



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
FACULDADE DE MEDICINA  
INSTITUTO DO CORAÇÃO EDSON SAAD

**GRAZIELLE VILAS BÔAS HUGUENIN**

EFEITO DO GRANULADO DE CASTANHA-DO-BRASIL ASSOCIADO À  
DIETA NOS BIOMARCADORES DE ESTADO ANTIOXIDANTE E PARÂMETROS  
DA MICROCIRCULAÇÃO SISTÊMICA EM INDIVÍDUOS HIPERTENSOS E  
DISLIPIDÊMICOS.

Rio de Janeiro

2014

Grazielle Vilas Bôas Huguenin

EFEITO DO GRANULADO DE CASTANHA-DO-BRASIL ASSOCIADO À  
DIETA NOS BIOMARCADORES DE ESTADO ANTIOXIDANTE E PARÂMETROS  
DA MICROCIRCULAÇÃO SISTÊMICA EM INDIVÍDUOS HIPERTENSOS E  
DISLIPIDÊMICOS.

Defesa de Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em Medicina  
(Cardiologia/ Ciências) do Departamento de  
Clínica Médica da Faculdade de Medicina da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como  
parte dos requisitos necessários a obtenção do  
Título de Doutor em Ciências.

Orientadores: Glorimar Rosa

Glaucia Maria Moraes de Oliveira

Annie Seixas Bello de Moreira

Rio de Janeiro

2014

Huguenin, Grazielle Vilas Bôas

Efeito do granulado de Castanha-do-Brasil associado à dieta nos biomarcadores de estado antioxidante e parâmetros da microcirculação sistêmica em indivíduos hipertensos e dislipidêmicos / Grazielle Vilas Bôas Huguenin. Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2014. 133f. ; 31 cm.

Orientadores: Glorimar Rosa, Glaucia Maria Moraes de Oliveira e Annie Seixas Bello de Moreira

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina (Cardiologia / Ciências), 2014.

Referências bibliográficas: f.100 – 114.

1. Hipertensão. 2. Dislipidemias. 3. Função Endotelial Microvascular. 4. Estresse Oxidativo. 5. Castanha-do-Brasil. 6. Dieta. 7. Ensaio Clínico Controlado Aleatório. 8. Humanos. 9. Masculino. 10. Feminino. 11. Cardiologia - Tese I. Rosa, Glorimar. II. Oliveira, Glaucia Maria Moraes de. III. Moreira, Annie Seixas Bello de. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Pós-Graduação em Medicina (Cardiologia / Ciências). V. Título.

Grazielle Vilas Bôas Huguenin

EFEITO DO GRANULADO DE CASTANHA-DO-BRASIL ASSOCIADO À  
DIETA NOS BIOMARCADORES DE ESTADO ANTIOXIDANTE E PARÂMETROS  
DA MICROCIRCULAÇÃO SISTÊMICA EM INDIVÍDUOS HIPERTENSOS E  
DISLIPIDÊMICOS.

Defesa de Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em Medicina  
(Cardiologia / Ciências) do Departamento de  
Clinica Medica da Faculdade de Medicina da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como  
parte dos requisitos necessários a obtenção do  
Título de Doutor em Ciências.

Aprovada em:

---

Presidente, Prof. Dr. Ronaldo de Souza Leão Lima  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Prof. Dr. Claudio Gil Soares de Araújo  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

---

Profa. Dra. Ana Luisa Kremer Faller  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Profa. Dra. Josely Correa Koury  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

---

Profa. Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

## **DEDICATÓRIA**

**Ao meu pai Naôr e à minha mãe Nilza (*in memoriam*) por  
todo amor e dedicação investidos na minha criação e por  
serem os meus melhores exemplos de vida.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me manter com saúde, guiar meus caminhos e nunca deixar faltar nada.

Ao meu pai, Naôr Corrêa Huguenin; meu amigo, meu ídolo e meu fã; sempre me encheu de carinho e amor e apoiou as escolhas que fiz na vida.

Às minhas irmãs e amigas, Vanessa e Rayane, e a toda a minha família Vilas Bôas, família Huguenin e padrinhos, que sempre torceram e vibraram com as minhas vitórias.

Ao meu noivo, Paulo Cesar Resende Baldner, pelo apoio, compreensão, conselhos, carinho e cuidados para conseguir finalizar esse grande trabalho na minha vida. Te amo!

A todas as minhas amigas que sempre me apoiaram, em especial Gabriela Bioni, amiga de todas as horas, na alegria e na tristeza. Sempre pronta a emprestar seus ouvidos e ombro, mas também seus sorrisos e papo divertido!

À querida orientadora Glorimar Rosa, com a qual trabalhei desde 2007, por acreditar na minha competência e dedicação, orientou-me na Especialização, quando publiquei meu primeiro artigo em revista internacional, depois o Mestrado, e agora o Doutorado. Proporcionando-me várias experiências de pesquisa junto ao Centro de Pesquisa em Nutrição Clínica (CEPNUC), contribuindo para a comunidade acadêmica com nosso esforço e trabalho, intervindo de forma positiva na saúde e vida dos nossos pacientes. Obrigada pelo incentivo e pela confiança depositados em mim!!

À orientadora Glaucia Maria Moraes de Oliveira, por também acreditar no meu trabalho, pelo incentivo e apoio dados a minha pesquisa, por sempre estar disponível e acessível, questionar-me e estimular na realização de um trabalho de qualidade!

À orientadora e amiga Annie Seixas Bello Moreira, pela ótima parceria que fizemos desde o início do doutorado, pelas oportunidades que me deu e pela confiança!!

Às alunas de Iniciação Científica: Monique Tuyane e Janaína Furtado (ajudaram nos atendimentos, organização e armazenamento das amostras biológicas, digitação dos dados e análise dos inquéritos dietéticos), Deborah Araújo, Kelly Barros (ajudaram nos atendimentos, organização e armazenamento das amostras biológicas e digitação dos dados), Juliana Chaves, Camila Christine (ajudaram no envase do suplemento), Aline Menezes (ajudou na análise de selênio plasmático), Rafael Sales e Lara Pinto (ajudaram na análise do Índice de Qualidade da Dieta). Muito Obrigada!!

Aos técnicos Márcio Gonzales, Jorge Luiz Albuquerque Coutinho e Rafael Christian Chavez Rocha, pelo excelente suporte técnico.

À equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Instituto Nacional de Cardiologia, pela parceria e realização das análises de rotina.

Aos colaboradores Prof. Eduardo Tibiriçá (FIOCRUZ), Rodrigo Araújo Gonçalves (Laatom PUC-RIO), Profa. Tatiana Saint'Pierre (Labspectro PUC-RIO), Prof. Anderson Teodoro e Alessandra Mulder (UNIRIO), Prof. Álvaro Leitão e Rodrigo Fortunato (UFRJ), Profa. Débora Faffe (UFRJ), Prof. Ronir Raggio (IESC/UFRJ).

À equipe do Ambulatório de Dislipidemia e Prevenção de Aterosclerose, Coordenação da Pesquisa Clínica, e a tantos outros profissionais do Instituto Nacional de Cardiologia, por possibilitar a realização deste projeto com seus pacientes.

Às empresas Ouro Verde Amazônica e Mane do Brasil pela doação dos suplementos utilizados neste estudo.

Ao Prof. John Hesketh, por ter me recebido na Universidade de Newcastle para realizar o estágio sanduíche.

Aos colegas de curso médicos, nutricionistas, fisioterapeutas, profissionais de educação física, que me apoiaram e fizeram parte desta história.

Ao corpo docente, coordenação e secretários da PPG Medicina/Cardiologia e Instituto do Coração Edson Saad da UFRJ.

À CAPES e FAPERJ, pelo apoio financeiro a este projeto.

À Priscila Mattos Monken Dias pela excelente revisão do português. Muito Obrigada!

Tudo posso Naquele que me fortalece.  
(Filipenses 4:13)

## RESUMO

Huguenin, Grazielle Vilas Bôas. **Efeito do granulado de Castanha-do-Brasil associado à dieta nos biomarcadores de estado antioxidante e parâmetros da microcirculação sistêmica em indivíduos hipertensos e dislipidêmicos.** Rio de Janeiro, 2014. Tese (Doutorado em Cardiologia/ Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

**Objetivos:** Avaliar o efeito do granulado da Castanha-do-Brasil associado à dieta na qualidade da dieta, marcadores do estado antioxidante e parâmetros da microcirculação sistêmica em pacientes hipertensos e dislipidêmicos. **Métodos:** Noventa e um pacientes hipertensos e dislipidêmicos de ambos os sexos (51,6% homens) com média de idade  $62,1 \pm 9,3$  anos realizaram um ensaio clínico *crossover*, randomizado, duplo cego, controlado por placebo, e receberam granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil (GCB) 13 g/dia ( $\approx 227,5$   $\mu\text{g}/\text{dia}$  selênio) ou placebo associados à dieta individualizada, por 12 semanas, com *washout* de 4 semanas. O Índice de Qualidade da Dieta Revisado (IQD-R) foi calculado no início e final de cada intervenção. Foram realizadas medidas antropométricas, análises laboratoriais (bioquímica, selênio plasmático (Se), a atividade da GPx3, capacidade antioxidante total do plasma (CAOT), o 8-epi PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , a LDL-oxidada e plasmático), clínicas e função endotelial microvascular em cada intervenção. A função endotelial microvascular foi avaliada com o *Laser Speckle Contrast Imaging* no braço em repouso durante o teste de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO) e iontoforese com acetilcolina (ACh). **Resultados:** Não foi observada mudança na qualidade da dieta ao longo do estudo. O consumo de Castanha-do-Brasil aumentou significativamente o selênio plasmático, a atividade da GPx3 e NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup> plasmático após 12 semanas, e reduziu 3,25% a LDL-oxidada plasmática ( $p < 0,05$ ). Foi observada associação inversa entre a atividade da GPx3 e a LDL-oxidada durante a intervenção com Castanha-do-Brasil ( $p = 0,032$ ). Após ajuste para sexo, idade, diabetes, tabagismo e IMC, a associação inversa entre 8-epi PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  plasmático e a atividade da GPx3 foi significativa (B -1,292, IC95% -2,288; -0,296,  $p = 0,012$ ). Contudo, não foi observado efeito sobre a resposta endotelial microvascular à ACh ( $p > 0,05$ ). E o estímulo da HRPO mostrou redução significativa da Condutância Vascular Cutânea (CVC) do Pico máx. após a intervenção com GCB, porém quando o valor de incremento foi padronizado pelo fluxo basal (HRPO CVC Pico-basal), o resultado não mostrou diferença estatística após o consumo de GCB ( $p > 0,05$ ). O recrutamento de capilares aumentou significativamente em ambas as intervenções. **Conclusão:** O consumo do GCB contribuiu para a redução da LDL-oxidada, aumento da atividade enzimática da GPx3 e aumento da produção de óxido nítrico em pacientes hipertensos e dislipidêmicos. A intervenção nutricional contribuiu para o aumento do recrutamento de capilares após 12 semanas em ambas as intervenções. Contudo, não foi observado mudança na resposta endotelial microvascular à ACh, e houve redução significativa da vasodilatação dependente do endotélio no pico máximo da HRPO após 12 semanas de intervenção em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

**Palavras-chave:** Hipertensão, dislipidemia, função endotelial, estresse oxidativo, Castanha-do-Brasil e ensaio clínico randomizado.

