**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Efeito de um plano alimentar quali-quantitativo sobre a
expressão gênica e concentração plasmática de
biomarcadores inflamatórios em pacientes obesos em
prevenção secundária para doença cardiovascular**

Renata Alves da Silva

**Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação Nutrição em
Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública
para obtenção do título de Mestre em Ciências.**

**Área de Concentração: Nutrição em Saúde
Pública**

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero

São Paulo

2017

Efeito de um plano alimentar quali-quantitativo sobre a expressão gênica e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios em pacientes obesos em prevenção secundária para doença cardiovascular

Renata Alves da Silva

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero

São Paulo

2017

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução configure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Wilson José da Silva e Eliana Alves, que não tiveram a mesma oportunidade que eu para a formação universitária, mas me ensinaram a dedicação e o esforço através do trabalho, e que “morrem” de orgulho das minhas conquistas, desde quando me formei no Pré...

*“You are here with me
You have been here
And you are everything”
(P. Buck, M. Mills, B. Berry, M. Stipe)*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero, por me aceitar como aluna, tendo paciência nas explicações, correções e no meu jeito *old school* de estudar.

Ao Dr. Daniel Carlos Magnoni e à nutricionista Cristiane Kovacs, minha chefia no Instituto Dante Pazzanese, por terem me aberto a porta para a possibilidade de ingressar neste mestrado.

À dra. Bernadete Weber e todos os pesquisadores do projeto Dieta Cardioprotetora Brasileira, pela oportunidade de ser uma pesquisadora e da utilização do banco de dados.

Ao Laboratório de Biologia Molecular do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, por seus funcionários que tanto ajudaram na manipulação e armazenamento de todas as amostras do estudo Dieta Cardioprotetora Brasileira; em especial, ao prof. Dr. Mário Hirata, chefe do departamento, e à bióloga Dra. Hui Lin Wang, com sua paciência oriental e simpatia brasileira, me atendeu em todos meus questionamentos e solicitações.

Aos pacientes do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, sem os quais minha pesquisa não existiria e que me permitem, em cada atendimento, exercer bem meu trabalho e progredir profissionalmente.

Às colegas de pesquisa em mestrado e doutorado, Maria Beatriz Ross, Marcela Omena e Ângela Ferreira, pela colaboração mútua nos procedimentos de laboratório e no compartilhamento de ansiedades expectativas.

À técnica de laboratório Geni, da Faculdade de Saúde Pública, sempre disposta nas minhas solicitações. À Paula Helena de Lima, que deu início ao projeto.

À profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno, e sua aluna Patrícia Azevedo de Lima, por permitirem a utilização e auxílio na realização das análises em seu laboratório, enriquecendo os dados do meu estudo.

Ao meu irmão Daniel, minha cunhada Lauriana e minha sobrinha Ana Laura, bem como demais amigos que, durante todo esse processo, não me deixaram esquecer a importância da companhia de vocês, dos risos e dos passeios, que são únicos, tranquilizantes e revigorantes, um tempo gasto que é sempre um tempo ganho.

À Tatiana Cristina Carlotti, amiga de 22 anos, por me dedicar um “canto” para relaxar antes das aulas de pós-graduação e por um espaço enorme no seu coração.

Às colegas de ambulatório do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, que entenderam minhas necessidades e escutaram meus anseios e preocupações, durante o mestrado: nutricionistas Catharina Paiva, Fernanda Amparo, Priscila Moreira, Aline Monteiro e Karina Gama.

Ao estatístico João Ítalo Dias França, que realizou as análises e esclareceu dúvidas, contribuindo para os resultados deste trabalho.

A Deus e a espiritualidade, aos quais recorri diversas vezes, pedindo calma, direcionamento e apoio, desde o processo seletivo até nos momentos de maior entusiasmo ou de grande cansaço.

Silva, R.A. Efeito de um plano alimentar quali-quantitativo sobre a expressão gênica e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios em pacientes obesos em prevenção secundária para doença cardiovascular. 2017. Dissertação de mestrado - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

RESUMO

Introdução: A doença cardiovascular é a maior causa de mortalidade no mundo e o Brasil está entre os 10 países com maiores índices, principalmente entre homens com idade inferior a 70 anos. A alimentação é um fator de risco modificável, que pode influenciar a expressão gênica e a concentração de biomarcadores inflamatórios relacionados à obesidade e à aterosclerose. **Objetivo:** Este subestudo avaliou se uma intervenção nutricional baseada na alimentação habitual brasileira modifica a expressão de genes envolvidos com aterosclerose e a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios, na prevenção secundária para doença cardiovascular.

Métodos: Foram selecionados seis pacientes do sexo masculino, idade igual ou superior a 45 anos, obesos e com circunferência abdominal elevada, em acompanhamento do plano alimentar quali-quantitativo por 6 meses, para determinação da concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios (interleucina (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, fator de necrose tumoral alfa, proteína C reativa e adiponectina) e expressão de 84 genes relacionados à aterosclerose em células totais do sangue periférico, bem como perfil lipídico, glicemia, insulinemia, ácidos graxos plasmáticos, dados sobre ingestão alimentar (recordatório de 24 horas) e antropometria (peso, estatura e circunferência da cintura), nas visitas inicial e final.

Resultados: Após a intervenção nutricional, os pacientes reduziram o peso, a circunferência abdominal, o índice *Homeostasis Model Assessment* para resistência à insulina ($p=0,046$) e a contagem global de leucócitos ($p=0,046$) e de neutrófilos ($p=0,028$). Não houve alteração significativa na concentração plasmática dos biomarcadores inflamatórios, contudo, verificou-se aumento significativo na expressão dos genes *Apo A1* ($p=0,011$), *ELN* ($p=0,017$) e *IL4* ($p=0,037$). **Conclusão:** Assim, o plano alimentar quali-quantitativo, composto de alimentos habituais brasileiros, não reduziu a concentração de biomarcadores inflamatórios, mas aumentou a expressão

de três genes envolvidos com aterosclerose, em pacientes obesos, na prevenção secundária para doença cardiovascular.

Descritores: doença cardiovascular, dieta, mRNA, obesidade, biomarcadores inflamatórios, expressão gênica.

Silva, R.A. Effect of qualitative and quantitative food plan on gene expression and plasma concentrations of inflammatory biomarkers in obese patients in secondary prevention for cardiovascular disease. 2017. Dissertation. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. Portuguese.

ABSTRACT

Introduction: Cardiovascular disease is the largest cause of mortality in the world and Brazil is among the 10 countries with the highest rates, especially among men under 70 years of age. Diet is a modifiable risk factor, which may influence the gene expression and concentration of inflammatory biomarkers related to obesity and atherosclerosis. **Objective:** This substudy evaluated whether a nutritional intervention based on the usual Brazilian diet modifies the expression of genes involved with atherosclerosis and the plasma concentration of inflammatory biomarkers in the secondary prevention for cardiovascular disease. **Methods:** Six male patients, aged 45 years or older, obese and with high waist circumference were selected, to follow a qualitative-quantitative food plan for 6 months, in order to determine the plasma concentration of inflammatory biomarkers (interleukin (IL) -1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, tumor necrosis factor alpha, C-reactive protein and adiponectin) and expression of 84 atherosclerosis-related genes in total peripheral blood cells, as well as lipid profile, glycemia, insulinemia, plasma fatty acids, food intake data (24-hour recall) and anthropometry (weight, height and waist circumference) at the initial and final visits. **Results:** After nutritional intervention, patients reduced weight, waist circumference, Homeostasis Model Assessment index for insulin resistance ($p = 0.046$) and overall leukocyte count ($p = 0.046$) and neutrophils ($p = 0.028$). There was no significant modification in the plasma concentration of the inflammatory biomarkers. However, there was a significant increase in the expression of Apo A1 ($p = 0.011$), ELN ($p = 0.017$) and IL4 ($p = 0.037$) genes. **Conclusion:** Thus, the qualitative-quantitative food plan, composed of Brazilian usual foods, did not reduce the concentration of inflammatory biomarkers, but increased the expression of three genes involved with atherosclerosis in obese patients, in secondary prevention for cardiovascular disease.

Descriptors: cardiovascular disease, diet, mRNA, obesity, inflammatory biomarkers, gene expression.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 INFLAMAÇÃO E OBESIDADE	17
1.2 ATEROSCLEROSE E PROCESSO INFLAMATÓRIO	20
1.3 DIETA E DOENÇA CARDIOVASCULAR	22
1.4 EXPRESSÃO GÊNICA E PADRÃO ALIMENTAR	25
2 JUSTIFICATIVA	28
3 HIPÓTESE	29
4 OBJETIVOS	30
4.1 OBJETIVO GERAL	30
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
5 MÉTODOS E MATERIAIS	31
5.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	31
5.1.1 Critérios de Inclusão	31
5.1.2 Critérios de Não Inclusão	33
5.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO	33
5.3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	36
5.3.1 Peso	36
5.3.2 Estatura	36
5.3.3 Circunferência da Cintura	37
5.3.4 Índice de Massa Corporal	37
5.3.5 Estimativa de Gasto Energético (GEB)	37
5.4 PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA	38
5.5 MEDICAMENTOS	38
5.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	39
5.6.1 Determinação das Concentrações Sanguíneas de Glicose, Insulina e Perfil Lipídico	39
5.6.2 Determinação das Concentrações Plasmáticas de Apolipoproteínas	40
5.6.3 Subfrações e tamanho de HDL	40
5.6.4 Leucograma	41

5.6.5	Quantificação plasmática de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)	41
5.6.6	Biomarcadores Inflamatórios	41
5.6.7	Perfil de Ácidos Graxos Plasmáticos	42
5.7	EXPRESSÃO GÊNICA	43
5.7.1	Extração, Quantificação e Análise de Integridade do RNA	43
5.7.2	Análise de Expressão Gênica	44
5.8	PLANO NUTRICIONAL QUALI-QUANTITATIVO	46
5.8.1	Avaliação da Ingestão Alimentar	49
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
7	RESULTADOS	52
7.1	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	52
7.2	GASTO ENERGÉTICO BASAL	52
7.3	ANÁLISE DOS EXAMES BIOQUÍMICOS	53
7.4	ANÁLISE DOS BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS	54
7.5	AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS PLASMÁTICOS	54
7.6	EXPRESSÃO GÊNICA DE CÉLULAS ORIUNDAS DO SANGUE PERIFÉRICO	55
7.7	AVALIAÇÃO DA ADESÃO AO PLANO ALIMENTAR QUALI-QUANTITATIVO	59
7.8	AVALIAÇÃO DO CONSUMO E COMPOSIÇÃO DA ALIMENTAÇÃO HABITUAL	60
7.9	CORRELAÇÃO DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS COM EXAMES BIOQUÍMICOS E BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS	63
7.10	CORRELAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E EXAMES BIOQUÍMICOS	63
7.11	CORRELAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS PLASMÁTICOS	64
7.12	CORRELAÇÃO ENTRE EXPRESSÃO GÊNICA E COMPOSIÇÃO DE LÍPIDES DO CONSUMO ALIMENTAR	64
7.13	CORRELAÇÃO ENTRE EXPRESSÃO GÊNICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS PLASMÁTICOS	64
7.14	PODER DA AMOSTRA	65

8 DISCUSSÃO	66
8.1 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS	71
9 CONCLUSÃO	72
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
ANEXOS	
Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia	81
Anexo 2 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Coração	83
Anexo 3 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo	85
Anexo 4 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	86
CURRICULO LATTES	
Renata Alves da Silva	88
Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação antropométrica dos participantes, pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média ± DP)	52
Tabela 2 – Perfil bioquímico, pré e pós intervenção nutricional. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média ± DP)	53
Tabela 3 – Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios, pré e pós intervenção nutricional. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média ± DP)	54
Tabela 4 – Perfil dos ácidos graxos plasmáticos, pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média ± DP)	55
Tabela 5 – Expressão gênica de células oriundas do sangue periférico pós intervenção nutricional, em comparação com a pré intervenção. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013	55
Tabela 6 – Adesão por pontuação aos grupos alimentares e total, segundo critérios do índice dietético baseado no Programa Alimentar Cardioprotetor Brasileiro (DICA Br), pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média)	60
Tabela 7 – Caracterização do consumo de energia, macronutrientes, micronutrientes, ácidos graxos e fibras alimentares, pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média ± DP)	61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Delineamento do estudo	35
Quadro 2 – Genes analisados por <i>Human Atherosclerosis RT² Profiler</i> <i>rt-PCR</i> Array	44
Quadro 3 – Exemplo de classificação de alimentos, nos grupos verde, amarelo e azul	48
Quadro 4 – Critérios para pontuação de adesão à dieta pelo índice dietético baseado no Programa Alimentar Cardioprotetor Brasileiro (DICA Br)	50

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCA	ATP <i>binding cassette</i> A
AGM	Ácido graxo monoinsaturado
AGP	Ácido graxo poli-insaturado
AGS	Ácido graxo saturado
ALT	Alanina aminotransferase
AMPK	Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato
Apo	Apolipoproteína
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
ATP III	<i>Adult Treatment Prevention</i> III
AVC	Acidente vascular cerebral
BRT	<i>Blood RNA Tube</i>
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
DAP	Doença arterial periférica
DASH	<i>Dietary Approach to Stop Hypertension</i>
DCNT	Doença crônica não transmissível
DCV	Doença cardiovascular
DHA	Ácido docosaexaenoico
DICA Br	Dieta Cardioprotetora Brasileira
DM	Diabete melito
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
GLUT	Proteína transportadora de glicose
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA	<i>Homeostasis Model Assessment</i>
IAM	Infarto agudo do miocárdio

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
IRS	Receptor de insulina
LCAT	Lecitina-colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
MCP-1	Proteína quimiotática para monócitos 1
MCSF	Fator estimulador de colônia de macrófagos
MEV	Modificação do estilo de vida
MMP	Metaloproteinase de matriz
NCEP	<i>National Cholesterol Education Program</i>
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
PAI	Inibidor do ativador do plasminogênio
PBMC	Células mononucleares do sangue periférico
PCR	Proteína C reativa
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
Predimed	<i>Prevención con Dieta Mediterranea</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RPM	Rotações por minuto
<i>rt-PCR</i>	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
SRB	<i>Scavenger receptors B</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triacilglicerol
TNF	Fator de necrose tumoral
tPA	Ativador do plasminogênio tecidual
VCAM	Molécula de adesão vascular celular
VCT	Valor calórico total
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

1. INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular (DCV) é a principal causa de mortalidade global, em ambos os sexos, respondendo por cerca de 17,5 milhões de óbitos ao ano. Tal fato representa 31,5% de todos os óbitos, sendo em torno de 16 milhões ocorrendo em indivíduos com idade inferior a 70 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO, 2015a).

Dentre os casos de óbitos por DCV, pelo menos 75% ocorrem em países em desenvolvimento, possivelmente, por não terem acesso precoce aos serviços preventivos em saúde (WHO, 2015a). No Brasil, segundo o Portal Brasil do Ministério da Saúde (2014), as DCV representaram 29,4% da mortalidade no país — percentual que coloca o Brasil entre os 10 países com maiores prevalências —, acometendo principalmente homens (60%) com idade inferior a 60 anos. As DCV foram a terceira causa de internação no Sistema Único de Saúde (SUS) em 2001, com taxa de 10%, sendo a maior proporção observada na região Sudeste e a menor na região Norte.

Os indivíduos acometidos por infarto agudo do miocárdio (IAM) ou por acidente vascular cerebral (AVC), que sobrevivem ao evento, necessitam de tratamento por longo prazo, o que acarreta em impacto relevante na economia do país (WHO, 2015a). Além disso, o crescimento da prevalência de DCV nos países em desenvolvimento representa uma das questões de saúde pública mais relevante da atualidade. Considerando custos, mais de US\$ 800 bilhões foram gastos decorrentes de eventos cardiovasculares no mundo, sendo estimados US\$ 108,9 bilhões de custos diretos e indiretos, somente nos Estados Unidos (ABDULLAH et al., 2015).

As DCV são doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) – assim como diabetes melito (DM), cânceres e problemas respiratórios – e, em grande parte, evitáveis (WHO, 2015b). O estudo epidemiológico prospectivo *Framingham Heart Study* apontou as principais características associadas às DCV, estabelecendo os fatores de risco tradicionais (dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, DM, idade, sexo masculino, antecedentes familiares de DCV, obesidade e sedentarismo) (WILSON, 1994; WHO, 2015b). Embora a idade, o sexo e a predisposição genética sejam fatores de risco não modificáveis, outros determinantes não menos importantes são passíveis de intervenções factíveis de baixo custo, na

modificação do estilo de vida (MEV), como cessação de tabagismo, prática de atividade física e adoção de hábitos alimentares saudáveis (WHO, 2015b).

Para pacientes em prevenção secundária, o uso correto de medicamentos (por exemplo, ácido acetilsalicílico, estatinas, betabloqueadores e inibidores da enzima conversora de angiotensina), associado com as intervenções de MEV, podem reduzir, em aproximadamente 75%, a recorrência de evento cardiovascular (WHO, 2015a). Além disso, temos como preditores de risco adicionais, a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios, como a proteína C reativa (PCR) e o fator de necrose tumoral (TNF)- α , uma vez que os fatores de risco relacionados ao estilo de vida, por meio da interação ambiente-genes, podem induzir aumento da resposta inflamatória, que desempenha papel relevante na etiologia das DCV (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM – NCEP, 2001; KON et al., 2005; KLEIN et al., 2006).

1.1 OBESIDADE E INFLAMAÇÃO

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, o qual compromete a saúde do indivíduo e contribui para a ocorrência de diversas DCNT. A prevalência de obesidade dobrou desde a década de 1980, sendo estimada atualmente em 13% da população mundial (WHO, 2015b). A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2008-2009 mostrou aumento no percentual de indivíduos adultos obesos na população brasileira, entre os anos de 1974 e 2009, com destaque para os indivíduos do sexo masculino, cujo percentual quadruplicou no período supracitado – de 2,8% para 12,4% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2009).

As consequências da obesidade à saúde têm sido evidenciadas em diversos estudos, sendo considerada um fator de risco independente para DCV. Cabe destacar que o risco cardiometabólico associado à obesidade permanece elevado mesmo após o controle de comorbidades associadas, como hipertensão arterial, dislipidemia e DM. Por isso, é considerado problema importante de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento (WHO, 2015b).

O acúmulo de gordura na região abdominal está associado a maior risco de mortalidade e de DCNT quando comparado à obesidade periférica. Este fato se deve a maior atividade metabólica do tecido adiposo branco visceral, uma vez que adipócitos nesta localização apresentam funções envolvendo regulação de apetite, sensibilidade periférica à insulina, reserva energética e produção de citocinas pró-inflamatórias (HUXLEY et al., 2010). O excesso de ingestão calórica favorece a readequação da capacidade de armazenamento de triacilgliceróis (TG) no tecido adiposo branco, o que leva à diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros (hiperplasia) e induz os adipócitos a aumentarem seu tamanho (hipertrofia). Em homeostase, esse remodelamento tecidual é controlado pelo seu sistema imune inato, dentre outros, pelos macrófagos tipo 2 e eosinófilos, os quais produzem as citocinas anti-inflamatórias interleucinas (IL) 10 e 4, respectivamente (GALIC et al., 2010; GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011).

