os 42 dias de estudo, nenhum dos grupos apresentaram diferença significativa, entre o momento basal, e final do estudo.

Entretanto, para o grupo IV observou-se uma tendência de decréscimo após a intervenção nutricional (p=0,008).

A leptina tem sido correlatada em vários estudos com o aumento do IMC e FR cardiovascular, sendo que, na obesidade seus níveis aparecem aumentados e são reduzidos com a perda de peso (DUBEY & HESONG, 2006; FARAJ et al., 2003; KOUTSARI et al., 2003). Em nossos dados, apesar de todos os grupos com intervenção nutricional terem reduzido peso e IMC, a tendência à diminuição nos níveis séricos de leptina ocorreu somente no grupo IV.

Alguns estudos têm demonstrado que em sujeitos saudáveis os níveis de PCR apresentam-se correlacionados com os níveis de leptina (independentemente do sexo), com medidas de adiposidade e a outras variáveis relacionadas à FR cardiovascular (DUBEY & HESONG, 2006; SATOH et al, 2008). Leptina também se apresenta associada à produção de citocinas pró-inflamatórias, IL-6 e TNF-α, por diferentes células imunes (MATSUZAWA, 2006). Tais citocinas contribuem para a síntese hepática de PCR, o que faz com que, a leptina apresente um possível papel em sua

regulação e produção, e consequentemente, encontre-se associada com FR relacionados a complicações cardiovasculares (FANTUZZI & MAZZONE, 2007).

Estudos têm mostrado que a geração de estresse oxidativo, caracterizada pelo aumento de espécies reativas de oxigênio apresentam um papel regulatório no processo inflamatório relacionado à aterogênese (SAMUEL et al., 2004; YU & COOPER, 2001). A leptina aumenta o estresse oxidativo, e desta forma, correlaciona-se ao aumento da secreção de lipase lipoproteica aterogênica, o que favorece a transformação de macrófagos em células espumosas (CLEE at al., 2000).

Outros estudos recentes mostram que a concentração de leptina apresenta-se aumentada em sujeitos com FR cardiovascular, em torno de 48,9 ng/ml, e com diminuição significativa após a redução de peso, já que concentrações séricas de leptina parecem ser alteradas pela composição nutricional da dieta (WEIGLE et al., 1997; KOUTSARI et al., 2003).

Desta forma, de acordo com os estudos citados acima, nossos dados corroboram com os encontrados na literatura. Embora tenha sido observada apenas uma tendência, a diminuição de leptina verificada no grupo IV, apresentou-se concomitantemente com redução de PCR e TNF-α, também encontradas neste grupo, que apresentava como característica a redução de CH, e adição de semente de linhaça em pó. KOUTSARI e colaboradores (2003) observaram concentrações séricas de leptina (18,4 ng/ml) significativamente maiores ($p<0,05$) após a ingestão de dietas ricas em CH. Outro estudo recente, também mostrou interação entre efeitos de dieta com redução de CH e gênero, sobre a redução de leptina ($p=0,04$), quando

comparada à dieta reduzida em gordura, sendo que, para o sexo masculino refletiu-se uma maior redução dos níveis de leptina, juntamente com a diminuição do peso corporal (SHAI et al., 2008).

Os grupos II e III não apresentaram diferenças significativas nos níveis de leptina, bem como, não mostraram uma tendência para o decréscimo destes níveis, após a intervenção nutricional, mesmo, tendo como característica adição de linhaça ou redução de CH. Possivelmente, em relação aos níveis de leptina, a associação destes dois aspectos possa ter um papel mais significativo (KOUTSARI et al., 2003), especialmente, pelo fato de nossa amostra ter sido constituída apenas pelo sexo masculino, conforme descrito por SHAI e colaboradores (2008). Outro estudo recente, que corrobora a questão da redução de CH para diminuição dos níveis de leptina comparou dietas isocalóricas (1500 Kcal/d), com 52% de CH e 38 % de CH, valores aproximados às dietas fornecidas em nosso estudo, e mostrou que dietas com % reduzida de CH diminuíram as concentrações de leptina (149,5 ng/ml v 115 ng/ml; $p< 0,05$) e PCR, em 3 meses (de LUIS et al., 2007).

Outros estudos recentes mostram que a concentração de leptina apresenta-se aumentada em sujeitos com FR cardiovascular, em torno de 49,2 ng/ml, e com redução significativa após a diminuição de peso, após 6 meses (FARAJ et al., 2003; SATOH et al., 2008). Em nosso estudo, o tempo de intervenção dietética pode ter sido um fator limitante, para se ter encontrado resultados mais significativos, já que alterações nos níveis de leptina parecem exigir um maior período de avaliação.

5.3.3.2. Adiponectina

Recentemente tem sido retratado que níveis de adiponectina parecem estar relacionados a doenças associadas ao estilo de vida, tais como, obesidade, hipertensão, doenças cardíacas e vasculares (MADSEN et al., 2008; FANTUZZI, 2008; KOTANI et al., 2007). Concentrações de adiponectina apresentam-se negativamente correlacionadas com níveis de PCR, TNF-α e estresse oxidativo, e aumento de gordura visceral (INADERA, 2008; MATSUSHITA et al., 2006). Em contrapartida, adiponectina tem sido relacionada à melhora da ação da insulina, controle glicêmico e perfil lipídico favorável (YANNAKOULIA et al., 2008), sendo que, hipoadiponectinemia encontra-se associada à resistência à insulina e aterosclerose (KOH et al., 2005; NAKASHIMA et al., 2008).

Desta forma, *concentrações de adiponectina têm sido utilizadas para identificar fatores de estilo de vida modificáveis, o qual se inclui os parâmetros relacionados à dieta* (KASIM - KARAKAS et al., 2006; KOTANI et al., 2007; YANNAKOULIA et al., 2008). Considerando-se tal questão, nossos dados mostraram que após a intervenção nutricional, todos os grupos tiveram aumento em seus níveis médios de adiponectina, sendo que, apenas os grupos III e IV apresentaram diferença significativa, $p=0,047$ e $p<0,001$, respectivamente.

Nossos dados mostram-se inter relacionados, conforme observado nos recentes estudos (FANTUZZI, 2008; YANNAKOULIA et al., 2008), já que a obtenção de perfil lipídico mais adequado em relação a colesterol total e LDL-c, bem como, redução dos níveis de insulina foram observados no

grupo III, enquanto que, redução de triglicérides, PCR e TNF-α foi verificada no grupo IV. Diminuição de acido úrico e isoprostane sérico foram mostradas em ambos os grupos. Todos estes aspectos apresentam-se associados, de acordo com a literatura (PASCHOS et al., 2007; SALTEVO et al., 2007), com melhora dos níveis de adiponectina, que possivelmente retratou mudança de estilo de vida, que em nosso estudo foi caracterizada pela intervenção dietética, já que 81% de nossos voluntários eram sedentários.

Alguns estudos confirmam nossos achados. YANNAKOULIA e colaboradores (2008) mostraram uma positiva associação entre padrão dietético com alto consumo de grãos integrais e produtos lácteos desnatados com aumento dos níveis de adiponectina ($r=0,15$; $p=0,04$). Neste mesmo estudo, circunferência abdominal mostrou-se como um dos preditores em relação aos níveis de adiponectina ($r= - 0,46$; $p= 0,03$) (YANNAKOULIA et al., 2008). Em relação à intolerância à glicose e TNF- α foi observado que, após 2 horas da ingestão de 75 g de glicose oral, os níveis de glicose sanguínea, em resposta a carga de glicose mostrou-se negativamente associado aos níveis de adiponectina sérica ($p< 0, 0001$), bem como, as concentrações séricas de TNF-α ($r= - 0,17$; $p=0,03$) (NAKASHIMA et al., 2008). Desta forma, sugeriu-se que baixos níveis de adiponectina poderiam ser considerados um preditor de uma alteração na homeostase da glicose.

Em foco sobre este achado cabe ressaltar que os grupos que mostraram acréscimo nos níveis de adiponectina, em nosso estudo apresentavam como característica comum, a redução de CH refinados e diminuição na % deste macronutriente. Outro estudo que corrobora este resultado mostrou em mulheres pós - menopausadas, que dietas reduzidas

em gordura e rica em CH, com diferentes níveis de ingestão calórica apresentaram diferentes resultados sobre os níveis de adiponectina, PCR e perfil lipídico (KASIM-KARAKAS et al., 2006). Observou-se que com restrição calórica e perda de peso, bem como, redução do consumo de CH na fase ad-libitum ocorreu redução de PCR (4,3 mg/L v 2,5 mg/L; $p<0,01$) e de triglicérides (164 mg/dL v 137 mg/dL; $p <0,05$), aumento dos níveis de adiponectina (14,2 mg/L v 16,3 mg/L; $p<0,05$) . Enquanto que, na fase eucalórica, efeitos não favoráveis ocorreram sobre marcadores inflamatórios (KASIM-KARAKAS et al., 2006).

KOPP e colaboradores (2005) também observaram em sujeitos obesos, que os níveis de adiponectina correlacionavam-se negativamente com os níveis de PCR ($r= - 0,59$; $p < 0,0006$), sendo que, após restrição calórica e perda de peso, as concentrações de adiponectina aumentaram significativamente (15,4 v 19,8 ug/mL; $p< 0,0005$) associadas com modificações de peso e IMC ($r = - 0,45$, $p<0,007$; $r= -0,35$, $p < 0,04$) (KOPP et al., 2005).

Desta forma, a perda de peso parece ser um fator fundamental para o acréscimo de adiponectina sérica, conforme, observado em alguns estudos (KASIM - KARAKAS et al., 2006; KOPP et al., 2005). Entretanto, em nosso estudo todos os grupos que receberam intervenção dietética reduziram seu peso corporal e medidas de circunferência abdominal, com médias equivalentes, mas, apenas os grupos com redução de % de CH na dieta obtiveram acréscimo significativo nos níveis de adiponectina, no final do estudo.

Possivelmente, uma explicação para este achado seria o fato de que PCR apresenta-se correlacionada em vários estudos com os níveis de adiponectina (de LUIS et al., 2007; MADSEN et al., 2008). Em contrapartida, PCR apresenta-se associado a carboidrato dietético, que estimula a produção de triglicérides no fígado, e ocasiona esteatose hepática, bem como, aumento de marcadores inflamatórios. Considerando-se que tais correlações sejam existentes, PISCHON e colaboradores (2005) demonstraram que os níveis séricos de adiponectina apresentaram-se em relação à dieta, inversamente correlacionados com a carga glicêmica, e positivamente com o conteúdo de gordura total (PISCHON et al., 2005). Estas associações poderiam explicar os nossos achados, em relação ao aumento dos níveis de adiponectina, nos grupos III e IV, mesmo que, para o grupo III não tenhamos verificado redução significativa de PCR, embora, a diminuição destes níveis também tenha ocorrido durante a intervenção dietética realizada.

5.3.4. Em Relação aos Indicadores Nutricionais: Lignanas, Enterolactona (ENL) e Enterodiol (END)

No momento pós intervenção nutricional verificou-se um incremento dos níveis de ENL e END séricos, nos grupos que continham a adição da semente de linhaça em sua dieta. No grupo III ocorreu um decréscimo de enterodiol sérico. Estes resultados podem ser justificados, pelo fato de que, a ingestão de ENL e END apresentam-se associadas à ingestão de lignanas, provenientes dos alimentos ricos em fibras (MILDER et al., 2007; KILKKIEN

et al., 2003), sendo que, durante a intervenção nutricional houve uma redução da ingestão de alimentos de forma generalizada, em relação à ingestão inicial. Desta forma, a diminuição de ingestão de fibras no grupo III pode ter refletido esta redução de END, o que não se verificou nos grupos II e IV, devido à adição de semente de linhaça na dieta.

Em relação aos níveis urinários de ENL e END, na diurese de 24 h observou-se que não houve alteração significativa após a intervenção para os níveis de END, entretanto, verificou-se aumento significativo na concentração urinária de ENL, em 24 h apenas para o grupo IV, e diminuição significativa para o grupo III. Isto pode ser justificado pelo estudo realizado em homens e mulheres japonesas, nos quais, o consumo de vegetais e frutas apresentou-se associado às lignanas urinárias (ADLERCREUTZ et al., 1991; KILKKIEN et al., 2001). Outro estudo, com intervenção dietética controlada mostrou que conforme se aumentava a ingestão de vegetais e frutas ocorriam um incremento da excreção de ENL na urina, de maneira dose-dependente (HUTCHINS et al., 1995). No grupo II este incremento não ocorreu, possivelmente, pelo fato de que, no momento basal os níveis de ENL urinária, em 24h no grupo IV eram inferiores aos do grupo II, mesmo não havendo diferença significativa, no basal, entre os grupos. Entretanto, isto pode ter ocasionado o não aparecimento de diferença estatística para o grupo II. Pelo fato das concentrações de enterolactona séricas e urinárias apresentaram-se dose-dependentes (KUIJSTEN et al., 2009), possivelmente observou-se uma diminuição significativa dos níveis de ENL urinária no grupo III, devido as reduções significativas na ingestão alimentar deste grupo, no que se refere às fibras

dietéticas, bem como, a ausência da adição de semente de linhaça, o que representa uma fonte excedente relevante de lignanas na dieta.

Em nossos dados também não havia diferenças significativas, no momento basal, para os níveis séricos de END e ENL, o que foi fundamental para uma avaliação mais adequada de tais resultados, já que existem limitações na dosagem destas variáveis, pela presença de grande variabilidade inter pessoal, o que inclui não somente a dieta, mas, diferenças na flora intestinal, tais como, composição da microflora, capacidade para metabolizar lignanas e taxa de absorção (KILKKIEN et al., 2001), além da possibilidade do uso de antibióticos, que foi observado pelo autor no decorrer do estudo, juntamente com o serviço médico. Outro aspecto que foi verificado semanalmente nas anamneses e recordatórios realizados no decorrer do estudo foi a presença de constipação e alteração do hábito intestinal, já que, constipação e consumo de grãos integrais, frutas e vegetais parecem ser os mais importantes determinantes da ENL sérica em homens (KILKKIEN et al., 2001).

Outro aspecto importante é que a semente de linhaça é uma das principais fontes de lignanas, sendo o SDG, a principal lignana existente neste alimento (FUKUMITSU et al., 2008). O SDG é convertido pelas bactérias do cólon, em ENL e END. Entretanto, as bactérias que convertem SDG em END, não são as mesmas que convertem END em ENL (MILDER et al., 2007). Tal questão poderia explicar as diferenças encontradas entre as concentrações de END e ENL urinárias observadas em nosso estudo.

5.3.4.1. Comportamento dos Grupos que Apresentaram Acréscimo dos Níveis de Enterolignanas Séricas e Urinárias

Não observamos diferenças significativas em relação aos indicadores antropométricos, nos grupos que receberam a adição de semente de linhaça, e consequentemente apresentaram incremento dos níveis de END e ENL sérico e urinário. Sobre este aspecto podemos verificar que a intervenção dietética, independentemente, de suas características referentes à composição de macronutrientes e acréscimo de semente de linhaça constituiu o ponto preponderante para diminuição de peso corporal, IMC, pregas cutâneas centrais e circunferência abdominal. Tais resultados corroboram com recente estudo, que demonstrou que a redução de peso e IMC estariam mais associadas à ingestão calórica da dieta, do que, ao que se refere a sua composição nutricional de macronutrientes (SACKS et al., 2009).

Entretanto, no que se referem aos indicadores relacionados à FR cardiovascular, inflamatórios e hormonais, os grupos que receberam a adição de enterolignanas apresentaram diferentes respostas, após a intervenção dietética.

No que se destina a FR cardiovascular observou-se que entre estes grupos, com adição de semente de linhaça, apenas o grupo IV mostrou resultados significativos, especialmente, em relação à diminuição nos níveis de colesterol total, LDL-c, TG e ácido úrico (HALLUND et al., 2006; JENKINS et al., 1999)

Em relação à PCR, TNF-α e isoprostane sérico os grupos II e IV apresentaram resultados significativos na redução destes níveis. O que enfatiza a possível importância de substâncias antioxidantes, tais como, as enterolignanas, na redução do processo inflamatório subclinico (KEOGH et al., 2008; KUIJSTEN et al., 2009; RADULIAN et al., 2009; VANHARANTA et al., 2002)

Sob o aspecto referente aos indicadores hormonais detectou-se que em relação aos grupos que apresentaram acréscimo de enterolignanas na dieta, apenas o grupo IV mostrou aumento significativo nos níveis de adiponectina sérica ($p<0,001$), e uma tendência para a redução dos níveis de leptina sérica ($p=0,080$). Tais resultados são condizentes com outros estudos que mostraram melhora nos níveis de adiponectina em sujeitos que apresentaram dietas com padrões caracterizados por maior consumo de grãos e sementes, e redução de gordura, em relação aqueles com padrão dietético ocidental (YANNAKOULIA et al., 2008; PANIAGUA et al., 2007).