## ABSTRACT

Huguenin, Grazielle Vilas Bôas. **Effect of granulated Brazil nut associated with diet on biomarkers of antioxidant status and parameters of the systemic microcirculation in hypertensive and dyslipidemic subjects.** Rio de Janeiro, 2014. Thesis (PhD on Cardiology / Sciences) – Medical School, Federal University of Rio de Janeiro, 2014.

**Objectives:** To evaluate the effect of granulated Brazil nut associated with diet on diet quality, biomarkers of antioxidant status and parameters of the systemic microcirculation in hypertensive and dyslipidemic subjects. **Methods:** Ninety-one hypertensive and dyslipidemic patients, 51.6% men, mean age  $62.1 \pm 9.3$  years performed a crossover trial, randomized, double blind, placebo-controlled. They received a dietary prescription and 13g/day of partially defatted granulated Brazil nut ( $\approx 227.5$   $\mu\text{g/day}$  selenium) or 10g/day of placebo during 12 weeks with a 4 weeks washout period. Diet Quality Index Revised (DQI-R) was evaluated at the beginning and the end of each intervention. Anthropometric characteristics, laboratory assessment (serum biochemistry, plasma selenium (Se), activity of GPx3, total antioxidant capacity of plasma (TAC), 8-epi PGF2a, oxidized LDL and plasma  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ), blood pressure measurement and microvascular endothelial function in each intervention were investigated. Microvascular endothelial function was assessed by Laser Speckle Contrast Imaging at rest on the forearm during post-occlusive reactive hyperemia (PORH) and acetylcholine iontophoresis tests. **Results:** There was no change in the quality of the diet during the study. Granulated Brazil nut significantly increased plasma selenium, activity of GPx3 and plasma  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  after 12 weeks. Also reduced 3.25% of oxidized LDL ( $p < 0.05$ ). Inverse association between the activity of GPx3 and plasma oxidized LDL was observed during intervention with the granulated Brazil nut ( $p = 0.032$ ). After adjustment for sex, age, diabetes, smoking status and BMI, an inverse association between plasma 8-epi PGF2a and the activity of GPx3 was significant ( $B = -1.292$ , 95% CI  $-2.288, -0.296$ ,  $p = 0.012$ ). However, no effect on microvascular endothelial response to acetylcholine was observed ( $p > 0.05$ ), and stimulation of PORH showed a significant reduction of cutaneous vascular conductance (CVC) peak max. after intervention with granulated Brazil nut. However, when the increment value was standardized by the baseline flow (CVC Peak-basal PORH), the result was not statistically different after consumption of granulated Brazil nut ( $p > 0.05$ ). The capillary recruitment was significantly increased in both interventions. **Conclusion:** Partially defatted granulated Brazil nut contributed to the reduction of oxidized LDL, increasing of the enzymatic activity of GPx3 and increasing levels of nitric oxide in hypertensive and dyslipidemic patients. The nutritional intervention contributed to the increase of capillary recruitment after 12 weeks in both interventions. However, no changes were observed in microvascular endothelial response to acetylcholine and there was a significant reduction in endothelium-dependent vasodilation in the maximum peak during PORH after 12 weeks of granulated Brazil nut intervention in hypertensive and dyslipidemic patients.

**Keywords:** Hypertension, dyslipidemia, endothelial function, oxidative stress, Brazil nut and randomized clinical trial.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Representação esquemática da atuação do sistema enzimático antioxidante.	31
Figura 2.	Representação esquemática da participação da LDL-oxidada no processo de aterogênese.	32
Figura 3.	Imagem representativa do <i>Laser Speckle Contrast Imaging</i> utilizado na avaliação perfusão microvascular da pele.	36
Figura 4.	Imagens representativas de capilares perfundidos da pele do dedo médio com microscopia de alta resolução de vídeo intra-vital.	38
Figura 5.	Fluxograma de consultas ao longo do estudo.	48
Figura 6.	Aspecto visual do granulado de Castanha-do-Brasil e do placebo, e o frasco onde eram envasados.	50
Figura 7.	Fluxograma de pacientes em cada fase do estudo.	65
Figura 8.	Frequência da pontuação máxima dos componentes do Índice de Qualidade da Dieta Revisado (IQD-R) de acordo com a intervenção nutricional em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.	72
Figura 9.	Consumo de alimentos ultraprocessados e ingredientes de adição no início e final de cada intervenção nutricional.	73
Figura 10.	Evolução do Selênio plasmático ao longo do estudo, de acordo com a intervenção nutricional e no período de <i>washout</i> .	78
Figura 11.	Modificações percentuais dos marcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante de acordo com intervenção nutricional.	80
Figura 12.	Regressão linear múltipla entre a atividade da GPx3 e os marcadores de estresse oxidativo de acordo com a intervenção nutricional.	81
Figura 13.	Efeito da intervenção nutricional nas concentrações de $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ plasmáticas.	82
Figura 14.	Densidade capilar funcional e recrutamento de capilares na HRPO em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.	82
Figura 15.	Efeito do granulado de Castanha-do-Brasil na reatividade microvascular de pacientes hipertensos e dislipidêmicos.	83

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características do grupo que completou o estudo comparado aos que não completaram o estudo.	66
Tabela 2.	Composição centesimal do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil.	67
Tabela 3.	Teor de polifenóis e atividade antioxidante do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil e da Castanha-do-Brasil.	68
Tabela 4.	Consumo de energia, macronutrientes, fibra alimentar e selênio ao longo do estudo de acordo com intervenção nutricional.	70
Tabela 5.	Contribuição dos grupos de alimentos para o Valor Energético Total (VET) de acordo com a intervenção nutricional.	71
Tabela 6.	Características antropométricas e pressão arterial de acordo com a intervenção nutricional em pacientes hipertensos e dislipidêmicos	75
Tabela 7.	Características bioquímicas e marcadores aterogênicos de acordo com a intervenção nutricional em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.	76
Tabela 8.	Associação entre o aumento ou redução do IQD-R com antropometria, pressão arterial, lipídeos séricos e estresse oxidativo de acordo com a intervenção nutricional.	77
Tabela 9.	Comparação das características antropométricas, clínicas, e bioquímicas entre o início da 1ª etapa e o início da 2ª etapa (após o <i>washout</i> ).	79
Tabela 10.	Efeito do consumo de granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil nos marcadores antioxidantes e de estresse oxidativo em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.	79
Tabela 11.	Evolução do $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ plasmático, densidade capilar funcional e parâmetros da função endotelial microvascular ao longo do tempo de acordo com a ordem de intervenção.	84

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO A -</b>	Aprovação CEP HUCFF/UFRJ	116
<b>ANEXO B -</b>	Aprovação CEP INC	117
<b>ANEXO C -</b>	Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE)	118
<b>ANEXO D -</b>	Registro na Rede Brasileira de Ensaio Clínicos	120
<b>ANEXO E -</b>	Questionário de coletas de dados	121
<b>ANEXO F -</b>	Questionário de atividade Física	124
<b>ANEXO G -</b>	Recordatório alimentar de 24 horas	125
<b>ANEXO H -</b>	Plano alimentar	126
<b>ANEXO I -</b>	Lista de substituição	127
<b>ANEXO J -</b>	Exemplo de Cardápio	128
<b>ANEXO K -</b>	Orientações nutricionais	129
<b>ANEXO L -</b>	Artigos publicados e submetidos para publicação	130
<b>ANEXO M -</b>	Participação em congressos e prêmios	131

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Microgramas
µUI	Microunidades Internacionais
ABTS	2,20-azino-bis (ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico)
ACh	Acetilcolina
AG	Ácidos graxos
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poli-insaturados
AGPI n-3	Ácido linolênico
AGPI n-6	Ácido linoléico
AGS	Ácidos graxos saturados
Apo A-1	Apolipoproteína A-1
Apo B	Apolipoproteína B
ALA	Ácido alfa-linolênico
ARA	Antagonista de receptor de angiotensina II
AUC	Área sob a curva
CAT	Catalase
CAOT	Capacidade antioxidante total do plasma
CHO	Carboidrato
cm	Centímetro
CD-40	Proteína encontrada em células apresentadoras de antígenos
CVC	Condutância vascular cutânea
CRM	Cirurgia de revascularização do miocárdio
DAC	Doença arterial coronariana
DCF	Densidade capilar funcional
DASH	<i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i>
DCNT	Doença crônicas não transmissível
DCV	Doença cardiovascular
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio Padrão
DPPH	2,2-difenil-1-picrylhydrazil
DRI	Dietary Reference Intake
DRC	Doença renal crônica
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EUA	Estados Unidos da América
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
eNos	Óxido nítrico sintase endotelial
EP	Erro padrão
ER	Espécies reativas
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
FAD	Flavina adenina dinucleotídeo

FMN	Flavina mononucleotídeo
FRAP	Poder antioxidante de redução férrica
G-6-PDH	Glicose-6-fosfato desidrogenase
g	Gramas
GCB	Granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
Gord_AA	Componente do Índice de Qualidade da Dieta onde são contabilizadas as calorias provenientes de gordura sólida, álcool e açúcar de adição.
GPx	Glutathiona peroxidase
GPx3	Glutathiona peroxidase plasmática
G	Classe de proteínas envolvida na transdução de sinais celulares
GR	Glutathiona redutase
GSH	Glutathiona
GSSG	Glutathiona dissulfeto
H2O2	Peróxido de hidrogênio
HAS	Hipertensão
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL-c	Colesterol da lipoproteína de alta densidade
HEI	<i>Healthy eating index</i>
HOMA-IR	Modelo de avaliação da homeostase do índice de resistência à insulina
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusiva
HRPO PAT	Hiperemia reativa pós-oclusiva ao exame de tonometria digital de pulso
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
iIMC	Índice de massa corporal invertido
IMC	Índice de massa corporal
INC	Instituto Nacional de Cardiologia
IP3	Inositol trifostato
IQD-R	Índice de Qualidade da Dieta Revisado
IQD	Índice de Qualidade da Dieta
kcal	Quilocaloria
kg	Quilograma
l	Litro
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-c	Colesterol da lipoproteína de baixa densidade
LIP	Lipídeos
Log	Logaritmo
LSCI	<i>Laser Speckle Contrast Imaging</i>
mg	Miligrama
mm	Milímetro

mm Hg	Milímetros de mercúrio
ng	Nanograma
nmol	Nanomoles
NOS	Óxido nítrico sintase
NADP	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida reduzido
NCEP	<i>National Cholesterol Education Program</i>
NCEP ATPIII	<i>National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III</i>
NF-κB	Factor nuclear kapa B
OMS	Organização Mundial de Saúde
ON	Óxido nítrico
OR	Odds ratio
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PAT	Tonometria digital de pulso
PC	Perímetro da cintura
	Predimed
pg	Picograma
PGF2α	Prostaglandina F2 alfa
PIB	Produto Interno Bruto
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
PREDIMED	<i>Prevención con Dieta Mediterránea</i>
PTN	Proteína
RCEst	Razão cintura-estatura
RDA	Recomendação dietética diária
RNA <sub>m</sub>	Ácido ribonucleico mensageiro
s	Segundos
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
Se	Selênio
Sem	Semanas
SOD	Superoxido dismutase
SPSS	Statistical Package Social Sciences
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEAC	Atividade antioxidante equivalente ao Trolox
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina
UAP	Unidades arbitrárias de perfusão
UL	Limite de tolerância
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VET	Valor Energético Total