Em situações de excesso de ingestão de nutrientes, a capacidade de armazenamento de TG pelos adipócitos maduros é exacerbada, fato que pode acarretar em quadro de micro-hipóxia no tecido adiposo e apoptose de adipócitos, com consequente liberação de ácidos graxos livres (AGL) na corrente sanguínea. Concomitantemente, vias de sinalização são ativadas, como a via do fator de transcrição nuclear denominado fator nuclear kappa B (NF- κ B), que promove o aumento da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na inflamação, como citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF α) e quimiocinas (proteína quimiotática para monócitos (MCP)-1). Essas proteínas, por sua vez, favorecem a infiltração de macrófagos periféricos (tipo 1) ao tecido adiposo, os quais também secretam TNF- α e IL-6, exacerbando a inflamação local. Nesse contexto, a obesidade é considerada uma inflamação crônica, subclínica e de baixa intensidade (CANCELLO e CLEMENT, 2006; GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011; WENSVEEN et al., 2015).

A principal origem da resposta inflamatória sistêmica está no tecido adiposo, porém outros locais do organismo também estão envolvidos na inflamação, como o fígado (CAI et al., 2005), o pâncreas (EHSES et al., 2007), o hipotálamo (DE SOUZA et al., 2005), o coração (GRAY e VIDAL-PUIG, 2007) e o músculo esquelético (VARMA et al., 2009). Assim, verifica-se a presença de resistência à ação da insulina no músculo esquelético, no tecido adiposo, no hipotálamo e no fígado, sendo que dentre as causas para tal fato, destaca-se o aumento da expressão do TNF- α , que altera a via de sinalização da insulina e, em última instância, reduz a translocação

para a membrana celular da proteína transportadora de glicose (GLUT)-4. Na presença de $\text{TNF}\alpha$, há prejuízo da via de sinalização da insulina, por meio da fosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS)-1 em resíduos de serina, na posição 307 do substrato. Quando o IRS-1 é fosforilado nesta posição, ocorre redução de sua interação com o receptor de insulina, na subunidade beta, e, consequentemente, ocorre a redução da transdução do sinal da insulina (DONATH e SHOELSON, 2011).

O tecido adiposo ainda produz proteínas denominadas adipocinas, dentre as quais a leptina, a resistina, a visfatina e a adiponectina, bem como citocinas, como IL-6, $\text{TNF-}\alpha$ e MCP-1 (OUCHI et al., 2011). A leptina secretada pelos adipócitos age no hipotálamo, para regular a saciedade, reduzindo a ingestão alimentar e a utilização de energia e estimulando o gasto energético. Apesar dessa atuação, pacientes obesos apresentam aumento da concentração plasmática de leptina em comparação a indivíduos eutróficos, possivelmente, pela ocorrência de um mecanismo de resistência à ação da leptina. Esse aumento da concentração plasmática de leptina estimula a expressão gênica de proteínas com ação pró-inflamatória, como o inibidor do ativador do plasminogênio (PAI)-1, o ativador do plasminogênio tecidual (tPA), a PCR e o fibrinogênio, que favorecem a agregação plaquetária e a aterogênese (BELTOWSKI, 2006; OUCHI et al., 2011).

A resistina está relacionada com resistência à ação da insulina e o processo pró-inflamatório, por aumentar a expressão gênica do $\text{TNF-}\alpha$, da IL-6, da molécula de adesão intercelular (ICAM)-1 e da molécula de adesão vascular celular (VCAM)-1 (REILLY et al., 2005), enquanto a visfatina é sintetizada pelos adipócitos e macrófagos, ativando a produção de IL-6 e $\text{TNF-}\alpha$ (MOSCHEN et al., 2007).

A adiponectina regula o metabolismo da glicose e a oxidação de ácidos graxos. Sua concentração é inversamente proporcional ao percentual de tecido adiposo corporal. Secretada exclusivamente pelos adipócitos, a adiponectina atua como uma proteína com ação anti-inflamatória, por induzir a expressão da IL-10 e reduzir a ativação da via de sinalização do fator de transcrição $\text{NF-}\kappa\text{B}$. Além disso, a adiponectina apresenta atividade antiaterogênica, pois também tem ação sobre as células endoteliais, inibindo a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a capacidade de conversão de macrófagos em células espumosas, por meio da redução da expressão gênica do $\text{TNF-}\alpha$ induzida pelo $\text{NF-}\kappa\text{B}$ (OUCHI et al., 2011; WENSVEEN et al., 2015).

A redução do peso corporal e da circunferência da cintura favorecem a diminuição das concentrações plasmáticas de biomarcadores pró-inflamatórios, bem como o aumento da concentração plasmática da adiponectina, promovendo aumento da sensibilidade dos tecidos à ação da insulina (CHANDRAN, 2003; BRUNELLI, 2015). Por outro lado, a manutenção dessa inflamação crônica subclínica compromete a homeostase orgânica, favorecendo a manifestação de outras alterações, como disfunção endotelial, estresse oxidativo e resistência à ação da insulina – eventos relevantes no desenvolvimento da aterosclerose.

1.2 ATEROSCLEROSE E O PROCESSO INFLAMATÓRIO

Por definição, aterosclerose é “um processo dinâmico, evolutivo, a partir de um dano endotelial de origem multifatorial, com características de reparação tecidual” (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA - SBC, 2007). Para se entender o processo aterosclerótico, vale lembrar que antigamente o endotélio era considerado apenas uma barreira permeável de trocas e transporte de substâncias. Porém, as células endoteliais desempenham outras funções, como a detecção de estímulos mecânicos e hormonais, a produção de substâncias vasodilatadoras, como o óxido nítrico (NO), a prostaciclina, os fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio, o peptídeo natriurético tipo C e a produção de moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1 e selectina-E) (LIBBY et al., 2002).

A formação da placa de ateroma é uma resposta a um dano causado ao endotélio vascular, que pode ser mecânico, imunológico, virótico ou por oxidação da LDL, que ocasiona a sua disfunção. Inicialmente, essa disfunção endotelial foi identificada como diminuição da vasodilatação; todavia, atualmente, inclui também a presença de estados pró-inflamatório e pró-trombótico. O processo inflamatório tem sido considerado o ponto fundamental para o início e a progressão da placa de ateroma decorrente da resposta descontrolada ao dano tecidual, porém o fator desencadeante do início da formação do ateroma é inespecífico (LIBBY, 2002).

A disfunção endotelial proporciona aumento da permeabilidade de moléculas oriundas do sangue ao subendotélio, principalmente da LDL. Na camada íntima do

endotélio, a LDL pode sofrer oxidação pelas espécies reativas de oxigênio (ERO). Para captação dessas LDL oxidadas (LDL-ox), a qual apresenta alterações químicas que permitem seu reconhecimento como molécula pró-inflamatória, os monócitos alteram sua morfologia e se diferenciam em macrófagos, por meio do estímulo do fator estimulador de colônia de macrófagos (MCSF). Esses macrófagos aumentam a expressão de receptores do tipo “*scavenger*” classe A e de CD36 na sua superfície celular, e são responsáveis por captarem e internalizarem as LDL-ox para seu citoplasma (ROSS, 1999; LIBBY, 2002). Porém, esses macrófagos não possuem limitação na capacidade de captação de LDL-ox, se transformando em “células espumosas” (“*foam cells*”) devido à grande quantidade de colesterol em seu interior, o que favorece a formação do centro da placa de ateroma. Esta função, que seria uma característica protetora (fagocitose), pois removeria a LDL-ox e minimizaria os efeitos prejudiciais na camada subendotelial, torna-se o início do processo aterosclerótico, por induzir a liberação de mais citocinas pró-inflamatórias e ERO, amplificando a inflamação local (LIBBY, 2002).

A presença de LDL-ox pode induzir a ativação da via do NF- κ B em macrófagos, o que culmina no aumento da expressão do TNF- α que, em ação conjunta com a IL-1 β , induz a expressão de moléculas de adesão e quimiocinas na superfície das células endoteliais, principalmente VCAM-1, ICAM-1 e selectina-E. Elas recrutam e se ligam aos leucócitos, especialmente monócitos e linfócitos T, permitindo a passagem através das junções do endotélio por diapedese (ROSS, 1999; LIBBY, 2002). Os macrófagos também liberam IL-8 para facilitar a migração de mais monócitos para a camada íntima vascular (WINTHER et al., 2015).

Ainda na placa aterosclerótica, a ativação da via do NF- κ B promove aumento da expressão da IL-6, onde parece participar da instabilização da mesma (YAMAGAMI et al., 2004). O aumento da concentração plasmática da IL-6 em idosos quadruplica o risco de óbito, quando comparado aos indivíduos com concentrações menores de IL-6 (VOLPATO et al., 2001). A ativação do NF- κ B também eleva a expressão de IL-10, uma citocina anti-inflamatória (WINTHER, 2015). Assim, o NF- κ B atua em duas fases da inflamação: primeiramente, durante o processo inicial, induzindo a expressão gênica de citocinas, enzimas, moléculas de adesão, quimiocinas e proteínas de fase aguda e, posteriormente, promovendo a expressão de citocinas anti-inflamatórias, possivelmente visando à resolução da inflamação (WINTHER et al., 2015).

A PCR é uma proteína de fase aguda positiva produzida pelo fígado, por estímulo da IL-6. A PCR aumenta a lesão mediada por linfócitos T, induz a expressão de moléculas de adesão e do inibidor do ativador do plasminogênio, além de diminuir a síntese de NO. A concentração plasmática elevada da PCR pode predizer eventos cardiovasculares, além de se correlacionar com maior recorrência e óbito. Nos pacientes em prevenção secundária, a concentração plasmática da PCR se correlaciona positivamente com maior mortalidade nos primeiros 6 meses após o primeiro infarto (RIDKER, 1998) e maior risco de eventos coronarianos em indivíduos com angina estável e instável (VAN DER MEER et al., 2003).

Na formação da placa aterosclerótica, e para melhor migração de monócitos, é necessária a degradação da matriz extracelular. Para isso, os macrófagos infiltrados no endotélio liberam metaloproteinases, sendo a principal a metaloproteinase de matriz (MMP)-9, que degrada a elastina e o colágeno. Além disso, ocorre a proliferação intensa de células musculares lisas vasculares, para formação da capa fibrótica da placa. A diminuição da espessura dessa capa até sua ruptura expõe o conteúdo da placa à luz do vaso sanguíneo e exacerba o processo inflamatório, além de ativar fatores de coagulação, na tentativa de reparar a lesão (BUCKLEY e RAMJI, 2015; WINTHER et al., 2015).

Neste contexto, a redução da concentração de colesterol associado à LDL é um fator de risco modificável importante para a prevenção da DCV. A somatória dos riscos associados, como tabagismo, hipertensão arterial, diabetes melito, obesidade, além do sinergismo entre esses fatores, resulta na estratificação para o desenvolvimento da doença aterosclerótica. Por este motivo, a identificação mais precoce dos indivíduos com fatores de risco proporciona prevenção e menores impactos de complicações e custos para a saúde pública (SBC, 2007).

1.3 DIETA E DOENÇA CARDIOVASCULAR

Como parte do tratamento da obesidade e de suas comorbidades, é recomendada a MEV, ou seja, a adoção de alimentação saudável, a prática de

atividade física e a cessação do tabagismo. A redução do peso corporal e da circunferência abdominal estão associadas à diminuição da pressão arterial e à melhora das alterações metabólicas. Portanto, a alimentação desempenha papel relevante na redução destes fatores de riscos, como pode ser observado em ensaios clínicos e epidemiológicos (DE LORGERIL et al., 1999; WILSON, 1999; ROS, 2014).

Estudos populacionais relacionaram o consumo habitual quantitativo e qualitativo de lipídeos e a incidência de DCV. Na década de 1970, o *Oslo Heart Study* (LEREN, 1970) mostrou redução do número de eventos fatais e não fatais, em 5 e 11 anos de acompanhamento, de homens após 1 a 2 anos de IAM, quando submetidos à dieta com baixa quantidade de lipídeos de origem animal e rica em óleos vegetais, quando comparada à alimentação padrão da população (dieta controle). A dieta experimental foi composta, em relação ao valor calórico total, por 46% de carboidratos, 15% de proteínas e 39% de lipídeos, distribuídas em 8,4% de ácidos graxos saturados, 10,0% de ácidos graxos monoinsaturados e 20,6% de ácidos graxos poli-insaturados, aliada à ingestão diária inferior a 300 mg de colesterol. Em média, os indivíduos desse grupo obtiveram redução de 29% na concentração plasmática de colesterol total (CT) em 5 anos.

Já nos anos 1990, o *Lyon Diet Heart Study* (DE LORGERIL et al., 1999), conhecido como “Dieta do Mediterrâneo”, um estudo de intervenção dietética em pacientes de prevenção secundária pós-IAM, demonstrou que a alimentação composta por frutas, hortaliças, cereais integrais, carnes brancas (aves e peixes), azeite de oliva e oleaginosas e por consumo moderado de vinho tinto – os quais são ricos em compostos bioativos (por exemplo, resveratrol, hidroxitirosol, fitosteróis, glicosinolatos, quercetina, licopeno, flavonoides) – esteve associada com redução de risco de recorrência de evento entre 50 e 70%. Hoje é consenso que a dieta do Mediterrâneo é eficaz e, possivelmente, a intervenção mais apropriada para a redução do risco e para o tratamento das DCV (WILLETT et al., 1995; HOOPER et al., 2004; APPEL et al., 2005; PARIKH et al., 2005). No entanto, a adesão à esta dieta é significativamente menor fora da região do Mediterrâneo – e as razões provavelmente são referentes a diferenças culturais, sociais e econômicas entre localidades, como no Brasil (BELLISLE, 2009).

Uma revisão sistemática com meta-análise, incluindo 6 estudos clínicos randomizados, indicou que a dieta do Mediterrâneo, pela característica de elevado teor de ácidos graxos monoinsaturados e reduzido teor de ácidos graxos saturados,

tende a ser uma dieta adequada para diminuir a concentração plasmática de biomarcadores pró-inflamatórios, não só pela redução dos fatores de risco, mas também pela redução da concentração plasmática dos biomarcadores inflamatórios (NORDMANN et al., 2011). Neste sentido, constata-se que a quantidade e o tipo de lipídio ingerido na dieta exercem influência direta sobre os fatores de risco cardiovascular, como dislipidemia, obesidade e diabetes melito, uma vez que os lipídios alimentares regulam diferentes vias metabólicas e modulam a resposta inflamatória. Dietas com alto teor de AGS são amplamente associadas a elevadas concentrações de biomarcadores inflamatórios (BASU et al., 2006), bem como ao aumento da expressão de genes pró-inflamatórios (VAN DEJK et al., 2009). Por outro lado, os ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) reduzem a expressão de genes pró-inflamatórios (ENDRES et al., 1989; CAUGHEY et al., 1996; PEREZ-MATUTE et al., 2007), além de contribuírem com o aumento da expressão gênica e da concentração plasmática da adiponectina (FERNANDEZ-REAL et al., 2005; FLACHS et al., 2006).

Mais recentemente, o estudo Predimed (*Prevención con Dieta Mediterránea*) (CASAS et al., 2014) comparou três grupos de padrão alimentar (baixo teor de lipídios no grupo controle, grupo dieta mediterrânea mais 50 mL de azeite de oliva por dia e grupo dieta mediterrânea mais 30 g de oleaginosas por dia) em pacientes de ambos sexos (mulheres entre 60 e 80 anos, homens entre 55 e 80 anos), com sobrepeso ou obesidade, em prevenção primária. Dentre os diversos resultados obtidos, verificou-se redução significativa da pressão arterial e da concentração plasmática de colesterol associado à LDL, bem como de biomarcadores inflamatórios (PCR, IL-6 e selectina-P), em ambos os grupos da dieta mediterrânea, quando comparados ao grupo controle. Especificamente, a concentração plasmática da ICAM solúvel também foi reduzida no grupo da dieta mediterrânea adicionada de azeite de oliva, enquanto o grupo da dieta mediterrânea mais oleaginosas apresentou redução da expressão da CD40 na superfície de monócitos oriundos do sangue periférico.

Para a avaliação do efeito da dieta mediterrânea na população brasileira, é necessária não apenas a sua orientação ao paciente, como também a aquisição dos alimentos que a compõem (por exemplo, o azeite de oliva, o vinho e as oleaginosas), os quais têm um baixo consumo, devido ao custo desses produtos (THOMAZELLA et al., 2011).

Baseando-se em diversos estudos de intervenção nutricional, as recomendações alimentares para prevenção ou para recorrência de DCV foram sendo propostas por organizações.

Segundo o *Adult Treatment Prevention III* (ATP III), do *National Cholesterol Education Program* (NCEP, 2001), a redução de ingestão de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos trans e colesterol e o aumento da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados (AGP), ácidos graxos monoinsaturados (AGM), fibras alimentares, frutas e hortaliças são orientações básicas na conduta alimentar. Do mesmo modo, a *American Diabetes Association* (ADA, 2016) também orienta uma alimentação adequada e equilibrada para promoção e redução dos riscos à saúde, com baixas quantidades de sódio e açúcares simples, preferência para AGM e incremento da ingestão de fibras alimentares.

No Brasil, a SBC preconiza, na VI Diretriz Brasileira de Hipertensão (2010) o padrão dietético *DASH* (*Dietary Approach to Stop Hypertension*), que se constitui de hortaliças, frutas, cereais integrais, oleaginosas, carnes brancas (aves e peixes) e laticínios com baixa quantidade de lipídios, bem como redução da ingestão de carne bovina e de açúcares, cujo padrão demonstrou diminuição dos valores pressóricos, devido ao menor consumo de sódio e aos efeitos positivos pela presença de magnésio, potássio e cálcio. Orientações semelhantes são recomendadas pela IV Diretriz Brasileira de Dislipidemias (SBC, 2007), que ainda inclui consumo de aveia, proteína de soja e alimentos fontes de polifenóis (como chás, café, frutas vermelhas, tipo amora e framboesa, e chocolate), por efeitos na redução da concentração plasmática de CT e LDL, no aumento de lipoproteína de alta densidade (HDL) e na menor peroxidação lipídica.

1.4 EXPRESSÃO GÊNICA E PADRÃO ALIMENTAR

A interação genes e ambiente é dinâmica, ocorrendo desde a concepção. O padrão alimentar representa modulador relevante da expressão gênica, cujo fato pode reduzir o risco das DCNT. Essa interação gene-nutriente pode ser estudada por meio da Nutrigenômica, a qual visa elucidar como os componentes da alimentação

(nutrientes e compostos bioativos) podem influenciar a expressão gênica e, consequentemente, a síntese de proteínas (proteoma) e metabólitos (metaboloma). Diferentes componentes dos alimentos têm a capacidade de aumentar ou reduzir a expressão gênica e, desse modo, influenciar tanto a promoção de saúde quanto o risco de doenças crônicas não transmissíveis (FERGUSON et al., 2016; COMINETTI, HORST E ROGERO, 2017).

O processo aterosclerótico implica na ativação de diferentes vias de sinalização, as quais alteram a expressão gênica e facilitam a progressão da DCV (BUCKLEY e RAMJI, 2015). O tipo de lipídeo da dieta pode influenciar a expressão de genes relacionados com a resposta inflamatória e o processo de aterosclerose.