Desta forma, é importante ressaltar que uma nova classificação de sujeitos a serem tratados tem-se despontado. Sujeitos visceralmente obesos e, por conseguinte, inflamados subclinicamente não são caracterizados por um maior aumento nos níveis de colesterol total ou LDL-c, mas sim, por um agrupamento de alterações metabólicas que incluem LDL-c pequenas e densas, aumento nos níveis de TG, ácido úrico e PCR, entre outros novos marcadores de risco não tradicionais, os quais, se incluem TNF-α, isoprostane sérico, adiponectina e leptina (DUMESNIL et al., 2001). Tais características podem ser encontradas em sujeitos normocolesterolêmicos, normotensos e não diabéticos, entretanto, com maior risco em relação ao

perfil metabólico, e mediante tal questão, o desenvolvimento de abordagens nutricionais e terapêuticas, para melhora deste perfil de risco metabólico são fundamentais.

5.3.5. Em Relação aos Indicadores da Ingestão de Nutrientes da Dieta Utilizada no Momento Pré e Pós Intervenção Nutricional

Em nosso estudo observamos que para todos os grupos que receberam intervenção nutricional ocorreu decréscimo significativo na ingestão de calorias totais da dieta, sendo uma redução de 56,3%, 54,4% e 57%, respectivamente, para os grupos II, III e IV. As médias calóricas ingeridas pelos grupos estudados encontravam-se bastante elevadas, e após a intervenção dietética, as médias calóricas verificadas por meio dos recordatórios alimentares apresentaram-se menores, do que aquelas observadas no momento pré intervenção.

Em relação aos carboidratos totais da dieta foi observado que após os 42 dias de estudo ocorreu uma diminuição significativa nos níveis de ingestão deste macronutriente, em todos os grupos que receberam intervenção nutricional. A composição nutricional referente ao % de CH, no momento pós intervenção dietética foi de 51%, 45% e 40,3%, respectivamente, para os grupos II, III e IV, sendo que, o grupo II foi o que apresentou ingestão mais aproximada daquela sugerida pela orientação nutricional. No que se refere ao momento basal verificou-se que os grupos II e IV apresentavam % de CH semelhantes (53% v 52%), enquanto que, o grupo III mostrava que 47% da energia proveniente de sua dieta, no

momento basal originavam-se de CH. Desta forma, observamos que o grupo que apresentou maior diferença no % de ingestão de CH entre os momentos pré e pós intervenção nutricional foi o IV (52% v 40,3%).

No que se refere à ingestão de proteínas verificou-se que, após a intervenção nutricional o grupo II foi o que apresentou uma ingestão mais próxima à sugerida (21% v 19%). Os grupos III e IV apresentaram uma ingestão protéica pós intervenção maior do que a proposta pela dieta, sendo, 28 % e 30 %, respectivamente, para os grupos III e IV.

A partir deste aumento na ingestão de proteínas nos grupos III e IV, após a intervenção dietética verificou-se que o % de gorduras totais presentes nas dietas destes grupos foi menor, do que a sugerida pela intervenção, sendo 28% v 46%, para o grupo III e 31,2% v 47%, para o grupo IV.

Desta forma pode-se verificar que os grupos que mais modificaram sua ingestão basal de macronutrientes, em relação ao momento pós intervenção foram os grupos III, no que se refere à ingestão de proteínas (19,3% v 28%), e o grupo IV no que se refere a % de CH (52% v 40,3%) e proteínas (17% v 30%). Em relação aos % de gordura total da dieta, para todos os grupos que receberam intervenção nutricional, não se observou diferenças significativas, entre o momento basal e pós intervenção.

Os resultados observados em nosso estudo, em relação aos macronutrientes ingeridos após a intervenção nutricional corroboram com os dados de SACKS e colaboradores (2009), no que se refere à redução calórica. Desta forma, *em nosso estudo, independentemente, da composição da dieta, a redução calórica parece ser o mais importante fator*

para a perda de peso, bem como, diminuição de medidas antropométricas relacionadas à gordura visceral (SACKS et al., 2009).

No entanto, *nossos dados mostraram que diferenças em % de macronutrientes da dieta podem estar associadas à alteração de indicadores relacionados à FR cardiovascular, inflamação e respostas hormonais* como verificado em recentes estudos que mostraram redução de FR cardiovascular, tais como, diminuição de colesterol, LDL-c e TG em dietas reduzidas em CH (KASIM-KARAKAS et al., 2006; KUIJSTEN et al., 2009), bem como, redução dos níveis de PCR e TNF-α e melhora das concentrações de adiponectina e leptina, com dietas reduzidas em CH e acrescidas de antioxidantes (YANNAKOULIA et al., 2008; RADULIAN et al., 2009).

Em relação ao cálculo da ingestão de gorduras pode-se observar que ocorreu redução significativa para gorduras monoinsaturadas e saturadas, em todos os grupos que receberam intervenção dietética, especialmente, no que se referem as gorduras saturadas. No que tange às gorduras poliinsaturadas, para os grupos que receberam intervenção dietética verificou-se que apenas o grupo III teve uma redução significativa na ingestão deste nutriente. Em relação, especificamente, ao cálculo da ingestão de ω-3 e ω-6, nos momentos pré e pós intervenção dietética observou-se que os grupos que utilizaram adição da semente de linhaça (II e IV) mostraram incremento significativo da ingestão de ω-3, conforme, o cálculo realizado por meio de recordatório nutricional (SALVO & GIMENO, 2002; SINGH et al., 2009). Para ω-6 observou-se decréscimo significativo para todos os grupos que apresentaram intervenção nutricional.

Em relação aos grupos que apresentaram acréscimo da ingestão de ω-3, após a intervenção nutricional, nossos dados mostraram melhora nos níveis de PCR e TNF, o que poderia dificultar a observância em relação ao papel das enterolignanas nestes grupos, entretanto, à resposta em relação aos marcadores bioquímicos e hormonais mostrou-se diferente, conforme, já descrito em outros estudos recentes que verificaram que ω-3 apresenta papel na redução de alguns marcadores inflamatórios, mas, não mostrou alterações significativas para indicadores hormonais e metabólicos (TSITOURAS et al., 2008).

Sob o aspecto referente aos níveis de colesterol ingerido nos momentos pré e pós intervenção pode-se observar que todos os grupos apresentavam ingestão de colesterol dietético acima do recomendado pelo NCEP (NCEP III (EXPERT PANEL ON DETECTION EVALUATION AND TRATAMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. ADULT TRATAMENT PANEL III, 2001), e após a intervenção dietética, todos os grupos reduziram sua ingestão para níveis menores e mais próximos as recomendações do NCEP (<200 mg/d).

Em relação à ingestão de fibras totais observou-se que os grupos com acréscimo de semente de linhaça não apresentaram alteração significativa no consumo de fibras, e o grupo com adição de arroz em pó mostrou redução significativa do consumo deste nutriente. Isso pode ser justificado pelo fato de que todos os grupos que receberam intervenção dietética tiveram redução na ingestão dos nutrientes avaliados após a intervenção nutricional. Entretanto, os grupos com adição de semente de linhaça apresentaram em sua dieta um acréscimo de fibras, proveniente deste

alimento, o que possivelmente justificaria este acréscimo, ou a não redução no momento pós intervenção. Além de que, este acréscimo de fibras pode mostrar uma significativa associação com níveis de enterolactona sérica, já que estudos mostraram que a avaliação dos níveis séricos e urinários de enterolactona têm sido considerados úteis biomarcadores do consumo de fibras (VANHARANTA, et al., 2002), sendo, possivelmente, uma das mais precisas medidas de exposição e modificação dietética, no que tange a mudanças de estilo de vida, em relação a outros métodos de avaliação dietética tradicional (VANHARANTA, et al., 2002).

Diante de tais observações nossos dados corroboram com recentes estudos que demonstram que a presença de excesso de calorias leva ao acúmulo de tecido adiposo, especialmente visceral, o que se associa ao processo inflamatório subclinico (GIUGLIANO et al., 2006; HOTAMISGIL, 2006). *Entretanto, não somente o excesso de calorias pode estar relacionado ao processo inflamatório, mas também a procedência de tais calorias.*

Estudos recentes têm demonstrado que alguns biomarcadores inflamatórios apresentam-se associados a alguns tipos de CH da dieta, e seu conteúdo em fibra (DESROCHES et al., 2006), assim como, padrões dietéticos, com menor consumo de carboidratos refinados e gorduras mostram-se relacionados com maiores concentrações séricas de adiponectina (YANNAKOULIA et al., 2008).

Emerge-se, então a questão de que, independentemente, da perda de peso, algumas características na composição nutricional das dietas poderia ser relevante, no que tange a modificação de indicadores bioquímicos,

inflamatórios e hormonais, como sugerido na revisão de RADULIAN e colaboradores (2009); na qual, dietas com maiores níveis de glicose apresentariam um efeito glucotóxico sobre as células beta, por meio, do prejuízo oxidativo causado pelos radicais livres; seguidos de um aumento de ácidos graxos livres e triglicérides, o que ocasionaria resistência à insulina.

Concomitantemente, uma relação inversa parece existir entre adiponectina e sensibilidade à insulina, bem como, com o aumento de citocinas inflamatórias, tais como, TNF-α e PCR, que refletem uma expansão da massa de tecido adiposo (TIMPSON et al., 2005). Todos estes fatores contribuem para o aumento da liberação de ácidos graxos livres para os adipócitos abdominais, o que contribui para o processo inflamatório subclinico (KOPELMAN et al., 2007).

Desta forma, nossos dados corroboram com estudos citados acima, no que se refere ao fato de que todos os grupos que receberam redução de calorias, independentemente das características da intervenção dietética apresentaram perda de peso, de maneira equivalente (RADULIAN et al., 2009; SACKS et al., 2009). *Entretanto, para modificação de indicadores bioquímicos, especialmente, colesterol total, LDL-c, triglicérides, ácido úrico* (MILLER et al., 2009; PANIAGUA et al., 2007; SHAI et al., 2008), *bem como, redução de indicadores inflamatórios, PCR e TNF-α,* (SUNYER, 2006; van SCHOTHORST et al., 2009) *e melhora do perfil hormonal, em relação ao processo inflamatório* (YANNAKOULIA et al., 2008), características específicas *na composição de macronutrientes, como menor % de CH* (MILLER et al., 2009) *e adição de antioxidantes* (KUIJSTEN et al., 2009; O'KEEFE & BELL, 2008), *tais como, as enterolignanas poderia ser uma*

estratégia inicial, no controle de sujeitos sedentários e sobrepeso, com maior acúmulo de gordura abdominal, e consequentemente, portadores de fatores de risco associados ao processo inflamatório subclinico.

5.4. Comportamento do Grupo IV: Adição de Semente de Linhaça e Redução de CH

Foram realizadas as correlações para algumas variáveis de interesse, entretanto, em nossos resultados mostramos apenas as correlações que apareceram de forma significativa, sendo que, isto ocorreu apenas para o grupo IV.

Observamos que em relação às *variáveis antropométricas* a variação da circunferência abdominal correlacionou-se negativamente com a variação de adiponectina (r= - 0,627; 0,039), sendo assim, se durante a intervenção nutricional as medidas de CA permanecerem aumentadas, possivelmente ocorrerão alterações nos níveis de adiponectina. Diante da literatura observamos tal questão, já que os níveis de adiponectina podem reduzir com o aumento da gordura abdominal (ALTINOVA et al., 2007; SHAND et al., 2003). Em contrapartida, verificamos que se durante a intervenção dietética ocorrem variações significativas na CA, elas se correlacionam positivamente com as variações dos níveis séricos de leptina (r= 0,743; p=0,009), o que corrobora com dados da literatura recente (DUBEY et al., 2006; FARAJ et al., 2003; MATSUZAWA, 2006). Em relação ao IMC, observou-se que se durante a intervenção dietética ocorrem maiores variações para o IMC haveria positivamente uma correlação com maiores

variações para ácido úrico (r=0,651; p=0,012), conforme verificado na literatura (FEIG et al., 2008).

Em relação aos *indicadores inflamatórios* encontramos resultados que corroboram com a literatura recente, que têm apontado TNF-α, como indicador inflamatório relacionado ao dismetabolismo nutricional pós prandial, e, consequentemente, processo inflamatório subclinico (FANTUZZI, 2008). As correlações encontradas para esta variável foram em relação à TG (r= - 0,700; p=0,017), insulina (r= - 0,691; p =0,019), Homa IR (r= - 0,773; p= 0,005), Homa Beta (r= - 0,645; p= 0,032) e CA (r= - 0,270; p= 0,422). Tais correlações foram negativas, o que mostrou que se TG, insulina, Homa IR, Homa Beta e CA se mantivessem alterados durante a intervenção nutricional, ou seja, sem variações significativas, o TNF-α apresentaria maiores variações, conforme encontramos na literatura (INADERA, 2008; MADSEN et al., 2008). No grupo IV, efetivamente observou-se que a diminuição dos níveis de TNF- α (p=0,003) foi acompanhada da redução das concentrações de TG (p=0,005) e CA (p<0,001).

Verificamos também em relação ao TNF-α, que se os níveis de END e ENL urinários se apresentassem sem alteração significativa, no final do estudo, os níveis de TNF-α mostrariam uma tendência para maiores variações (END: r= - 0,564; p=0,071; ENL: r= -0,573; p= 0,066). De fato, observou-se somente para o grupo IV um acréscimo nos níveis de END e ENL na urina de 24h, com significância, especialmente para ENL (p=0,030), conjuntamente com uma redução significativa nos níveis de TNF-α (p=0,003).

Para os níveis de isoprostane sérico encontramos uma correlação positiva com Homa IR (r= 0,673; p= 0,023), o que mostra que este marcador de estresse oxidativo associa-se com alteração nos níveis de insulina, o que contribui para o processo inflamatório (COUILLARD et al., 2005; VANHARANTA et al., 2002; WU et al., 2009).

No que se refere às variáveis hormonais verificamos que os níveis de adiponectina apresentaram uma correlação negativa com os níveis de ácido úrico (r= -0,609; p= 0,047) e CA (r= -0,627; p= 0,039). Tais correlações são sustentadas pela literatura recente, já que ácido úrico tem sido sugerido como um dos constituintes do agrupamento de fatores de risco relacionados ao processo inflamatório (FEIG et al., 2008). Desta forma, se não reduzimos os níveis de ácido úrico de forma significativa poderíamos ter maiores variações para adiponectina, o que, possivelmente levaria a uma maior redução dos níveis desta citocina antiinflamatória (SATOH et al., 2008; SHAH et al., 2008).

CA apresenta-se como sendo um importante e reconhecido marcador antropométrico relacionada à FR e inflamação subclinica (CASSANI et al., 2009; HARMER & CHIDA, 2009). Sendo, a adiponectina uma citocina antiinflamatória, e atualmente, considerada um novo indicador de modificação de estilo de vida (INADERA, 2008) pode-se sugerir que a intervenção dietética realizada no grupo IV possibilitou a melhora dos níveis de adiponectina, o que se correlacionou com a redução dos níveis de ácido úrico e diminuição de CA.

Em relação aos níveis de leptina observamos uma correlação positiva em relação a CA (r= 0,743; p= 0,009) e IMC (r= 0,601; p= 0,049); o que já

tem sido observado em outros estudos que mostraram que a perda de peso, e especialmente gordura abdominal associa-se com a redução deste hormônio que tem se apresentado relacionado a outras alterações metabólicas (MALAVAZOS et al., 2007; KOUTSARI et al., 2003). Verificou-se também, uma correlação positiva dos níveis de leptina com a ingestão de calorias da dieta (r= 0,615; 0,044), o que explica as correlações observadas acima.