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
2.1	EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO DAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES .....	21
2.2	HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA (HAS).....	22
2.3	DISLIPIDEMIA .....	25
2.4	ESTRESSE OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO E DISLIPIDEMIA .....	29
2.5	DISFUNÇÃO ENDOTELIAL E AVALIAÇÃO NÃO-INVASIVA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL ...	33
2.6	PADRÕES ALIMENTARES RELACIONADOS AO CONTROLE DA HIPERTENSÃO E DISLIPIDEMIA .....	38
2.7	CASTANHAS COMO PARTE DA DIETA CARDIOPROTETORA .....	41
2.8	CASTANHA-DO-BRASIL, SELÊNIO E ESTRESSE OXIDATIVO .....	42
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>45</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>46</b>
4.1	OBJETIVO GERAL .....	46
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	46
<b>5</b>	<b>MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
5.1	ASPECTOS ÉTICOS .....	47
5.2	POPULAÇÃO.....	47
5.3	DESENHO DO ESTUDO E PLANO DE TRABALHO .....	48
5.4	INTERVENÇÃO NUTRICIONAL .....	49
5.5	COMPOSIÇÃO DO GRANULADO DE CASTANHA-DO-BRASIL .....	52
5.6	QUESTIONÁRIOS DE INFORMAÇÕES GERAIS.....	55
5.7	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE ALIMENTOS E NUTRIENTES.....	55
5.8	CÁLCULO DO ÍNDICE DE QUALIDADE DA DIETA REVISADO.....	56
5.9	VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E PRESSÃO ARTERIAL.....	58
5.10	VARIÁVEIS LABORATORIAIS .....	59
5.11	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR.....	61
5.12	MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	62
<b>6</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>64</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>85</b>
7.1	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, TEOR DE SELÊNIO, DE POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO GRANULADO PARCIALMENTE DESENGORDURADO DE CASTANHA-DO- BRASIL .....	86
7.2	QUALIDADE DA DIETA ASSOCIADA À INTERVENÇÃO NUTRICIONAL .....	87
7.3	EVOLUÇÃO DOS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, PRESSÃO ARTERIAL E LIPÍDEOS SÉRICOS DURANTE A INTERVENÇÃO NUTRICIONAL .....	90
7.4	EVOLUÇÃO DOS MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE A INTERVENÇÃO NUTRICIONAL .....	92

7.5	EVOLUÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR DURANTE A INTERVENÇÃO NUTRICIONAL.....	94
<b>8</b>	<b>LIMITAÇÕES.....</b>	<b>98</b>
<b>9</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>99</b>
	<i>REFERÊNCIAS</i> .....	<i>100</i>
	<i>ANEXOS</i> .....	<i>115</i>

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças do aparelho circulatório são as principais causas de morte em homens e mulheres no Brasil. Segundo dados de 2012 divulgados pelo DATASUS, as doenças do aparelho circulatório representaram 28,2% dos óbitos no Brasil (1). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é a condição mais comum nos cuidados de saúde primários e leva ao infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, insuficiência renal e morte se não for detectada precocemente e tratada adequadamente (2). No panorama mundial, cerca de 40% das pessoas com idade superior a 25 anos, têm pressão arterial elevada (3). A dislipidemia, em particular, a dislipidemia aterogênica, está associada com a fisiopatologia das doenças cardiovasculares (DCV). O estudo de Framingham foi um dos primeiros estudos a demonstrar a relação direta do colesterol total e LDL-colesterol (LDL-c) e relação inversa do HDL-colesterol (HDL-c) com a incidência de doença coronariana até 80 anos de idade em homens e mulheres (4). Gigante *et al.* analisaram dados de 49.395 adultos residentes nas capitais brasileiras e no Distrito Federal e observaram taxa autorreferida de dislipidemia próxima de 16,5% (5).

O estresse oxidativo é resultado do desequilíbrio entre o sistema pró-oxidante e antioxidante, com predomínio dos oxidantes e consequentes danos oxidativos (6). Estudos mostraram que o estresse oxidativo está associado à disfunção endotelial na hipertensão (7) e hipercolesterolemia (8). Estudos prospectivos, em humanos, demonstraram que a disfunção endotelial é um preditor independente de eventos cardiovasculares adversos e de mau prognóstico em longo prazo (9). Foi demonstrado que indivíduos hipertensos e dislipidêmicos apresentam função endotelial reduzida em comparação com controles saudáveis (10), e a agressão do endotélio vascular está diretamente relacionada à disfunção endotelial (11). Existe uma associação entre a melhora da função endotelial e o aumento da sobrevida em pacientes com doença arterial coronariana (12), portanto a avaliação da microcirculação é importante nas doenças cardiovasculares (13).

O impacto de uma dieta não saudável no risco de doenças crônicas como as doenças cardiovasculares foi demonstrado em diversos estudos (14-16). Padrões alimentares caracterizados por um maior consumo de frutas, vegetais, grãos integrais, laticínios com baixo teor de gordura e carnes magras estão associados a um menor risco de morbidade e mortalidade (17, 18). As castanhas são alimentos de alto valor energético e

nutricional, devido ao elevado teor de L-arginina, vitaminas antioxidantes, ácido fólico, compostos fenólicos e fitosteróis. As nozes possuem alto teor de ácido alfa-linolênico, além dos compostos citados. Esses componentes têm sido associados aos efeitos benéficos das castanhas na saúde cardiovascular (19, 20), incluindo a melhora da função endotelial (21), redução dos lipídeos séricos (22) e a redução do risco de hipertensão (23). Por essa razão já são consideradas componentes de uma dieta cardioprotetora (24).

A Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), além de apresentar as características nutricionais comuns ao grupo das castanhas, é o alimento que possui o maior conteúdo de selênio (Se) na sua composição (25). O Se é um componente chave das selenoproteínas envolvidas em funções enzimáticas antioxidantes, anti-inflamatórias e no metabolismo dos hormônios tireoidianos (26, 27). Foi demonstrado que o consumo de Castanha-do-Brasil é capaz de melhorar, significativamente, a atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx), uma selenoproteína envolvida no processo de dismutação dos peróxidos de hidrogênio (28). Um único estudo, até o momento, buscou relacionar a Castanha-do-Brasil com a função microvascular em adolescentes obesas, e observou melhora do fluxo médio sanguíneo e do fluxo máximo após a intervenção com Castanha-do-Brasil (29).

O granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil é produzido após a extração parcial mecânica do óleo extravirgem da Castanha-do-Brasil, quando o composto resultante da extração do lipídeo é triturado e comercializado. O granulado apresenta redução de aproximadamente 35% do teor de lipídeos em comparação à Castanha-do-Brasil. Porém, é capaz de preservar as características da Castanha-do-Brasil *in natura*, em relação ao alto teor de selênio e polifenóis totais. Além disso, é um produto de fácil inclusão no cardápio de pequenas e grandes refeições, e como ingrediente de receitas. Nossa hipótese se baseia no efeito protetor relacionado aos compostos benéficos da Castanha-do-Brasil como coadjuvante no tratamento nutricional da hipertensão e dislipidemia de forma a contribuir para a melhora do estado antioxidante e disfunção endotelial presente nesses indivíduos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO DAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Mundialmente, o envelhecimento da população, a globalização, a rápida urbanização e o crescimento populacional têm padrões de doença voltados para as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). As doenças cardiovasculares (DCV) são, atualmente, responsáveis por cerca de metade das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). As DCNTs têm ultrapassado as doenças transmissíveis, tidas como grande causa de doenças no mundo, sendo as DCVs a principal causa de morte, responsável por 17,3 milhões de mortes por ano, um número que deverá crescer para > 23,6 milhões em 2030. Cada vez mais, as populações afetadas são aquelas em países de baixa e média renda, onde 80% dessas mortes ocorrem, geralmente, em idades mais jovens do que nos países de renda mais alta, e os recursos humanos e financeiros são mais limitados (30, 31).

As doenças do aparelho circulatório são as principais causas de morte em homens e mulheres no Brasil. Segundo dados de 2012, divulgados pelo DATASUS, as doenças do aparelho circulatório representam 28,2% (333.295 óbitos) da mortalidade no Brasil (1). Dentre essas doenças, as principais causas de óbito são as doenças isquêmicas do coração (104.397 óbitos) e as doenças cerebrovasculares (100.194 óbitos) (1).

Entretanto, de 1980 a 2005, observou-se significativa redução da mortalidade por DCV (-33,25%), tanto em homens (-32,37%) como em mulheres (-34,46%); decorrente da redução da mortalidade por suas principais causas, as doenças isquêmicas do coração em homens (-31,32%) e mulheres (-29,23%); e doenças cerebrovasculares em homens (-33,38%) e mulheres (-38,30%) (32).

Em estudo recente, autores investigaram a evolução dos indicadores socioeconômicos e a mortalidade cardiovascular nos estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo. Observaram forte correlação entre a queda da mortalidade infantil, a elevação do Produto Interno Bruto *per capita* e o aumento da escolaridade com a redução na mortalidade por doença arterial coronariana (DAC), doença isquêmica do coração e doença cerebrovascular em adultos na série temporal de 1980 a 2008 (33).

Os principais fatores de risco para infarto do miocárdio ou morte por doença coronariana, no período de 10 anos, foram propostos em 1961 pelo Estudo de Framingham e incluem tabagismo, HAS, diabetes *mellitus*, dislipidemia, sedentarismo, idade avançada e sexo masculino (34).

## 2.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA (HAS)

A pressão arterial varia em razão da interação de fatores neuro-humorais, comportamentais e ambientais(35).E a HAS é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial, que se associa frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas (36).

A HAS é a condição mais comum nos cuidados de saúde primários e leva ao infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico, insuficiência renal e morte se não for detectada precocemente e tratada adequadamente (2).

No panorama mundial, cerca de 40% das pessoas, com idade superior a 25 anos, têm pressão arterial elevada (pressão arterial sistólica  $\geq 140$  mmHg ou pressão arterial diastólica  $\geq 90$  mmHg) (3). Autores demonstraram que inquéritos de saúde dos EUA e estudos epidemiológicos estimaram tendências mundiais para redução na prevalência de HAS não controlada ajustada para idade, variando, em homens, de 33% (IC 95%: 28-39) em 1980, para 29% (IC 95%: 27-31), em 2008; em mulheres, de 29% (IC 95%: 25-34) para 25% (IC 95%: 23-27), respectivamente. Porém, o número de pessoas com HAS não controlada aumentou de 605 milhões (537-680 milhões), em 1980, para 978 milhões (921-1040 milhões) em 2008 (37).