Um estudo randomizado e cruzado, com 20 idosos saudáveis, de ambos os sexos, testou os efeitos dos tipos de lipídeos da dieta na expressão de genes envolvido na inflamação em células mononucleares do sangue periférico (PBMC), nos estados de jejum e pós-prandial. Os indivíduos consumiram uma das três dietas: (i) tipo mediterrânea enriquecida com azeite de oliva (fonte de AGM); (ii) dieta rica em AGS; (iii) dieta pobre em lipídeos e rica em carboidratos e AGP ômega 3. Após três semanas, amostras de sangue foram coletadas em jejum e, logo depois, os indivíduos receberam um desjejum com a mesma composição da dieta seguida no período de três semanas. Em jejum, o consumo da dieta mediterrânea induziu menor expressão da subunidade p65 do fator de transcrição NF- κ B, em comparação à dieta rica em AGS. Já no estado pós-prandial, a dieta mediterrânea induziu menor expressão da MCP-1, da MMP-9 e da subunidade p65 do NF- κ B, quando comparada à dieta rica em AGS, bem como menor expressão do TNF- α e da subunidade p65 do NF- κ B em comparação ao grupo com elevada ingestão de carboidrato e AGP ômega 3, evidenciando que a dieta mediterrânea reduz a resposta inflamatória (CAMARGO et. al., 2012).

Um subestudo Predimed, após 3 meses de intervenção (grupo controle com baixo consumo de gorduras, intervenções grupo dieta mediterrânea com adição de 50 ml de azeite de oliva e grupo dieta mediterrânea com acréscimo de 30 gramas de oleaginosas), realizou a análise em PBMC de 18 vias de sinalização relacionadas ao desenvolvimento da DCV, em pacientes de ambos os sexos e de alto risco para DCV. Das 18 vias de sinalização avaliadas, 12 vias foram expressas diferencialmente após as dietas de intervenção, sendo nove vias relacionadas à ingestão de dieta mediterrânea acrescida de azeite de oliva, sete vias ligadas à ingestão de dieta

mediterrânea adicionada de oleaginosas e duas relacionadas à dieta com baixo teor de lipídios (controle). Após ajuste para múltiplas hipóteses, permaneceram expressas as nove vias relacionadas ao consumo de dieta mediterrânea mais azeite de oliva, quatro ao consumo de dieta mediterrânea adicionada de oleaginosas e nenhuma relacionada à dieta controle. O consumo de óleo de oliva foi associado à redução da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas com vias de sinalização envolvidas com o processo de aterosclerose (IL-1 β , TNF- α e ICAM-1) e com as vias de sinalização relacionadas à hipóxia e à angiopoietina (VEGF e NF- κ B). A modulação pela dieta mediterrânea das vias relacionadas à hipertensão arterial (sinalização de hipóxia, NO, NO endotelial sintase, renina-angiotensina, aldosterona e hipertrofia cardíaca), tanto com adição de azeite de oliva, quanto de oleaginosas, resultou em menor expressão dos fatores de transcrição NF- κ B e AP-1 em relação à dieta controle. Esses resultados podem ser devido ao tipo de lipídeo (AGM do azeite de oliva ou AGPI das oleaginosas) e conteúdo de compostos bioativos (hidroxitirosol no azeite de oliva, resveratrol nas oleaginosas, fitosteróis em ambos) presentes nesses alimentos (CASTAÑER et al., 2013).

A alimentação tem papel importante na prevenção ou na recorrência da DCV, visto que diversos estudos demonstram a relação entre o consumo de lipídios e o seu desenvolvimento (MUSTAD e KRIS-ETHERTON, 2001). Estudos epidemiológicos prospectivos e ensaios clínicos randomizados demonstraram a importância da adoção das recomendações das principais diretrizes para prevenção das DCV, tendo como conclusão primordial que a redução de fatores de riscos modificáveis pode diminuir o risco da ocorrência de casos (KRAUSS et al., 2000; KROMHOUT et al., 2002; AMBROSIONI et al., 2003; HOOPER et al., 2004; APPEL et al., 2005). Entretanto, a maioria dos estudos se refere à prevenção primária dessas morbidades, enquanto evidências sobre o resultado do controle destes fatores de risco em pacientes de prevenção secundária e sobre os efeitos na expectativa de vida ainda são limitados.

2. JUSTIFICATIVA

O Brasil é um país em desenvolvimento, onde as DCV respondem por cerca de 30% da mortalidade. Dentre as intervenções modificáveis, de baixo custo, a alimentação pode ter papel preponderante, devido a presença de seus componentes bioativos, na melhora dos fatores de risco, na modulação de biomarcadores inflamatórios e na expressão de genes envolvidos no processo de aterosclerose.

Apesar da literatura apresentar significativo número de publicações relacionadas ao efeito de diferentes padrões de dieta no tratamento de pacientes com DCV, a maioria desses estudos refere-se à alimentação com características próprias da cultura local avaliada (por exemplo, a Dieta do Mediterrâneo) e à prevenção primária. Por ser um país com grandes diversidades culturais e naturais, mas com limitações socioeconômicas, esses padrões alimentares exteriores são de difícil acesso e adesão no Brasil. Até o presente momento, nenhum estudo explorou os possíveis benefícios da alimentação típica brasileira, dentro de uma orientação com recomendações propostas pelas Diretrizes Brasileiras para Prevenção e Tratamento das DCV (SBC, 2005; SBC, 2007; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES - SBD, 2009; SBC, 2010), em pacientes em prevenção cardiovascular secundária.

Neste sentido, o presente subestudo visa avaliar, por meio da análise da concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios e de expressão gênica a partir de células oriundas do sangue periférico, que pacientes obesos, em prevenção secundária para DCV e em acompanhamento de orientação nutricional qualitativa individualizada, composta por alimentos habituais brasileiros, para ser factível e de adesão, como tratamento nutricional cardioprotetor, pautada nas atuais Diretrizes Brasileiras para Prevenção e Tratamento das DCV (SBC, 2005; SBC, 2007; SBD, 2009; SBC, 2010), melhoram os perfis inflamatório e metabólico. Espera-se que essas informações auxiliem, em um futuro próximo, na escolha de dietas que atendam às necessidades nutricionais de pacientes que apresentam DCV.

3. HIPÓTESE

Um plano alimentar quali-quantitativo individualizado modula a expressão gênica em células oriundas do sangue periférico e a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios em pacientes obesos em prevenção cardiovascular secundária.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Verificar o efeito de um plano alimentar quali-quantitativo individualizado sobre a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios e a expressão gênica em células oriundas do sangue periférico, em pacientes obesos em prevenção cardiovascular secundária.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a associação entre a expressão gênica em células oriundas do sangue periférico e o perfil de ácidos graxos plasmáticos pacientes obesos em prevenção cardiovascular secundária.
- Verificar a associação entre a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios e o perfil de ácidos graxos plasmáticos em pacientes obesos em prevenção cardiovascular secundária.

5. MÉTODOS

O presente subestudo é primário, intervencional, longitudinal, prospectivo e controlado, realizado no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, localizado na cidade de São Paulo, sendo aprovado pelo seu Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 17100213800005462) (Anexo 1). Seus procedimentos seguem aqueles delineados para o projeto Dieta Cardioprotetora Brasileira (DICA Br), coordenado pelo Hospital do Coração, o qual é um ensaio nacional multicêntrico aprovado pelo seu Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 03218512010010060) (Anexo 2) (WEBER et al., 2015). Também foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública / Universidade de São Paulo (CAAE 65485017.7.0000.5421) (Anexo 3).

Os participantes elegíveis foram convidados para o estudo, orientados sobre o projeto e procedimentos e, após esclarecimento de dúvidas, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), do estudo DICA Br e desta pesquisa, em duas vias, sendo uma entregue ao paciente e outra arquivada com o pesquisador (Anexo 4). O TCLE obedece às exigências regulatórias segundo às diretrizes de Boas Práticas Clínicas, definidas na Conferência Internacional de Harmonização, aos princípios de ética da Declaração de Helsinque, Documento das Américas, Resolução 196/96, e as complementares, do Conselho Nacional de Saúde e do Ministério da Saúde.

5.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

5.1.1 Critérios de Inclusão

- Idade superior a 45 anos;
- Ter evidência (atual ou nos últimos 10 anos) de aterosclerose manifesta (doença arterial coronariana [DAC], ou doença cerebrovascular ou doença arterial periférica [DAP]):

- a) Para diagnóstico de doença arterial coronariana o paciente deve apresentar um ou mais dos sintomas a seguir:
 - DAC assintomática (história de angiografia coronariana ou angiotomografia coronariana com estenose aterosclerótica $\geq 70\%$ do diâmetro de qualquer artéria coronária);
 - DAC sintomática (história de angina: diagnóstico clínico, mesmo sem exames complementares; história de positividade a um teste de esforço);
 - DAC tratada (realização prévia de angioplastia / *stent* / revascularização);
 - Infarto (história de infarto do miocárdio ou síndrome coronariana aguda; história de anormalidade no movimento segmentar da parede cardíaca na ecocardiografia – mesmo que sem sintomas – ou um defeito segmentar fixo em cintilografia – mesmo que sem sintomas).
- b) Para diagnóstico de doença cerebrovascular, o paciente deve apresentar um ou mais dos sintomas a seguir:
 - Diagnóstico médico de acidente vascular cerebral;
 - Evidência de AVC prévio na tomografia computadorizada ou na ressonância nuclear magnética.
- c) Para diagnóstico de DAP, o paciente deve apresentar um ou mais dos sintomas a seguir:
 - DAP assintomática (relação tornozelo/braço $< 0,9$ de pressão arterial sistólica em qualquer perna em repouso; estudo angiográfico ou *doppler* demonstrando estenose $> 70\%$ em uma artéria não cardíaca);
 - DAP sintomática (claudicação intermitente);
 - DAP tratada (cirurgia vascular para doença aterosclerótica);
 - Amputação por causa arterial;
 - Aneurisma de aorta.
- Ter assinado o TCLE.

Além desses descritos acima, para esse subestudo:

- Pacientes homens;
- Obesidade, calculado pelo Índice de Massa Corporal (IMC), com resultado ≥ 30 kg/m², para adultos até 59 anos, ou ≥ 28 kg/m², para idosos;
- Circunferência abdominal acima de 90 cm.

5.1.2 Critérios de Não Inclusão

- Condição psiquiátrica ou neurocognitiva que impeça a obtenção de dados clínicos fidedignos (definida pelo julgamento clínico dos investigadores);
- Expectativa de vida menor que 6 meses (exemplo: neoplasia maligna metastática);
- Diagnóstico de insuficiência hepática com história prévia de encefalopatia ou anasarca;
- Diagnóstico de insuficiência renal com indicação de diálise;
- Diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva;
- Transplante de órgãos;
- Gastroplastia;
- Cadeirante;
- Dificuldade de alimentação via oral.

Como condição adicional para esse subestudo, não foram incluídos indivíduos com diagnóstico de diabetes melito ou em uso de medicamentos hipoglicemiantes.

5.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Os pacientes elegíveis para o protocolo principal foram esclarecidos sobre o estudo na visita inicial e assinaram o TCLE, bem como foram anotados os seus dados antropométricos, de pressão arterial e de medicamentos, agendando retorno para após 15 dias. Nesta consulta seguinte, foram coletadas amostras sanguíneas em jejum, para análises bioquímicas, de perfil de ácidos graxos, de biomarcadores inflamatórios, além de atendimento nutricional ambulatorial para obtenção do recordatório alimentar de 24 horas e orientação para o plano alimentar qualitativo individualizado. Após 6 meses de intervenção nutricional, os pacientes foram agendados para um retorno, no qual repetiram a coleta sanguínea para os mesmos testes, e para obtenção de dados antropométricos, clínicos (medicamentos e pressão arterial) e recordatório de 24 horas (**Quadro 1**).

Para esse subestudo, uma amostra de conveniência (n= 64) coletou material para avaliação da expressão gênica em células do sangue periférico, dentre os quais foram selecionados seis indivíduos do gênero masculino e obesos, acompanhados no grupo intervenção, com objetivo de realizar uma avaliação de genes diferencialmente expressos, para validação posterior na população total do projeto principal.

Os resultados de exames bioquímicos, concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios e expressão gênica foram comparados pré e pós o plano alimentar orientado.

Quadro 1 - Delineamento do estudo

5.3 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

5.3.1 Peso

Para a aferição do peso corporal, foi utilizada balança de plataforma, digital, com precisão mínima de 100 g, da marca Welmy® (Santa Bárbara d'Oeste, Brasil), modelo W200/5.

O equipamento foi posicionado em um piso liso e nivelado. O paciente vestia o mínimo de roupa possível, sem adornos e acessórios, descalço e ereto. A medida foi realizada duas vezes, com o paciente descendo da plataforma e subindo novamente quando o visor estivesse zerado. Se a diferença entre estas duas medidas fosse superior a 0,5 quilograma (kg), o procedimento era repetido até uma diferença mínima. Foi considerado, portanto, o valor médio dessas duas medidas.

5.3.2 Estatura

A medida da estatura foi realizada em um estadiômetro acoplado à balança Welmy® (Santa Bárbara d'Oeste, Brasil), modelo W200/5, e tem precisão de 0,5 centímetro (cm). O paciente subiu na plataforma descalço, se mantendo ereto, com a cabeça erguida e olhando para um ponto fixo na altura dos olhos, braços estendidos ao longo do corpo e livre de adornos. A medição foi realizada duas vezes, desde que a diferença aceitável entre as duas medidas fosse inferior a 1,0 cm e considerando o valor médio dessas duas medidas.

Tanto a balança quanto o estadiômetro são calibrados anualmente, pelo setor de engenharia técnica do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

5.3.3 Circunferência da Cintura

Para medir a circunferência da cintura foi utilizada uma fita métrica de material resistente, inelástica e flexível, com precisão de 0,1 cm. A medida foi realizada duas vezes, com diferença aceitável entre estas duas medidas inferior a 0,5 cm, ou o procedimento repetido até esta diferença, considerando o valor médio dessas duas medidas.

Os valores relativos à circunferência da cintura acima de 90 cm classificam os indivíduos para maior risco de complicações metabólicas (WHO, 2008).

5.3.4 Índice de Massa Corporal

A partir dos dados referentes ao peso corporal e à estatura, foi calculado o IMC (WHO, 1995).

$$\text{IMC} = \text{peso atual (em kg)} / \text{altura}^2 \text{ (em metros)}$$

5.3.5 Estimativa de Gasto Energético Basal (GEB)

A estimativa de GEB foi realizada pelo cálculo da equação de Harris & Benedict para homens, segundo fórmula abaixo:

$$\text{GEB} = 66 + (13,7 \times \text{peso em Kg}) + (5,0 \times \text{altura em cm}) - (6,8 \times \text{idade em anos})$$

5.4 PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

A pressão arterial foi aferida com auxílio de esfigmomanômetro (Digital Semi-Automático G-Tech® Modelo BPA50, Brasil), calibrado a cada 6 meses pelo setor engenharia técnica do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

Os indivíduos estiveram sentados, após repouso de pelo menos cinco minutos, com pernas descruzadas, pés apoiados no chão e dorso recostado na cadeira. Os pacientes não poderiam: ter praticado atividade física 60 minutos antes, ingerido bebidas alcoólicas ou alimentos contendo cafeína, estar com bexiga repleta e fumado 30 minutos anteriores.

O braço esquerdo foi apoiado à mesa, com palma da mão para cima e cotovelo fletido. O manguito foi posicionando na circunferência do braço, sem roupa, sobre a artéria braquial e palpando o pulso radial, após inflar o manguito e desinflar, inflando rapidamente até ultrapassar o valor 200 mmHg no monitor, aguardando a leitura pelo aparelho. A pressão sistólica é determinada na fase I de Korotkoff e a diastólica na fase V de Korotkoff.

O procedimento, bem como os valores obtidos relacionados à pressão arterial, foram aqueles sugeridos para adultos pela SBC, segundo as VI Diretrizes de Hipertensão (2010).

5.5 MEDICAMENTOS

Para o estudo, foi anotado o uso de anti-hipertensivos, hipolipemiantes, anticoagulantes e hipoglicemiantes. Os pacientes foram questionados quanto à medicação utilizada, uma vez que nem todos os pacientes utilizam todas as medicações prescritas pelo médico, por diversos fatores, como: falta de entendimento, ausência de medicamento na unidade de saúde, hospital ou farmácia popular, ou custo do mesmo. Se o paciente não soubesse referir, o mesmo era orientado a levar os medicamentos na consulta posterior.

5.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

A coleta de sangue foi realizada após jejum de 12 horas do paciente e sem consumo de álcool nas 72 horas anteriores. O técnico de enfermagem responsável coletou as amostras em 8 tubos com capacidade de 4 mL de sangue total, contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), para as análises bioquímicas, de perfil de ácidos graxos e de biomarcadores inflamatórios, e mais 2,5 mL de sangue total em cada um dos 2 tubos tipo PAXgene® Blood RNA Tube (BRT) (Becton Dickinson, Allschwil, Suíça), com estabilizador de ácidos nucleicos, os quais foram utilizados para os ensaios de expressão gênica.

5.6.1 Determinação das Concentrações Sanguíneas de Glicose, Insulina e Perfil Lipídico

O laboratório de análises clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia determinou as concentrações plasmáticas de glicose, CT, HDL e TG em soro, pelo equipamento Vitros 5600 (Johnsons & Johnsons, Raritan, Estados Unidos), por método colorimétrico enzimático de química seca. A concentração plasmática de LDL foi determinada pela utilização da fórmula de Friedewald ($LDL = CT - HDL - TG / 5$).

A concentração sérica de insulina foi determinada em soro, no laboratório de medicina diagnóstica da Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa, com o auxílio do *kit* Lincoplex (Linco Research Incorporated, St. Charles, Estados Unidos), por meio do método de quimioluminescência. Com esse resultado, foram calculados os valores de *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) para resistência à insulina (HOMA IR) e para avaliação da função das células beta pancreáticas (HOMA B), segundo as respectivas fórmulas abaixo:

$$HOMA\ IR = \text{glicose de jejum} \times \text{insulina de jejum} / 22,5$$

$$HOMA\ B = [(20 \times \text{insulina de jejum}) / (\text{glicemia de jejum}/18)] - 3,5$$

5.6.2 Determinação das Concentrações Plasmáticas de Apolipoproteínas

A determinação plasmática de apolipoproteínas (Apo) A1 e B foram realizadas no Laboratório de Nutrição Humana da FSP/USP. O equipamento utilizado foi o Cobas Mira Classic (Roche), por meio do método padrão imuno-turbidimétrico, com utilização, respectivamente, dos kits APO A1® e APO B® (Randox Laboratories Limited, Reino Unido).

5.6.3 Subfrações e Tamanho de HDL

Os tamanhos das subfrações de HDL foram determinados por meio do sistema Lipoprint System, Quantimetrix®. Esse sistema utiliza em eletroforese linear em gel de poliácridamida não desnaturante para separar e quantificar as subfrações. O teste utiliza um corante lipofílico, que se liga ao colesterol das partículas de lipoproteínas, antes da eletroforese. Os tubos passaram por eletroforese e foram escaneados para determinar a área relativa de cada subfração e, posteriormente, a intensidade da área integrada foi multiplicada pela concentração de colesterol total da amostra, sendo determinada a quantidade de colesterol em cada subfração. Para esse procedimento, 25 µl de plasma foram acrescentados aos tubos de gel e, posteriormente, foram adicionados 300 µl da solução gel do kit de HDL. Após homogeneização e fotopolimerizados das amostras por 35 minutos, as lipoproteínas foram separadas por eletroforese, no intervalo de 1 hora a 3mA. Foram identificadas 10 subfrações, de HDL-1 a HDL-10, agrupadas em tamanho como: grande (HDL-1 a HDL-3), intermediárias (HDL-4 a HDL-7) e pequenas (HDL-8 a HDL-10).

Essas análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Humana da FSP/USP.