Em relação aos *indicadores nutricionais, END e ENL,* verificamos correlação negativa para os níveis de END urinário no que se refere à concentração de LDL-c (r= - 0,622; p= 0,018), desta forma, com a intervenção dietética realizada, se houverem acréscimos significativos nos níveis de END urinário, não ocorreriam variações significativas nos níveis de LDL-c, o que seria um efeito protetor e antioxidante, no que se refere ao processo inflamatório e aterosclerótico (KUIJSTEN et al., 2009). ENL urinária correlacionou-se negativamente com os níveis de TG (r= - 0,609; p=0,021) e ácido úrico (r= - 0,559; p=0,038). Conforme observado em outros estudos os níveis de ENL urinária refletem a ingestão de enterolactona (KILKKINEN et al., 2001; MILDER et al., 2007), o que corrobora com os nossos dados, já que somente no grupo IV verificamos acréscimo significativo de ENL na urina de 24h, assim como, redução dos níveis de acido úrico, e especialmente, de TG.

Desta forma, a modificação dietética ocasionou um incremento significativo de ENL urinária, o que possivelmente se associou para que acréscimos significativos não ocorressem nos níveis de TG e ácido úrico, o

que pode caracterizar a contribuição antioxidante da semente de linhaça (BLOENDON et al., 2008; FUKUMITSU et al., 2008; HALLUND et al., 2008).

No que se refere à composição nutricional verificamos uma correlação negativa entre a variação de ingestão de calorias e variação dos níveis de HDL (r= -0,556; p=0,039), o que demonstra que, se não modificamos os níveis de ingestão calórica durante a intervenção nutricional, possivelmente poderiam ocorrer maiores variações nos níveis de HDL, conforme tem sido observado em alguns estudos, que mostraram que a redução calórica e controle da quantidade de CH refinados poderiam elevar os níveis de HDL-c (KEOGH et al., 2008; van SCHOTHORST et al., 2009).

Observamos durante a intervenção nutricional, que conforme se reduziu a ingestão de CH ocorreu uma diminuição dos níveis de PCR (r= 0,574; p=0,032), o que corrobora com outros estudos que mostram a correlação positiva existente, entre quantidade e qualidade de CH, e aumento do processo inflamatório, caracterizado pelas concentrações de PCR (YANNAKOULIA et al., 2008; PANIAGUA et al., 2008). Em nosso estudo a redução de PCR ocorreu apenas nos grupos que apresentaram a adição da semente de linhaça, independentemente, da redução de CH, entretanto, esta correlação positiva com CH apareceu somente no grupo IV, que foi o único grupo que recebeu a associação *"redução de CH e adição de semente de linhaça".*

5.5. Limitações

Em um estudo intervencional algumas limitações podem ocorrer. A caracterização destes aspectos é fundamental para que posteriormente se possa avaliar o quanto isto pode ter interferido nos resultados obtidos.

A coleta de informações referentes aos dados clínicos foi realizada pela autora e uma assistente. Coletas referentes à antropometria, bem como, a anamnese alimentar e recordatórios foram realizadas pela autora, o que diminui o risco na falta de padronização da tal metodologia. A supervisão continua e revisão dos dados em tabelas possibilitou correções imediatas.

Em relação à coleta de dados laboratoriais e bioquímicos houve toda precaução necessária, para que, os sujeitos de pesquisa estivessem em jejum de 12 h, e para evitar perdas de amostras a própria equipes do laboratório de análises clinicas se dirigia até a empresa, para a realização das coletas.

No que se refere às análises laboratoriais realizadas em outras localidades tomou-se o cuidado para que as amostras de sangue e urina fossem acondicionadas em freezer a -80ºC, e para locomoção utilizou-se gelo seco e isopores. Todas as amostras eram devidamente identificadas e datadas, com referência para o momento basal e final do estudo. Todas as amostras de sangue foram coletadas em duplicatas para se evitar eventuais perdas. Para a coleta de urina de 24 h, as orientações foram realizadas de forma esclarecedora para que não tivéssemos perda de material, já que, o

importante seria que as coletas respeitassem o momento basal e final da intervenção dietética.

A medida da pressão arterial foi realizada com aparelho semi-automático, validado por outros estudos. A utilização de três medidas, juntamente, com a média possibilita a redução de erro. Este procedimento favorecia a avaliação de possíveis erros, que poderiam ser corrigidos prontamente.

Com relação à intervenção dietética realizada foram feitas reuniões iniciais com os voluntários, para que todos os detalhes do estudo fossem devidamente compreendidos. Para se evitar possíveis desistências de voluntários, no decorrer do estudo foi explicado que a alimentação fornecida na empresa seria modificada, e que, o estudo visaria a perda de peso, e possíveis alterações metabólicas. Os sujeitos de nosso estudo não ficaram internados, o que dificulta a verificação total da dieta no decorrer do dia, entretanto, todos os cuidados referentes à adesão e continuidade na sequência da dieta foram tomadas, tais como: contato semanal frequente durante as sete semanas de duração do estudo, contatos telefônicos para retirada de dúvidas, entrega do plano alimentar e lista de substituições detalhadas para cada sujeito, observância da realização das refeições dentro da empresa e entrega da semente de linhaça e do arroz triturados, devidamente acondicionados e pesados para cada voluntário, referentes ao uso no final de semana.

Para que este estudo pudesse ser realizado foi necessária uma logística dentro do serviço médico e da Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN). Desta forma, os funcionários foram devidamente treinados para que

pudéssemos reduzir ao mínimo possível o aparecimento de intercorrências. Em relação à UAN, apenas quatro funcionários foram designados a participar do estudo, no que se refere à montagem e distribuição das refeições, para que, todo cuidado com o porcionamento e qualidade da dieta fossem respeitados, de acordo, com a orientação dietética fornecida a cada grupo de pesquisa. Dois funcionários foram designados para controle das refeições distribuídas a cada voluntário, para que pudéssemos nos certificar da participação efetiva dos mesmos.

Em relação a análise de nossos dados observamos alguns pontos que podem constituir algumas limitações, tais como, alguns estudos referentes ao papel protetor das enterolignanas são inconclusivos. *Entretanto, apesar de serem estudos com um maior número de voluntários e duração, em sua grande maioria, não foram estudos que fizeram uma intervenção nutricional e apresentaram acréscimo de um alimento fonte de lignanas. Em sua maior parte foram observadas as lignanas existentes na alimentação do dia-a-dia, por meio da ingestão de frutas e vegetais.* Sob este aspecto vale ressaltar que estes estudos foram realizados em diferentes países, e que possivelmente, exista uma maior variabilidade no conteúdo de lignanas presentes nos alimentos, o que pode ocasionar diferentes interpretações dos resultados.

Outro ponto é que tais enterolignanas, especialmente, enterolactona pode apresentar-se diminuída no sangue pelo uso de antibióticos, e em estudos de maior duração, como naqueles realizados por mais de um ano, a observância desta utilização fica efetivamente prejudicada. Em nosso

estudo, tomamos o cuidado de seguir semanalmente, junto a cada sujeito e serviço médico, se o paciente estaria fazendo uso deste tipo de medicação.

Outro aspecto é que em grande parte destes estudos realizados são feitas referências a associações entre as enterolignanas (END e ENL) e risco de eventos cardiovasculares. Ao interpretar os resultados de nosso estudo tivemos o cuidado em deixar claro que não acreditamos que apenas um alimento seja o responsável pelas alterações antropométricas, bioquímicas, inflamatórias e hormonais, e sim, a modificação nutricional global realizada, e desta forma, o nosso interesse estaria em conhecer se a semente de linhaça poderia apresentar algum papel antioxidante, na prevenção de fatores de risco que se agrupam e levam a ocorrência de eventos inflamatórios e cardiovasculares.

A semente de linhaça é também fonte de ω-3, e o papel antiinflamatório e antioxidante poderiam ser atribuídos também, a este nutriente, entretanto, a ingestão de fontes de gorduras nas dietas utilizadas na intervenção nutricional não diferia, bem como, o grupo que não recebeu semente de linhaça, e sim arroz triturado consumia uma maior quantidade de gorduras monoinsaturadas, na tentativa de atenuar esta questão. Em referência a esta questão, vale ressaltar que não foi nosso objetivo avaliar a ingestão de ω-3, e desta forma, não dosamos as concentrações séricas deste nutriente, nos diferentes tempos do estudo. Concentramos nosso objetivo no possível incremento de END e ENL, no sangue e urina, nos grupos estudados, e qual o impacto nas variáveis metabólicas analisadas.

Os dados referentes aos cálculos nutricionais foram realizados por meio de software e tabelas de composição química de alimentos, o que

favorece situações de estimativas, entretanto, é a metodologia utilizada em estudos desta natureza, bem como, possíveis falhas de informação que podem ocorrer com a utilização de recordatórios alimentares. Para tal questão tivemos o cuidado em validar o material utilizado em nosso estudo.

Finalizando, um de nossos grupos apresentou maiores níveis de insulina no momento basal, e possivelmente, isto acarretou o aparecimento de uma diferença significativa após o término da intervenção, impossibilitando a verificação mais adequada do comportamento dos demais grupos. Para diminuir esta questão foi realizada a retirada de outliers deste grupo, mas, não conseguimos detectar diferença estatística. Um maior tempo de duração de estudo poderia ser um fator relevante, entretanto, em estudos intervencionais como este, o tempo de duração reside em torno de 4 a 10 semanas, conforme observado na literatura utilizada para a realização deste estudo. Nosso estudo foi realizado por sete semanas (42 d) e sem desistências de voluntários, o que possivelmente, em um estudo de maior durabilidade, isto não seria possível.

Nossos sujeitos de pesquisa foram constituídos apenas pelo sexo masculino, o que pode limitar a avaliação de nossos resultados, entretanto, isto foi realizado propositalmente devido ao grande número de dados a serem avaliados, já que o comportamento das enterolignanas pode ser diferente de acordo com o gênero.

5.6. Perspectivas Futuras

Aspectos importantes foram abordados no decorrer deste estudo. Observamos que a intervenção dietética, bem como, o trabalho de reeducação nutricional e atenção dirigida foram eficazes na realização de modificações no perfil metabólico. Cada vez mais, salientamos a necessidade de utilizar a nutrição como estratégia na prevenção de doenças relacionadas ao estilo de vida, e dentro disto, cuidar para que não se criem mitos em cima de um único nutriente ou alimento.

A composição e análise de nutrientes da dieta, bem como, a adição de antioxidantes ainda permanecem um paradigma para futuros estudos, já que, observamos diferentes respostas metabólicas, dependendo das características da dieta, independentemente, da redução de peso e CA.

A avaliação do emprego da semente de linhaça e sua resposta em marcadores inflamatórios parece ser uma estratégia interessante para sujeitos predispostos geneticamente ou expostos em seu meio ambiente, aos fatores de risco estudados. Sob este aspecto, futuramente, por meio da nutrogenômica conhecer a atuação das enterolignanas da semente de linhaça, no metabolismo celular e processo inflamatório parece constituir uma abordagem relevante, na prevenção e controle de fatores de risco relacionados às doenças associadas ao estilo de vida moderno.

6 - CONCLUSÕES

Este estudo realizado em população com faixa etária média jovem, com 81% de sujeitos sedentários e sobrepeso, e com significativa prevalência de fatores de risco relacionados à vida moderna mostrou que estratégias de modificação de estilo de vida podem ser eficazes. Nossos voluntários retratam uma população de sujeitos do sexo masculino, trabalhadores de indústria, considerados como não portadores de doença. Entretanto, a presença de um agrupamento de fatores de risco nutricionais e cardiovascular, bem como, de um processo inflamatório subclinico foi constatada.

O grupo que não recebeu intervenção nutricional manteve-se inalterado, no que se refere às medidas antropométricas e indicadores bioquímicos, inflamatórios e hormonais. Os grupos que receberam intervenção nutricional apresentaram respostas equivalentes em relação à perda de peso e diminuição de medidas antropométricas, o que se incluem marcadores de risco para hipertensão arterial e presença de alterações metabólicas, tais como, a CA. Observamos, assim, que a orientação e educação nutricional mostraram-se eficientes em todos os grupos que receberam intervenção dietética.

Entretanto, pudemos constatar que o perfil dos indicadores bioquímicos, inflamatórios, hormonais e nutricionais apresentou diferentes comportamentos, conforme, algumas características presentes na composição nutricional das dietas.

Observamos que a adição de enterolignanas da semente de linhaça na dieta apresentou efeitos antiinflamatórios e nutricionais, com redução de marcadores tais como, PCR e TNF-α. Entretanto, as diferenças percentuais

de macronutrientes nas dietas oferecidas mostraram que o efeito destas enterolignanas, juntamente com a redução de CH melhorou o perfil de indicadores bioquímicos, tais como, colesterol total, LDL-c, triglicérides e ácido úrico, assim como, modificou positivamente o perfil de indicadores inflamatórios, PCR, TNF-α e isoprostane séricos, e hormonais, tais como, adiponectina e leptina.

Verificamos por meio da dosagem de END e ENL séricos e urinários, que os grupos que receberam a semente de linhaça apresentaram acréscimo de END e ENL no sangue. Em contrapartida, apenas o grupo com linhaça e redução de CH apresentou incremento nos níveis urinários de ENL, o que é considerado atualmente, uma forma bastante significativa de reproduzir a ingestão de enterolignanas, já que, as mesmas são encontradas em diferentes alimentos de origem vegetal em nossa dieta.

Poucos são os estudos que associaram intervenção nutricional com o comportamento de medidas antropométricas e o de indicadores inflamatórios, hormonais e nutricionais. Pudemos observar que efetivamente existe uma relação entre dieta com restrição calórica e controle do processo inflamatório, por meio da redução de peso e CA. A origem das calorias da dieta apresenta papel fundamental para o controle da atividade inflamatória. O controle de CH na dieta, concomitantemente, com as enterolignanas da linhaça teve um efeito significativo sobre o dismetabolismo nutricional pós prandial, que é caracterizado por repetidos picos de insulina, elevação na produção de radicais livres e biomarcadores inflamatórios, tais como, PCR E TNF-α.

Desta forma, a *utilização de dietas com redução de CH (em torno de 35%), associada com a presença de alimentos ricos em lignanas, tais como, a semente de linhaça constitui uma estratégia nutricional para a redução e controle de indicadores bioquímicos e inflamatórios, bem como, melhora do perfil hormonal relacionado à atividade inflamatória.*

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADLERCREUTZ, H.; HONJO, H.; HIGASHI, A. Urinary excretion of lignans and isoflavonoid phytoestrogens in Japanese men and women consuming a traditional Japanese diet. *The American Journal of Clinical Nutrition.*1991; 54(6): 1093-1100.

2. ADLERCREUTZ, H. & WILTOD, M. Phyto-oestrogens and western diseases. *Annals Medicine.* 1997; 29(2): 95-102.

3. ADOLFSSON, P.; SYDNER, Y. M.; FJELLSTROM, C.; LEWIN, B.; ANDERSSON, A. Observed dietary intake in adults with intellectual disability living in the community. *Food & Nutrition Research*. 2008; 52 (1): 1-7.

4. AJANI, U. A. & FORD, E. S. Has the risk for coronary heart disease changed among U.S. adults? *Journal of the American College of Cardiology*. 2006; 48(6): 1177-1182.

5. ALBRINK, M.J.; MEIGS, K.W. Interrelationship between skinfold thickness, serum lipides and blood sugar in normal men. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 1984; 15(1): 255-261.

6. ALTINOVA, A. E.; TORUNER, F.; BUKAN, N.; YASAR, D. G.; AKTURK, M.; CAKIR, N.; ARSLAN, M. Decreased plasma adiponectin is associated with insulin resistance and HDL cholesterol in overweight subjects. *Endocrine Journal*. 2007; 54(5): 221-226.

7. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2005; 28(23): S5-S10.

8. AMERICAN HEART ASSOCIATION. AHA STATEMENT. Disponível em: http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4648New. Acesso em: 06 jun. 2009.

9. AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 13ª. ed.Washington, Dc, USA, 1980.

10. ARCHER, W. R.; LAMARCHE, B.; DERIAZ , O.; LANDRY, N.; CORNEAU, L.; DESPRES, J. P.; BERGERON, J.; COUTURE, P.; BERGERON, N. Variations in body composition and plasma lipids in response to a high carbohydrate diet. *Obesity Research*. 2003; 11(14): 978-986.

11. ARJMANDI, B. H.; KHAN, D. A.; JUMA S. Whole flaxseed consumption lowers serum LDL-cholesterol and lipoprotein (a) concentrations in postmenopausal women. *Nutrition Research.* 1998; 18 (7): 1203-1214.