Inquéritos populacionais em cidades brasileiras, nos últimos 20 anos, apontaram uma prevalência de HAS acima de 30%; 22 estudos encontraram prevalências entre 22,3% e 43,9% (média de 32,5%), com mais de 50% entre 60 e 69 anos e 75% acima de 70 anos (36). Entre os gêneros, a prevalência foi de 35,8% nos homens e de 30% em mulheres, semelhante à de outros países. Revisão sistemática quantitativa de 2003 a 2008, de 44 estudos em 35 países, revelou uma prevalência global de 37,8% em homens e 32,1% em mulheres (36). Dentre as capitais brasileiras o Rio de Janeiro apresentou a maior

prevalência de HAS (31%, IC 95% 29,1-32,8), enquanto que Palmas apresentou a menor prevalência (16,9%, IC 95% 14,3-19,5) de acordo com dados de 2004-2005.

Franco *et al* (38), com base nos dados do estudo de Framingham, demonstraram que homens e mulheres hipertensos apresentavam expectativa de vida total 5,1 e 4,9 anos menor do que normotensos, respectivamente. Uma meta-análise, sobre os efeitos do tratamento para HAS, concluiu que o tratamento com qualquer regime medicamentoso comumente usado reduz o risco de eventos cardiovasculares totais e mostrou que reduções significativas, na pressão arterial, podem produzir reduções maiores no risco (39). Estudo realizado por Gu *et al*, com base nos dados do NHANES III (*Third National Health and Nutrition Examination Survey*), investigou indivíduos adultos hipertensos com pressão arterial maior que 140/90 mmHg, e concluiu que a hipertensão descontrolada e sem tratamento foi associada ao aumento do risco de mortalidade total e cardiovascular entre a população geral de hipertensos (40).

Um fator que contribui, significativamente, para o não controle da pressão arterial é a não adesão ao tratamento (41). Entende-se que os pacientes que têm a sua pressão arterial bem controlada são aqueles que, presumidamente, mantêm uma boa adesão, enquanto que aqueles que não têm a sua pressão sob controle são os que têm adesão ao tratamento passível de questionamento (42).

Além disso, a relação entre o nível de pressão sanguínea e de morbidade cardiovascular e mortalidade pode ser demonstrada por meio de uma curva em J (43). Contudo, o ponto mais baixo da curva, a pressão ótima, não parece ser o mesmo para todos os pacientes. A meta geral de pressão arterial é <140/90 mmHg para pacientes com doença cardiovascular ou doença renal crônica, enquanto, para pacientes com diabetes mellitus, a meta de pressão arterial é <130/85 mmHg (2). As metas da pressão arterial, encontradas em diretrizes, são, em parte, baseadas em estudos de intervenção randomizados em que diferentes pontos de corte foram comparados, e parece que, cada vez mais, os estudos estão sugerindo valores mais baixos para meta da pressão arterial, o que aumenta o número de pacientes com pressão arterial não controlada.

No Brasil, os desafios do controle e prevenção da HAS e suas complicações são pontos importantes de reflexão e discussão. Nesse contexto, o Ministério da Saúde preconiza que sejam trabalhadas as modificações de estilo de vida, fundamentais no processo terapêutico e na prevenção da HAS. A alimentação adequada, sobretudo quanto

ao consumo de sal, o controle da massa corporal, a prática de exercício físico, o abandono do tabagismo e a redução do uso excessivo de álcool são fatores que precisam ser adequadamente abordados e controlados, sem os quais os níveis desejados da pressão arterial poderão não ser atingidos, mesmo com doses progressivas de medicamentos (44). No Brasil, estudos populacionais realizados nos últimos quinze anos revelaram baixos níveis de controle da pressão arterial por hipertensos (19,6%) (36).

Mudanças de estilo de vida são recomendadas, na prevenção primária e secundária da HAS, para promover a redução da pressão arterial bem como da mortalidade cardiovascular (36). Estudos clínicos mostram que o efeito hipotensor das modificações específicas do estilo de vida pode ser equivalente a monoterapia de medicamentos (45), embora a grande desvantagem seja o baixo nível de adesão ao longo do tempo, o que requer uma ação especial para ser superada. Mudanças adequadas de estilo de vida podem, com segurança e eficácia, retardar ou prevenir a HAS em indivíduos não-hipertensos, retardar o tratamento médico no grau I de HAS e contribuir para a redução da pressão arterial em indivíduos hipertensos que já fazem uso de tratamento farmacológico, permitindo a redução das doses e do número de agentes anti-hipertensivo (46). Além do efeito redutor da pressão arterial, as mudanças no estilo de vida contribuem para o controle de outros fatores de risco cardiovascular e condições clínicas (47).

As mudanças de estilo de vida, recomendadas, que demonstraram capacidade de redução da pressão arterial são: (1) a restrição de sal, (2) a moderação do consumo de álcool, (3) o consumo frequente de vegetais e frutas e alimentos baixo teor de gordura, (4) a redução da massa corporal e manutenção e (5) exercício físico (48). Junto a isso, a recomendação sobre a cessação do hábito de fumar é obrigatória, a fim de melhorar o risco cardiovascular e, em razão do cigarro, possuir efeito vasoconstritor agudo que pode aumentar a pressão arterial (49, 50).

Aspectos do padrão alimentar associados ao controle da pressão arterial são discutidos mais à frente.

Além de controlar a pressão arterial nos indivíduos hipertensos, é essencial identificar e tratar outros fatores de risco modificáveis, particularmente a hiperlipidemia, entre hipertensos (51).

### 2.3 DISLIPIDEMIA

O colesterol circula pelo sangue em partículas distintas, contendo lipídeos e proteínas (lipoproteínas). Três classes principais de lipoproteínas são encontradas no soro humano em jejum: lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de alta densidade (HDL), e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Outra classe de lipoproteína, a lipoproteína de densidade intermédia (IDL), ocorre entre o VLDL e LDL; porém na prática clínica, a IDL está incluída no valor da LDL(52).

O colesterol da LDL (LDL-c) representa tipicamente 60-70 % do colesterol total no soro. A LDL é composta por uma única apolipoproteína, a apo B-100 (Apo B)(52). LDL é a principal lipoproteína aterogênica e tem sido identificada pelo NCEP (*National Cholesterol Education Program*) como o alvo principal do tratamento para redução do colesterol(53). O colesterol da HDL (HDL-c) representa 20-30% do colesterol total no soro. As apolipoproteínas principais da HDL são apo AI e apo A-II(52). As concentrações de HDL-c são inversamente relacionados com o risco de doença coronariana (54). Algumas evidências indicam que a HDL protege contra o desenvolvimento de aterosclerose, embora, a um nível de HDL-c baixo, reflita, muitas vezes, a presença de outros fatores aterogênicos (55). As VLDLs são lipoproteínas ricas em triglicérides, mas contêm 10-15% do colesterol total. As apolipoproteínas principais da VLDL são apo B-100, apo C (C-I, C-II, C-III, e), e apo E(52). As VLDLs são produzidas pelo fígado e são precursoras da LDL; algumas formas de VLDL parecem promover a aterosclerose, semelhante à LDL (56).

O Quadro 1 apresenta os critérios para identificação da dislipidemia, segundo NCEP ATP III (*National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*).

Em 2013, o *American College of Cardiology* e a *American Heart Association* divulgaram as novas diretrizes para o tratamento da hipercolesterolemia (57). As novas orientações não utilizam mais os alvos de terapia de LDL-c em favor do uso de doses de estatina para tratar o paciente. E ainda, as novas diretrizes recomendam estatinas de alta intensidade em pacientes com doença aterosclerótica estabelecida. Contudo, a primeira recomendação é o incentivo para a adesão de um estilo de vida saudável, reforçando a adoção de uma dieta baixa em gordura saturada, gordura *trans* e sódio; enfatizando o consumo de vegetais, frutas, grãos integrais, laticínios com pouca gordura, aves, peixe,

legumes, óleos vegetais e nozes; e limitando o consumo de doces, bebidas adoçadas com açúcar e carnes vermelhas. Além do incentivo à atividade física aeróbica regular. Adultos também devem manter um peso corporal saudável, evitar fumar, e manter o controle da hipertensão e diabetes, quando presentes.

Quadro 1. Definição de dislipidemia baseada no NCEP ATP III

Parâmetros	Medidas	Categorização pelo NCEP ATP III
LDL-c*		
DAC ou risco de DAC equivalente ou risco >20% em 10 anos (Framingham)	≤100 mg/dL	Dentro da meta
DAC ou risco de DAC equivalente ou risco >20% em 10 anos (Framingham)	≥100 mg/dL	Acima da meta
Dois ou mais fatores de risco ou risco ≤20% em 10 anos (Framingham)	≥130 mg/dL	Acima da meta
Presença de 0–1 fatores de risco	≥160 mg/dL	Acima da meta
HDL-c†	<40 mg/dL (homens); <50 mg/dL (mulheres)	Baixo
	>40 mg/dL (homens); >50 mg/dL (mulheres)	Normal
Triglicerídeos ‡	<150 mg/dL	Normal
	150–199 mg/dL	Limítrofe alto
	200–400 mg/dL	Alto
Não-HDL-c §	<130 mg/dL	Desejável
	130–159 mg/dL	Limítrofe alto
	160–189 mg/dL	Alto
	≥190 mg/dL	Muito alto

DAC, doença arterial coronariana; HDL-c, colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c, colesterol da lipoproteína de baixa densidade; NCEP ATP III, *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*; não-HDL-c, colesterol não-HDL.

\*Recomendações do NCEP ATP III baseadas nas categorias de risco.

† Definição clínica de síndrome metabólica segundo NCEP ATP III.

‡ LDL-C calculado usando a fórmula de Friedewald, válida quando Triglicerídeo ≤400 mg/dL.

§ Não-HDL-c foi calculado pela subtração do HDL-c do valor de colesterol total para pacientes com triglicerídeos ≥200 mg/dL.

Estima-se que 53% dos adultos americanos possuem lipídeos séricos anormais: 27% possuem concentrações elevadas de LDL-c; 23%, concentrações baixas de HDL-c e 30%, concentrações altas de triglicerídeos. Entre os pacientes com níveis séricos de triglicerídeos  $\geq 200$  mg/dL, aproximadamente 13% têm concentrações de não-HDL-c  $\geq 130$  mg/dL. Além disso, a dislipidemia (LDL-c ou baixo HDL-c e/ou alto triglicerídeo) esteve presente em 21% dos adultos americanos, e cerca de 6%, apresentaram todas as três anormalidades lipídicas (58).

As classes de medicamentos mais usados para controle da dislipidemia são: os inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase (estatinas), os sequestradores de ácidos biliares, o ácido nicotínico (niacina) e os derivados do ácido fíbrico (fibratos) (52).