5.6.4 Leucograma

O leucograma foi realizado no laboratório de análises clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. As quantidades de leucócitos totais e seus subtipos (neutrófilos, linfócitos típicos e atípicos, monócitos, bastonetes, segmentados eosinófilos e basófilos) foram determinadas em sangue total, por método citoquímico isovolumétrico, em equipamento ADVIA 2120 (Siemens Healthcare, Tarrytown, Estados Unidos).

5.6.5 Quantificações Plasmáticas de Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT)

A determinação de AST e ALT foram realizadas em equipamento Vitros 5600 (Johnsons & Johnsons, Raritan, Estados Unidos), em soro, por método cinético de pontos múltiplos, no laboratório de análises clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

5.6.6 Biomarcadores Inflamatórios

As amostras de sangue total em tubos de 4 mL contendo EDTA foram centrifugadas a 1.000 rotações por minuto (RPM), sob temperatura de 4 °C, por 10 minutos, para separação do plasma, no prazo máximo de 30 minutos após a coleta de sangue. As alíquotas de plasma foram armazenadas em freezer -80 °C até o momento de análise.

A PCR foi determinada por método imunocinético de ponto fixo, em soro, em equipamento Vitros 5600 (Johnsons & Johnsons, Raritan, Estados Unidos), no laboratório de análises clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

O laboratório Gênese realizou as determinações das concentrações plasmáticas dos biomarcadores inflamatórios IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IL-12 e adiponectina com o auxílio do *kit* Lincoplex para imunoensaio (Linco Research Inc., St. Charles, Estados Unidos). Essa técnica utiliza microesferas revestidas com anticorpos específicos para cada um dos biomarcadores inflamatórios, identificadas por graduação de cores, de forma que cada coloração de esfera é capaz de capturar um biomarcador. Após serem expostas às amostras de plasma, as esferas se ligam aos seus respectivos analitos e, em seguida, reagem com o anticorpo secundário, o qual é marcado com ficoeritina, emitindo fluorescência diretamente proporcional à quantidade de analito capturado. O aparelho que realiza a leitura dessa fluorescência identifica a microesfera pela graduação de cor e quantifica essa fluorescência (baseando-se em uma curva padrão), emitindo, automaticamente, uma planilha com o nome dos biomarcadores inflamatórios e sua concentração para cada amostra.

5.6.7 Perfil de Ácidos Graxos Plasmáticos

As amostras foram derivatizadas por meio da técnica de esterificação direta (SHIRAI et al., 2005) e sua composição foi determinada em cromatógrafo a gás (Agilent 7890 A GC System, Agilent Technologies Incorporated, Santa Clara, Estados Unidos), equipado com coluna capilar de sílica de 60 m de comprimento e 250 μ m de diâmetro interno (J&W DB-23 Agilent 122-236, Agilent Technologies Incorporated, Santa Clara, Estados Unidos). Gás hélio de alta pureza foi utilizado em uma taxa de fluxo de 1 mL/min com uma injeção de divisão de 50:1. A programação da temperatura da coluna foi conforme segue: início a 80 °C, taxa de aquecimento de 5 °C/min até atingir a temperatura de 175 °C, seguido de outro gradiente de 3 °C/min até atingir 230 °C, cuja temperatura foi mantida por 5 min. A temperatura do injetor e do detector foi de 250 °C e 280 °C, respectivamente. Os ácidos graxos foram identificados por

meio da comparação dos seus tempos de retenção com aqueles referentes a quatro padrões purificados de mistura de metil ésteres de ácidos graxos (Sigma Chemical Corporation: 4-7801; 47085-U; 49453-U e 47885-U, Sigma-Aldrich® Corporation, Saint Louis, Estados Unidos). Os resultados são expressos em percentual (%) do total de ácidos graxos encontrados na amostra.

5.7 EXPRESSÃO GÊNICA

5.7.1 Extração, Quantificação e Análise de Integridade do Ácido Ribonucleico (RNA)

As amostras de células oriundas do sangue periférico foram coletadas em tubo PAXgene® (Becton Dickinson, Allschwil, Suíça) e armazenadas depois de 2 horas no congelador a -20 °C, até o momento da extração. Utilizou-se o RNA Total PAXgene® Blood RNA Kit (Preanalytix GmbH, Hombrechtikon, Suíça) para extração do RNA, seguindo o protocolo do conjunto de reagentes.

A quantificação das amostras de RNA foi realizada utilizando o espectrofotômetro Qubit (LifeTechnologies, Forest City, Estados Unidos).

A integridade das amostras de RNA foi avaliada por eletroforese capilar, empregando-se o sistema Agilent Technologies 220 TapeStation (Agilent Technologies Incorporated, Santa Clara, Estados Unidos) e o equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies Incorporated).

Foram incluídos para análise de PCR *Array* neste subestudo somente as amostras de integridade de RNA superior a 7.

5.7.2 Análise de Expressão Gênica por Cadeia da Polimerase em Tempo Real (rt-PCR Array)

O ácido desoxirribonucleico (DNA) complementar (cDNA) foi sintetizado a partir de 800 ng de RNA total, utilizando o conjunto de reagentes RT² Easy First Strand Kit (Qiagen Incorporate, Valencia, Estados Unidos), seguindo as instruções do fabricante. O cDNA obtido foi armazenado a -20 °C até a realização da PCR Array.

Para a expressão gênica, foi utilizado o sistema de disco *Human Atherosclerosis RT² Profiler rt-PCR Array* (código PAHS-038Z, Qiagen Incorporated, Valencia, Estados Unidos), que avalia, por meio do método de reação em cadeia da polimerase em tempo real (rt-PCR), a expressão de 84 genes relacionados com a aterosclerose, envolvidos nos processos de inflamação, coagulação e circulação, adesão celular, metabolismo e transporte de lipídios, crescimento celular, resposta ao estresse e apoptose (**Quadro 2**).

A comparação antes e após 6 meses de intervenção com o plano nutricional quali-quantitativo permitiu a avaliação da expressão diferencial. Os resultados de expressão gênica em células oriundas do sangue periférico foram obtidos pelo cálculo $2^{(-\Delta \text{Ct})}$ e analisados pelo programa de análise estatística *RT² Profiler PCR Array Data Analysis v 3.5* (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>).

Quadro 2 - Genes analisados por *Human Atherosclerosis RT² Profiler rt-PCR Array*

Grupo	Processo	Genes
Apoptose	Anti-apoptóticos	<i>BCL2, BCL2A1, BCL2L1, BIRC3, CCL2, CFLAR, FAS (TNFRSF6), IL1A, IL2, NFKB1, SERPINB2, SPP1, TGFB1, TNF, TNFAIP3</i>
	Indução de apoptose	<i>APOE, BAX, BID, CFLAR, FAS (TNFRSF6)</i>
	Outros genes relacionados à apoptose	<i>IL5, ITGB2</i>

Continua

Quadro 2 - Genes analisados por *Human Atherosclerosis RT² Profiler* rt-PCR Array

Continuação

Grupo	Processo	Genes
Resposta ao Estresse	À inflamação	<i>CCL2, CCL5, CCR1, CCR2, IL1R1, IL1R2, ITGB2, NFKB1, NOS3, SELE, SPP1, TNF</i>
	Ao estresse oxidativo	<i>APOE, CCL5, SOD1</i>
	À patógenos ou parasitas	<i>CCL2, CCR2, CSF2, FN1, IL4, ITGB2, TNF</i>
	A vírus	<i>CCL5, IFNAR2, TNF</i>
	À cicatrização	<i>CCR1, CCR2, CTGF, FN1, PDGFB, TNF, VWF</i>
	Outros genes relacionados à resposta ao estresse	<i>INFG, PPARG, VEGFA</i>
Coagulação e circulação sanguínea	Coagulação	<i>FGA, ITGA2, LPA, SERPINE1</i>
	Circulação	<i>APOA1, APOB, APOE, COL3A1, ELN, ENG, LPA, LPL, NPY</i>
	Ativação plaquetária	<i>PDGFA, PDGFB, PDGFRB, VWF</i>
	Regulação da pressão sanguínea	<i>ACE, FGA</i>
Moléculas de Adesão	Adesão célula-célula	<i>CD44, CDH5, ICAM1, ITGB2, SELE, SELL, TNF, VCAM1, VEGFA</i>
	Adesão célula-matriz	<i>CD44, ITGA2, ITGA5, ITGAX, ITGB2, SPP1</i>
	Outros genes envolvidos no processo de adesão	<i>CCL2, CCL5, CCR1, CTGF, ELN, ENG, FN1, LAMA1, SELPLG, THBS4, TNC, VWF</i>
Metabolismo e Transporte Lipídico	Metabolismo do colesterol	<i>ABCA1, APOA1, APOB, APOE, IL4, LDLR</i>
	Metabolismo de ácidos graxos	<i>FABP3, LPL, PPARG, PTGS1</i>
	Transporte lipídico	<i>ABCA1, APOA1, APOB, APOE, FABP3, LDLR, LPA, LPL, MSR1</i>
	Metabolismo de lipoproteína	<i>APOA1, APOE, LDLR, LPL</i>
	Metabolismo de esteroides	<i>NR1H3, PPARG, PPARG, RXRA</i>
	Outros genes relacionados ao metabolismo lipídico	<i>PLIN2, APOE, LPA</i>

Continua

Quadro 2 - Genes analisados por *Human Atherosclerosis RT² Profiler* rt-PCR Array

Continuação

Grupo	Processo	Genes
Moléculas Extracelulares	Inibidores de protease de matriz extracelular (ECM)	<i>LPA, SERPINB2, SERPINE1</i>
	Proteases de ECM	<i>ACE, MMP1, MMP3</i>
	Constituintes estruturais de ECM	<i>COL3A1, ELN, FN1</i>
	Outras moléculas extracelulares	<i>ADFP, APOA1, APOB, APOE, CCL2, CCL5, CSF2, CTGF, FGA, FGF2, HBEGF (DRT), IFNAR2, INFG, IL1A, IL2, IL3, IL4, IL5, LAMA1, LIF, LPL, NPY, PDGFA, PDGFB, SPP1, THBS4, TNC, VEGFA, VWF</i>
Crescimento e Proliferação Celular	Fatores de crescimento e receptores	<i>CSF2, KDR, PDGFRB, SPP1</i>
	Regulação negativa da proliferação celular	<i>BCL2, FABP3, IL1A</i>
	Regulação positiva da proliferação celular	<i>CSF1, FGA, FGF2, HBEGF (DTR), IL2, IL3, IL5, LIF, VEGFA</i>
	Regulação do ciclo celular	<i>FGF2, IL1A, PDGFA, PDGFB, TGFB1, TGFB2, VEGFA</i>
	Outros genes envolvidos no crescimento e proliferação celular	<i>CTGF, ELN, IFNG, IL4, NPY</i>
Reguladores de Transcrição	Receptores nucleares	<i>NR1H3, PPARA, PPARG, RXRA</i>
	Outros reguladores de transcrição	<i>EGR1, KLF2, NFKB, TNF, TNFAIP3</i>

5.8 PLANO NUTRICIONAL QUALI-QUANTITATIVO

A elaboração do plano nutricional quali-quantitativo individualizado foi padronizada pelo Programa Alimentar Brasileiro Cardioprotetor, para o estudo DICA Br, onde foram considerados:

- O conceito de densidade energética e de nutrientes;
- Distribuição dos nutrientes, pelas diretrizes brasileiras para tratamento das doenças cardiovasculares (SBC, 2005; SBC, 2007; SBD, 2009; SBC, 2010);
- Valor calórico da dieta segundo as necessidades específicas de cada indivíduo - para pacientes que necessitam de redução de peso corporal, o cálculo foi de 20 kcal/kg atual.

Primeiramente, foi criada uma classificação dos grupos de alimentos e preparações, com características cardioprotetoras, segundo os critérios qualitativos, abaixo:

- Sem adição de açúcar refinado;
- Baixa densidade energética;
- Ausência de nutrientes que elevam o risco cardiovascular (colesterol, gorduras saturadas e sódio);
- Presença de nutrientes cardioprotetores (fibras e antioxidantes).

Através do sistema de cálculo de dietas Nutriquant, o qual utiliza prioritariamente as tabelas brasileiras de composição nutricional, essa seleção inicial qualitativa resultou em uma lista de alimentos composta por frutas, verduras, legumes, feijões, leite e iogurte desnatados, bem como preparações de verduras, legumes e feijões, os quais fossem preparados com alho, cebola, sal (até 0,5% do total da receita) e óleo de soja (até 2,5% do total da receita). Estes alimentos/preparações foram denominados, didaticamente, como grupo verde, representados pelo símbolo de “coração verde”. Os alimentos e preparações presentes neste grupo apresentam elevadas quantidades de micronutrientes, fibras alimentares, baixo valor calórico e de teor de lipídios, compostos bioativos, vitaminas e minerais.

Com base nos valores nutricionais dos alimentos pertencentes ao grupo verde, estabeleceu-se que os valores máximos referentes às densidades de calorias (kcal/g), de gordura saturada (g/g), de colesterol (mg/g) e de sódio (mg/g) seriam os pontos de corte. Assim, quando apresentado as quatro densidades em valores iguais ou abaixo aos pontos de corte, um alimento ou preparação não contemplados na lista inicial, foram incluídos neste grupo:

- Densidade energética $\leq 1,1$ kcal/g;
- Densidade de gordura saturada $\leq 0,01$ g/g;
- Densidade de colesterol $\leq 0,04$ mg/g;
- Densidade de sódio $\leq 2,01$ mg/g.

A partir desses mesmos valores de densidades, os alimentos e preparações foram avaliados de acordo com estes critérios e distribuídos em grupos, amarelo e azul (**Quadro 3**).

As preparações ou alimentos que apresentam de uma a duas densidades em valores superiores aos critérios acima citados foram considerados como de relevância intermediária, compondo o grupo representado didaticamente pelo símbolo “coração amarelo”, provedores de nutrientes que apresentam, em média, densidade calórica intermediária (entre 1 e 2 kcal/g), devendo, por isso, serem ingeridos com moderação. São parte da lista, carboidratos (p.ex, pães, massas, arroz) e gorduras de origem vegetal (margarinas sem sal, óleos e oleaginosas).

Para preparações/alimentos que apresentam três ou quatro densidades acima dos pontos de corte dos critérios, compuseram o grupo representado pelo símbolo “coração azul, o qual contempla alimentos e preparações que apresentam, em média, densidade calórica elevada (acima de 2 kcal/g), e por isso devem ser ingeridos com restrição ou evitados. As carnes, ovos e laticínios integrais estão neste grupo.

Quadro 3 - Exemplo de classificação de alimentos, nos grupos verde, amarelo e azul:

Alimento	Ponto de Corte				Grupo
	Densidade calórica	Densidade de gorduras saturadas	Densidade de colesterol	Densidade de sódio	
	$\leq 1,1$ kcal/g	$\leq 0,01$ g/g	$\leq 0,04$ mg/g	$\leq 2,01$ mg/g	
Maçã	0,56	0,00	0,00	0,00	Verde
Pão francês	3,00	0,01	0,00	6,48	Amarelo
Queijo branco	2,42	0,04	1,19	2,41	Azul

Fonte: Adaptado de WERBER et al., 2016.

No folder elaborado para o paciente, a bandeira nacional foi utilizada como recurso mnemônico, para associação das cores da bandeira aos grupos alimentares. Assim, os alimentos representados pela cor verde, que ocupa maior área na bandeira, devem ser consumidos em maior quantidade e essa proporcionalidade ocorre com as demais cores.

O vermelho foi escolhido para representar alimentos industrializados não recomendados (refrigerantes e bebidas adoçadas – mesmo dietéticos, bolachas, embutidos), pela ausência de nutrientes benéficos (fibras, vitaminas e minerais antioxidantes, compostos bioativos) e presença de nutrientes de maior risco cardiovascular (grandes quantidades de açúcares, de sódio, de gorduras saturadas, de colesterol, e de aditivos químicos). Como essa cor não está presente em nossa bandeira, produtos deste grupo não deveriam ser consumidos.

Para facilitar a prescrição da dieta, cardápios de 1.400 kcal a 2.400 kcal foram elaborados (com intervalo de 200 kcal entre estes), com a quantidade estipulada de corações verde, amarelo e azul para cada refeição.

5.8.1 Avaliação da Ingestão Alimentar

Os dados referentes à ingestão alimentar foram obtidos a partir de relatos dos pacientes em recordatórios de 24 horas, aplicados nas visitas inicial, 45 dias e 6 meses. Os recordatórios obtidos foram calculados por *software* Nutri quanti (São Paulo, Brasil), para dados de valor energético e de nutrientes.

A adesão ao plano alimentar foi avaliada através do consumo dos alimentos ou preparações, representados pelas cores verde, amarelo, azul e vermelho, conforme o protocolo DICA Br, para cada um dos recordatórios obtidos.

Além da avaliação pela variação no número de porções de cada grupo, também foi utilizado o “Índice dietético baseado na dieta do Programa Alimentar Cardioprotetor Brasileiro (DICA Br)”, no qual são atribuídos pontos entre 0 a 10, com base nos critérios definidos nos princípios e recomendações da dieta DICA Br, para cada um dos grupos, conforme demonstrado no **Quadro 4**. A pontuação total pode variar de 0

a 40 e para o consumo do número de porções em quantidades intermediárias, os pontos foram proporcionais aos critérios estabelecidos.

Quadro 4 – Critérios para pontuação de adesão à dieta pelo índice dietético baseado no Programa Alimentar Cardioprotetor Brasileiro (DICA Br):

Grupo Alimentar (Cor)	Critério para pontuação mínima (0 pontos)	Critério para pontuação máxima (10 pontos)
Verde	0	Consumo do número de porções igual ou maior que a recomendação.
Amarelo	Consumo do número de porções em 50% a menos ou a mais que a recomendação.	Consumo de porções igual à recomendação.
Azul	Consumo do número de porções igual ou maior que duas porções acima da recomendação.	Consumo do número de porções menor ou igual à recomendação.
Vermelho	Consumo do número de porções igual ou maior que quatro.	Consumo de nenhuma porção.
Pontuação total	0	40

Fonte: Extraído de DA SILVA, 2016.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são apresentados média $\pm$ desvio padrão. Os marcadores bioquímicos, antropométricos, dietéticos e inflamatórios tiveram suas médias antes e após intervenção do plano alimentar, comparadas através de *Wilcoxon* para medidas repetidas. Os dados foram preliminarmente avaliados quanto aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias, e submetidos à adequada transformação, caso necessário. Para expressão gênica, os valores de p foram calculados pelo teste t de *Student* dos valores desta replicação, para cada gene, comparando a pré e a pós intervenção nutricional.

Numa segunda etapa, as alterações nos biomarcadores observadas foram avaliadas de acordo com a presença dos diferentes RNA mensageiros através de *Spearman*. Um valor alfa de 0,05 foi adotado para rejeitar a hipótese de nulidade. O software IBM SPSS v.19.0 (Armonk, NY, USA) foi utilizado para os cálculos estatísticos e elaboração de gráficos e tabelas.

7. RESULTADOS

A média etária dos participantes foi de 59,8 anos e a estatura média de 1,67 m. Dentre as causas de inclusão, três pacientes foram por IAM com consequente revascularização, e outros três foram por DAC tratada. As medicações não foram alteradas ou suspensas durante todo o período de seis meses do estudo, sendo que somente um paciente não utilizou estatina.

7.1 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Os pacientes reduziram significativamente o peso, o IMC e a circunferência abdominal ($p = 0,04$) (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Avaliação antropométrica dos participantes, pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média $\pm$ DP).