12. ARORA, S. K. & McFARLANE, S. The case for low carbohydrate diets in diabetes management. *Nutrition & Metabolism*. 2005; 2 (1): 2-16.

13. ARTS, I.C.W & HOLLMAN, P. C.H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal Clinical Nutrition.* 2005; 81(Suppl): 317S-325S.

14. AUGUSTIN, L. S.; FRANCESCHI, S.; JENKINS, D. J. A.; KENDAL, C. W. C.; LA VECCHIA, C. Glycemic index in chronic disease: a review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2002; 56(11): 1049-1071.

15. BALLANTYNE, C. M. & NAMBI, V. Markers of inflammation and their clinical significance. *Atherosclerosis Supplements*. 2005; 6(2): 21-29.

16. BERTOLAMI, M.C.; FALUDI, A.A.; LATORRE, M.R.D.O.; ZAINDAN FILHO, T. Perfil lipídico de funcionários de uma indústria metalúrgica e sua relação com outros fatores de risco. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 1993; 60(5): 293-299.

17. BIRMINGHAM, B.; DYER, A.R.; SHEKELLE, R.B.; STAMBER, J. Subscapular and triceps skinfold thickness, body mass index and cardiovascular risk factors in a cohort of middle-age employed men. *Journal Clinical Epidemiology*, Great Britain. 1993; 46(3): 289-302.

18. BLOEDON, L.A.T. & SZAPARY, P.O. Flaxseed and Cardiovascular risk. *Nutrition Reviews.* 2004*;* 62(6): 18-27.

19. BLOENDON, L.T.; BALIKAI, S.; CHITTAMS, J.; CUNNANE, S. C.; BERLIN, J. A.; RADER, D. J.; SZAPARY, P.O. Flaxseed and cardiovascular risk factors: results from a double blind, randomized, controlled clinical trial. *The Journal of the American College of Nutrition*. 2008; 27(1): 65-74.

20. BREHM, B. J. & D´ALESSIO, D. A. Benefits of high-protein weight loos diets: enough evidence for practice? *College of Nursing, University of Cincinnati*, Ohio, USA. 2008; 15(5): 45221-45238.

21. BROWNING, L.M. η-3 Polynsaturated fatty acids, inflammation and obesity-related disease. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2003; 62(3): 447-453.

22. CASSANI, R. S. L.; PAZIN-FILHO, A.; NOBRE, F.; DOS SANTOS, J. E.; SCHMIDT, A. Circunferência abdominal como marcador da presença de alterações clínico-laboratoriais indicativas de risco cardiovascular. Estudo epidemiológico. *Revista da Sociedade de Cardiologia Estado de São Paulo*. 2005; 15(5): Supl. B: 132.

23. CASSANI, R. S. L.; SCHMIDT, A.; NOBRE, F.; DOS SANTOS, J. E.; PAZIN-FILHO, A. Prevalência de síndrome metabólica em industriários. Quais os principais marcadores? *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*. 2006; 16(2): Supl. B: 134.

24. CASSANI, R. S. L.; SCHMIDT, A.; PAZIN FILHO, A.; NOBRE, F. Prevalência de fatores de risco cardiovascular em trabalhadores de uma indústria brasileira. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2009; 92(1): 16-22.

25. CASSANI, R. S. L.; NOBRE, F.; PAZIN FILHO, A.; SCHMIDT, A. Relationship between blood pressure and anthropometry in a cohort of brazilian men: a cross-sectional study. In press *American Journal of Hypertension.* 2009.

26. CHOBANIAN, A. V.; BAKRIS, G. L.; BLACK, H. R.; CUSHMAN, W. C.; GREEN, L. A.; IZZO, J. L.; JONES Jr., D. W.; MATERSON, B. J.; OPARIL, S.; WRIGHT, J. T.; ROCCELLA, Jr., E. J. Seventh Report of the Joint National Committee on: Prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension*. 2003; 42(1): 1206-1252.

27. CHRISTOU, D. D.; GENTILE, C. L.; DeSOUZA, C. A.; SEALS, D. R.; GATES, P. E. Fatness is a better predictor of cardiovascular disease risk factor profile than aerobic fitness in healthy men. *Circulation*. 2005; 111(14): 1904-1914.

28. CLEE, S. M.; BISSADA, N.; MIAO, F. Plasma and vessel wall lipoprotein lípase have different roles in atherosclerosis. *Journal of Lipid Research*. 2000; 41(4): 521-531.

29. CLIFTON, P. M. Diet and C-reactive protein. *Current Atherosclerosis Report*. 2003; 5 (6): 431- 436.

30. COUILLARD, C.; RUEL, G.; ARCHER, W. R.; POMERLEAU, S.; BERGERON, J.; COUTURE, P.; LAMARCHE, B.; BERGERON, N. Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005; 90(12): 6454-6459.

31. CUNNANE, S. C.; HAMADEH, M. J.; LIEDE, A. C.; THOMPSON, L. U.; WOLEVER, T. MS. Nutritional attributes of traditional flaxseed in healthy young adults. *The American Journal Clinical Nutrition.* 1995; 61(1): 62-68.

32. DANDONA, P.; ALJADA, A. & BANDYOPADHYAY, A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *TRENDS in Immunology*. 2004; 25(1): 4-7.

33. DE BACKER, G.; AMBROSIONE, E.; BORCH-JOHNSEN, K.; BROTONS, C.; CIFKOVA, R.; DALLONGEVILLE, J.; EBRAHIM, S.; FAERGEMAN, O.; GRAHAMI, I.; MANCIA, G.; CATS, V.M.; ORTH-GOMÉR, K.; PERK, J.; PYORALA, K.; RODICIO, J.L.; SANS, S.; SANSOY, V.; SECTHTEM, U.; SILBER, S.; THOSEM, T.; WOOD, D. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation.* 2003; 10 (1):Suppl. 1: 1-78.

34. DE LORENZO, A.; GOBBO, V. D.; PREMROV, M. G.; BIGIONI, M.; GALVANO, F.; DI RENZO, L. Normal weight obese syndrome: early inflammation? *The American Journal Clinical Nutrition.* 2007; 85(1): 40-45.

35. DE LUIS, D. A.; ALLER, R.; IZAOLA, O.; SAGRADO, G. M.; BELLIOO, D.; CONDE, R. Effects of a low fat versus a low carbohydrate diet on adipocytokines in obese adults. *Hormone Research*. 2007; 67(6): 296-300.

36. DÉSPRES, J.P.; LEMIEUX, I.; PRUD'HOMME, D. Treatment of obesity: need to focus on high risk abdominally obese patients. *British Medical Journal***,** Quebec. 2001; 322(7288): 719-720.

37. DESROCHES, S.; ARCHER, W. R.; PARADIS, M. E.; DÉRIAZ, O.; COUTURE, P.; BERGERON, J.; BERGERON, N.; LAMARCHE, B. Baseline plasma C-reactive protein concentrations influence lipid and lipoprotein responses to low fat and high monounsaturated fatty acid diets in healthy men. *Journal of Nutrition.* 2006; 136(4): 1005-1011.

38. DOS SANTOS, J.E.; DRESSLER, W.W.; VITERI, F. Fatores de risco da doença arterial coronariana e suas correlações com variáveis dietéticas e sociais. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 1994; 63 (5): 371-375.

39. DUBEY, L. & HESONG, Z. Role of leptin in atherogenesis. *Experimental and Clinical Cardiology*. 2006; 11(4): 269-275.

40. DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars. *Related Substances*. 1956; 28(1): 350-356.

41. DUMESNIL, J. G.; TURGEON, J.; TREMBLAY, A.; POIRIER, P.; GILBERT, M.; GAGNON, L.; ST-PIERRE, S.; GARNEAU, C.; LEMIEUX, I.; PASCTO, A.; BERGERON, J.; DESPRES, J.P. Effect of a low-glycaemic index-low-fat-high protein diet on the atheogenic metabolic risk profile of abdominally obese men. *British Journal of Nutrition.* 2001; 86(2): 557-568.

42. EBBELING, C.B.; LEIDIG, M. M.; SINCLAIR, K. B.; SHIPPEE, L. G. S.; FELDMAN, H. A.; LUDWIG, D. S. Effects of a ad libitum low glycemic load diet on cardiovascular disease risk factors in obese young adults. *The American Journal Clinical Nutrition*. 2005; 81(5): 976-982.

43. ESMAILLZADEH, A.; MIRMIRAN, P. & AZIZI, F. Whole grain intake and the prevalence of hypertriglyceridemic waist phenotype in tehranian adults. *The American Journal Clinical Nutrition.* 2005; 81(6): 55-63.

44. ESMAILLZADEH, A.; KIMIAGAR, M.; MEHRABI, Y.; AZADBAKHT, L.; HU, F. B.; WILLETT, W. C. Fruit and vegetable intakes, C-reactive protein, and the metabolic syndrome. *The American Journal Clinical Nutrition.* 2006; 84(2): 1489-1497.

45. ESPOSITO, K. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*. 2002; 106(16): 2067-2072.

46. ESPOSITO, K.; PONTILLO, A.; DI PALO, C.; GIUGLIANO, G.; MASELLA, M.; MARFELLA, R.; GIUGLIANO, D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women. *The Journal of the American Medical Association.* 2003; 289(14): 1799-1804.

47. ESPOSITO, K.; CIOTOLA, M. & GIUGLIANO, D. Mediterranean diet, endothelial function and vascular inflammatory markers. *Public Health Nutrition*. 2006; 9(8A): 1073-1076.

48. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *The Journal of the American Medical Association.* 2001; 285(1): 2486-2497.

49. FANTUZZI, G. & MAZZONE, T. Adipose tissue and atherosclerosis. Exploring the connection. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* 2007; 27(5): 996-1003.

50. FANTUZZI, G. Adiponectin and inflammation: Consensus and controversy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2008; 121(2): 326-330.

51. FARAJ, M.; HAVEL, P. J.; PHÉLIS, S.; BLANK, D.; SNIDERMAN, A. D.; CIANFLONE, K. Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbildly obese subjects. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003; 88(6): 1594-1602.

52. FEIG, D. I.; KANG, D. H. & JOHNSON, R. J. Uric acid and cardiovascular risk. *The New England Journal of Medicine*. 2008; 359(1): 1811-1821.

53. FESTA, A.; D´AGOSTINO, R. Jr.; WILLIAMS, K.; KARTER, A. J.; MAYER-DAVIS, E. J.; TRACY, R. P.; HAFFNER, S. M. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *International Journal of Obesity.* 2001; 25(4):1407-1415.

54. FESTA, A.; D`AGOSTINO, R. Jr.; TRACY, R. P.; HAFFNER, S. M. C-reactive protein is more strongly related to post-glucose load glucose than to fasting glucose in nondiabetic subjects; the insulin resistance atherosclerotic study. *Diabetic Medicine*. 2002; 19(2): 939-943.

55. FITO, M.; GUXENS, M.; CORELLA, D.; SAEZ, G.; ESTRUCH, R.; DE LA TORRE, R.; FRANCES, F.; CABEZAS, C.; LOPEZ-SABATER, M. C.; MARRUGAT, J.; ARELLANO, A. G.; AROS, F.; GUTIERREZ, V. R.; ROS, E.; SALVADO, J. S.; FIOL, M.; SOLA, R.; COVAS, M. I. Effect of a traditional mediterranean diet on lipoprotein oxidation. *Archives of Internal Medicine*. 2007; 167 (11): 1195-1203.

56. FRANKEL, D. S.; RAMACHANDRAN, S. V.; D`AGOSTINO, R. B.; BENJAMIN, E. J.; LEVY, D.; WANG, T. J.; MEIGS, J. B. Resistin, adiponectin, and risk of heart failure. The Framingham of spring study. *Journal of the American College of Cardiology.* 2009; 53(9): 754-762.

57. FUKUMITSU, S.; AIDA, K.; UENO, N.; OZAWA, S.; TAKAHASHI, Y.; KOBORI, M. Flaxseed lignan attenuates high fat diet induced fat accumulation and induces adiponectin expression in mice. *British Journal of Nutrition*. 2008; 100(3): 669-676.

58. GALGANI, J.; AGUIRRE, C. & DIAS, E. Acute effect of meal glycemic index and glycemic loa don blood glucose and insulin responses in humans. *Nutrition Journal*. 2006; 13(4): 5-22.

59. GAMI, A. S.; WITT, J. B.; HOWARD, D. E.; ERWIN, P. J.; GAMI, L. A.; SOMERS, V. K.; MONTORI. Metabolic Syndrome and risk of incident cardiovascular events and death. *Journal of the American College of Cardiology.* 2007; 49(6): 403-414.

60. GARDNER, C. D.; KIAZAND, A. & ALHASSAN, S. Comparison of the Atkins, Zone, Ornish, and LEARN diets for change in weight and related risk factors among overweight premenopausal women: the A to Z weight loss study: a randomized trial. *The Journal of the American Medical Association*. 2007; 297(2): 969-977.

61. GIUGLIANO, D.; CERIELLO, A. & ESPOSITO, K. The effects of diet on Inflammation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006; 48(4): 677-685.

62. GONZALES, A. M. & ORLANDO, R. A. Curcumim and reveratrol inhibit nuclear factor-kappa B- mediated cytokine expresión in adipocytes. *Nutrition & Metabolism*. 2008; 5(2): 5-17.

63. GRUNDY, S.M.; BALADY, G.J.; CHRIQUI, M.H.; FLETCHER, G.; GREELAND, P.; HIRATZKA, L.F.; HOUSTON-MILLER, N.; KRIS-ETHERTON, P.; KRUMHOLZ, H.M.; LAROSA, J.; OCKENE, I. S.; PEARSON, T.A.; REED, J.; WASHINGTON, R.; SMITH JR, S.C. Primary prevention of coronary heart disease: guindance from Framinghan. *American Heart Association Task Force*. 1998; 12(3): 1876-1887.

64. HALBERG, N.; WERNSTEDT-ASTERHOLM, I. & SCHERER, P.E. The adipocyte as an endocrine cell. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*. 2008; 37(3): 753-768.

65. HALKJAER, J.; TJONNELAND, A.; THOMSEN, B. L.; OVERVAD, K.; SORENSEN, T. I. Intake of macronutrients as predictors of 5-y changes in waist circumference. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2006; 84(3): 789-797.

66. HALLUND, J.; TETENS, I.; BUGEL, S.; THOLSTRUP, T.; BRUUN, J.M. The effect of a lignan complex isolated from flaxseed on inflammation markers in healthy postmenopausal women. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2008; 18(8): 497-502.

67. HARMER, M. & CHIDA, Y. Associations of very high C-reactive protein concentration with psychosocial and cardiovascular risk factors in an ageing population. *Atherosclerosis*. 2009; 51 (12): 1-5.

68. HANSSON, G.K. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2001*;* 21 (12):1876-1890.

69. HEILBRONN, L. K. & CLIFTON, P. M. C-reactive protein and coronary artery disease: influence of obesity, caloric restriction and weight loss. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2002; 13(6): 316-321.

70. HEYMSFIELD, S. B.; BAUGMGARTIER, R. N. & SHEAN-FRANG, P. Avaliação nutricional da desnutrição por métodos antropométricos. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. *Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença.* 9ª ed. São Paulo: Manole, 2003.

71. HIGDON, J. V. & FREI, B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews Food Science Nutrition.* 2003; 43(4): 89-143.

72. HOWARD, B.W.; MANSON, J. E. & STEFANICK, M. L.; et al. Low-fat dietary pattern and weight change over 7 years: the women's health initiative dietary modification trial. *The Journal of the American Medical Association*. 2006; 295(6): 30-49.

73. HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444(2): 860-867.

74. HU, F. B. Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2003; 78(3): 544S-551S.

75. HUTCHINS, A. M.; LAMPE, J. W.; MATINI, M. C.; CAMPBELL, D. R.; SLAVIN, J. L. Vegetables, fruits and legumes: effect on urinary isoflavonoid phytoestrogen and lignan excretion. *Journal of the American Dietetic Association*. 1995; 95(2): 769-774.

76. IBGE: **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2000. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/ Acesso em: 06 jun. 2009.

77. IDF. **International Diabetes Federation**: The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Disponível em: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_metasyndrome_definition.pdf. Acesso em: 06 jun. 2009.

78. IM, A.J.; KIM, S. H.; LEE, J. W.; SHIM, J. Y.; LEE, H. R.; LEE, D. C. Association between hypoadiponectinemia and cardiovascular risk factors in nonobese healthy adults. *Metabolism Clinical and Experimental*. 2006; 55(1): 1546-1550.