Valores de LDL-c  $> 190$  mg/dL e Triglicerídeos  $> 800$  mg/dL, isoladamente ou associados, caracterizam uma dislipidemia grave (59). A Hipercolesterolemia familiar deve ser cogitada sempre que LDL-C  $> 190$  mg/dL. De maneira sucinta, nesses casos são utilizadas as medidas usuais de restrição alimentar e posologias elevadas de estatinas, tendo em vista a refratariedade na resposta terapêutica e a cautela necessária quanto aos efeitos adversos desses fármacos, independente da faixa etária. A associação da estatina com ezetimiba; pode ser empregada, com a finalidade de atingir as metas preconizadas de prevenção (59). Níveis muito elevados de TG, principalmente  $> 1.000$  mg/dL, representam risco importante de pancreatite aguda e justificam prontas medidas de intervenção de restrição alimentar e farmacológica após investigadas as possíveis doenças metabólicas não compensadas ou fármacos em uso. Os fibratos e a niacina são eficazes no tratamento da hipertrigliceridemia, respeitadas as contraindicações, bem como a atividade física e a perda de peso (59).

O Estudo de Framingham contribuiu de forma importante para a compreensão das causas da doença arterial coronariana (DAC), acidente vascular encefálico e outras doenças cardiovasculares (60). O estudo de Framingham foi um dos primeiros estudos a demonstrar a relação direta do colesterol total e LDL-c e relação inversa do HDL-c, com a incidência de doença coronariana até 80 anos de idade, em homens e mulheres (4).

Um estudo Canadense investigou a prevalência de dislipidemia em 49.667 pacientes da atenção primária, e encontrou 14% de dislipidemia, destes 53.4% eram mulheres. A prevalência de dislipidemia aumentou com a idade, seguindo uma distribuição

similar pela idade entre homens e mulheres, atingindo pico no grupo etário de 65 a 74 anos. Dentre os dislipidêmicos, o tabagismo apresentou baixa frequência (10,2%), 57% apresentaram história familiar de dislipidemia, 73,6% eram hipertensos e 24% diabéticos (61). O estudo, também, investigou o risco para DAC por meio do escore de risco de Framingham e observou que 45,7% dos indivíduos dislipidêmicos estavam em muito alto risco; 6,2%, em alto risco; 17,1%, em risco moderado e 31,1%, em baixo risco (61).

O estudo MONICA (MONItoramento multinacional das tendências e determinantes nas doenças Cardiovasculares), realizado em 27 populações da Europa, Austrália, Nova Zelândia e Canadá, com idade entre 35 a 74 anos, observou a prevalência de dislipidemia em 25% dos homens e 23% das mulheres. Também mostrou que a dislipidemia estava fortemente associada ao IMC em homens e ao perímetro da cintura em mulheres, após ajuste para região, idade e tabagismo (62).

Gigante e cols., analisando dados de 49.395 adultos residentes nas capitais brasileiras e no Distrito Federal, observaram uma taxa autorreferida de dislipidemia próxima de 16,5%, evidenciando o grande desafio a ser enfrentado pela saúde pública brasileira (5). Um estudo, realizado no estado de São Paulo, observou 12% de dislipidemia reportada pelos entrevistados (63). E foi possível observar maior prevalência de hipercolesterolemia em idosos, 33,1% (IC 95% 30,7-35,5) (64).

A dislipidemia, em particular, a dislipidemia aterogênica, está associada com a fisiopatologia das DCV. A dislipidemia aterogênica consiste na tríade hipertrigliceridemia, redução nas partículas séricas de HDL e aumento da concentração de partículas de LDL pequenas e densas (LDL padrão B) (65). E pode ser comumente encontrada em indivíduos com obesidade, síndrome metabólica, resistência à insulina e diabetes *mellitus* tipo 2 e tem se destacado como importante marcador para o aumento do risco cardiovascular nestas populações (66).

A aterosclerose é caracterizada pelo espessamento da parede da artéria a partir de depósitos de placas ricas em lipídeos, resultando numa redução do fluxo sanguíneo. Na circulação coronária, a ruptura da placa e a consequente trombose podem conduzir à obstrução arterial súbita e causar infarto agudo do miocárdio (IAM)(67). Com base em registros de necropsia nos anos de 1982 até 1986, os resultados da autópsia indicaram que a morte de 129 pessoas com idades entre 20-34, resultante de doença cardíaca, foi atribuída à doença cardiovascular aterosclerótica em 51 casos (68).

Após o IAM, risco de doença aterosclerótica persiste como um desafio não resolvido (69). Embora esse risco se relacione com múltiplos fatores de risco, o controle lipídico abaixo do ideal é um componente importante de risco modificável (70). Acredita-se que a elevação residual em longo prazo dos lipídeos aterogênicos pode promover a formação de nova placa e alterações deletérias em placas pré-existentes. Conseqüentemente, os pacientes, com lipídeos mal controlados, estão expostos a um risco aumentado de eventos cardiovasculares ateroscleróticos recorrentes de doença e morte secundária à ruptura de placa e trombose de placas vulneráveis. A terapia de redução de lipídeos é um componente-chave de uma abordagem baseada em evidências abrangentes para combater a tal risco (71).

O controle da dislipidemia pode reduzir o risco de doença cardiovascular, sendo observada que a redução de 10% do colesterol sérico, em adultos, tem apontado para uma redução de 15% de morte cardiovascular e redução de 11% de mortalidade por todas as causas (72). É importante ressaltar que a adesão ao tratamento medicamento e mudança do estilo de vida é um ponto-chave para o bom controle dos lipídeos séricos.

#### 2.4 ESTRESSE OXIDATIVO NA HIPERTENSÃO E DISLIPIDEMIA

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), entre outras espécies reativas (ER), faz parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas (73). As ERs têm importante função biológica, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor (6).

Em condições fisiológicas, as principais fontes de EROs incluem a cadeia respiratória de transporte de elétrons, a ativação da xantina oxidase através do processo isquemia-reperusão, a explosão respiratória associada à ativação de neutrófilos, e o metabolismo do ácido araquidônico. No metabolismo celular, a molécula de oxigênio é reduzida a água após a formação de intermediários como o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila ( $\cdot OH$ ). Estima-se que 0,15 a 2% do  $O_2$  celular consumido resulte na formação de superóxidos (74).

A xantina desidrogenase transfere elétrons para o  $NAD^+$  gerando  $NADH$  ou pode ser converter à xantina oxidase. A xantina oxidase transfere elétrons para o  $O_2$  gerando

EROs. Devido à sobrecarga de cálcio celular em induzida por isquemia, a xantina desidrogenase é convertida à xantina oxidase. Na fase de reperfusão, o aumento de xantina oxidase pode produzir mais de EROs, tais como superóxido,  $H_2O_2$ , e os radicais hidroxila (75).

Quando a produção dessas ERs está exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio. O estresse oxidativo, portanto, resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes e consequentes danos oxidativos (6).

Os antioxidantes enzimáticos são importantes para manutenção de níveis baixos de EROs, ERNs e outras espécies reativas. A superóxido dismutase (SOD) é responsável pela dismutação do ânion superóxido. A SOD possui duas isoformas, uma constitutiva e outra induzível. A cobre-zinco-SOD é constitutiva, e a manganês-SOD reside na mitocôndria e é induzível por citocinas através do fator de transcrição NF- $\kappa$ B e outros co-fatores (76). A glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT) são responsáveis pela dismutação do peróxido de hidrogênio (77). A catalase reside na matriz do peroxissoma e, portanto, só é capaz de degradar o  $H_2O_2$  produzido na matriz e não o  $H_2O_2$  produzido no núcleo do peroxissoma. O peróxido de hidrogênio produzido no núcleo é transportado para o citoplasma por túbulos existentes no núcleo, onde a GPx fará a degradação (78). A GPx degrada, além do peróxido de hidrogênio, outros peróxidos. É a primeira defesa mitocondrial do peróxido de hidrogênio e é regulada pela proteína supressora de tumor p53 e por hipóxia (79). A Figura 1 apresenta, esquematicamente, a participação da GPx na dismutação do peróxido de hidrogênio.

Participam ainda do sistema antioxidante, as substâncias não-enzimáticas que incluem: vitamina E, betacaroteno, vitamina C e a glutathiona, esta considerada o antioxidante não-enzimático hidrossolúvel mais importante por participar de inúmeras reações de oxirredução (6, 73). A glutathiona atua como co-fator para GPx e outras enzimas, está envolvida em muitos outros processos metabólicos, incluindo o metabolismo do ascorbato, comunicação entre células, prevenção da oxidação de grupos tióis de proteínas e radioproteção. Sua principal contribuição é na manutenção do estado redox da célula (6).

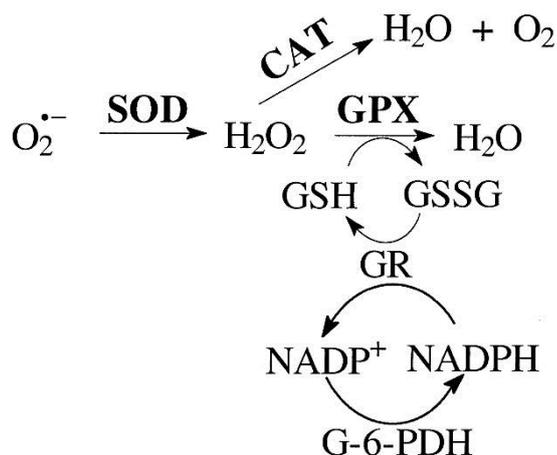


Figura 1. Representação esquemática da atuação do sistema enzimático antioxidante. SOD: superóxido dismutase, CAT: catalase, GPx: glutationa peroxidase, GSH: glutationa, GSSG: glutatona dissulfeto, GR: glutationa redutase, NADP: fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina, NADPH: fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida reduzido, G-6-PDH: glicose-6-fosfato desidrogenase.

De importância para a biologia cardiovascular está a oxidação do óxido nítrico (ON) pelas EROs. O ON é um fator relaxante do endotélio, uma molécula central na homeostase vascular como um modulador de tônus endotelial e reatividade. É produzido por óxido nítrico sintase (NOS) e exerce efeitos pleiotrópicos positivos sobre o sistema cardiovascular. A modificação oxidativa do ON não só conduz a uma redução da biodisponibilidade, mas também produz o peroxinitrito, um oxidante tóxico, que induz ainda mais o desequilíbrio dos fatores protetores e agressores (80).

Na HAS, os biomarcadores de estresse oxidativo estão elevados (81). Esse achado baseia-se, em geral, no aumento dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no plasma e de 8-epi-isoprostanos, ambos biomarcadores de peroxidação lipídica e estresse oxidativo (81, 82). A superprodução de EROs e seus subprodutos oxidados de DNA genômico e mitocondrial também foram demonstrados em indivíduos hipertensos (81).

Os isoprostanos são uma família de eicosanóides produzidos, principalmente, pela oxidação não enzimática do ácido araquidônico por EROs. Por conseguinte, a sua produção está aumentada na presença de estresse oxidativo (83).