Variáveis	Pré intervenção	Pós intervenção	Valor p
Peso (kg)	90,5 $\pm$ 14,8	85,9 $\pm$ 16,2	0,040*
IMC (kg/m ²)	32,4 $\pm$ 4,26	30,7 $\pm$ 4,75	0,040*
Circunferência abdominal (cm)	110,1 $\pm$ 9,71	104,3 $\pm$ 12,8	0,040*

* $p \leq 0,05$.

7.2 GASTO ENERGÉTICO BASAL

A média de GEB estimado, pré-intervenção, foi de 1.734 kcal. Como orientação inicial, as necessidades energéticas foram calculadas em 20 kcal/kg atual, para redução de peso, resultando na prescrição média de 1766 kcal/dia.

7.3 ANÁLISE DOS EXAMES BIOQUÍMICOS

Após a intervenção nutricional, os valores de glicemia, insulinemia, perfil lipídico (CT, LDL, HDL e TG), ALT, concentração de Apo B e subfrações de HDL (HDL grande, intermediária e pequena) não diferiram significativamente dos valores basais, porém as concentrações séricas de Apo A e de AST aumentaram significativamente em 6 meses ($p= 0,04$) (**Tabela 2**). O índice HOMA IR apresentou redução significativa ($p= 0,04$), porém o mesmo não ocorreu com o índice HOMA B. A análise do leucograma demonstrou que a contagem de global de leucócitos e de neutrófilos foram significativamente menores após a intervenção nutricional (**Tabela 2**).

Tabela 2 - Perfil bioquímico, pré e pós-intervenção nutricional. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média $\pm$ DP).

Variáveis	Pré intervenção	Pós intervenção	Valor p
Glicemia (mg/dL)	95,0 $\pm$ 9,88	96,0 $\pm$ 14,2	0,854
Insulina (uIU/mL)	15,1 $\pm$ 7,93	9,79 $\pm$ 8,39	0,116
Índice HOMA-IR	63,6 $\pm$ 55,0	41,2 $\pm$ 33,5	0,046*
Índice HOMA B	54,2 $\pm$ 52,9	34,1 $\pm$ 33,6	0,173
Colesterol Total (mg/dL)	151,5 $\pm$ 28,8	160,2 $\pm$ 35,3	0,345
LDL (mg/dL)	72,5 $\pm$ 22,3	84,0 $\pm$ 25,8	0,207
Apo B (mg/dL)	82,1 $\pm$ 14,6	76,0 $\pm$ 20,4	0,249
HDL (mg/dL)	43,0 $\pm$ 7,69	43,2 $\pm$ 6,49	0,892
Apo A (mg/dL)	133,6 $\pm$ 16,1	139,6 $\pm$ 14,2	0,028*
HDL grande (mg/dL)	9,67 $\pm$ 2,66	11,5 $\pm$ 4,81	0,223
HDL intermediária (mg/dL)	18,8 $\pm$ 4,21	18,0 $\pm$ 3,95	0,336
HDL pequena (mg/dL)	13,8 $\pm$ 5,42	13,2 $\pm$ 4,31	0,465
Triacilgliceróis (mg/dL)	180,7 $\pm$ 50,8	165,0 $\pm$ 59,9	0,465
AST (U/L)	26,3 $\pm$ 6,15	32,0 $\pm$ 9,25	0,046*
ALT (U/L)	38,7 $\pm$ 5,79	42,3 $\pm$ 7,94	0,249
Razão AST/ALT	0,68 $\pm$ 0,12	0,75 $\pm$ 0,13	0,116
Leucócitos totais (Mil/mm ³)	8,95 $\pm$ 3,00	7,20 $\pm$ 1,53	0,046*
Neutrófilos totais (Mil/mm ³)	5,87 $\pm$ 2,83	4,05 $\pm$ 1,15	0,028*
Linfócitos totais (Mil/mm ³)	1,90 $\pm$ 0,45	1,96 $\pm$ 0,44	0,345
Razão neutrófilo/linfócito	3,21 $\pm$ 1,56	2,16 $\pm$ 0,78	0,116

* $p \leq 0,05$.

7.4 ANÁLISE DOS BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS

As concentrações plasmáticas de biomarcadores inflamatórios não apresentaram diferenças significativas após 6 meses de intervenção nutricional (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios, pré e pós intervenção nutricional. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média $\pm$ DP).

Variáveis	Pré intervenção	Pós intervenção	Valor p
PCR (mg/dL)	0,51 $\pm$ 0,72	0,63 $\pm$ 0,19	0,686
Adiponectina (ng/mL)	4897 $\pm$ 1713	6050 $\pm$ 1904	0,173
IL-10 (pm/mL)	20,9 $\pm$ 16,7	18,6 $\pm$ 11,3	0,463
IL-12 (pm/mL)	3,59 $\pm$ 6,00	2,31 $\pm$ 3,05	0,463
IL-1 β (pm/mL)	0,61 $\pm$ 1,06	0,47 $\pm$ 0,62	0,345
IL-6 (pm/mL)	9,88 $\pm$ 6,01	6,76 $\pm$ 7,24	0,249
IL-8 (pm/mL)	4,33 $\pm$ 1,80	5,04 $\pm$ 3,35	0,917
TNF- α (pm/mL)	8,29 $\pm$ 2,13	9,19 $\pm$ 3,76	0,917

7.5 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS PLASMÁTICOS

Não foram verificadas diferenças significativas entre os momentos pré e pós-intervenção com o plano alimentar, em relação às concentrações plasmáticas de ácidos graxos (**Tabela 4**).

Tabela 4 - Perfil dos ácidos graxos plasmáticos, pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média $\pm$ DP).

Variáveis	Pré intervenção	Pós intervenção	Valor p
Ácido palmítico (%)	27,2 $\pm$ 2,05	27,4 $\pm$ 2,42	0,600
Ácido mirístico (%)	0,72 $\pm$ 0,32	0,69 $\pm$ 0,27	0,600
Ácido esteárico (%)	11,1 $\pm$ 0,82	11,3 $\pm$ 1,22	0,600
Ácido linoleico (%)	20,9 $\pm$ 4,57	20,0 $\pm$ 4,40	0,249
Ácido alfa-linolênico (%)	0,62 $\pm$ 0,25	0,56 $\pm$ 0,19	0,173
Ácido araquidônico (%)	10,0 $\pm$ 1,19	11,2 $\pm$ 0,56	0,075
Ácido eicosapentaenoico (%)	0,65 $\pm$ 0,15	0,57 $\pm$ 0,29	0,249
Ácido docosaexaenoico (%)	2,50 $\pm$ 1,06	2,44 $\pm$ 0,53	0,753
Ácido docosapentaenoico (%)	0,74 $\pm$ 0,10	0,78 $\pm$ 0,07	0,173
Ácido dihomo-gama-linolenico (%)	2,16 $\pm$ 0,30	2,09 $\pm$ 0,23	0,600
Ácido palmitoleico (%)	2,12 $\pm$ 0,58	1,96 $\pm$ 0,68	0,463
Ácido oleico (%)	23,8 $\pm$ 2,41	23,4 $\pm$ 3,64	0,463

7.6 EXPRESSÃO GÊNICA DE CÉLULAS ORIUNDAS DO SANGUE PERIFÉRICO

Dos 84 genes avaliados, três apresentaram maior expressão após intervenção nutricional: *Apo A1* ($p=0,01$), *ELN* ($p=0,01$) e *IL4* ($p=0,03$) (**Tabela 5**).

Tabela 5 - Expressão gênica de células oriundas do sangue periférico pós intervenção nutricional, em comparação com a pré intervenção. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013.

Símbolo do gene	Nome do gene	Variação da expressão	Valor de p
<i>ABCA1</i>	ATP binding cassette subfamily A 1	1,4682	0,407
<i>ACE</i>	Angiotensin-converting enzyme	1,5394	0,265
<i>APOA1</i>	Apolipoprotein A 1	1,854	0,011*

Continua

Tabela 5 - Expressão gênica de células oriundas do sangue periférico pós intervenção nutricional, em comparação com a pré intervenção. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013.

Continuação

Símbolo do gene	Nome do gene	Variação da expressão	Valor de p
<i>APOB</i>	Apolipoprotein B	2,6311	0,270
<i>APOE</i>	Apolipoprotein E	1,614	0,141
<i>BAX</i>	Bax	1,6029	0,106
<i>BCL2</i>	B cell leucemia/lymphoma 2	2,0032	0,052
<i>BCL2A1</i>	B cell leucemia/lymphoma 2A1	1,6159	0,618
<i>BCL2L1</i>	B cell leucemia/lymphoma 2L1	1,2218	0,418
<i>BID</i>	BH3 interacting domain death agonist	1,0028	0,977
<i>BIRC3</i>	Baculoviral IAP repeat containing 3	1,6328	0,133
<i>CCL2</i>	C-C motif chemokine ligand 2	1,314	0,529
<i>CCL5</i>	C-C motif chemokine ligand 5	1,9106	0,380
<i>CCR1</i>	C-C chemokine receptor 1	2,115	0,106
<i>CCR2</i>	C-C chemokine receptor 2	1,6594	0,206
<i>CD44</i>	CD44 molecule	-1,190	0,830
<i>CDH5</i>	Cadherin 5	2,0289	0,084
<i>CFLAR</i>	CASP8 and FADD like apoptosis regulation	1,1011	0,9401
<i>COL3A1</i>	Collagen type III alpha 1 chain	1,6122	0,123
<i>CSF1</i>	Colony stimulating fator 1	1,4869	0,397
<i>CSF2</i>	Colony stimulating fator 2	1,1653	0,660
<i>CTGF</i>	Connective tissue growth factor	1,5483	0,388
<i>EGR1</i>	Early growth response 1	1,2489	0,556
<i>ELN</i>	Elastin	2,0056	0,017*
<i>ENG</i>	Endoglin	1,2317	0,519
<i>FABP3</i>	Fatty acid binding protein 3	1,7259	0,089
<i>FAS</i>	Fas cell surface death receptor	3,6697	0,160
<i>FGA</i>	Fibrinogen alpha chain	1,7621	0,600
<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	1,290	0,537
<i>FN1</i>	Fibronectin 1	2,8992	0,068
<i>HBEGF</i>	Heparina binding EGF like growth factor	1,1334	0,494
<i>ICAM1</i>	Intercellylar adhesion molecule 1	-1,5326	0,986
<i>IFNAR2</i>	Interferon alpha and beta receptor subunit 1	1,5252	0,331
<i>IFNG</i>	Interferon gamma	1,4682	0,188
<i>IL1A</i>	Interkeukin 1 alpha	-1,1142	0,582
<i>IL1R1</i>	Interkeukin 1 receptor type 1	-1,0042	0,949

Continua

Tabela 5 - Expressão gênica de células oriundas do sangue periférico pós intervenção nutricional, em comparação com a pré intervenção. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013.

Continuação

Símbolo do gene	Nome do gene	Variação da expressão	Valor de p
<i>IL1R2</i>	Interkeukin 1 receptor type 2	1,2825	0,751
<i>IL2</i>	Interkeukin 2	1,9216	0,182
<i>IL3</i>	Interkeukin 3	1,8648	0,249
<i>IL4</i>	Interkeukin 4	2,6463	0,037*
<i>IL5</i>	Interkeukin 5	2,7302	0,067
<i>ITGA2</i>	Integrin subunit alpha 2	1,5555	0,117
<i>ITGA5</i>	Integrin subunit alpha 5	-1,048	0,797
<i>ITGAX</i>	Integrin subunit alpha X	1,1269	0,744
<i>ITGB2</i>	Integrin subunit beta 2	-1,0456	0,879
<i>KDR</i>	Kinase insert domain receptor	1,3794	0,392
<i>KLF2</i>	Kruppel like factor 2	1,1492	0,689
<i>LAMA1</i>	Laminin subunit alpha 1	2,0125	0,131
<i>LDLR</i>	Low density lipoprotein receptor	1,0442	0,737
<i>LIF</i>	Leucemia inhibitory factor	1,0636	0,830
<i>LPA</i>	Lipoprotein (a)	1,7642	0,161
<i>LPL</i>	Lipoprotein lipase	1,1761	0,787
<i>MMP1</i>	Matrix metalloproteinase 1	2,2434	0,060
<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase 3	1,6122	0,123
<i>MSR1</i>	Macrophage scavenger receptor 1	1,4597	0,238
<i>NFKB1</i>	Nuclear factor kappa B subunit 1	-1,2053	0,694
<i>NOS3</i>	Nitric oxide synthase 3	1,2204	0,542
<i>NPY</i>	Neuropeptide Y	1,9848	0,097
<i>NR1H3</i>	Nuclear receptor subfamily 1 group H member 3	1,1626	0,628
<i>PDGFA</i>	Platelet derived growth factor subunit A	-1,030	0,769
<i>PDGFB</i>	Platelet derived growth factor subunit B	1,3355	0,474
<i>PDGFRB</i>	Platelet derived growth factor receptor beta	1,1506	0,634
<i>PLIN2</i>	Perilipin 2	1,1139	0,854
<i>PPARA</i>	Peroxisome proliferator activated receptor alpha	1,262	0,590
<i>PPARD</i>	Peroxisome proliferator activated receptor delta	1,031	0,909
<i>PPARG</i>	Peroxisome proliferator activated receptor gamma	1,1519	0,663
<i>PTGS1</i>	Prostaglandina-endoperoxide synthase 1	-1,0492	0,830
<i>RXRA</i>	Retinoid X receptor alpha	1,1334	0,527
<i>SELE</i>	Selectin E	1,1994	0,390

Continua

Tabela 5 - Expressão gênica de células oriundas do sangue periférico pós intervenção nutricional, em comparação com a pré intervenção. Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013.

Continuação

Símbolo do gene	Nome do gene	Variação da expressão	Valor de p
<i>SELL</i>	Selectin L	-1,0229	0,775
<i>SELPLG</i>	Selectin P ligand	-1,1168	0,828
<i>SERPINB2</i>	Serpin family B member 2	2,3795	0,314
<i>SERPINE1</i>	Serpin family E member 1	-1,0372	0,520
<i>SOD1</i>	Superoxide dismutase 1	-1,4119	0,926
<i>SPP1</i>	Secreted phosphoprotein 1	-1,6464	0,454
<i>TGFB1</i>	Transforming growth fator beta 1	1,0961	0,684
<i>TGFB2</i>	Transforming growth fator beta 2	1,4973	0,847
<i>THBS4</i>	Thrombospondin 4	1,0935	0,860
<i>TNC</i>	Tenascin C	1,2275	0,764
<i>TNF</i>	Tumor necrosis factor	1,0986	0,736
<i>TNFAIP3</i>	TNF alpha induced protein 3	1,1680	0,561
<i>VCAM1</i>	Vascular cell adhesion molecule 1	1,3262	0,255
<i>VEGFA</i>	Vascular endotelial growth factor A	1,262	0,396
<i>VWF</i>	Von Willebrand factor	1,0835	0,758
<i>ACTB</i>	(controle interno)	-1,2623	0,459
<i>B2M</i>	(controle interno)	1,0109	0,980
<i>GAPDH</i>	(controle interno)	-1,059	0,635
<i>HPRT1</i>	(controle interno)	1,0478	0,668
<i>RPLP0</i>	(controle interno)	1,262	0,551
<i>HGDC</i>	(controle interno)	-1,4466	0,986
<i>RTC</i>	(controle da PCR)	-1,0372	0,640
<i>RTC</i>	(controle da PCR)	1,6271	0,065
<i>RTC</i>	(controle da PCR)	2,1396	0,336
<i>PPC</i>	(controle positivo)	2,3576	0,312
<i>PPC</i>	(controle positivo)	2,8692	0,240
<i>PPC</i>	(controle positivo)	2,0619	0,163

* $p \leq 0,05$.

7.7 AVALIAÇÃO DA ADESÃO AO PLANO ALIMENTAR QUALI-QUANTITATIVO

A adesão foi avaliada pelo número de porções consumidas de cada grupo, dentro das recomendações individuais. Para melhor análise, o recordatório de 45 dias após a realização da consulta basal também foi incluído (**Figura 1**). Apesar de não apresentar significância, é possível observar melhora gradual da adesão ao plano quali-quantitativo proposto, sendo que no recordatório de 6 meses, os grupos azul e vermelho atenderam a recomendação, e com os grupos verde e amarelo em consumo maior que na consulta basal (**Figura 1**).

Figura 1 - Adesão ao plano alimentar quali-quantitativo pelo número de porções consumidas dos grupos verde, amarelo, azul e vermelho, segundo relato de recordatórios alimentares de 24 horas, coletados nas consultas basal, de 45 dias e de seis meses (média).

A avaliação pelos critérios de pontuação do índice dietético demonstrou adesão ao plano alimentar quali-quantitativo, em todos os grupos, porém sem significância, quando comparado à consulta basal (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Adesão por pontuação aos grupos alimentares e total, segundo critérios do índice dietético baseado no Programa Alimentar Cardioprotetor Brasileiro (DICA Br), pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média).

Grupo	Pré intervenção	Pós intervenção	Valor p
Verde	3,73	6,74	0,107
Amarelo	3,71	4,64	0,597
Azul	3,57	6,47	0,146
Vermelho	1,97	2,85	0,491
Total	12,97	20,70	0,141

7.8 AVALIAÇÃO DO CONSUMO E COMPOSIÇÃO DA ALIMENTAÇÃO HABITUAL

Os pacientes receberam a orientação nutricional individualizada, considerando o cálculo do VCT para redução de peso, o que impactou na diminuição significativa do VCT da dieta, entre os dois tempos ($p= 0,02$). Entre os macronutrientes, a proteína teve redução significativa em relação ao valor consumido em gramas ($p= 0,04$) (**Tabela 7**).

Sobre à qualidade dos lipídeos, a relação entre os AGP ômega 6/ômega 3 para cada 1.000 Kcal apresentou aumento significativo ($p= 0,02$) (**Tabela 7**). O consumo de micronutrientes (vitaminas e minerais) não demonstrou diferença estatisticamente significativas, assim como suas densidades relativas a cada 1.000 kcal (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Caracterização do consumo de energia, macronutrientes, micronutrientes, ácidos graxos e fibras alimentares, pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média $\pm$ DP).