79. INADERA, H. The usefulness of circulation adipokine levels for the assessment of obesity-related health problems. *International Journal of Medical Sciences*. 2008; 5(8): 248-262.

80. JANG, Y.; LEE, J. H.; KIM, O. Y.; PARK, H. Y.; LEE, S. Y. Consumption of whole grain and legume powder reduces insulin demand, lipid peroxidation, and plasma homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2001; 21 (12): 2065-2071.

81. JANSSEN, I.; KATZMARZYK, P. T. & ROSS, R. Body mass index, waist circumference, and heart risk. *Archive of Internal Medicine.* 2002; 162(6): 2074-2079.

82. JANSSEN, I.; KATZMARZYK, P.T. & ROSS, R. Waist circumference and not body mass index explains obesity- related health risk. *The American Journal Clinical Nutrition.* 2004; 79(3): 379-384.

83. JENKINS, D. J. A.; KENDALL, C. W. C. & VIDGEN, E. Health aspects of partially defatted flaxseed, including effects on serum lipids, oxidative measures, and ex vivo androgen and progestin activity: a controlled crossover trial. *The American Journal Clinical Nutrition*. 1999; 69(3): 395-402.

84. JENKINS, D. J.; KENDALL, C. W.; MARCHIE, A.; FAULKNER, D. A.; WONG, J. M.; de SOUZA, R.; ERNAM, A.; PARKER, T. L.; VIDGEN, E. Effects of a dietary portfolio of cholesterol lowering foods vs lovastatin on serum lipids and C-reactive protein. *The Journal of the American Medical Association.* 2003; 290(2):502-510.

85. JENKINS, D. J. A.; KENDALL, C. W. C.; McKEOWN-EYSSEN, G.; JOSSE, R.G.; SILVERBERG, J.; BOOTH, G. L.; VIDGEN, E.; JOSSE, A. R.; TRI, H. N.; CORRIGAN, S.; BANACH, M. S.; ARES, S.; MITCHELL, S.; EMAM, A.; AUGUSTIN, L. S.A.; PARKER, T. L.; LEITER, L. A. Effect of a low glycemic index or a high cereal fiber diet on type 2 diabetes. *The Journal of the American Medical Association.* 2008; 300(4): 2742-2753.

86. JIANG, R.; JACOBS Jr., D. R.; MAYER-DAVIS, E.; SZKLO, M.; HERRINGTON, D.; JENNY, N. S.; KRONMAL, R.; BARR, R. G. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the multi-ethnic study of aterosclerosis. *American Journal of Epidemiology*. 2006; 163(12): 222-231.

87. JOLLIFFE, C. J. & JANSSENN, I. Development of age-specific adolescent metabolic syndrome criteria that are linked to the adult treatment panell III and international diabetes federation criteria. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007; 49(8): 891-898.

88. JOHNSON, R. J.; TITTE, S.; CADE, J. R.; RIDEOUT, B. A.; OLIVER, W. J. Uric acid, evolution and primitive cultures. *Seminars in Nephrology*. 2005; 25(1): 3-8.

89. JONES, C.A.; KLAG, M.J.; SAKAI, Y.; ITON, I.; COMSTOCK, G.W. Skinfold thickness and cardiovascular risk factors in American and Japanese Telephone Company Executives. *International Journal of Epidemiology*. 1992; 21(2): 229-235.

90. JUDD, A. Flax-some historical perspective. In: Cunnane S.C.; Thompson, L.U.E.; eds. *Flaxseed in Human Nutrition*. Toronto, CA: AOCS Press. 1995; 116 (116): 1-10.

91. KAHN, B.; BUSE, J.; FERRANNINI E.; STERN M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the study of diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28(1): 2289-2304.

92. KARELIS, A. D.; FARAJ, M.; BASTARD, J. P.; St-PIERRE, D. H.; BROCHU, M.; PRUD´HOMME, D.; LHORET, R. R. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005; 90(6): 4145-4150.

93. KASIM-KARAKAS, S.E.; TSODIKOV, A.; SINGH, U.; JIALAL, I. Responses of inflammatory markers to a low-fat, high-carbohydrate diet: effects of energy intake. *The American Journal Clinical of Nutrition.* 2006; 83(4): 774-779.

94. KEOGH, J. B.; BRINKWORTH, G. D.; NOAKES, M.; BELOBRAJDIC, D. P.; BUCKLEY, J. D.; CLIFTON, P. M. Effects of weight loss from a very low carbohydrate

diet on endothelial function and markers of cardiovascular disease risk in subjects with abdominal obesity. *The American Journal Clinical of Nutrition*. 2008; 87(3): 567-579.

95. KILKKINEN, A.; STUMPF, K.; PIETINEN, P.; VALSTA, L. M.; TAPANAINEN, H.; ADLERCREUTZ, H. Determinants of serum enterolactone concentration. *The American Journal Clinical of Nutrition*. 2001; 73(2): 1094-1100.

96. KILKKINEN, A.; VALSTA, L. M.; VIRTAMO, J.; STUMPF, K.; ADLERCREUTZ, H.; PIETINEN, P. Intake of lignans is associated with serum enterolactone concentration in finnish men and women. *Journal of Nutrition*. 2003; 133(3): 1830-1833.

97. KITTS, D. D.; YUAN, Y. V.; WIJEWICKREME, A. N.; THOMPSON, L. U. Antioxidant activity of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglycoside and its mamalian lignan metabolites enterodiol and enterolactone. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 1999; 202(5): 91-100.

98. KIVELÃ, A. M.; KANSANEN, E.; JYRKKÂNEN, H-K.; NURMI, T.; YLÃ-HERTTUALA, S.; LEVONEN, A-L. Enterolactone induces heme oxygenase-1 expression trough nuclear factor E2 related factor 2 activation in endothelial cells. *Journal of Nutrition.* 2008; 138(7): 1263-1268.

99. KOH, K. K.; HAN, S. H. & QUON, M. J. Inflammatory markers and the metabolic syndrome. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005; 46(11): 1978-1985.

100. KOPELMAN. P. Health risks associated with overweight and obesity. *Obesity Reviews*. 2007; Suppl. 1(1): 13-17.

101. KOPP, H-P.; KRZYZANOWSKA, K.; MÖHLIG, M.; SPRANGER, J.; PFEIFFER, A. F. H.; SCHERNTHANER, G. Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. *International Journal of obesity*. 2005; 29(4): 766-771.

102. KOTANI, K.; SAKANE, N.; SAIGA, K.; KATO, M.; ISHIDA, K.; KATO, Y.; KUROZAWA, Y. Serum adiponectin levels and lifestyle factors in Japanese men. *Heart and Vessels*. 2007; 22(6): 291-296.

103. KOUTSARI, C.; KARPE, F.; HUMPHREYS, S. M.; FRAYN, K. N.; HARDMAN, A. E. Plasma leptin is influenced by diet composition and exercise. *International Journal of Obesity*. 2003; 27(8): 901-906.

104. KRIS-ETHERTON, P.; ECKEL, R. H.; HOWARD, B. V.; JEOR, S. S.; BAZZARRE, T. L. Benefits of a Mediterranean-style, national cholesterol education program/American Heart Association step I dietary pattern on cardiovascular disease. *Circulation*. 2001; 103(5): 1823-1825.

105. KRIS-ETHERTON, P.M.; HARRIS, W.S. & APPEL L. J., for the Nutrition Committee. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*. 2002; 106(2): 2747-2757.

106. KRIS-ETHERTON, P.; LICHTENSTEIN, A.H.; HOWARD, B. V.; STEINBERG, D.; WITZTUM, J. L. Antioxidant vitamin supplements and cardiovascular disease. *Circulation*. 2004; 110(4): 647-631.

107. KRONMALL, R. & GRAHAM BARR, R. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *American Journal of Epidemiology*. 2006; 163(6): 222-231.

108. KUIJSTEN, A.; MESQUITA, H. B. B..; BOER, J. M. A.; ARTS, I. C. W.; KOK, F. J.; VANT´T VEER, P.; HOLLMAN, P. C. H. Plasma enterolignans are not associated with nonfatal myocardial infarction risk. *Atherosclerosis*. 2009; 203(1): 145-152.

109. KUSHNER, R.F. & DOERFLER, B. Low-carbohydrate, hogh-protein diets revisited. *Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, Illinois, USA, 2008.*

110. LEE, J. C.; BHORA, F.; SUN, J.; CHENG, G.; ARGUIRI, E.; SOLOMIDES, C. C.; CHATTERJEE, S.; SOLOMIDOU, M. C. Dietary flaxseed enhances antioxidant defenses and is protective in a mouse model of lung ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2008; 294(1): L255-L265.

111. LEMIEUX, I.; PASCOT, A.; PRUD'HOMME, D.; ALMÉRAS, N.; BOGATY, P.; NADEAU, A.; BERGERON, J.; DESPRÉS, J.P. Elevated C-reactive protein. Another component of the aterosthrombotic profile of abdominal obesity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2001; 21(6): 961-967.

112. LI, J. J. & FANG, C. H. C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular diseases. *Medical Hypotheses*. 2004; 62(3): 499-506.

113. LIBBY, P.; RIDLKER, P. M. & MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105(1): 1135-1143.

114. LIBBY, P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2006; 83(2): 456-460.

115. LIN, X. Effects of a flaxseed derived lignan supplement on C-reactive protein, IL-6 and retinol binding protein 4 in type 2 diabetic patients. *British Journal of Nutrition*. 2008; 101(5): 1-5.

116. LIU, S. Intake of refined carbohydrates and whole grain foods in relation to risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Journal American College of Nutrition.* 2002; 21(3): 298-306.

117. LIU, S.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W. C.; RIDKER, P. M. Relation between a diet with a high glycemic load and plasma concentrations of high sensitivy C-reactive protein in middle aged women. *American Journal Clinical Nutrition.* 2002; 75(5): 492-498.

118. LOPEZ-GARCIA, E.; SCHULZE, M. B.; FUNG, T. T.; MEIGS, J. B.; RIFAI, N.; MANSON, J. E.; HU, F. B. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *The American Journal Clinical Nutrition*. 2004; 80(6): 1029-1035.

119. LOVEGROVE, J. A. & GITAU, R. Personalized nutrition for the prevention of cardiovascular disease: a future perspective. *Journal of Human Nutrition and Dietetics.* 2008; 21(4), 306-316.

120. LUDWIG, D. S. Dietary glycemic index and obesity. *Journal of Nutrition.* 2000; 130(2): 280S-283S.

121. MA, Y.; OLENDZKI, B. C.; HAFNER, A. R.; CHIRIBOGA, D. E.; CULVER, A. L.; ANDERSEN, V. A.; MERRIAM, P. A.; PAGOTO, S. L. Low carbohydrate and high fat intake among adult patients with poorly controlled type 2 diabetes mellitus. *Nutrition*. 2006; 22(11-12): 1129-1136.

122. MADSEN, E. L.; RISSANEN, A.; BRUUN, J. M.; SKOGSTRAND, K.; TONSTAD, S.; HOUGAARD, D. M.; RICHELSEN, B. Weight loss larger than 10% is neede for general improvement of levels of circulation adiponectin and markers of inflammation in obese subjects: a 3-year weight loss study. *European Journal of Endocrinology*. 2008; 158(12):179-187.

123. MALAVAZOS, A. E.; MASSIMILIANO, M. C.; ERMETICI, F.; COMAN, C.; SARDANELLI, F.; ROSSI, A.; MORRICONE, L.; AMBROSI, B. Proinflammatory cytokines and cardiac abnormalities in uncomplicated obesity: Relationship with abdominal fat depositon. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2007; 17(6): 294-302.

124. MATOS, M.F.D.; SOUZA E SILVA, N.A.; PIMENTA, A.J.M.; CUNHA, A.J.L.A. Prevalence of risk factors disease in employees of the research center of Petrobrás. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, Rio de Janeiro. 2004; 82(1): 5-84.

125. MATSUSHITA, K.; YATSUYA, H.; TAMAKOSHI, K.; WADA, K.; OTSUKA, R.; TAKEFUJI, S.; SUGIURA, K.; KONDO, T.; MUROHARA, T.; TOYOSHIMA, H. Comparison of circulation adiponectin and proinflammatory markers regarding their associatin with metabolic syndrome in japanese men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2006; 26(4): 871-876.

126. MATSUZAWA, Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Letters*. 2006; 508(11): 2917-2921.

127. MATSUZAWA, Y. Therapy insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease. *Nature Clinical Practice*. 2006; 3(3): 35-42.

128. MAURIGERI, D.; BONANNO, M. R.; SPECIALE, S.; SANTANGELO, A.; LENTINI, A.; RUSSO, M. S. The leptin a new hormone of adipose tissue: clinical findings and perspectives in geriatric. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2002; 34 (1): 47-54.

129. McMILLAN-PRICE, J.; PETOCZ, P.; ATKINSON, F.; O'NEILL, K.; SAMMAN, S.; STEINBECK, K.; CATERSON, I.; BRAND-MILLER, J. Comparison of 4 diets of varying glycemic load on weight loss and cardiovascular risk reduction in overweight and obese young adults. *Archives of Internal Medicine.* 2006; 166(2): 1466-1475.

130. MEAGHER, L. P.; BEECHER, G. R.; FLANAGAN, V. P.; LI, B. W. Isolation and characterization of the Lignans, Isolariciresinol and Pinoresinol, in flaxseed meal. *Journal of Agricultura and Food Chemistry.* 1999; 47(2): 3173-3180.

131. MILDER, I. E. J.; ARTS, I. C. W.; VAN DE PUTTE, B; VENEMA, D. P.; HOLLMAN, P. C. H. Optimization of Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for Quantification of The Plant Lignans Secoisolariciresinol, Matairesinol, Lariciresinol and Pinoresinol in Foods. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*. 2004; 52(5): 4643-4651.

132. MILDER, I. E. J.; KUIJSTEN, A.; ARTS, I. C. W.; FESKENS, E. J. M.; KAMPMAN, E.; HOLLMAN, P. C. H. VEER, P. V. Relation between plasma enterodiol and enterolactone and dietary intake of lignans in a dutch endoscopy based population. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*. 2007; 137(1): 1266-1271.

133. MILLER, M.; BEACH, V.; SORKIN, J. D.; MANGANO, C.; DOBMEIER, C.; NOVACIC, D.; RHYNE, J.; VOGEL, R. A. Comparative effects of three popular diets on lipids, endothelial function, and C-reactive protein during weight maintenance. *Journal of the American Dietetic Association*. 2009; 109(4): 713-717.

134. MION Jr., D.; GOMES, M.A.M.; NOBRE, F.; AMODEO, C.; KOHLMANN Jr., O.; PRAXEDES, J.N.; MACHADO, C.A. **IV Brazilian Guidelines on Hypertension**. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 2004; 82(2): 15-22.

135. MITROU, P. N.; KIPNIS, V.; THIE`BAUT, A. C. M.; REEDY, J.; SUBAR, A. F.; IT, E. W.; FLOOD, A.; MOUW, T.; HOLLENBECK, A. R.; LEITZMANN, M. F.; SCHATZKIN, A. Mediterranean dietary pattern and prediction of all cause mortality in a US population. *Archives of Internal Medicine*. 2007; 167 (22): 2461-2468.

136. MONNIER, L. & COLETTE, C. Contributions of fasting and postprandial glucose to hemoglobin alc*. Endocrine Practice*. 2006; 12: (Suppl. 1): 42-46.

137. MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L. & COSTA, R. B. Changes in composition and appropriate nutrition of family diet in the metropolitan areas of Brazil (1988-1996). *Revista Saúde Pública.* 2000; 34(2): 251-258.

138. MORRIS D. Essential nutrients and other functional compounds in flaxseed. *Nutrition Today.* 2001; 36(3): 159-162.

139. MUSSO, G.; GAMBINO, R.; DE MICHIELI, F.; DURAZZO, M.; PAGANO, G.; CASSADER, M. Adiponectin gene polymorphisms modulate acute adiponectin response to dietary fat: Possible pathogenetic role in NASH. *Hepatology.* 2008; 47(4): 1167-1177.

140. NAKASHIMA, Y.; INUKAI, K.; IMAI, K.; IKEGAMI, Y.; AWATA, T.; KATAYAMA, S. Involvement of low adiponectin levels in impaired glucose tolerance. *Metabolism Clinical and Experimental*. 2008; 57(10): 1350-1354.