A LDL-oxidada resulta da exposição da LDL a uma variedade de agentes oxidantes (ânion superóxido e peróxido de hidrogênio presentes principalmente nos macrófagos do

tecido vascular), enzimas (lipoxigenases), e produtos de mieloperoxidase. Essa exposição pode levar à redução dos componentes antioxidantes e, então, à oxidação dos lipídeos e proteínas presente nas partículas de LDL (84). Avogaro *et al.* descreveram uma subfração da LDL com características de oxidação e nomearam como LDL eletrogenativa (LDL(-) (85). Esta subfração está aumentada na hipercolesterolemia familiar, hipertrigliceridemia, diabetes e doença arterial coronariana (84). Ainda não existem, porém, estudos que mostrem correlação entre os métodos de análise da LDL (-), o que dificulta a disponibilidade de métodos comerciais confiáveis para investigação desse marcador (84).

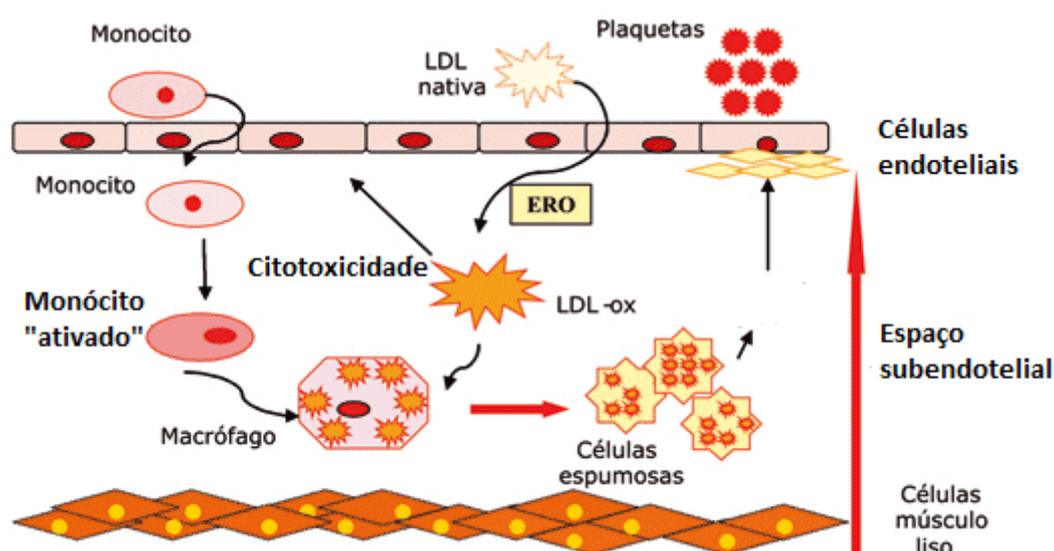


Figura 2. Representação esquemática da participação da LDL-oxidada no processo de aterogênese. Fonte: Roche & Sánchez, 2009 (86). LDL: Lipoproteína de baixa densidade, ERRO: espécies reativas de oxigênio.

A LDL-oxidada ativa os componentes do tecido vascular, tais como células endoteliais, macrófagos e células do músculo liso e induz vários genes pró-aterogênicos (molécula de adesão entre células-1, molécula de adesão à célula vascular-1, fator de crescimento epidérmico ligado à heparina, fator de crescimento derivado de plaqueta AB, inibidores de ciclo-oxigenase-2, NOS endotelial, metaloproteinases de matriz, receptor de membrana CD-40, ligante do CD-40, e fator de tecido conjuntivo). Também induz a apoptose de células do músculo liso e inibe a produção de ON em células endoteliais (87). Os eventos

iniciais da aterogênese são a ativação de células endoteliais vasculares, a adesão e migração de monócitos e linfócitos T para o espaço subendotelial, onde ocorre a conversão em células espumosas de macrófagos derivados de monócitos, e a LDL-oxidada é conhecida por desempenhar um papel fundamental neste processo (87). A Figura 2 apresenta uma representação esquemática da participação da LDL-oxidada no processo de aterogênese.

## 2.5 DISFUNÇÃO ENDOTELIAL E AVALIAÇÃO NÃO-INVASIVA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL

A microcirculação é composta pelas arteríolas (responsáveis pela resistência vascular periférica), capilares e vênulas e tem sido o foco de investigação crescente nos últimos anos. Anteriormente, considerava-se que muitas das formas importantes de DCV envolviam principalmente grandes vasos, como as artérias. No entanto, avanços recentes têm destacado o envolvimento crucial da microcirculação em muitas condições cardiovasculares (88). A hipertensão predispõe a todas as principais formas de DCV e tem sido reconhecido que as mudanças distintas na estrutura de pequenos vasos, como aumento da razão entre a camada média e o lúmen do vaso, e as mudanças na rede microvascular, como rarefação arteriolar e capilar, acompanham muitas formas de hipertensão em humanos e animais (89).

Além disso, foi demonstrado, na literatura, que a vasodilatação cutânea dependente de ON está atenuada em indivíduos com hipercolesterolemia clinicamente definida ( $LDL > 160$  mg/dL), em resposta a um estímulo específico da ON sintase endotelial. A redução na vasodilatação dependente de ON é mediada por: (1) regulação da atividade da arginase, que limita a disponibilidade de substrato para a ON sintase endotelial, (2) aumento da oxidação do ascorbato sensível a mecanismos de estresse e, (3) uma redução do cofactor tetrahydrobiopterina (BH<sub>4</sub>), essencial para a ON sintase endotelial. Juntos, esses mecanismos contribuem para desacoplamento da eNOS e disfunção microvascular cutânea em humanos com LDL-c elevado (90).

A disfunção vascular (incluindo a vasodilatação dependente do endotélio prejudicada) induzida por diferentes doenças é evidenciada na microcirculação cutânea (88).

A disfunção microvascular é descrita como a alteração da vasodilatação dependente do endotélio demonstrado pelo aumento da resistência vascular periférica, provocando inflamação e, posteriormente, lesões vasculares e trombose (91). A disfunção microvascular é um evento precoce e pode ser secundário à disfunção endotelial ou à redução do número de capilares (rarefação capilar) (92).

Estudos prospectivos, em humanos, demonstraram que a disfunção endotelial é um preditor independente de eventos cardiovasculares adversos e de mau prognóstico em longo prazo (9). Foi demonstrado que indivíduos hipertensos e dislipidêmicos apresentam função endotelial reduzida em comparação com controles saudáveis (10) e são preditores para agressão do endotélio vascular, a qual está diretamente relacionada à disfunção do endotélio (11). Existe uma associação entre a melhora da função endotelial e aumento da sobrevida em pacientes com doença arterial coronariana (12). Portanto, a avaliação da microcirculação pode representar um indicador de risco para evento cardiovascular (13).

As alterações, na microcirculação, possuem implicações na fisiopatologia dos eventos isquêmicos cerebrais, doença arterial coronariana e insuficiência renal (93, 94), então, a avaliação da microcirculação é relevante nas doenças cardiovasculares, como a hipertensão (13, 95, 96).

Uma série de técnicas não invasivas está disponível para avaliação da reatividade vascular no antebraço tanto a nível macro como microvascular. Um método muito utilizado envolve a avaliação do fluxo mediado pela dilatação (FMD) da artéria braquial, utilizando ultrassonografia. Neste método, o diâmetro da artéria braquial é medido no início e após o aumento na tensão de cisalhamento arterial, induzida pela inflação e posterior deflação de uma braçadeira esfigmomanométrica, o que provoca hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO) e vasodilatação braquial, predominantemente causada pela liberação de NO derivado do endotélio da artéria braquial (97). O FMD, medido dessa forma, correlaciona-se com a função endotelial na circulação coronária e relaciona-se com fatores de risco tradicionais, melhora com o tratamento direcionado, além de prevê o risco de eventos cardiovasculares futuros (98). Essa técnica, disponível desde 1992, é vista como o padrão ouro para a avaliação não invasiva da vasorreatividade da artéria periférica. Apesar de sua relevância clínica, várias limitações têm impedido a sua integração com a prática clínica, em parte devido a limitações técnicas que exigem treinamento extensivo do operador do equipamento, alto custo desses equipamentos, intensivo trabalho de análise

das imagens, e falta de padronização metodológica que levaram à busca por técnicas mais rápidas e de fácil execução (99).

Um método mais recente envolve a amplitude da tonometria arterial periférica (PAT), que mede variações volumétricas na ponta dos dedos, usando uma sonda que quantifica a amplitude de pulso em resposta à HRPO usando um dispositivo disponível comercialmente (EndoPAT, Itamar Medical, Ltd). Os sinais, na mão que não sofreu hiperemia, são gravados simultaneamente para o controle de efeitos sistêmicos. A razão entre a HRPO PAT e o braço controle é expressa após transformação logarítmica (log) natural devido à variável distribuição da medida. A vantagem potencial dessa técnica diz respeito à utilização de um sistema automatizado e informatizado de análise que minimiza a dependência do operador e variabilidade entre observadores. Estudos preliminares em pequena escala mostram que as respostas HRPO PAT dependem do ON e estão reduzidas na presença de doença arterial coronariana ou de seus fatores de risco, o que sugere que as diferenças clínicas importantes entre grupos podem ser detectadas utilizando esse método (100).

Porém, esses métodos tratam da macrocirculação e, nos últimos anos, a microcirculação da pele tem sido considerada uma forma fácil, acessível e potencialmente representativa do leito vascular, permitindo avaliar e compreender os mecanismos da função e disfunção microvascular (101).

A técnica de fluxometria por laser-Doppler é uma técnica sensível, não invasiva e de simples realização, usada para a monitorização da microcirculação cutânea, padronizada e validada recentemente em diferentes estudos clínicos (102). Esse método baseia-se no efeito Doppler, que registra a reflexão de um feixe de raios laser, monocromático, de baixa energia, que penetra na pele aproximadamente 1,5 mm de profundidade. O feixe é refletido pelas hemácias em movimento na microcirculação, sofrendo, ao mesmo tempo, uma modificação do seu comprimento de onda (*Doppler shift*), sendo, então, captado por um sensor e posteriormente analisado. De acordo com o princípio Doppler, ocorre uma mudança de frequência, gerando um sinal correlacionado de maneira linear com o fluxo de hemácias, sendo esse sinal semiquantitativo e expresso em unidades de perfusão de voltagem de saída (1 UP = 10 mV), de acordo com o consenso europeu (*European Laser Doppler Users Groups, London 1992*)(88). A grande desvantagem da fluxometria por laser-Doppler consiste no pequeno tamanho da área de mensuração, pois usa um único ponto com aproximadamente 2-3 mm de diâmetro, e a sua vantagem é a alta resolução

temporal da medida de perfusão. Entretanto, microcirculação na pele é altamente heterogênea e assim também são as respostas de perfusão à iontoforese de drogas vasoativas (102).