Variáveis	Pré-intervenção	Pós-intervenção	Valor p
Energia (kcal)	1647,7 $\pm$ 326,9	1191,5 $\pm$ 162,0	0,028*
Carboidratos (g)	186,3 $\pm$ 49,6	161,4 $\pm$ 39,3	0,463
Densidade carboidratos (g/1.000 Kcal)	115,3 $\pm$ 32,5	136,0 $\pm$ 28,4	0,345
% carboidratos (%/total Kcal)	46,1 $\pm$ 13,0	54,4 $\pm$ 11,3	0,345
Densidade % carboidratos (%/1.000 Kcal)	29,3 $\pm$ 10,7	46,7 $\pm$ 13,3	0,075
Proteínas (g)	85,5 $\pm$ 41,3	50,4 $\pm$ 12,4	0,046*
Densidade proteínas (g/1.000 Kcal)	50,6 $\pm$ 16,0	42,0 $\pm$ 6,39	0,345
Proteínas g/kg de peso corporal (g)	0,96 $\pm$ 0,51	0,60 $\pm$ 0,15	0,046*
% proteínas (%/total Kcal)	20,2 $\pm$ 6,41	16,79 $\pm$ 2,56	0,345
Densidade % proteínas (%/1.000 Kcal)	12,4 $\pm$ 3,42	14,2 $\pm$ 2,05	0,463
Lipídeos (g)	64,1 $\pm$ 21,6	39,6 $\pm$ 16,0	0,116
Densidade lipídeos (g/1.000 Kcal)	38,5 $\pm$ 8,30	33,1 $\pm$ 11,9	0,463
% lipídeos (%/total Kcal)	34,7 $\pm$ 7,47	29,8 $\pm$ 10,7	0,463
Densidade % lipídeos (%/1.000 Kcal)	21,6 $\pm$ 6,04	25,3 $\pm$ 8,85	0,463
Fibras alimentares (g)	17,8 $\pm$ 7,40	13,7 $\pm$ 6,18	0,249
Densidade fibras (g/1.000 Kcal)	11,5 $\pm$ 6,32	11,5 $\pm$ 4,64	0,917
Colesterol (mg)	348,9 $\pm$ 192,6	181,4 $\pm$ 206,9	0,173
Densidade colesterol (mg/1.000 Kcal)	204,9 $\pm$ 103,4	145,6 $\pm$ 149,6	0,345
Ácidos graxos trans - AGTrans (g)	0,03 $\pm$ 0,04	0,03 $\pm$ 0,03	0,595
Densidade AGTrans (g/1.000 Kcal)	0,01 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,02	0,173
Ácidos graxos saturados - AGS (g)	19,9 $\pm$ 7,98	12,4 $\pm$ 5,06	0,173
Densidade AGS (g/1.000 Kcal)	11,8 $\pm$ 3,53	10,3 $\pm$ 3,73	0,463
% AGS (%/total Kcal)	10,6 $\pm$ 3,18	9,30 $\pm$ 3,35	0,463
Densidade % AGS (%/1.000 Kcal)	6,45 $\pm$ 1,86	7,84 $\pm$ 2,62	0,345
Ácidos graxos polinsaturados - AGP (g)	16,7 $\pm$ 10,6	11,5 $\pm$ 6,84	0,463
Densidade AGP (g/1.000 Kcal)	10,1 $\pm$ 5,52	9,62 $\pm$ 5,16	0,917
% AGP (%/total Kcal)	9,11 $\pm$ 4,97	8,66 $\pm$ 4,65	0,917
Densidade % AGP (%/1.000 Kcal)	5,76 $\pm$ 3,42	7,38 $\pm$ 3,76	0,463
Ômega 3 (g)	1,41 $\pm$ 1,04	0,97 $\pm$ 0,75	0,528
Densidade ômega 3 (g/1.000 Kcal)	0,86 $\pm$ 0,54	0,81 $\pm$ 0,57	0,917
Ômega 6 (g)	13,2 $\pm$ 9,35	9,73 $\pm$ 6,17	0,463
Densidade ômega 6 (g/1.000 Kcal)	7,97 $\pm$ 4,58	8,15 $\pm$ 4,71	0,917

Continua

Tabela 7 - Caracterização do consumo de energia, macronutrientes, micronutrientes, ácidos graxos e fibras alimentares, pré e pós intervenção nutricional, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo, 2013 (média $\pm$ DP).

Continuação

Variáveis	Pré- intervenção	Pós- intervenção	Valor p
Ômega 6 / Ômega 3	10,1 $\pm$ 2,02	10,9 $\pm$ 2,26	0,345
Densidade ômega 6 / ômega 3	6,24 $\pm$ 1,09	9,32 $\pm$ 2,21	0,028*
Ácidos graxos monoinsaturados - AGM (g)	17,0 $\pm$ 6,02	11,2 $\pm$ 5,45	0,173
Densidade AGM (g/1.000 Kcal)	10,3 $\pm$ 3,39	9,47 $\pm$ 4,50	0,600
% AGM (%/total Kcal)	9,27 $\pm$ 3,05	8,52 $\pm$ 4,05	0,600
Densidade % AGM (%/1.000 Kcal)	5,80 $\pm$ 2,42	7,32 $\pm$ 3,68	0,600
Cálcio (mg)	427,1 $\pm$ 139,9	313,2 $\pm$ 207,1	0,600
Densidade cálcio (mg/1.000 Kcal)	267,5 $\pm$ 104,8	265,5 $\pm$ 171,0	0,753
Magnésio (mg)	173,3 $\pm$ 58,6	122,9 $\pm$ 35,0	0,173
Densidade magnésio (mg/1.000 Kcal)	107,2 $\pm$ 38,7	104,2 $\pm$ 30,2	0,463
Ferro (mg)	6,34 $\pm$ 1,85	6,49 $\pm$ 4,50	0,753
Densidade ferro (mg/1.000 Kcal)	3,89 $\pm$ 1,07	5,42 $\pm$ 3,28	0,345
Zinco (mg)	10,4 $\pm$ 7,79	6,22 $\pm$ 3,86	0,173
Densidade zinco (mg/1.000 Kcal)	6,48 $\pm$ 4,76	5,06 $\pm$ 2,65	0,753
Sódio (mg)	2709,7 $\pm$ 1262,8	2075,1 $\pm$ 623,2	0,173
Densidade sódio (mg/1.000 Kcal)	1633,9 $\pm$ 588,0	1717,7 $\pm$ 352,7	0,917
Potássio (mg)	1992,1 $\pm$ 429,9	1534,4 $\pm$ 223,8	0,116
Densidade potássio (mg/1.000 Kcal)	1241,6 $\pm$ 349,5	1302,3 $\pm$ 211,4	0,753
Fósforo (mg)	766,5 $\pm$ 223,5	589,9 $\pm$ 157,7	0,116
Densidade fósforo (mg/1.000 Kcal)	460,2 $\pm$ 52,7	488,9 $\pm$ 81,0	0,463
Selênio (mcg)	21,4 $\pm$ 24,9	16,2 $\pm$ 9,58	0,463
Densidade selênio (mcg/1.000 Kcal)	12,3 $\pm$ 12,1	13,8 $\pm$ 7,79	0,917
Cobre (mg)	0,68 $\pm$ 0,26	0,69 $\pm$ 0,28	0,752
Densidade cobre (mg/1.000 Kcal)	0,43 $\pm$ 0,21	0,57 $\pm$ 0,19	0,713
Retinol (mcg)	406,3 $\pm$ 320,1	219,9 $\pm$ 175,8	0,249
Densidade retinol (mcg/1.000 Kcal)	275,3 $\pm$ 239,1	201,7 $\pm$ 179,7	0,917
Vitamina E (mg)	1,51 $\pm$ 1,70	2,22 $\pm$ 2,07	0,600
Densidade vitamina E (mg/1.000 Kcal)	1,03 $\pm$ 1,28	2,00 $\pm$ 1,84	0,345
Vitamina C (mg)	141,9 $\pm$ 101,2	102,7 $\pm$ 87,4	0,600
Densidade vitamina C (mg/1.000 Kcal)	95,2 $\pm$ 72,0	84,8 $\pm$ 66,8	0,753
Vitamina B2 (mg)	0,83 $\pm$ 0,51	1,07 $\pm$ 0,64	0,600
Densidade vitamina B2 (mg/1.000 Kcal)	0,52 $\pm$ 0,38	0,92 $\pm$ 0,58	0,249

* p $\leq$ 0,05.

7.9 CORRELAÇÃO DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS COM EXAMES BIOQUÍMICOS E BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS

O peso foi correlacionado positivamente com as concentrações plasmáticas de CT, LDL, Apo B ($r= 0,82$, $p= 0,04$, para todos) e TG ($r= 0,94$, $p= 0,00$).

A circunferência abdominal foi correlacionada negativamente com a contagem de neutrófilos ($r= 0,82$, $p= 0,04$) e a concentração plasmática de adiponectina ($r= 0,94$, $p= 0,00$).

7.10 CORRELAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E EXAMES BIOQUÍMICOS

A concentração plasmática de TG se correlacionou negativamente com índice HOMA IR ($r= -0,82$, $p= 0,04$).

A contagem de neutrófilos teve correlação negativa com a concentração plasmática de Apo B ($r= -0,82$, $p= 0,04$). A relação contagem de neutrófilos/contagem de linfócitos teve correlação positiva com as concentrações plasmáticas de PCR ($r= 0,90$, $p= 0,03$) e de IL-6 ($r= 0,88$, $p= 0,01$).

Cabe destacar que a concentração plasmática da PCR esteve correlacionada positivamente com a concentração plasmática de IL-6 ($r= 0,82$, $p= 0,04$).

A concentração plasmática da IL-10 apresentou correlação positiva com as concentrações plasmáticas de IL-12 ($r= 0,94$, $p= 0,00$), IL-1 β ($r= 0,88$, $p= 0,01$) e TNF- α ($r= 0,88$, $p= 0,01$).

7.11 CORRELAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS PLASMÁTICOS

As concentrações plasmáticas dos ácidos docosapentaenoico e palmitoleico se correlacionaram negativamente com a concentração plasmática do TNF- α ($r = -0,08$, $p = 0,04$) e da adiponectina ($r = -0,08$, $p = 0,04$), respectivamente.

O ácido esteárico apresentou correlação positiva com a concentração plasmática da adiponectina ($r = 0,88$, $p = 0,01$) e IL6 ($r = 0,88$, $p = 0,01$).

7.12 CORRELAÇÃO ENTRE EXPRESSÃO GÊNICA E COMPOSIÇÃO DE LÍPIDES DO CONSUMO ALIMENTAR

As avaliações de correlação só foram realizadas com os genes expressos com valor de $p < 0,05$. A expressão gênica da apo A teve correlação positiva com a relação AGP ômega 6/ômega 3, quantidade de colesterol alimentar e sua densidade ($r = 0,79$, $p = 0,05$).

A expressão gênica da elastina foi negativamente correlacionada com quantidade de lipídeos ($r = -0,82$, $p = 0,04$), quantidade de AGS ($r = -0,94$, $p = 0,00$), quantidade de AG Trans ($r = -0,81$, $p = 0,05$) e quantidade e densidade de colesterol alimentar ($r = -0,88$, $p = 0,01$).

7.13 CORRELAÇÃO ENTRE EXPRESSÃO GÊNICA E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS PLASMÁTICOS

Somente a expressão gênica da apo A demonstrou correlação positiva com % ácido mirístico ($r = 0,79$, $p = 0,05$), e negativa com o % ácido linoleico ($r = -0,79$, $p = 0,05$).

7.14 PODER DA AMOSTRA

O poder da amostra para os resultados de expressão gênica está acima de 80%, sendo que, para obter 95% de poder da amostra, seriam necessários 13 pacientes. Para biomarcadores inflamatórios, o poder da amostra está entre 55% e 68%, sendo necessários entre 24 (para IL-6) e 103 (para IL-10) pacientes, para um poder acima de 80%.

8 DISCUSSÃO

No presente subestudo, após 6 meses de uma intervenção nutricional quali-quantitativa, com alimentos habituais da população brasileira, foi verificada ausência de efeito sobre as concentrações plasmáticas de biomarcadores inflamatórios em pacientes obesos em prevenção cardiovascular secundária. No tocante à avaliação da expressão gênica, apenas os genes da *Apo A* ($p= 0,011$), da *ELN* ($p= 0,017$) e da *IL4* ($p= 0,037$) apresentaram alteração significativa pós-intervenção.

Para este subestudo, apenas pacientes do sexo masculino foram selecionados. Tal escolha teve como objetivo evitar possível viés associado às alterações relacionadas ao perfil hormonal feminino, bem como diferenças no tempo de climatério, caso mulheres fossem incluídas.

Alterações na dosagem ou no tipo de estatina foram observadas em três pacientes, 15 dias antes da sua randomização no estudo. O aumento significativo relacionado aos valores de AST após 6 meses de intervenção pode refletir essa modificação, principalmente em relação à dose do medicamento. Apesar dessa diferença, a elevação da enzima não foi superior ao valor máximo de referência para indivíduos adultos. Embora ambas aminotransferases estejam presentes em grande quantidade no fígado, a AST também é encontrada nos tecidos cardíaco, renal, cerebral, musculoesquelético e nas hemácias (WROBLEWSKI, 1958). Por terem atuação hepática, com a biotransformação dos seus metabólitos em forma ativa, o mecanismo exato pelo qual as transaminases podem se elevar não é definido, podendo variar desde a alteração na homeostase do cálcio pelos hepatócitos e lesão de células musculares, até a interação com outros fármacos e polimorfismos genéticos (FORTI e DIAMENT, 2005; XAVIER et al., 2013). Demais medicações não tiveram modificações durante o período de 6 meses.

O plano alimentar quali-quantitativo orientado para esses pacientes visou a redução de peso (20 kcal/kg de peso atual). O VCT médio, segundo recordatório de 24 horas pós-intervenção, foi de 1.191 kcal e o cálculo estimado do GEB para estes pacientes foi de, em média, 1.743 kcal – o que acarreta em déficit ao redor de 550 kcal, cujos fatos favoreceram a diminuição de peso e as consequentes reduções de IMC e circunferência abdominal.

A redução da circunferência da cintura foi associada com aumento da concentração plasmática de adiponectina, em concordância com outros estudos (ACHARYA et al., 2013), tanto em dietas de redução calórica, de médio (>16 semanas) a longo prazo (KOTIDIS et al., 2006; SALEHI-ABARGOUEI et al., 2015 XIAOLING et al., 2016), quanto em pacientes de diferentes tipos de cirurgia bariátrica (KOTIDIS et al., 2006). A adiponectina apresenta valores reduzidos na obesidade, devido à hiperplasia do adipócito e à inflamação aumentada no tecido adiposo visceral (BAHCECI et al., 2007). A distribuição corporal do tecido adiposo influencia a produção dessa adipocina – o tecido adiposo subcutâneo tem menor variação da produção de adiponectina em relação àquele presente na região abdominal (TURER et al., 2011).

Além da obesidade, pacientes com doença coronariana (KUMADA et al., 2003; APRAHAMIAN e SAM, 2011) ou com AVC (PERA et al., 2013) possuem valores mais baixos de adiponectina, comparativamente a indivíduos saudáveis. Estudos demonstram efeitos protetores da adiponectina na resistência à ação da insulina e na inflamação sistêmica. No primeiro, suprime a gliconeogênese hepática e aumenta tanto a oxidação de ácidos graxos quanto a captação de glicose pelas células musculares, cujos fatos podem estar relacionados à ativação da enzima proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK), a qual é responsável pela homeostase energética celular (YAMAUCHI et al., 2002). No segundo, a supressão da ativação do NF- κ B e, conseqüentemente, da expressão gênica do TNF- α e da IL-8, atenua a resposta inflamatória, reduzindo a sinalização de moléculas de adesão nas paredes do endotélio, bem como a transformação de macrófagos em células espumosas (OUCHI et al., 1999, 2000). Além disso, a concentração plasmática do TNF- α é mais elevada em indivíduos obesos (BAHCECI et al., 2007) e também induz resistência à ação da insulina. Ainda no tecido adiposo, a adiponectina pode estimular a expressão de marcadores de macrófagos do tipo M2 (como a IL-10) e diminuir aqueles relacionados com macrófagos tipo M1 (TNF- α , MCP-1 e ERO), fenótipo que favorece menor inflamação (OHASHI et al., 2010).

A redução de gordura abdominal melhorou a resistência à ação da insulina, conforme pode ser constatado pela redução do índice HOMA-IR, apesar da ausência de alteração dos valores relativos à glicemia e à insulinemia. Além disso, menores quantidades de AG livres circulantes podem contribuir para melhora da resistência à ação da insulina (CAPURSO e CAPURSO, 2012).

A contagem de neutrófilos oriundos do sangue periférico foi reduzida pós-intervenção. Estudos observaram maior contagem de neutrófilos associados com o aumento do IMC e da resistência insulínica (BAHADIR et al., 2015; FURUNCUOGLU et al., 2016). Um estudo experimental em ratos demonstrou que neutrófilos secretam uma proteinase pró-inflamatória denominada elastase neutrofílica, a qual atua no quadro de resistência à ação da insulina, com comprometimento na tolerância à glicose e aumento da insulina de jejum, em uma dieta rica em lipídios (TALUKDAR et al., 2012).

A análise de expressão gênica em sangue total permite conhecer e avaliar, de modo pouco invasivo, a modulação de vias expostas a nutrientes e/ou a padrões alimentares. Desse modo, esse subestudo é importante por ser o primeiro a apresentar resultados iniciais de como a alimentação brasileira habitual pode influenciar genes envolvidos com o desenvolvimento da aterosclerose, na população de prevenção secundária cardiovascular. A expressão gênica da *Apo A1* ($p=0,011$) esteve associada com concentrações plasmáticas de Apo A1 ($p=0,028$), apesar de não ter modificado a quantidade e quaisquer tamanhos de partículas de HDL. A Apo A1 é a principal apolipoproteína constituinte da HDL, com sua síntese hepática e intestinal (GO, 1988). Essa lipoproteína tem como função primeira o transporte reverso de colesterol, uma vez que a HDL interage com o complexo proteico *ATP binding cassette A1* (ABCA1), que media o transporte ativo do colesterol livre (inclusive de macrófagos presentes na placa aterosclerótica) (KHERA, 2011; YU, 2013) e de fosfolípidos das membranas de células periféricas, para o seu interior. Por meio da participação da Apo A1 como cofator, a enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) converte o colesterol livre para a forma esterificada, o que favorece o transporte de colesterol associado à HDL até o fígado. Ao se ligar aos *scavenger receptors B class 1* (SRB1) dos hepatócitos, o colesterol esterificado é removido e, posteriormente, é excretado na forma de sais biliares ou é utilizado como substrato de hormônios esteroidais (FRANK e MARCEL, 2000; CIMMINO, 2015; YAMAMOTO, 2016). Em homens, a menor concentração plasmática de Apo A1 demonstrou ser melhor biomarcador do que a HDL-colesterol para discriminar a presença de DAC diagnosticada por meio de angiografia (MACIEJKO, 1983).

A expressão da *IL-4* foi 2,6 vezes maior após a intervenção nutricional ($p=0,037$). Essa citocina é secretada por linfócito T *helper 2* para ativação de linfócitos B e para consequente estímulo da produção de anticorpos na proteção contra a gênese

da aterosclerose, como observado em modelo animal (CALIGIURI et al., 2002). Sob condições de homeostase, a IL-4 é responsável por manter os macrófagos tipo M2 presentes no tecido adiposo em ativação, atenuando a inflamação e melhorando a sensibilidade à insulina, decorrentes da inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α), da formação de ERO e do recrutamento de macrófagos do tipo M1 pela MCP1 e pela menor síntese de prostaglandinas E2 (ROMEO et al., 2012; BHATTACHARJEE et al., 2013). Ainda, exerce efeito anti-aterogênico, pois diminui a produção e a secreção de MMP9, a partir de macrófagos (NEWBY, 2008).

Outro gene que também teve sua expressão aumentada em duas vezes ($p=0,017$) foi o gene *ELN*. A elastina é parte constituinte de tecidos, principalmente nas artérias, onde compreende até 50% do peso seco. Na camada média vascular, é intercalada com células musculares lisas, para conseguir manter a elasticidade de distensão a cada pulso de sístole cardíaca, enquanto na camada adventícia proporciona força e resistência, em conjunto com o colágeno. A elastina pode sofrer degradação pelas MMP, especialmente a MMP9, permitindo a passagem de monócitos para a camada íntima, no processo aterosclerótico (WATERHOUSE et al., 2011; TSAMIS et al., 2013). Um estudo de análise de carótidas de pacientes submetidos à endarterectomia evidenciou que placas ateroscleróticas apresentaram menor conteúdo de elastina e maior expressão de MMP9 naqueles indivíduos com sintomas neurológicos antes e após a cirurgia, principalmente entre os homens e idosos, sugerindo que a elastina favorece a estabilização dessas placas (ASCIUTTO et al., 2015). Sobre o tecido vascular, é demonstrado que os AGS comprometem a dilatação mediada pelo fluxo, quando comparado com dietas ricas em AGM e AGP ou com dieta rica em carboidratos (KEOGH, 2005), bem como, *in vitro*, células musculares lisas sofrem mais apoptose induzida pela presença de palmitato em comparação ao oleato (MATTERN, 2007). Um estudo experimental com fibroblastos de ratos e de humanos demonstrou que o ácido palmítico reduziu a expressão gênica da elastina – resultado que foi revertido pelo ácido graxo EPA (EZURE e AMANO, 2011). Considerando esse contexto, este subestudo sugere que exista efeito deletério do consumo de AGS sobre a expressão gênica de elastina, já que nosso resultado apresentou associação inversa entre esses dados.