141. NEPA: **Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação.** Disponível em: http://www.unicamp.br/nepa/ Acesso em: 02 jun. 2009.

142. NHANES III. **National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)**, 2000. National Center for Health Statistics. Disponível em: http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_01_02/body_measures_year_3.pdf. Acesso em: 02 jun. 2009.

143. NOAKES, M.; KEOGH, J. B.; FOSTER, P. R.; CLIFTON, P. M. Effect of an energy-restricted, high protein, low fat diet relative to a conventional high carbohydrate, low fat diet on weigh loss, body composition, nutritional status, and markers of cardiovascular health in obese women. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2005; 81(11): 1298-1306.

144. NORDMANN, A. J.; NORDMANN, A. & BRIEL, M. Effects of low carbohydrate vx low fat diets on weight loss and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Archives of Internal Medicine*. 2006; 166(6): 285-293.

145. NURMI, T. & ADLERCREUTZ, H. Sensitive High-Performance Liquid Chromatographic Method for Profiling Phytoestrgens Using Coulometric Electrode Array Detection: Application to Plasma Analysis. *Analytical Biochemistry.* 1999; 274(1): 110-117.

146. NURMI, T.; HEINONEN, S.; MAZUR, W.; DEYAMA, T.; NISHIBE, S.; ADLERCREUTZ, H. Lignans in select wines. *Food Chemistry.* 2003; 83(2): 303-309.

147. O`KEEFE, J.H. & BELL, D. S. H. Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (Postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007; 100(5): 899-904.

148. O'KEEFE, J. H.;. GHEEWALA, N. M. & O'KEEFE, J. O. Dietary Strategies for Improving Post-Prandial Glucose, Lipids, Inflammation, and Cardiovascular Health. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008; 51(3): 249-255.

149. OGAWA, F.; SHIMIZU K.; MUROI, E.; HARA, T.; HASEGAWA, M.; TAKEHARA, K.; SATO, S. Serum levels of 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, are elevated in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2006; 45(7): 815–818.

150. OH, K.S.; CHOI, Y. H.; RYU, S. Y.; OH, B. K.; SEO, H. W.; YON, G. H.; KIM, Y. S.; LEE, B. H. Cardiovascular effects of lignans isolated from saururus chinensis. *Planta Medica*. 2008; 74(3): 233-238.

151. ORDOVAS, J. M. Nutrigenetics, plasma lipids, and cardiovascular risk. *Journal of the American Dietetic Association.* 2006; 106(7): 1074-1081.

152. ORDOVAS, J.M. Diet/genetic interactions and their effects on inflammatory markers. *Nutrition Reviews.* 2007; 65(13): S203-S207.

153. ORDOVAS, J. M. Genetic influences on blood lipids and cardiovascular disease risk: tools for primary prevention. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2009; 89: Suppl.1 (5): 509S-517S.

154. PAN, A.; WAHNEFRIED, W.D.; XINGWANG, Y.; YU, Z.; LI, H.; QI, Q.; SUN, J.; CHEN, Y.; CHEN, X.; LIU, Y.; LIN, X. Effects of a flaxseed derived lignan supplement on C-reactive protein, IL-6 and retinol binding protein 4 in type 2 diabetic patients. *British Journal of Nutrition*. 2008; 74(2): 1-5.

155. PANAGIOTAKOS, D. B.; PITSAVOS, C.; YANNAKOULIA, M.; CHRYSOHOOU, C.; STEFANADIS, C. The implication of obesity and central fat on markers of chronic inflammation: The ATTICA study. *Atherosclerosis.* 2005; 183(3): 308-315.

156. PANIAGUA, J. A.; DE LA SACRISTANA, A. G.; ROMERO, I.; PUIG, A.V.; LATRE, J. M. Monounsaturated fat rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expresión induced by a carbohydrate rich diet in insulin resistant subjects. *Diabetes Care*. 2007; 30(7): 1717-1723.

157. PASCHOS, G.; ZAMPELAS, A.; PANAGIOTAKOS, D. B.; KATSIOUGIANNIS, S.; GRIFFIN, B.; VOTTEAS, V.; SKOPOULI, F. N. Effects of flaxseed oil supplementation on plasma adiponectin levels in dyslipidemic men. *European Journal of Nutrition*. 2007; 46(6): 315-320.

158. PENUMATHSA, S. V.; KONERU, S.; THIRUNAVUKKARASU, M.; ZHAN, L.; PRASAD, K.; MAULIK, N. Secoisolariciresinol diglucoside: relevance to angiogenesis and cardioprotection against ischemia-reperfusion injury. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2007; 320(2): 951-959.

159. PINHEIRO, A.B. V; LACERDA, E.M. A; BENZECRY, E. H.; GOMES, M.C.S.; COSTA, V. M. "*Tabela Para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras" 4ª ed. 1 - 81,* Editora: ATHENEU, 2001.

160. PIRISI, F. M.; CABRAS, P.; CAO, C. F.; MIGLIORINI, M.; MUGGELLI, M. Phenolic compounds in virgin olive oil. 2. Reappraisal of the Extraction, HPLC separation, and

quantification procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000; 48(4):1191-1196.

161. PISCHON, T.; GIRMAN, C. J.; RIFAI, N.; HOTAMISLIGIL, G. S.; RIMM, E. B. Association between dietary factors and plasma adiponectin concentrations in men. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 81(2): 780-786.

162. POLAK, J.; KOVACOVA, Z.; JACEK, M.; KLIMCAKOVA, E.; KOVACIKOVA, M.; VITKOVA, M.; KUDA, O.; SEBELA, M.; SAMCOVA, E.; STICH, V. An increase in plasma adiponectin multimeric complexes follows hypocaloric diet-induced weight loss in obese and overweight premenopausal women. *Clinical Science.* 2007; 112(6): 557-565.

163. PRASAD, K.; MANTHA, S. V.; MUIR, A. D.; WESTCOTT, N. D. Reduction of hypercholesterolemic atherosclerosis by CDC flaxseed with very low alpha linolenic acid. *Atherosclerosis.* 1998; 136(2): 367-375.

164. PRASAD, K. Secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed delays the development of type 2, diabetes in Zucker rat. *Journal Laboratory Clinical Medicine.* 2001; 138(1): 32-39.

165. PRASAD, K. Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of flax lignan complex isolated from flaxseed. *Atherosclerosis.* 2005; 179(2): 269-275.

166. RADULIAN, G.; RUSU, E.; DRAGOMIR, A. D.; POSEA, M. Metabolic Effects of low Glycaemic Index Diets. *Nutrition Journal.* 2009; 8(5): 1-8.

167. RICCARDI, G. & RIVELLESE, A. A. Dietary treatment of the metabolic syndrome - the optimal diet. *British Journal of Nutrition.* 2000; 83:Suppl.I (1): S143-S148.

168. ROBERTS, L. J. & MORROW, J. D. Measurement of F2-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radical Biology & Medicine.* 2000; 28(4): 505-513.

169. ROSNER, B. *Fundamentals of Biostatistics:* Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986, 584pp.

170. SABRY, M.O.D.; SAMPAIO, H.A.C. & SILVA, M.G.C. Hipertensão e obesidade em um grupo do nordeste do Brasil. *Revista de Nutrição*, Campinas. 2002; 15(2): 139-147.

171. SACKS, F. M.; BRAY, G. A.; CAREY, V. J.; SMITH, S. R.; RYAN, D. H.; ANTON, S. D.; McMANUS, K.; CHAMPAGNE, C. M.; BISHOP, L. M.; LARANJO, N.; LEBOFF, M. S.; ROOD, J. C.; JONGE, L.; GREENWAY, F. L.; LORIA, C. M.; OBARZANEK, E.; WILLIAMSON, D. A. Comparison of weight loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *The New England Journal of Medicine.* 2009; 360(9): 859-873.

172. SAKUTA, H.; SUZUKI, T.; YASUDA, H.; ITO, T. Adiponectin levels and cardiovascular risk factors in Japanese men with type 2 diabetes. *Endocrine Journal*. 2005; 52(2): 241-244.

173. SALONEN, J. T. Markers of oxidative damage and antioxidant protection: assessment of LDL oxidation. *Free Radical Research.* 2000; 33(1): S41-S46.

174. SALTEVO, J.; VANHALA, M.; KAUTIAINEN, H.; KUMPUSALO, E.; LAAKSO, M. Associantion of C-reactive protein, interleukin-1 receptor antagonist and

adiponectin with the metabolic syndrome. *Mediators of Inflammation*. 2007; 2007(1): 1-8.

175. SALVO, V. L. M. A. & GIMENO, S. G. A. Reprodutibilidade e validade do questionário de freqüência de consumo de alimentos. *Revista de Saúde Pública*. 2002; 36(4): 505-512.

176. SAMUEL, V. T.; LIU, Z. X.; QU, X.; ELDER, B. D.; BILZ, S.; BEFROY, D.; ROMANELLI, A. J.; SHULMAN, G. I. Mechanism of hepatic insulin resistance in non alcoholic fatty liver disease. *Journal of Biology Chemistry.* 2004; 279(9): 32345-32353.

177. SATOH, N.; WADA, H.; ONO, K.; YAMAKAGE, H.; YAMADA, K.; NAKANO, T.; HATTORI, M.; SHIMATSU, A.; KUZUYA, H.; HASEGAWA, K. Small dense LDL-cholesterol relative to LDL-cholesterol is a strong independent determinant of hypoadiponectinemia in Metabolic Syndrome. *Circulation.* 2008; 72(6): 932-939.

178. SBC. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**. Disponível em: <http//prevencao.cardiol.br/campanhas/coracoesdobrasil/Atlas. Acesso em: 06 jun. 2009.

179. SHAH, A.; MEHTA, N. & REILLY, M.P. Adipose inflammation, insulin resistance, and cardiovascular disease. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2008; 32(11): 638-644.

180. SHAI, I.; SCHWARZFUCHS, D.; HENKIN, Y.; SHAHAR, D. R.; MITKOW, S.; GREEMBERG. I.; GOLAN, R.; FRASER, D.; BOLOTIN, A.; VARDI, H.; ROZENTAL, T.O.; ZUK-RAMOT, R.; SARUSI, B.; BRICKNER, D.; SCHWARTZ, Z.; SHEINER, E.; MARKO, R.; KATORZA, E.; THIERY, J.; FIEDLER, G.M.; BLUHER, M.; STUMVOLL, M.; STAMPFER, M. J. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low fat diet. *The New England Journal of Medicine*. 2008; 359(3): 229-241.

181. SHAIBI, G. Q.; CRUZ, M. L.; WEIGENSBERG, M. J.; TOLEDO-CORRAL, C. M.; LANE, C. J.; KELLY, L. A.; DAVIS, J. N.; KOEBNICK, C.; VENTURA, E. E.; ROBERTS, C. K.; GORAN, M. L. Adiponectin independently predicts metabolic syndrome in overweight latino youth. *Journal Clinical Endocrinology Metabolic*. 2007; 92(2): 1809-1813.

182. SHAND, B. I.; SCOTT, R. S.; ELDER, P. A.; GEORGE, P. M. Plasma adiponectin in overweight, nondiabetic individuals with or without insulin resistance. *Diabetes, Obesity and Metabolism.* 2003; 5(5): 349-353.

183. SHOELSON, S. E.; LEE, J. & GOLDFINE, A. B. Inflammation and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006; 116(9): 1793-1801.

184. SINGH, R.; MARTIN, B. R.; HICKEY, Y.; TEEGARDEN, D.; CAMPBELL, W. W.; CRAIG, B. A.; SCHOELLER, D. A.; KERR, D. A.; WEAVER, C. Comparison of self-reported and measured metabolizable energy intake with total energy expenditure in overweight teens. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009; 89(6): 1-7.

185. SOTOS-PRIETO, M.; ZULET ALZÓRRIZ, M. A. & CORELLA, D. Scientific evidence of the mediterranean diet effects in determining intermediate and final cardiovascular disease phenotypes. *In press Medical Clinical,* 2009

186. STEFFES, M. W.; GROSS, M. D.; LEE, D-H.; SCHREINER, P. J.; JACOBS, D. R. Adiponectin, visceral fat, oxidative stress, and early macrovascular disease: the coronary artery risk development in young adults study. *Obesity*. 2006; 14(2): 319-326.

187. STIENSTRA, R.; DUVAL, C.; MULLER, M.; KERSTEN, S. PPARs, Obesity, and Inflammation. *Hindawi Publishing Corporation.* 2006; 2007(4): 1-10.

188. ST-ONGE, M.P.; DESMOND, R.; HUNTER, G.; GOWER, B. Baseline inflammatory markers do not modulate the lipid response to weight loss. *Metabolism Clinical and Experimental.* 2008; 57(9): 598–604.

189. STUMP, K. & ADLERCREUTZ, H. Short-Term variation in enterolactone in serum, 24 hours urine, and spot urine and relationship with enterolactone concentration. *Clinical Chemistry.* 2003; 49(4): 178-181.

190. SUGIURA, K.; TAMAKOSHI, K.; YATSUYA, H.; OTSUKA, R.; WADA, K.; MATSUSHITA, K.; KONDO, T.; HOTTA, Y.; MITSUHASHI, H.; MUROHARA, T.; TOYOSHIMA, H. Contribution of adipocytokines to low-grade inflammatory state as expressed by circulating C-reactive protein in Japanese men: Comparison of leptin and adiponectin. *International Journal of Cardiology*. 2008; 130(4): 159-164.

191. SUNYER, F.X.P. The relation of adipose tissue to cardiometabolic risk. *Clinical Cornerstone*. 2006; 8:Suppl. 4(4): S14-S23.

192. SVETKEY, L. P.; STEVENS, V. J. & BRANTLEY, P. J. Comparison of strategies for sustaining weight loss: the weight loss maintenance randomized controlled trial. *The Journal of the American Medical Association*. 2008; 299(11): 1139-1148.

193. TABELA TACO. Disponível em: http//dtr2004.saude.gov.br/nutricao/documentos/taco_versao2.pdf. Acesso em 06 jun. 2009.

194. TALEB, S.; CANCELLO, R.; CLEMENT, K.; LACASA, D. Cathepsin S promotes human preadipocyte differentiation: possible involvement of fibronectin degradation. *Endocrinology*. 2006; 147(10): 4950-4959.

195. TARPILA, S.; ARO, A.; SALMINEN, I.; TARPILA, A.; KLEEMOLA, P.; AKKILA, J.; ADLERCREUTZ, H. The effect of flaxseed supplementation in processed foods on serum fatty acids and enterolactone. *European Journal of Clinical Nutrition.* 2002; 56(2): 157-165.

196. TAY, J.; BRINKWORTH, G. D.; NOAKES, M.; KEOGH, J.; CLIFTON, P.M. Metabolic Effects of weigt loss on a very-low-carbohydrate diet compared with an isocaloric high-carbohydrate diet in abdominally obese subjects. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008; 51(5): 59-67.

197. TCHERNOF, A.; LAMARCHE, B.; PRUD`HOMME, D.; NADEAU, A.; MOORJANI, S.; LABRIE, F.; LUPIEN, P. J.; DESPRES, J. P. The dense LDL phenotype: association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity and hyperinsulinemia in men. *Diabetes care*. 1996; 19(6): 629-637.

198. TIMPSON, N. J.; LAWLOR, D. A.; HARBORD, R. M.; GAUNT, T. R.; DAY, I. N.; PALMER, J.; HATTERSLAY, A.; EBRAHIM, S.; OWE, G.; RUMLEY, A. C-reactive protein and its role in metabolic syndrome – mendelian randomization study. *Lancet.* 2005; 366(9501): 1954-1959.

199. THOMAS, D. & ELLIOTT, E. J. Low glycaemic indes, or low glycaemic load, diets for diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2009; 21 (1): 1-9.

200. TRICHOPOULOUS, A.; BARNIA, C. & TRICHOPOLOUS, D. Mediterranean diet and survival among patients with coronary heart disease in Greece. *Archive International Medicine.* 2005; 165 (8): 929-935.

201. TSITOURAS, P. D.; GUCCIARDO, F.; SALBE, A. D.; HEWARD, C.; HARMAN, S. M. High omega-3 fat intake improves insulin sensitivity and reduces CRP and IL6, but does not aggect other endrocrine axés in healthy older adults. *Hormone and Metabolic Research*. 2008; 40(3):199-205.

202. VAN SCHOTHORST, E. M.; BUNSCHOTEN, A.; SCHRAUWEN, P.; MENSINK, R. P.; KEIJER, J. Effects of a high fat low versus high glycemic index diet: retardation of insulin resistance involves adipose tissue modulation, *The FASEB Journal*. 2009; 23(4): 1092-1101.