Usando o mesmo princípio da fluxometria por laser-Doppler, foi desenvolvido, recentemente, o LSCI (*Laser speckle contrast imaging*). O LSCI é uma técnica baseada na análise de granulação de contraste que fornece um índice de fluxo sanguíneo. A diferença consiste na aferição das flutuações entre áreas escuras e claras provenientes da área de iluminada pela luz de laser. Foi utilizado para avaliar o fluxo sanguíneo da pele em pacientes com doenças microvasculares, tais como esclerose sistêmica. Recentemente, a alta taxa de captura de LSCI permite a avaliação contínua da perfusão da pele em áreas amplas, podendo combinar as vantagens das técnicas anteriores além de demonstrar excelente reprodutibilidade em indivíduos saudáveis (103). A Figura 3 ilustra um exemplo de avaliação com LSCI.

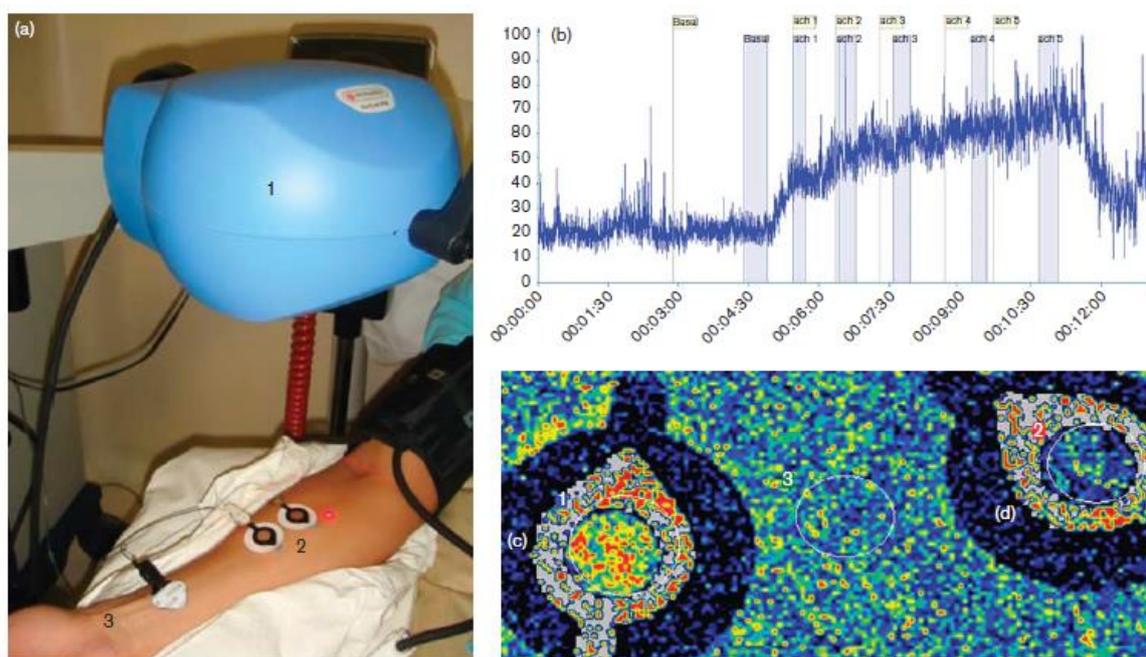


Figura 3. Imagem representativa do LSCI utilizado na avaliação perfusão microvascular da pele por meio de imagens de contraste ao *laser speckle* acoplado com iontoforese de drogas vasodilatadoras (a). Exemplo representativo dos efeitos da entrega transdérmica iontoforética de doses cumulativas de acetilcolina sobre o fluxo de sangue da pele (b) e as imagens de vídeo da iontoforese de acetilcolina (c), em comparação com um eletrodo contendo veículo (d). (1) cabeça *Imager*, (2) eletrodos iontoforese para entrega da droga vasodilatadora, (3) eletrodo dispersivo. Fonte: Souza et al (104)

Na microcirculação cutânea, o estímulo com a acetilcolina ACh é utilizado para avaliar a vasodilatação dependente do endotélio (105). A ACh é normalmente entregue por iontoforese para testar a função endotelial em uma variedade de condições clínicas, incluindo o diabetes (106), hipertensão(107), e insuficiência cardíaca(108, 109).

A acetilcolina (ACh) é uma substância vasoativa, agonista do receptor muscarínico, e tem sido exaustivamente estudada nas avaliações dos vasos. Os receptores muscarínicos são receptores acoplados às proteínas G. Estão descritos pelo menos 5 tipos de receptores, de M1 a M5. A ação que exercem depende da sua localização, assim como do tipo de proteína G a que estão acoplados. A vasodilatação mediada por agonistas muscarínicos pode ser explicada pela ação dos receptores muscarínicos nas células endoteliais. A ativação da proteína G induz aumento da concentração citosólica de  $Ca^{2+}$ , via inositol trifostato (IP3). Na célula endotelial, que não possui um mecanismo contrátil, o  $Ca^{2+}$  se liga à calmodulina, ativando a síntese do ON. Na presença de calmodulina, os eletrodos doados pelo NADPH (fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida reduzido) são transportados pelo FAD (flavina adenina dinucleotídeo) e pelo FMN (flavina mononucleotídeo) para o grupo heme. A L-arginina se converte em N-hidroxialanina e logo em seguida para ON e L-citrulina. Essa reação é catalisada pela enzima óxido nítrico sintase (NOS). Esse gás difunde-se facilmente para a musculatura vascular, onde vai induzir a ativação da guanilciclase e conseqüente aumento da concentração intracelular de GMPc (Monofosfato cíclico de guanosina), um potente relaxador da musculatura lisa (110).

A vídeo-microscopia intravital capilar tem sido utilizada no estudo dinâmico dos capilares da pele em pacientes com hipertensão arterial (111, 112), uma vez que é o único método que permite visualização direta de capilares sem a utilização de contrastes ou procedimentos invasivos intravenosos. No entanto, a vídeo-microscopia intravital capilar não é capaz de avaliar capilares não perfundidos da pele, porque depende da presença de células vermelhas do sangue, no interior dos capilares, para a visualização dos mesmos. Diferentes procedimentos como congestão venosa e HRPO têm sido utilizados para obter uma imagem clara de capilares não-perfundidos da pele (113). A Figura 4 mostra imagens representativas de capilares perfundidos da pele do dedo médio em indivíduo com doença arterial coronariana precoce e indivíduos saudáveis.

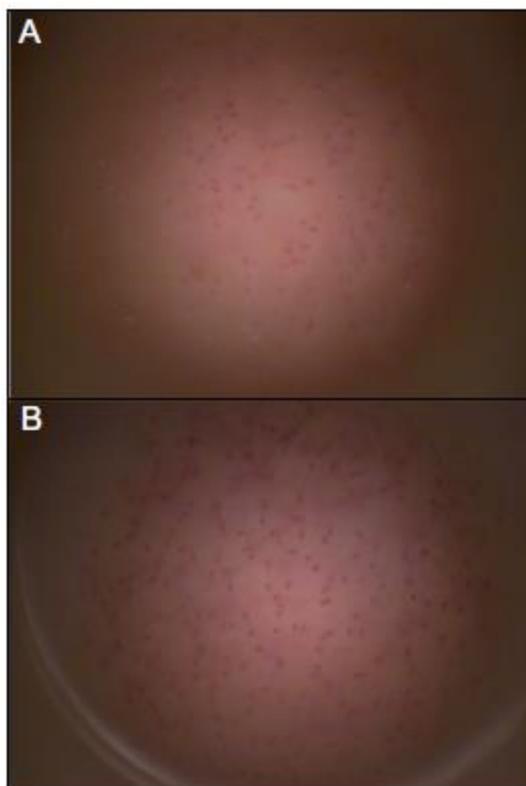


Figura 4. Imagens representativas de capilares perfundidos da pele do dedo médio, obtidas com microscopia de alta resolução de vídeo intra-vital e mostradas em aumento final de 200×. (A) A imagem de um paciente que apresenta doença arterial coronariana precoce e (B) imagem de um indivíduo controle saudável. As imagens foram obtidas durante a hiperemia reativa pós-oclusiva. Fonte: Tibiriçá et al (114)

## 2.6 PADRÕES ALIMENTARES RELACIONADOS AO CONTROLE DA HIPERTENSÃO E DISLIPIDEMIAS

As evidências epidemiológicas sugerem que mudanças no padrão alimentar associadas à transição nutricional, especificamente o aumento do consumo de alimentos com alta densidade energética, ricos em gorduras saturadas, sódio e açúcares, têm contribuído para um aumento na incidência de DCV em países de baixa e média renda (16). E padrões alimentares, caracterizados por um maior consumo de frutas, vegetais,

grãos integrais, laticínios com baixo teor de gordura, e fontes de carne magra estão associados a um menor risco de morbidade e mortalidade (17, 18).

Nos EUA, as Recomendações Dietéticas para a América, a Associação Americana do Coração (AHA) e outras organizações de saúde recomendam hábitos alimentares saudáveis para a prevenção de doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas. Estão incluídas, nessas diretrizes, duas dietas que demonstraram benefícios à saúde, são elas a dieta do Mediterrâneo e a dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*)(115).

A dieta mediterrânea tradicional se caracteriza pelo alto consumo de azeite de oliva, frutas, castanhas, legumes, cereais e laticínios; ingestão moderada de peixes e aves; baixa ingestão de carne vermelha, carnes processadas, e doces; e vinho com moderação, consumido nas refeições (116). Estudos epidemiológicos demonstraram associação inversa entre a incidência de acidente vascular encefálico e a dieta do Mediterrâneo (117, 118).

O estudo Predimed (*Prevención con Dieta Mediterránea*) foi um ensaio clínico multicêntrico que avaliou a eficácia de uma dieta mediterrânea na prevenção primária de DCV. O Predimed incluiu participantes de 55 a 80 anos de idade, com diabetes ou  $\geq 3$  principais fatores de risco para DCV (hipertensão, hipercolesterolemia, história familiar de doença cardíaca, o uso do tabaco, ou com sobrepeso/obesidade). Após 3 meses, os indivíduos de ambos os grupos de dieta mediterrânea contendo azeite ou castanhas apresentaram menores índices de CT/HDL-C em comparação com o grupo de baixo teor de gordura, -0,38 e -0,26, respectivamente. Além disso, a dieta mediterrânea, com castanhas, reduziu a glicose em jejum (-5,4 mg/dL), pressão arterial sistólica (-7,1 mmHg), pressão arterial diastólica (-2,6 mmHg), e concentrações séricas de triglicérides (-13 mg/dL) em comparação com dieta controle (119).

O padrão de dieta DASH estimula o consumo de frutas, verduras e uso de produtos lácteos com baixo teor de gordura; uso preferencial de grãos integrais, peixes, aves e frutos secos, com ingestão reduzida de doces, bebidas adoçadas com açúcar e carne vermelha. Essas recomendações alimentares são traduzidas em maior consumo de potássio (4,700mg/dia), magnésio (500 mg/dia), e de cálcio (1.240 mg/dia), e baixa ingestão de lipídeos totais (27% de calorias), ácidos graxos saturados (6% de calorias) e colesterol (150mg/dia) (baseada numa dieta de 2.100 kcal/dia) (120). A dieta DASH reduziu o risco de doença coronariana, reduzindo a PAS (-5,5 mmHg) e PAD (-3,0 mm Hg), bem como do colesterol total (-13 mg / dl), e LDL-c (- 10,7 mg/dl) (120, 121).