Estudos de intervenção nutricional populacional demonstraram impacto da dieta sobre os fatores de risco para DCV e os biomarcadores inflamatórios, baseados

em índices de adesão. No final da década de 1990, a dieta mediterrânea demonstrou taxa de sobrevida maior no grupo que aderiu ao padrão alimentar composto por azeite de oliva, frutas, verduras, legumes, aves e peixes, em relação ao grupo controle, entre homens em prevenção secundária pós-IAM, após 27 meses de acompanhamento. Esse resultado foi obtido mesmo sem diferenças entre os grupos em relação ao IMC, ao perfil lipídico plasmático e à pressão arterial, levantando a hipótese de que outras alterações metabólicas influenciam esse efeito (DE LONGERIL, 1999).

A presença de diversos compostos bioativos e a qualidade de ácidos graxos consumidos podem indicar que a intervenção nutricional é importante como um todo, mais do que o consumo de um alimento isoladamente. Isso foi apresentado em um estudo com 187 idosos, na Grécia, em que um ponto a mais no escore de adesão à dieta mediterrânea esteve relacionado à sobrevida global em 17% ($p=0,04$) (TRICHOPOULOU, 1995). A maior adesão à dieta mediterrânea também demonstrou correlação inversa com HOMA-IR e PCR (VISCOGLIOSI, 2013), bem como para IMC e circunferência abdominal (GROSSO, 2014), independentemente de algum alimento específico que compõe a Dieta do Mediterrâneo. Apesar dos resultados desses estudos apresentarem resultados similares aos obtidos no presente subestudo, eles foram realizados com indivíduos em prevenção primária, o que difere em relação aos nossos pacientes, os quais não modificaram as concentrações plasmáticas de biomarcadores inflamatórios, devido em parte pelo uso crônico de medicações (DAVIGNON, 2004; PRASAD, 2006).

Estudos que avaliem a modulação da expressão gênica decorrente do tipo de padrão alimentar são escassos, e predominantemente avaliam o efeito da dieta mediterrânea em indivíduos em prevenção primária. Um subestudo com 34 pacientes do Predimed analisou a expressão gênica por PBMC em três grupos de tratamento (grupo controle com baixo consumo de gorduras, intervenções grupo dieta mediterrânea com adição de azeite de oliva e grupo dieta mediterrânea com acréscimo de oleaginosas), em pacientes de ambos os sexos e de alto risco para DCV. Dentre as 18 vias de sinalização para DCV estudadas, ambas as dietas mediterrâneas modularam 12 vias, sendo essas relacionadas com hipertrofia cardíaca, hipertensão (sistema renina-angiotensina-aldosterona e óxido nítrico), sinalização β -adrenérgica cardíaca e aterogênese (CASTAÑER et al., 2013).

8.1 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVA

Como primeira limitação, este subestudo teve um número reduzido de participantes para avaliação da concentração de biomarcadores inflamatórios. O fato desses pacientes serem de prevenção secundária, em uso crônico de medicações, também explica, em parte, porque esses valores não tiveram alterações após a intervenção nutricional, particularmente devido aos efeitos pleiotrópicos decorrente das estatinas.

Outra limitação é que não foram realizadas análises com um grupo controle pareado, o que permitiria melhor comparação dos efeitos da intervenção nutricional sobre a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios e a expressão gênica em células do sangue periférico.

Além disso, por seguir o protocolo do projeto DICA Br, que normatizou como coleta de adesão alimentar o recordatório de 24 horas, pode existir sub-relato ou também alteração no consumo habitual. Para diminuir esse viés, foi também realizada a avaliação de adesão à dieta por pontuação pelo índice dietético baseado no Programa Alimentar Cardioprotetor Brasileiro.

Por fim, é sugerido como perspectiva, que sejam validados os resultados de expressão gênica, com os genes estatisticamente significantes e alguns outros de resultados limítrofes, na população do projeto DICA Br, principalmente no acompanhamento a longo prazo, e se podem estar relacionados com desfechos de DCV. Essas informações podem contribuir para maior entendimento da modulação gênica na aterosclerose pelos alimentos que compõem a alimentação habitual brasileira.

CONCLUSÃO

Após 6 meses de intervenção nutricional com o plano alimentar quali-quantitativo, composto de alimentos habituais brasileiros, os pacientes obesos em prevenção secundária para doença cardiovascular não apresentaram redução da concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios, apesar da redução do peso, da circunferência abdominal, do índice HOMA-IR e de neutrófilos. Contudo, o plano alimentar quali-quantitativo aumentou a expressão de genes em células do sangue periférico que podem favorecer a redução do risco cardiometabólico.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, M.H. et al. Economic benefits of the Mediterranean-style diet consumption in Canada and the United States. *Food & Nutrition Research*. v. 59, p. 1-10, 2015.
- ACHARYA, S. D. et al. Weight loss is more important than the diet type in improving adiponectin levels among overweight/obese adults. *J Am Coll Nutr*, v. 32, n. 4, p. 264-71, 2013.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Foundations of care and comprehensive medical evaluation. In: Standards of medical care in diabetes – 2016. *Diabetes Care*, v. 39, p. S23-S35, 2016. Suplemento.
- AMBROSIONI, E. et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: third joint task force of European and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of eight societies and by invited experts). *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, v. 10, n. 4, p. S1-S10, 2003.
- APPEL, L. J. et al. Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the OmniHeart randomized trial. *JAMA*, v. 294, n. 19, p. 2455-2464, 2005.
- APRAHAMIAN, T.; SAM, F. Adiponectin in Cardiovascular Inflammation and Obesity. *Int J Inflammation*, v. 2011, article ID 376909, p. 1-8, 2011.
- ASCIUTTO, G. et al. Low elastin content of carotid plaques is associated with increased risk of ipsilateral stroke. *PLoS ONE*, v. 10, n. 3, e0121086, 2015.
- BAHADIR, A. et al. Is the neutrophil-to-lymphocyte ratio indicative of inflammatory state in patients with obesity and metabolic syndrome? *Anatol J Cardiol*, v. 15, p. 816-822, 2015.
- BAHCECI, M. et al. The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor α , interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. Is adipocyte size associated with inflammation in adults? *J Endocrinol Invest*, v. 30, p. 201-214, 2007.
- BASU, A. et al. Dietary factors that promote or retard inflammation. *Atheroscl Thromb Vasc Biol*, v. 26, n. 5, p. 995-1001, 2006.
- BELLISLE, F. Infrequently asked questions about the Mediterranean diet. *Public Health Nutr*, v. 12, n. 9A, p. 1644-1647, 2009.
- BELTOWSKI, J. Leptin and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, v. 189, n. 1, p. 47-60, 2006.
- BHATTACHARJEE, A. et al. IL-4 and IL-3 employ discrete signaling pathways for target gene expression in alternatively activated monocytes/macrophages. *Free Radic Biol Med*, v. 54, p. 1-16, 2013.
- BRUNELLI, D.T. et al. Combined training reduces subclinical inflammation in obese middle-age men. *Med Sci Sports Exerc*. v. 47, n. 10, p. 2207-2215, 2015
- BUCKLEY, M.L.; RAMJI, D.P. The influence of dysfunctional signaling and lipid homeostasis in mediating the inflammatory responses during atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1852, p. 1498-1510, 2015.

- CAI, D. et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappa B. *Nature Medicine*, v. 11, p. 183-190, 2005.
- CALIGIURI, G. et al. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *J Clin Invest*, n. 109, p. 745-753, 2002.
- CAMARGO, A. et al. Expression of proinflammatory, proatherogenic genes is reduced by the Mediterranean diet in elderly people. *British Journal of Nutrition*, v. 108, p. 500-508, 2012.
- CANCELLO, R.; CLEMENT, K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG - An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, v. 113, p. 1141-1147, 2006.
- CAPURSO, C.; CAPURSO, A. From excess adiposity to insulin resistance: the role of free fatty acids. *Vascular Pharmacology*, n. 57, p. 91-97, 2012.
- CASAS, R. et al. The effects of the Mediterranean diet on biomarkers of vascular wall inflammation and plaque vulnerability in subjects with high risk for cardiovascular disease. A randomized trial. *PLoS One*, v. 9, n. 6, p. 1-11, 2014.
- CASTAÑER, O. et al. In vivo transcriptomic profile after a Mediterranean diet in high-cardiovascular risk patients: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, v. 98, p. 845-853, 2013.
- CAUGHEY, G.E. et al. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr*, v. 63, n. 1, p. 116-122, 1996.
- CERIELLO, A.; MOTZ, E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thrombos Vasc Biol*, n. 24, p. 1-8, 2004.
- CHANDRAN, M. et al. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care*, v. 26, p. 2442-2450, 2003.
- CIMMINO, G. et al. High density lipoprotein cholesterol increasing therapy: the unmet cardiovascular need. *Translational Medicine*, v. 12, n. 6, p. 29-40, 2015.
- COMINETTI, C. et al. Brazilian Society for Food and Nutrition position statement: nutrigenetic tests. *Nutrire*, v. 42, p. 10, 2017.
- DA SILVA, J.T.; LEVY, R.B. Desenvolvimento de um índice dietético baseado na dieta do Programa Alimentar Cardioprotetor Brasileiro (DICA BR). 2016. Dissertação (Mestrado em Nutrição em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
- DAVIGNON, J. Beneficial Cardiovascular Pleiotropic Effects of Statins. *Circulation*, v. 109, n. 23, p. III-39-III-43, 2004.
- DE LORGERIL, M. et al. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation*, v. 99, p. 779-785, 1999.
- DE SOUZA, C.T. et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology*, v. 146, p. 4192-4199, 2005.

- DONATH, M.Y.; SHOELSON, S.E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*, v. 11, p. 98-107, 2011.
- EHSES, J.A. et al. Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetes*, v. 56, p. 2356-2370, 2007.
- ENDRES, S. et al. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med*, v. 320, n. 5, p. 265-271, 1989.
- 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). *JAMA*, v. 285, p. 2486-2497, 2001.
- EZURE, T.; AMANO, S. Negative regulation of dermal fibroblasts by enlarged adipocytes through release of free fatty acids. *J Invest Dermatol*, v. 131, p. 2004-2009, 2011.
- FERGUSON, L.R. et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalised Nutrition: Part 1 – Fields of Precision Nutrition. *J Nutrigenet Nutrigenomics*, v. 9, n. 1, p. 12-27, 2016.
- FERNÁNDEZ-REAL, J.M. et al. Circulating adiponectin and plasma fatty acid profile. *Clin Chem*, v. 51, n. 3, p. 603-609, 2005.
- FLACHS, P. et al. Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. *Diabetologia*, v. 49, n. 2, p. 394-397, 2006.
- FORTI, N.; DIAMENT, J. Efeitos indesejáveis dos hipolipemiantes: condutas na prática clínica. *Rev Assoc Med Bras*, São Paulo, v. 54, n. 4, p. 357-362, Aug 2008.
- FRANK, P.G.; MARCEL, Y.L. Apolipoprotein A-1: structure-function relationships. *J Lipid Res*, v. 41, p. 853-872, 2000.
- FURUNCUGLU, Y. et al. How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: a retrospective study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, v. 20, p. 1300-1306, 2016.
- GALIC, S. et al. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cel Endocrinol*, v. 316, n. 2, p. 129-139, 2010.
- GO, M.F. et al. Regulation of intestinal and hepatic apoprotein synthesis after chronic fat and cholesterol feeding. *J Clin Invest*, v. 81, p. 1615-1620, 1988.
- GREGOR, M.F.; HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*, v. 29, n. 1, p. 415-445, 2011.
- GRAY, S.L.; VIDAL-PUIG, A.J. Adipose tissue expandability in the maintenance of metabolic homeostasis. *Nutr Rev*, v. 65, n. 6 pt. 2, p. S7-S12, 2007.
- GROSSO, G. et al. Protective role of the Mediterranean diet on several cardiovascular risk factors: Evidence from Sicily, southern Italy. *Nutr Met Cardiovasc Dis*, n. 24, p. 370-377, 2014.
- HOOPER, L. et al. Dietetic guidelines: diet in secondary prevention of cardiovascular disease (first update, June 2003). *J Hum Nutr Diet*, v. 17, n. 4, p. 337-349, 2004.

HUXLEY, R. et al. Body mass index, waist circumference and waist:hip ratio as predictors of cardiovascular risk – a review of the literature. *Eur J Clin Nutr*. v. 64, n. 1, p. 16-22, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009*. Brasília, DF, 2009. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009/. Acesso em 30 de setembro de 2015.

KEOGH, J. et al. Flow-mediated dilatation is impaired by a high-saturated fat diet but not by a high-carbohydrate diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 25, p. 1274-1279, 2005.

KHERA, A.V. et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function and atherosclerosis. *N Engl J Med*, n. 364, n. 2, p. 127-135, 2011.

KIM, C.S. et al. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *Int J Obes (Lond)*. V. 30, n. 9, sep, p. 1347-1355.

KLEIN, J. et al. Adipose tissue as source and target for novel therapies. *Trends Endocrinol Metab*, v. 17, p. 1-7, 2006.

KON, K.K. et al. Inflammatory markers and metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol*, v. 46, n. 11, p. 1978-1985, 2005.

KOTIDIS, E.V. et al. Serum ghrelin, leptin and adiponectin levels before and after weight loss: comparison of three methods of treatment – a prospective study. *Obes Surg*, v. 16, n. 11, Nov, p. 1425-1432, 2006.

KRAUSS, R.M. et al. AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation*, v. 102, n. 18, p. 2284-2299, 2000.

KRIS-ETHERTON P. et al. Lyon Diet Heart Study: Benefits of a Mediterranean-style, National Cholesterol Education Program/American Heart Association Step I Dietary Pattern on Cardiovascular Disease. *Circulation*, v. 103, p. 1823-1825, 2001

KROMHOUT, D. et al. Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle: evidence from prospective cross-cultural, cohort, and intervention studies. *Circulation*, v. 105, n. 7, p. 893-898, 2002.

KUMADA, M. et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 23, p. 85-89, 2003.

LEREN, P. The Oslo Diet-Heart Study: eleven-year report. *Circulation*, v. 42, p. 935-942, 1970.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, v. 420, n. 6917, p. 686-874, 2002.

LIBBY, P. et al. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, Hagerstown, v. 105, n. 9, p. 1135-1143, 2002.

MACIEJKO, J.J. et al. Apolipoprotein A-1 as a marker of angiographically assessed coronary-artery disease. *N Engl J Med*, v. 309, n. 7, p. 385-389, 1983.

MATTERN, H.M.; HARDIN, C.D. Vascular metabolic dysfunction and lipotoxicity. *Physiol Res*, n. 56, p. 149-158, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – PORTAL BRASIL. *Doenças cardiovasculares causam quase 30% das mortes no País*. Publicado em 06 de setembro de 2011, atualizado em 28 de julho de 2014. Disponível em <http://www.brasil.gov.br/saude/2011/09/doencas-cardiovasculares-causam-quase-30-das-mortes-no-pais>. Acesso em 15 de setembro de 2015.

MOSCHEN, A.R. et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol*. v. 178, n. 3, p. 1748-1758, 2007.

MUSTAD, V.A.; KRIS-ETHERTON, P.M. Além da redução do colesterol: decifrando os benefícios da intervenção alimentar para a doença cardiovascular. *Curr Atheroscler Rep*, v. 1, n. 1, p. 2-7, 2001.

NEWBY, A.C. Metalloproteinase expression in monocytes and macrophages and its relationship to atherosclerotic plaque instability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 28, p. 2018-2114, 2008.

NORDMANN, A.J. et al. Meta-analysis comparing Mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. *Am J Med*. v. 124, n. 9, p. 841-851, 2011.

OHASHI, K. et al. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype. *J Biological Chemistry*, v. 285, n. 9, 2010.

OLSEN, K.S. et al. Whole-blood gene expression profiles in large-scale epidemiological studies: what do they tell? *Curr Nutr Rep*, n. 4, p. 377-386, 2015.

OUCHI, N. et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, v. 100, p. 2473-2476, 1999.

OUCHI, N. et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- κ B signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*, v. 102, p. 1296-1301, 2000.

OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. v. 11, n. 2, p. 85-97, 2011.

PARIKH, P. et al. Diets and cardiovascular disease: an evidence-based assessment. *J Am Coll Cardiol*, v. 45, p. 1379-1387, 2005.

PERA, J. et al. Temporal changes of adiponectin plasma levels in patients with acute ischemic stroke. *Neurological Research*, v. 35, n. 9, p. 988-991, 2013.

PÉREZ-MATUTE, P. et al. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumor necrosis factor- α . *Br J Nutr*. v. 97, n. 2, p. 389-398, 2007.

PRASAD, K. C-reactive protein (CRP)-lowering agents. *Cardiovasc Drug Rev*, v. 24, n. 1, p. 33-50, 2006.

REILLY, M.P. et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation*. v. 111, n. 7, p. 932-939.

RIDKER, P.M. C-reactive protein and the risks of future myocardial infarction and thrombotic stroke. *Eur Heart J*, v. 19, p. 1-3, 1998.

ROMEO, G.R. et al. Metabolic syndrome, insulin resistance and roles of inflammation-mechanisms and therapeutic targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 32, n. 8, p. 1771-1776, 2012.

ROS, E. et al. Mediterranean Diet and Cardiovascular Health: Teachings of the PREDIMED Study. *Adv Nutr*, v. 14, n. 5, p. 330S-336S, 2014.

ROSS, R. Atherosclerosis: an inflammation disease. *N. Eng. J. Med.*, Boston, v. 340, n. 2, p. 115-126, 1999.

SALEHI-ABARGOUEI, A. et al. The Effect of Calorie Diet on Adiponectin Concentration: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Horm Metab Res*, v. 47, p. 549-555, 2015.

SHIRAI, N. et al. Direct methylation from mouse plasma and from liver and brain homogenates. *Analytical Biochemistry*, v. 343, p. 48-53, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Departamento de dislipidemia. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*, v. 88, n. suppl 1, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol*, v. 84, n. suppl. 1, p. 1-28, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*, v. 95, n. 1 suppl.1, p. 1-51, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretriz Brasileira de Diabetes. 3d. Itapevi, SP, p. 1-400, 2015. Disponível em <http://www.diabetes.org.br/images/2015/area-restrita/diretrizes-sbd-2015.pdf>. Acesso em 05 de setembro de 2015.

TALUKDAR, S. et al. Neutrophils mediate insulin resistance in high fat diet fed mice via secreted elastase. *Nat Med*, v. 18, n. 9, p. 1407-1412, 2012.

THOMAZELLA, M.C. et al. Effects of high adherence to Mediterranean or low-fat diets in medicated secondary prevention patients. *Am J Cardiol*, v. 108, n. 11, p. 1523-1529, 2011.