203. VANHARANTA, M.; VOUTILAINEN, S.; LAKKA, T. A.; VAN DER LEE, M.; ADLERCREUTZ, H.; SALONEN, J. T. Risk of acute coronary events according to serum concentrations of enterolactone: a prospective population based case control study. *The Lancet.* 1999; 354(9196): 2112-2115.

204. VANHARANTA, M.; VOUTILAINEN, S.; NURMI, T.; KAIKKONEN, J.; ROBERTS, L. J.; MORROW, J. D.; ADLERCREUTZ, H.; SALONEN, J. T. Association between low serum enterolactone and increased plasma f2-isoprostanes, a measure of lipid peroxidation. *Atherosclerosis*. 2002; 160(2): 465-469.

205. VANHARANTA, M.; VOUTILAINEN, S.; RISSANEN, T. H.; ADLERCREUTZ, H.; SALONEN, J. T. Risk of cardiovascular disease related and all cause death according to serum concentrations of enterolactone. *Archive International Medicine.* 2003; 163(9): 1099-1104.

206. VANNUCCHI, H.; UNAMUNO, M.R.L. & MARCHINI, J. S. Avaliação do estado nutricional. *Medicina*. 1996; 29(1): 5-18.

207. VARADY, K. A.; ALLISTER, C. A.; ROOHK, D. J.; HELLERSTEIN, M. K. Improvements in body fat distribution and circulating by alternate-day fasting versus calorie restriction. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2009; 9(4): 508-534.

208. VASILEV, I. I. Lignan accumulation in cell cultures of linum strictum ssp. Strictum L. *Acta Pharmaceutica*. 2004; 54(4): 347-351.

209. VASQUES, A.C.J. Análise crítica do uso dos índices do homa na avaliação da rersistencia à insulina e capacidade funcional das celulas –β panceráticas. *Arquivos Brasileiros Endocrinologia & Metabolismo.* 2008; 2 (1): 52-61.

210. WAHALA, K.; DEYAMA, T.; NISHIBE, S.; ADLERCREUTZ, H. In Vitro metabolism of plant lignans enterolactone and enterodiol. *Journal of Agricultura and Food Chemistry.* 2001; 49(9): 3178-3186.

211. WEIGLE, D.S.; DUELL, P. B.; CONNOR, W. E.; STEINER, R. A.; SOULES, M. R.; KUIJPER, J. L. Effect of fasting, refeeding, and dietary fat restriction on plasma leptin levels. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997; 82(2): 561-565.

212. WEISSMAN, A.; LOWENSTEIN, L.; PELEG, A. ZIMMER, E. Z. Power spectral analysis of heart rate variability during the 100g oral glucose tolerance test in pregnant women. *Diabetes Care.* 2006; 29(3): 571-574.

213. WESTCOTT, N. D. & MUIR, A. D. Flax seed lignan in disease prevention and health promotion. *Phytochemistry Reviews.* 2003; 2(3): 401-417.

214. WESTMAN, E. C.; Jr. YANCY, W. S.; OLSEN, M. K.; DUDLEY, T.; GUYTON, J. R. Effect of a low-carbohydrate, ketogenic diet program compared to a low-fat diet on fasting lipoprotein subclasses. *International Journal of Cardiology*. 2006; 110(2): 212-216.

215. WHITLOCK, G.; LEWINGTON S.; SHERLIKER, P.; CLARKE, R.; EMBERSON, J.; HALSEY, J.; QIZILBASH, N.; COLLINS, R.; PETO, R. Body mass index and cause specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *The Lancet.* 2009; 373(9669):1055-1056.

216. WHO. Obesity: Presenting and managing the goal epidemic. Report of a WHO Consulation on Obesity. Geneva: World Health Organization, 1998.

217. WING, R. R.; PINTO, A. M.; CRANE, M. M.; KUMAR, R.; WEINBERG, B. M.; GORIN, A. A. A Statewide Intervention Reduces BMI in Adults: Shape Up Island Results. *Obesity*. 2009; 17(5): 991-995.

218. WU, J. H. Y.; HODGSON, J. M.; PUDDEY, I. B.; BELSKI, R.; BURKE, V.; CROFT, K.D. Sesame supplementation does not improve cardiovascular disease risk markers in overweight men and women. In press *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases,* 2009.

219. YANAGAWA, T.; TANIGUCHI, A.; FUKUSHIMA, M.; NAKAI, Y.; NAGASAKA, S.; OHGUSHI, M.; MATSUMOTO, K.; KUROE, A.; OHYA, M.; SEINO, Y. Leptin, triglycerides, and interleukin 6 are independently associated with C-reactive protein in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2006; 75(1): 2-6.

220. YANG, W. S.; LEE, W. J.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; MATSUZAWA, Y.; CHAO, C.L.; CHEN, C. L.; TAI, T. Y.; CHUANG, L. M. Weight reduction increases plasma levels of an adipose derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2001; 86 (5): 3815-3819.

221. YANG, W. S.; LEE, W. J.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; MATSUZAWA, Y.; CHAO, C. L.; CHEN, C. L.; TAI, T. Y.; CHUANG, L. M. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians. *Obesity Research*. 2002; 10(11): 1104-1110.

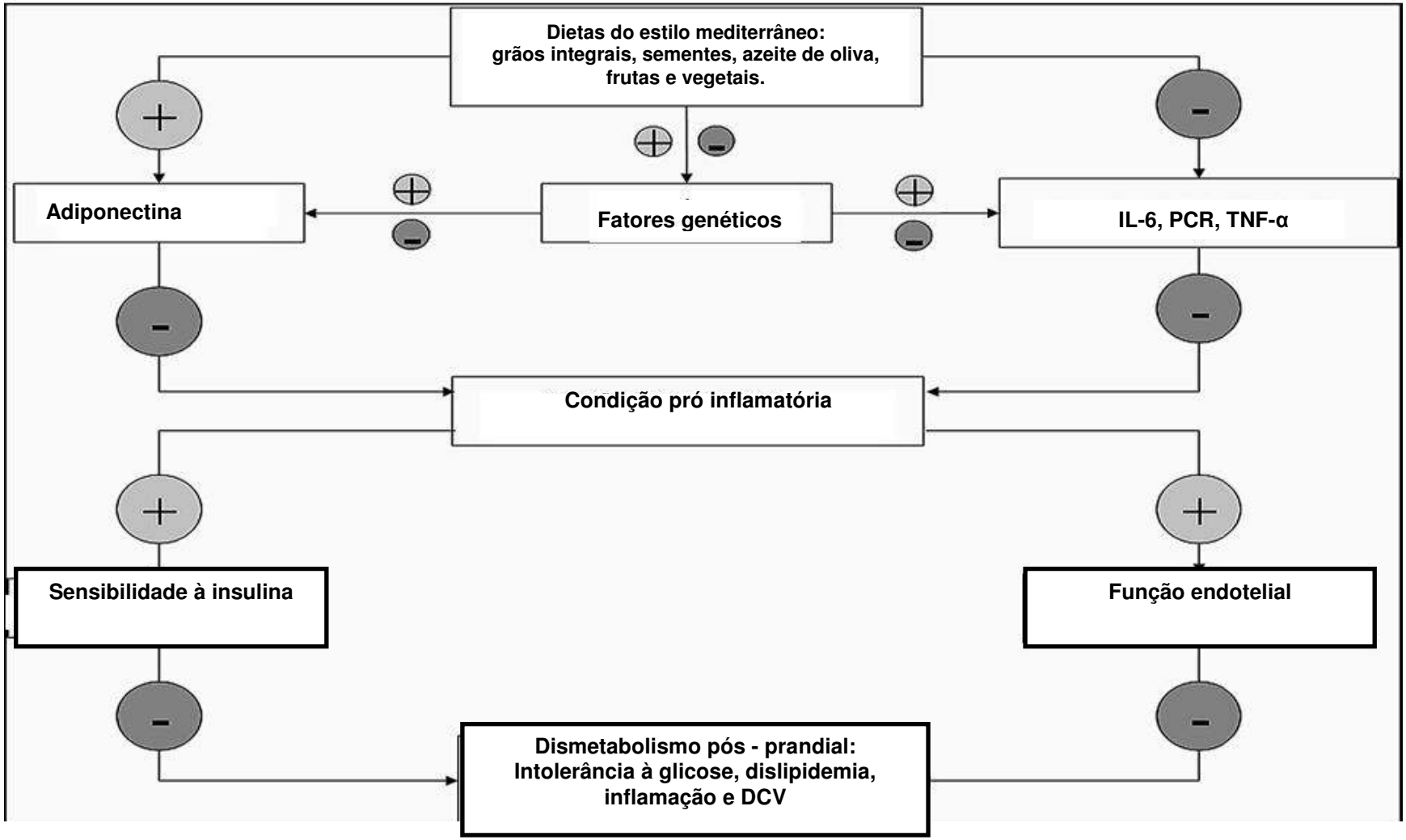
222. YANNAKOULIA, M.; YIANNAKOURIS, N.; MELISTAS, L.; KONTOGIANNI, M. D.; MALAGARIS, I.; MANTZOROS, C. S. A dietary pattern characterized by high consumption of whole-grain cereals and low fat dairy products and low consumption of refined cereals is positively associated with plasma adiponectin levels in healthy women. *Metabolism Clinical and Experimental*. 2008; 57(8): 824-830.

223. YATURU, S.; DABERRY, R. P.; RAINS, J.; JAIN, S. Resistin and adiponectin levels in subjects with coronary artery disease and type 2 diabetes. *Cytokine.* 2006; 34(3): 219-223.

224. YU, K. C. & COOPER, A. D. Postprandial lipoproteins and atherosclerosis. *Frontiers in Bioscience*. 2001; 6(9): D332-D354.

8 - ANEXOS

ANEXO 1. Interação entre dieta e fatores genéticos pode afetar os biomarcadores inflamatórios e as condições clínicas (Adaptado de O'Keefe, 2008)



ANEXO 2. Aprovação Comite Etica Em Pesquisa.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

USP - RIBEIRÃO
assistência - ensino - pesquisa

Ribeirão Preto, 04 de julho de 2007

Ofício nº 2209/2007
CEP/SPC

Prezado Professor,

O trabalho intitulado **"AVALIAÇÃO POR MEIO DE ESTUDO DUPLO CEGO DO EFEITO DA ADIÇÃO DE SEMENTE DE LINHAÇA (PÓ) NA MODIFICAÇÃO DO PERFIL DE RISCO CARDIOVASCULAR. EXISTE EFEITO REAL?",** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 249ª Reunião Ordinária realizada em 02/07/2007, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido,** de acordo com o Processo HCRP nº 4244/2007.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

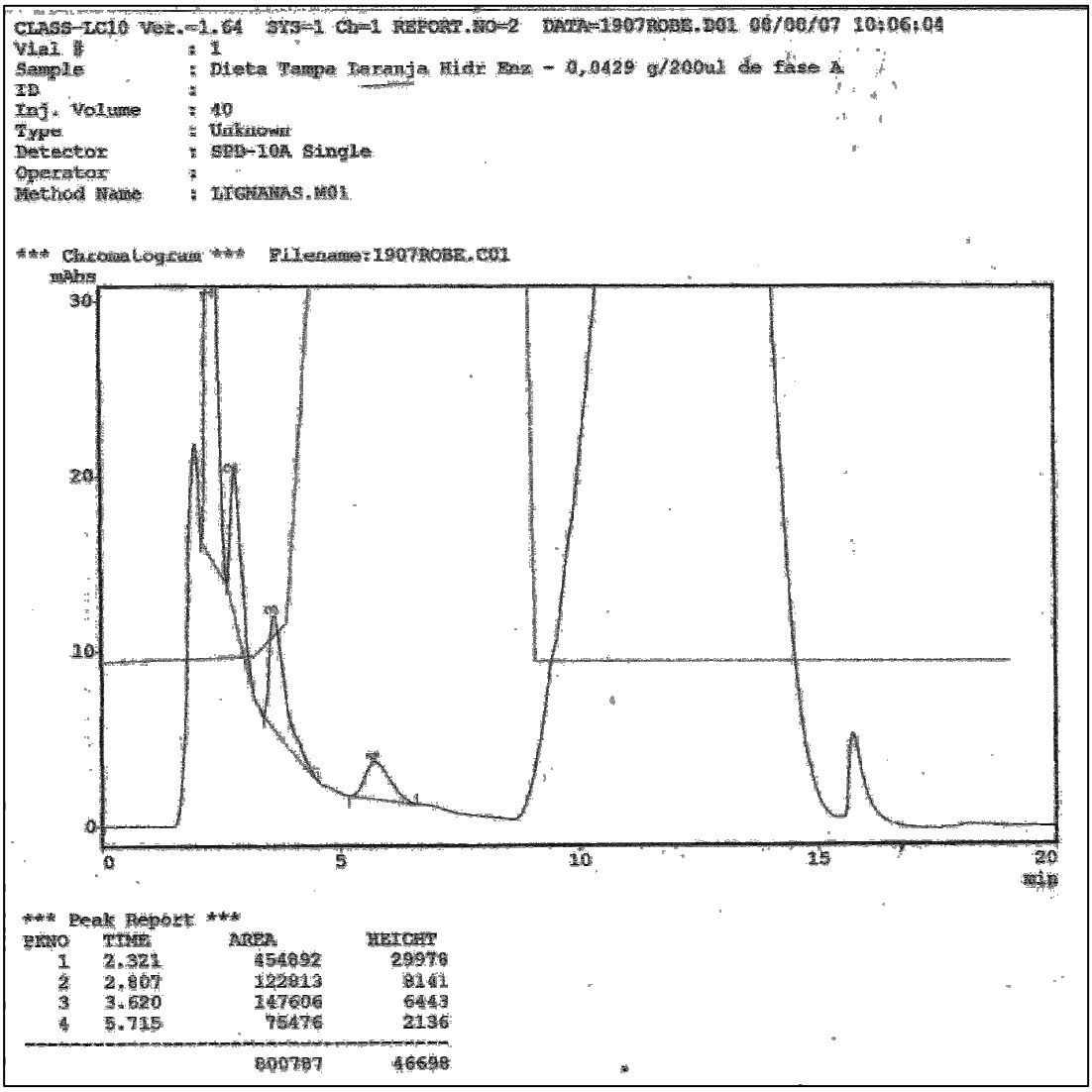
Atenciosamente.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
PROF. DR. ANDRÉ SCHMIDT
ROBERTA SOARES LARA CASSANI (Nutricionista)
Depto. de Clínica Médica – Divisão de Cardiologia

Comitê de Ética em Pesquisa HC e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA – 0000 2733; IRB – 0000 2186
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.fmrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP

ANEXO 3: Gráficos gerados pelo HPLC.