TRETJAKOV, P. et al. Relation of inflammatory chemokines to insulin resistance and hypoadiponectinemia in coronary artery disease patients. *Eur J Intern Med*, v. 20, n. 7, p. 712-717, 2009.

TRICHOPOULOU, A. et al. Diet and overall survival in elderly people. *BMJ*, v. 311, Dec., p. 1457-1460, 1995.

TSAMIS, A. et al. Elastin and collagen fibre microstructure of the human aorta in ageing and disease: a review. *J R Soc Interface*, v. 10, n. 83, p. 1-22, 2013.

YU, X-H. et al. Foam cells in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, n. 424, p. 245-252, 2013.

VAN DER MEER, I.M. et al. The value of C-reactive protein in cardiovascular risk prediction: the Rotterdam Study. *Arch Intern Med*, v. 163, p. 1323-8, 2003.

VAN DIJK, S.J. et al. A saturated fatty acid-rich diet induces an obesity-linked proinflammatory gene expression profile in adipose tissue of subjects at risk of metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr*, v. 90, n. 6, p. 1656-1664, 2009.

VARMA, V. et al. Muscle inflammatory response and insulin resistance: synergistic interaction between macrophages and fatty acids leads to impaired insulin action. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, v. 296, p. E1300-E1310, 2009.

- VISCOGLIOSI, G. et al. Mediterranean Dietary Pattern Adherence: Associations with prediabetes, metabolic syndrome, and related microinflammation. *Metab Syndr Relat Disord*, v. 11, n. 3, p. 210-216, 2013.
- VOLPATO, S. et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the Women's Health and Aging Study. *Circulation*, v. 103, p. 947-953, 2001.
- XAVIER H.T. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*, v 101, supl. 1, 2013.
- XIAOLING, S. et al. A low-fat high-carbohydrate diet reduces plasma total adiponectin concentrations compared to a moderate-fat diet with no impact on biomarkers of systemic inflammation in a randomized controlled feeding study. *Eur J Nutr*, v. 55, n. 1, p. 237-246, 2016.
- YAMAGAMI, H. et al. Higher levels of interleukin-6 are associated with lower echogenicity of carotid artery plaques. *Stroke*, v. 35, n. 3, p. 677-681, 2004.
- YAMAMOTO, S. et al. The macrophage and its related cholesterol efflux as a HDL function index in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, v. 457, p. 117-122, 2016.
- YAMAUCHI, T. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*, v. 8, n. 11, p. 1288-1295, 2002.
- YUBERO-SERRANO, E.M. et al. Insulin resistance determines a differential response to changes in dietary fat modification on metabolic syndrome risk factors: the LIPGENE study. *Am J Clin Nutr*. v. 102, p. 1509-1517, 2015.
- WATERHOUSE, A. et al. Elastin as a nonthrombogenic biomaterial. *Tissue Eng Part B Rev*, v. 17, n. 2, p. 93-99, 2011.
- WEBER, B. et al. The Brazilian Cardioprotective Nutritional Program to reduce events and risk factors in secondary prevention for cardiovascular disease: study protocol (The BALANCE Program Trial). *Am Heart J*, Publicado online em Agosto 2015. Disponível em [http://www.ahjonline.com/article/S0002-8703\(15\)00526-8/pdf](http://www.ahjonline.com/article/S0002-8703(15)00526-8/pdf). Acesso em 30 de agosto de 2015.
- WENSVEEN, F.M. et al. The "Big Bang" in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. *Eur J Immunol*, v. 45, p. 2446-2456, 2015.
- WILSON, P.W.F. Established risk factors and coronary artery disease: The Framingham Study. *Am J hypertens*, v.7, p. 7S-12S, 1994.
- WINTHER, M.P.J. et al. Nuclear factor κ B signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, v. 25, p. 904-914, 2005.
- WILLETT, W. C. et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr*, v. 61, n. 6, p. 1402S-1406S, 1995.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Cardiovascular Diseases*. Fact Sheets, n 317, Jan. 2015. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>. Acesso em 27 de setembro de 2015a.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Obesity and overweight*. Fact Sheets, n 317, Jan. 2015. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Acesso em 27 de setembro de 2015b.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Waist circumference and waist-hip ratio*: report of a WHO expert consultation, Geneva, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *The world health report 2002: reducing risks, promoting healthy life*. Disponível em www.who.int/whr/2002/en/whr02_es.pdf. Acesso em 13 de janeiro de 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee*. WHO Technical Report Series, Geneva, 1995.

WROBLEWSKI F. The clinical significance of alterations in transaminase activities of serum and other body fluids. *Adv Clin Chem*, v. 1, n. 2, p. 313-351, 1958.

ZHANG, L. et al. High dietary n-6/n-3 PUFA ratio promotes HDL cholesterol level, but does not suppress atherogenesis in apolipoprotein E-null mice 1. *J Atheroscler Thromb*, v. 16, n. 4, p. 463-471, 2009.

ANEXO 01- Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

DATA DA ENTRADA: 15 de maio de 2013.

DATA DA AVALIAÇÃO: 21 de maio de 2013.

CAAE: 17100213.8.0000.5462

Nº DO PROTOCOLO NO CEP: 4336

(este nº deverá citar nas correspondências referentes a este projeto)

Investigadora Principal: Paula Helena Ortiz Lima

Nº de Sujeitos no Centro: 300

Nº Total de Sujeitos: 300

Área de Conhecimento: Ciências da Saúde

Área Temática Especial: Não se aplica

Unitermos: Nutrição; microRNA, inflamação, obesidade

Fase: Não se aplica

Duração do Estudo: 12 meses

Patrocinador: Não se aplica

Instituição Proponente: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

CEP Proponente: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

Projeto de Pesquisa Clínica: "Associação entre microRNAs e biomarcadores inflamatórios em pacientes participantes do estudo da Dieta Cardioprotetora Brasileira (DICA Br)".

Considerações/Comentários: O estudo tem como objetivo verificar a associação entre MicroRNAs e a Dieta Cardioprotetora Brasileira e seus efeitos sobre a concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios.

Ao se proceder à análise ao projeto em questão, considera-se que:

- O projeto preenche os requisitos fundamentais das resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacional de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.
- O Comitê de Ética em Pesquisa avaliou o Protocolo de Estudo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- O Comitê de Ética em Pesquisa segue os preceitos das resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacional de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

Diante do exposto, O Comitê de Ética em Pesquisa, manifesta-se pela:

- Protocolo de Pesquisa Clínica – Aprovado
- Carta de submissão ao CEP – Entregue
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Aprovado
- Declarações da Pesquisadora: Declaração de realização do estudo/ Dr. Daniel Magnoni; Declaração de responsabilidade, direitos e obrigações; Publicação dos resultados da pesquisa; Declaração sobre currículo Lattes; Forma de recrutamento; Justificativa orçamento; Declaração de riscos – Entregue
- Folha de rosto – Entregue

O Comitê de Ética em Pesquisa solicita que:

- a. Informar imediatamente relatório sobre qualquer evento adverso ocorrido
- b. Comunicar qualquer alteração no projeto e no TCLE.
- c. Elaborar e apresentar ao CEP os relatórios parcial e final sobre a pesquisa.

Situação: Protocolo Avaliado e Aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa em reunião ordinária realizada no dia 21 de maio de 2013.

São Paulo, 21 de maio de 2013.

Pedro Silvio Farsky
Coordenador CEP
CRM 55073
Pedro Silvio Farsky

Dr. Pedro Silvio Farsky
Coordenador do CEP
Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

ANEXO 02 - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Coração

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Hospital do Coração/ Associação do Sanatório Sírio - ASS

PROJETO DE PESQUISA

Título: Efeito do Programa Alimentar Brasileiro Cardioprotetor na redução de eventos e fatores de risco na prevenção secundária para doença cardiovascular: um ensaio clínico randomizado

Área Temática:

Pesquisador: Bernardete Weber

Versão: 4

Instituição: Hospital do Coração/ Associação do Sanatório Sírio

CAAE: 03218512.0.1001.0060

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 58318

Data da Relatoria: 17/07/2012

Apresentação do Projeto:

Efeito do Programa Alimentar Brasileiro Cardioprotetor na redução de eventos e fatores de risco na prevenção secundária para doença cardiovascular. Serão recrutados cerca de 2000 pacientes, em 40 centros distribuídos no Território Nacional, por recrutamento competitivo. Trata-se de ensaio clínico randomizado, multicêntrico, nacional, pragmático.

Objetivo da Pesquisa:

Primário: avaliar a efetividade do Programa Alimentar Brasileiro Cardioprotetor (PABC) na redução de: parada cardíaca, infarto agudo do miocárdio, AVC, revascularização do miocárdio, amputação por doença arterial periférica, angina, ou óbito. Secundários: Avaliar a efetividade do plano alimentar na redução de fatores de risco (colesterol total, LDL, glicemia, pressão arterial, IMC, circunferência da cintura).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa não envolve riscos potenciais aos participantes, visto que as recomendações de dietoterapia para prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares são condutas consagradas pela comunidade científica. Por ser inédita e contar com regionalização da alimentação, a pesquisa pode contribuir com a definição de uma dieta brasileira cardioprotetora de fácil execução em nível nacional.

Comentários e

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Para o grupo controle, sugere-se que as intervenções realizadas pessoalmente ou por via telefônica sejam supervisionadas por nutricionistas, mesmo que quem realize a orientação seja outro profissional de saúde.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Com relação ao adendo de 18/06/2012, o mesmo trata da:

- Inclusão de 12 centros colaboradores;
- Alteração do cegamento da pesquisa. Por se tratar de um estudo que avalia ingestão alimentar e dieta, entende-se que este não se trate de um estudo cego;
- Nas vigilâncias telefônicas não será mais realizada a avaliação da ingestão alimentar, apenas análise clínica. Isto por que este dado seria referente apenas de um grupo, não sendo comparado com o controle.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital do Coração recomenda que seja consultado o médico referenciador do paciente e que este dê anuência por escrito para que o seu paciente seja recrutado para a pesquisa aprovada. É importante salientar que esta recomendação é válida tanto para médicos do corpo clínico como para médicos externos e não pertencentes ao corpo clínico do HCor.

SAO PAULO, 19 de Julho de 2012

Assinado por:

Sergio Domingos Vieira

ANEXO 03 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública – Universidade de São Paulo

formabrazil/visao/pesquisador/gerirPesquisa/gerirPesquisaAgrupador.jsf

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito de um plano alimentar quali-quantitativo individualizado sobre a expressão gênica e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios em pacientes obesos em prevenção secundária para doença cardiovascular

Pesquisador Responsável: Marcelo Macedo Rogero

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 65485017.7.0000.5421

Submetido em: 07/03/2017

Instituição Proponente: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - FSP/USP

Situação da Versão do Projeto: Aprovado

Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_870722

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 1
 - Projeto Original (PO) - Versão 1
 - Documentos do Projeto
 - Comprovante de Recepção - Submissão
 - Declaração de Instituição e Infraestrutura
 - Folha de Rosto - Submissão 1
 - Informações Básicas do Projeto - Submissão
 - Outros - Submissão 1
 - Projeto Detalhado / Brochura Investigação
 - TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa
 - Apreciação 1 - USP - Faculdade de Saúde Pública
 - Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
-------------------	----------	---------	----------	-------

LISTA DE APRECIÇÕES DO PROJETO

Apreciação ⁺	Pesquisador Responsável ⁺	Versão ⁺	Submissão ⁺	Modificação ⁺	Situação ⁺	Exclusiva do Centro Coord. ⁺	Ações
PO	Marcelo Macedo Rogero	1	07/03/2017	13/04/2017	Aprovado	Não

ANEXO 04 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do estudo: Associação entre microRNAs e biomarcadores inflamatórios em pacientes participantes do estudo da Dieta Cardioprotetora Brasileira (DICA Br).

INTRODUÇÃO

A proposta do Estudo da dieta cardioprotetora brasileira, que o senhor já está participando é avaliar o efeito desta dieta na redução do colesterol (gorduras no sangue), da glicemia (o açúcar do sangue), da pressão alta e do peso. Isso por que, quando estes fatores são reduzidos, a chance de ter uma nova doença do coração diminui.

Existem outras substâncias no sangue (RNA, microRNAs e proteínas inflamatórias) os quais também estão envolvidos com a progressão da doença do coração. Queremos avaliar se a dieta cardioprotetora brasileira também altera essas substâncias.

COMO É O ESTUDO?

Quando o (a) senhor (a) vier ao hospital para fazer a coleta do sangue para as análises de glicemia, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL e triglicérides do estudo (DICA Br), nesta mesma ocasião, o laboratorista coletará um pouco mais de sangue para fazer a análise das proteínas inflamatórias, microRNAs e o perfil de ácidos graxos plasmáticos. Não será necessário fazer duas picadas. Com apenas uma picada, o laboratorista coletará sangue suficiente para as análises dos dois estudos.

OUTRAS INFORMAÇÕES

O (a) senhor (a) não terá nenhum custo por participar da pesquisa.

O único risco que poderá existir é o da dor da picada da agulha para coleta do sangue. Esta picada será realizada apenas uma vez, sendo necessária então apenas uma picada para coleta do material. Caso o senhor tenha algum problema em decorrência da coleta do sangue, os enfermeiros e técnicos do laboratório do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia estarão à disposição para ajudá-lo no que for preciso.

Sua participação é totalmente voluntária e o (a) senhor (a) pode desistir e retirar seu consentimento em qualquer momento durante o decorrer da pesquisa, sem que isso prejudique sua assistência pela equipe de saúde, ou também participação no estudo (DICA Br).

Seus dados são secretos e sigilosos de acordo com as normas brasileiras. Os resultados desta pesquisa poderão ser publicados em revistas científicas, mas a sua identidade será preservada.

A qualquer momento o(a) senhor(a) poderá esclarecer dúvidas através dos seguintes contatos:

- Pesquisadora Paula Helena Ortiz Lima – 11 5085-6086
- Nutricionista Renata Alves – 11 5085-6080

COMO PARTICIPAR?

A participação neste estudo é inteiramente voluntária. Para isso o(a) senhor(a) deve assinar esse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Declaro que li o termo de consentimento livre e esclarecido para esse estudo e aceito participar voluntariamente desse estudo.

Ainda, declaro que recebi todos os esclarecimentos necessários para compreender o estudo e tive tempo suficiente para decidir minha participação no estudo.

Nome do Paciente: _____

(ou representante legal)

Assinatura do Paciente: _____ **Data:** _____

(ou representante legal)

Investigador: _____

Assinatura: _____ **Data:** _____

Renata Alves da Silva

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9573857001849732>
Última atualização do currículo em 15/09/2016

Nutricionista ambulatorial do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, consultório particular e home care. Experiência na área de Nutrição, com ênfase em Nutrição Clínica Funcional. Mestranda em Nutrição em Saúde Pública, pela Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo (2015). Especialista em Nutrição Funcional (2005) e especialista em Fitoterapia Funcional em Nutrição (2015), ambos pela VP - Divisão Ensino e Pesquisa. Graduação em Nutrição pela Universidade São Judas Tadeu (1999). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Renata Alves da Silva
Nome em citações bibliográficas	SILVA, R. A.;Alves, R;Renata Alves;Renata A. da Silva

Endereço

Endereço Profissional	Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Avenida Doutor Dante Pazzanese, 500, Seção de Educação Nutricional - Ambulatório Ibirapuera 04012-909 - Sao Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 50856080
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2015	Mestrado em andamento em Nutrição em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, FSP - USP, Brasil. Título: Efeito de um plano alimentar quali-quantitativo individualizado sobre a expressão gênica e concentração plasmática de biomarcadores inflamatórios em pacientes de prevenção secundária em doença cardiovascular,Orientador: Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero. Palavras-chave: expressão gênica; Dieta; biomarcadores inflamatórios; prevenção secundária; cardiologia. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública.
2013 - 2015	Especialização em Fitoterapia Funcional. (Carga Horária: 500h). Universidade Cruzeiro do Sul, UNICSUL, Brasil. Título: Avaliação comparativa dos suplementos coenzima Q10 e fitoterápico Withania somnifera sobre fadiga decorrente do uso crônico de estatina por um paciente dislipidêmico. Orientador: Natália Cristina Ferreira Ramos Marques.
2003 - 2005	Especialização em Nutrição Clínica Funcional. (Carga Horária: 500h). Centro Valéria Paschoal - Divisão de Ensino e Pesquisa, CVP, Brasil. Título: Utilização da Linhaça como Alimento Funcional nas Dislipidemias. Orientador: Raquel Simões Mendes Netto.
1996 - 1999	Graduação em Nutrição. Universidade São Judas Tadeu, USJT, Brasil.
1992 - 1995	Curso técnico/profissionalizante. Escola Técnica Estadual Getúlio Vargas, ETE GV, Brasil.

Formação Complementar

2009 - 2009	Doenças Crônicas Não Transmissíveis e Dieta. (Carga horária: 30h). Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, FSP - USP, Brasil.
--------------------	---

Atuação Profissional

Marcelo Macedo Rogero

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/6607279993080828>

Última atualização do currículo em 24/05/2017

Graduado em Nutrição pela Universidade de São Paulo (1994), Mestrado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (2002) e Doutorado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (2007). Pós-doutorado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (2007-2008). Pós-doutorado pela Faculdade de Medicina da Universidade de Southampton, Inglaterra (2012-2013). Professor Doutor, Ref. MS-3, em Regime de Dedicação Integral à Docência e à Pesquisa, junto ao Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública - USP desde 2009. Vice-coordenador do Programa de Pós-graduação Nutrição em Saúde Pública da FSP-USP. É Pesquisador Associado do FoRC (Food Research Center), um dos Centros de Inovação, Pesquisa e Difusão (CEPIDs) apoiados pela FAPESP. Professor Pesquisador do projeto intitulado "Impact of the omega-3 fatty acid in the homeostasis of adipose tissue and physico-chemical properties and oxidative of lipoproteins: a parallel among experimental model and clinical study" referente ao PROGRAMA CAPES/STINT - EDITAL Nº. 075/2013-2014, em parceria com a Universidade de Umea, Suécia. Tem experiência nas áreas de Genômica Nutricional e Inflamação; Imunonutrição; e Metabolismo de Macronutrientes e Exercício Físico. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Marcelo Macedo Rogero
Nome em citações bibliográficas	ROGERO, M. M.;ROGERO, MARCELO M.;Rogero, Marcelo Macedo;Rogero, Marcelo M;Rogero, Marcelo;MACEDO ROGERO, MARCELO

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Av. Dr. Arnaldo, 715 Cerqueira Cesar 01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617850 Fax: (11) 30617705
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2003 - 2007	Doutorado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Efeito do desmame precoce e da suplementação com glutamina, in vitro e in vivo, sobre a funcionalidade de macrófagos peritonias e o estado nutricional de camundongos, Ano de obtenção: 2007. Orientador: Julio Orlando Tirapegui Toledo. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.
1999 - 2002	Mestrado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Efeitos do exercício e da suplementação com L-glutamina e L-alanil L-glutamina sobre as concentrações de glutamina no plasma, músculo e fígado em ratos, Ano de Obtenção: 2002. Orientador: Julio Orlando Tirapegui Toledo. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. Palavras-chave: Exercício; suplementação; L-glutamina; L-alanil-L-glutamina; Rato; Sistema Imune. Grande área: Ciências Agrárias Graduação em Nutrição.
1991 - 1994	Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Orientador: Ignez salas Martins. Bolsista do(a): Coordenadoria de Assistência Social da Universidade de São Paulo,