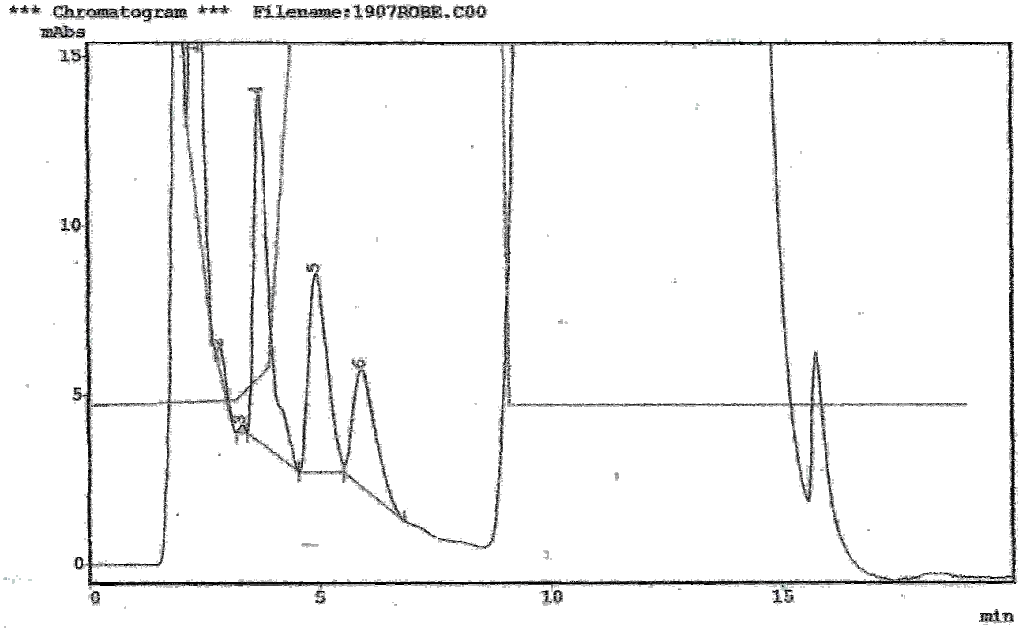
Pico 3 – Enterodiol

Pico 4 - Enterolactona

CLASS-LC10 Ver.=1.64 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=1 DATA=1907ROBE.D00 08/08/07 09:44:52

Vial # : 0
Sample : Dieta Tampa Azul Hidr Enz - 0,0416 g/200ul de fase A
ID :
Inj. Volume : 40
Type : Unknown
Detector : SPD-10A Single
Operator :
Method Name : LIGNANAS.M01

*** Chromatogram *** Filename:1907ROBE.C00

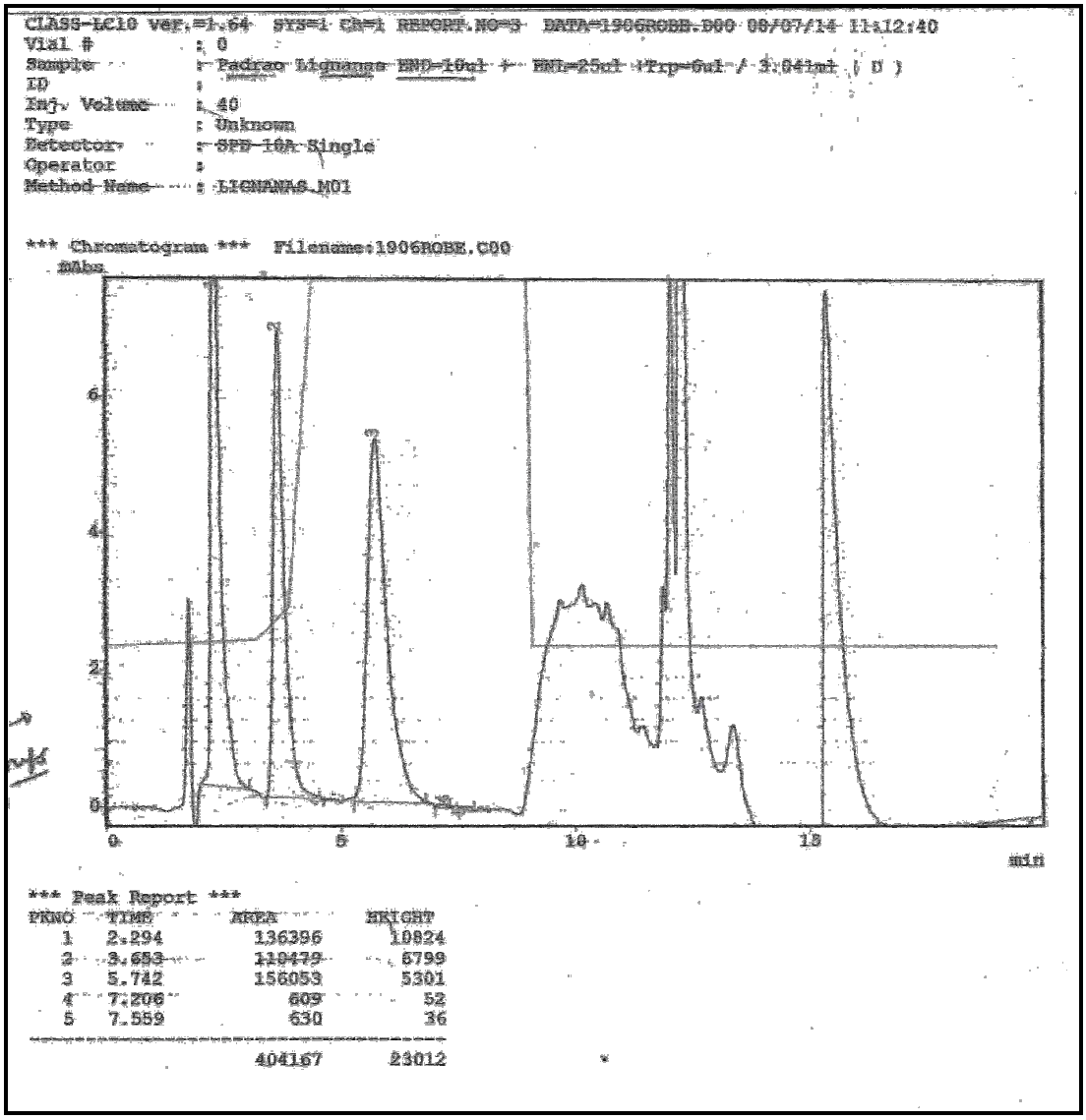


*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT
1	2.338	192778	12208
2	2.821	7145	541
3	3.314	1622	212
4	3.695	227381	10226
5	4.922	162444	5828
6	5.897	115524	3416
		706894	32430

Pico 4 – Enterodiol

Pico 6 - Enterolactona



Pico 1 - Triptofano

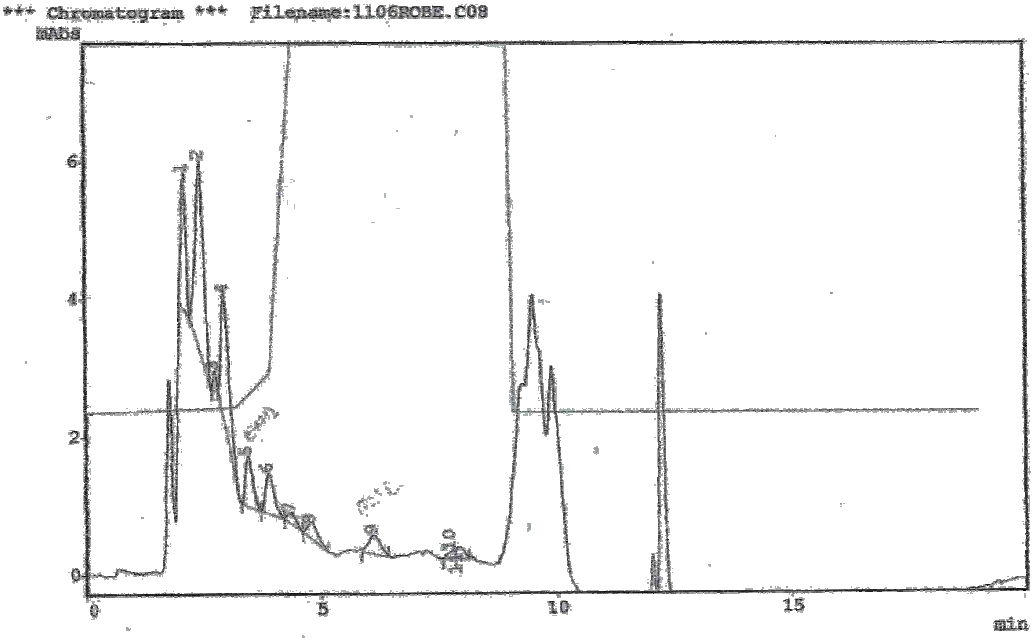
Pico 1 – Enterodiol

Pico 4 – Enterolactona

CLASS-LC10 Ver.=1.64 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=3 DATA=1106ROBE.D08 08/06/11 11:12:34

Vial # : 8
Sample : Ribamar de A. Pinto soro de 31/08/07 (200ul soro/200ulfase)
ID :
Inj. Volume : 40
Type : Unknown
Detector : SPD-10A Single
Operator :
Method Name : LIGNANAS.MD1

*** Chromatogram *** Filename:1106ROBE.C08



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT
1	2.104	13013	1985
2	2.444	33363	2799
3	2.744	1324	283
4	2.944	20175	1830
5	3.441	7809	719
6	3.880	7350	583
7	4.342	1760	152
8	4.765	3367	236
9	6.093	4842	269
10	7.742	1282	109
11	7.887	1972	178
		96256	9142

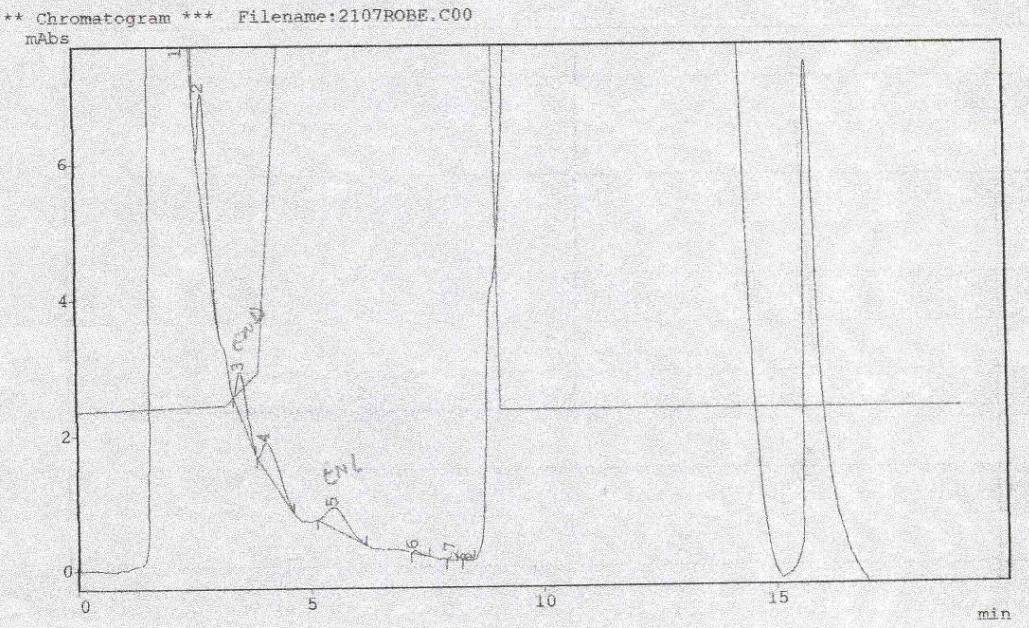
Pico 5 – Enterodiol

Pico 9 - Enterolactona

CLASS-LC10 Ver.=1.64 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=1 DATA=2107ROBE.D00 08/08/12 10:18:54

Vial # : 0
Sample : Arroz 1- Hidr Enz - 0,0416g/200uL Fase A
ID :
Inj. Volume : 40
Type : Unknown
Detector : SPD-10A Single
Operator :
Method Name : LIGNANAS.M01

*** Chromatogram *** Filename:2107ROBE.C00



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT
1	2.276	251023	17899
2	2.746	20209	1588
3	3.515	8601	628
4	4.049	10977	425
5	5.497	9396	320
6	7.199	415	55
7	8.007	804	121
8	8.356	414	41
		301837	21078

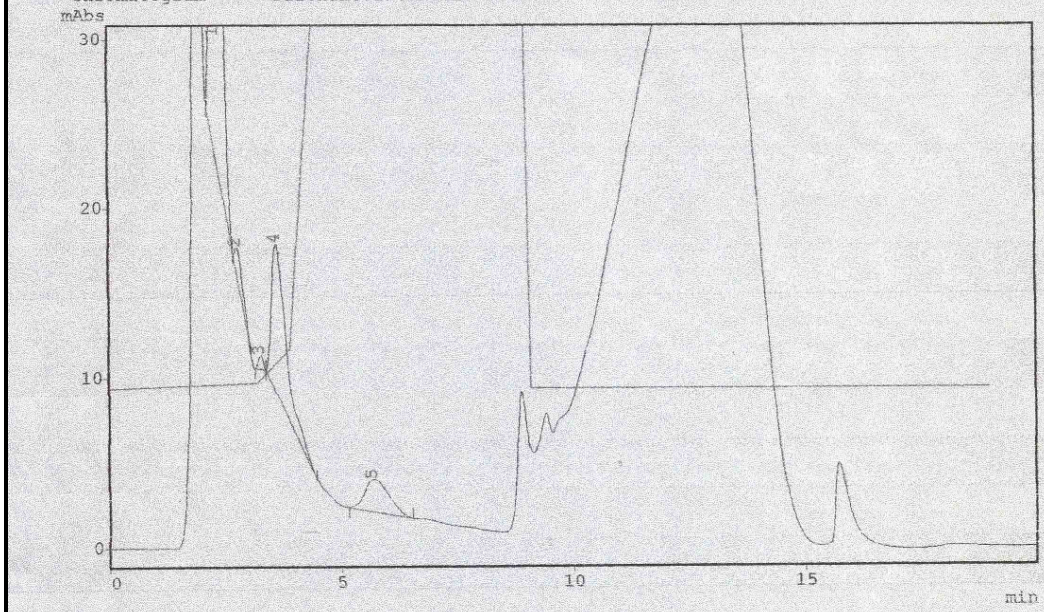
Pico 3 – Enterodiol

Pico 5 - Enterolactona

CLASS-LC10 Ver.=1.64 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=3 DATA=1907ROBE.D02 08/08/07 10:27:16

Vial # : 2
Sample : Dieta Tampa VerdeHidr Enz - 0,0412 g/200ul de fase A
ID :
Inj. Volume : 40
Type : Unknown
Detector : SPD-10A Single
Operator :
Method Name : LIGNANAS.M01

*** Chromatogram *** Filename:1907ROBE.C02



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT
1	2.323	664508	43157
2	2.778	10553	1526
3	3.279	5720	784
4	3.612	182425	8785
5	5.690	68454	1968
		940659	56219

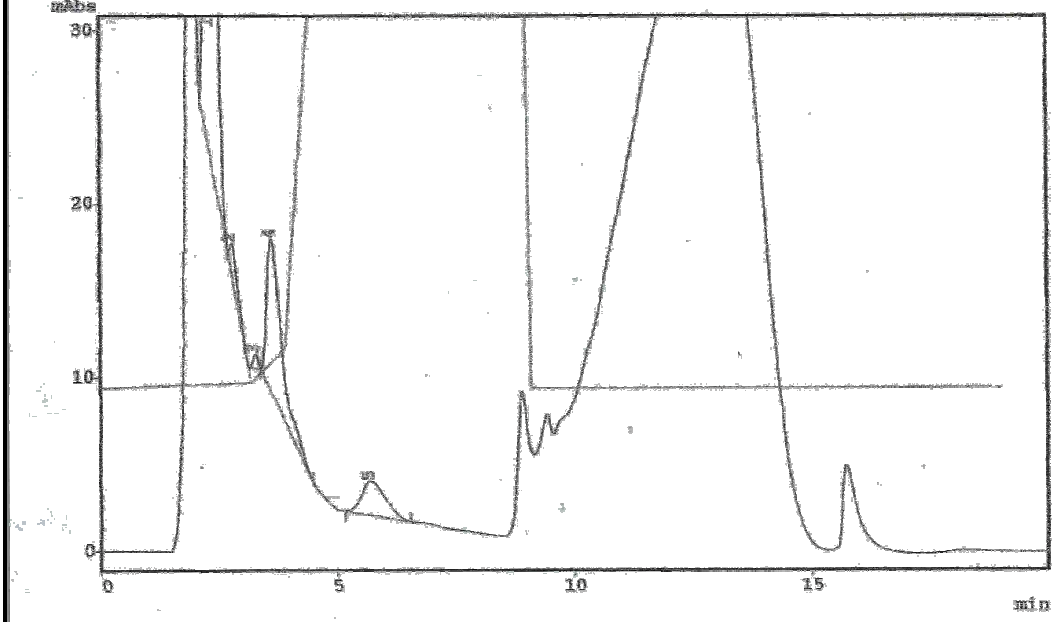
Pico 4 – Enterodiol

Pico 5 - Enterolactona

CLASS-LC10 Ver.=1.64 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=3 DATA=1907ROBE.D02 08/08/07 10:27:16

Vial # : 2
Sample : Dieta Tampa VerdeHidr Enz - 0,0412 g/200ul de fase A
ID :
Inj. Volume : 40
Type : Unknown
Detector : SPD-10A Single
Operator :
Method Name : LIGNANAS.M01

*** Chromatogram *** Filename:1907ROBE.C02



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT
1	2.323	664508	43157
2	2.778	19553	1526
3	3.279	5720	784
4	3.612	182425	8785
5	5.690	68454	1968
		940659	56219

Pico 4 – Enterodiol

Pico 5 - Enterolactona