Considerando que os alimentos não são consumidos de forma isolada, visto a possível diversidade da ingestão alimentar, houve um aumento crescente no interesse em estudar padrões de dieta geral, abordando a complexidade da dieta e o potencial sinérgico ou efeitos antagônicos dos componentes individuais da dieta (122). Os índices dietéticos têm a finalidade de avaliar a qualidade global da dieta por meio de um ou mais parâmetros, como a ingestão adequada de nutrientes, número de porções consumidas de cada grupo de alimentos e quantidade de diferentes gêneros alimentícios presentes na dieta (123, 124). No Brasil, Fisberg *et al.* (124) adaptaram e validaram para a população brasileira o *Healthy Eating Index* (HEI), originando o Índice de Qualidade da Dieta (IQD). Esse índice avalia uma combinação de diferentes tipos de alimentos, nutrientes e constituintes da dieta em relação às recomendações dietéticas e/ou desfechos de saúde. A publicação do Guia Alimentar para a População Brasileira em 2006 (125), levou à necessidade de revisão do IQD.

O índice de qualidade da dieta revisado (IQD-R) estima a adequação da dieta e detecta alterações nos padrões alimentares, pois considera as recomendações para uma dieta saudável, levando em conta as características dietéticas dos brasileiros e permite a avaliação e monitoramento de dieta de indivíduos e populações. O IQD-R contém doze componentes, sendo nove fundamentados nos grupos de alimentos do Guia Alimentar Brasileiro de 2006, cujas porções diárias são expressas em densidade energética; dois nutrientes (sódio e gordura saturada); e Gord\_AA (calorias provenientes de gordura sólida, álcool e açúcar de adição). Esse índice permite classificar indivíduos pelo agrupamento em segmentos semelhantes (126).

Outro aspecto importante a ser destacado é o consumo de alimentos ultraprocessados. Processamento alimentar é definido como "todos os métodos e técnicas utilizadas pela indústria para transformar alimentos frescos inteiros em produtos alimentares" (127). Uma nova classificação divide todos os alimentos em três grupos: não transformados ou alimentos minimamente processados; ingredientes culinários processados; e produtos ultraprocessados (127). Os ultraprocessados são normalmente densos em energia, ricos em amidos refinados, açúcares, gorduras ou sal, e têm uma carga glicêmica elevada. São vendidos em porções grandes, formulados normalmente para serem extremamente saborosos, competindo para a formação do hábito alimentar, e contam com um marketing agressivo para sua comercialização (128). Revisões sistemáticas da literatura concluíram que existe associação entre o consumo de refrigerantes e aumento do consumo

de energia, excesso de peso e diabetes (129-131). Estudo preliminar, realizado no sul do Brasil com indivíduos hipertensos, observou associação entre o consumo de alimentos ultraprocessados a maior pressão arterial sistólica e diastólica (132).

## 2.7 CASTANHAS COMO PARTE DA DIETA CARDIOPROTETORA

As castanhas compõem um grupo de frutos secos com casca rígida que inclui amêndoa, nozes, castanha de caju, pecan, macadâmica, pinha, pistache, avelã, amendoim e Castanha-do-Brasil. Também são conhecidas como oleaginosas por seu alto teor de gorduras totais variando de 46% na castanha-de-caju e pistache, até 76% na macadâmica. Por essa razão, as oleaginosas são os alimentos mais ricos em gordura após os óleos vegetais. Em geral, possuem baixo conteúdo de ácidos graxo saturado (AGS), variando de 4-16%, e alto teor de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), incluindo ácido linoléico (n-6), ácido linolênico (n-3) e ácido alfa-linolênico (ALA; 18:3n-3) (133).

Outros componentes benéficos estão presentes na composição das castanhas, como as proteínas (aproximadamente 25% das calorias); o aminoácido L-arginina, precursor do óxido nítrico endotelial (134); e fontes de fibra dietética (4-11 %). Em relação aos micronutrientes, as vitaminas mais predominantes nas castanhas são o folato e vitaminas lipossolúveis E e A (135). Os minerais como cálcio, magnésio, selênio e o eletrólito potássio podem ser encontrados em quantidades significativas, dependendo do tipo de castanha (20).

Estudos têm demonstrado a relação inversa entre o consumo de castanhas e as DCV(24). Os quatro maiores estudos de coortes dos EUA (*Adventist Health Study*, o *Iowa Women's Health Study*, o *Nurses' Health Study*, e o *Physicians' Health Study*) demonstraram, claramente, o efeito dose-resposta entre o consumo de castanhas e a redução do risco de morte por DAC. Quando analisados em conjunto foi possível observar uma redução média de 37% do risco de morte por DAC (RR: 0,63; IC95% 0,51 – 0,83) ou ainda uma redução de 8,3% do risco de morte por DAC para cada porção semanal de castanha consumida (19).

Além disso, estudo prévio observou melhora do fluxo arterial braquial de indivíduos hipercolesterolêmicos após quatro semanas de dieta enriquecida com nozes

(136), sendo o mesmo observado após o consumo de uma única refeição enriquecida com nozes (137). O único estudo até o momento que buscou relacionar a Castanha-do-Brasil com a função microvascular foi realizado com adolescentes obesas e observou melhora do fluxo médio sanguíneo e do fluxo máximo após a intervenção (29).

## 2.8 CASTANHA-DO-BRASIL, SELÊNIO E ESTRESSE OXIDATIVO

A Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*, família *Lecythidaceae*) é nativa da América do Sul e pode ser encontrada crescendo em solo duro e bem drenado na bacia do rio Amazonas, em países como Brasil, Peru, Colômbia, Venezuela e Equador (138).

De acordo com a tabela nacional de composição de alimentos, TACO(139), o conteúdo de proteína na Castanha-do-Brasil é de 14,5%, 15,1% de carboidrato e 63,5% de lipídeos, semelhante à distribuição reportada pela tabela americana, USDA (140), que relata 14,32% de proteína, 12,27% de carboidrato e 66,43% de lipídeos.

Diferente da maior parte das castanhas, a Castanha-do-Brasil apresenta 15% de ácidos graxos saturados (AGS), 25% de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e 21% de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI)(140). O teor de gordura saturada na Castanha-do-Brasil está entre os maiores de todas as castanhas, com predominância para os ácidos graxos palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) (138). Por outro lado, a Castanha-do-Brasil apresenta cerca de 7% do total de gorduras na forma de ácido graxo alfa-linolênico (AGPI n-3) e a maior parte dos AGPI na forma de ácido graxo linoleico (AGPI n-6) (141).

Em relação aos compostos fenólicos e flavonoides, na Castanha-do-Brasil se pode observar em média  $169,2 \pm 14,6$  mg/100g de compostos fenólicos, sendo  $46,2 \pm 5,7$  mg/100g na forma livre; e  $107,8 \pm 6,0$  mg/100g de flavonoides, sendo  $29,2 \pm 7,2$  mg/100g na forma livre (142).

Faller & Fialho avaliaram o teor de polifenóis totais em frutas e vegetais consumidos no Brasil (143). As autoras observaram que das frutas analisadas, a que apresentou maior teor de polifenóis foi a banana (215,7 mg GAE/100g de peso fresco), e dos vegetais analisados foi a cebola (113,2 mg GAE/100g de peso fresco). Então, podemos observar que o teor de polifenóis da Castanha-do-Brasil corresponde aos alimentos com maior teor polifenóis consumidos no Brasil.

Outro componente importante das oleaginosas são os fitosteróis. A Castanha-do-Brasil contém  $\beta$ -Sitosterol na quantidade média de  $1325,4 \pm 68,1 \mu\text{g/g}$  de óleo, e estigmasterol  $577,5 \pm 34,3 \mu\text{g/g}$  de óleo (138).

No que se refere ao teor de minerais, a Castanha-do-Brasil é a oleaginosa que apresenta maior teor de selênio (Se), um mineral que atua como componente de algumas selenoproteínas nas reações antioxidantes e redox, no metabolismo dos hormônios tireoidianos, na função imune e na reprodução (144).

A Ingestão Dietética Recomendada (*Recommended Dietary Allowance* - RDA) para Se é  $55 \mu\text{g/dia}$  para homens e mulheres adultos e se baseia na quantidade necessária para maximizar a atividade da enzima glutathione peroxidase, enquanto que o valor do Limite Superior Tolerável de Ingestão (UL) foi fixado em  $400 \mu\text{g/dia}$  devido ao risco de selenose (145). O solo onde a castanha cresce é de extrema importância, pois o teor de Se das castanhas é altamente dependente da quantidade de selênio presente no solo. Foi demonstrado que as Castanhas-do-Brasil originárias da região de Manaus e Belém no Brasil apresentavam dez vezes mais Se que as castanhas colhidas na região do Acre e Rondônia(146). Entretanto, tem sido observada enorme variação dos teores de Se na Castanha-do-Brasil nos resultados encontrados na literatura. Uma meta-análise, realizada em 2008, encontrou variação entre estudos desde  $0,228 \pm 0,204 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  até  $5,20 \pm 7,48 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  na Castanha-do-Brasil. Em termos de coeficiente de variação foram encontrados valores de 16 até 180%, o que se considera muito alto para coeficiente de variação em alimentos (25).

Baixa concentração de selênio no organismo humano está associada à baixa quantidade de selenoproteínas e, conseqüentemente, ao aumento do risco para doenças como câncer, DCV, alteração da função imune, infertilidade masculina, desordens inflamatórias, doença tireoidiana auto-imune (27).

Um estudo realizado na Nova Zelândia mostrou que o consumo de 2 unidades de Castanha-do-Brasil, ao final de 12 semanas, foi capaz de aumentar 64,2% a concentração plasmática de selênio, 8,3% a GPx plasmática e 13,2% a GPx no sangue integral (28).

A biodisponibilidade do Se depende da digestibilidade das diferentes proteínas ligadas ao Se na matriz alimentar, ou seja, da espécie de Se (147). As principais formas de Se identificado foram Se-metionina, e em menor proporção, Se-Cistina (148). Essa pesquisa foi ampliada para as análises *in vitro* do produto da digestão gastrointestinal da

Castanha-do-Brasil, onde o produto digerido foi analisado para o seu teor de Se e investigada a presença de diferentes espécies de Se pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplado a um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Como resultado, em ambos os produtos gástrico e intestinal da digestão, foi possível identificar as espécies de Se como Se-metionina e Se-Cistina (148).

É importante ressaltar que os efeitos benéficos do Se estão intimamente relacionados ao estado nutricional de Se do paciente, ilustrado na curva em forma de U, onde a ingestão adicional de selênio pode beneficiar pessoas com baixo estado nutricional, enquanto aqueles com estado nutricional adequado a alto podem ser afetados de forma adversa e, portanto, não devem usar suplementos de selênio (27). A suplementação de Se para pessoas que apresentam estado nutricional adequado, por exemplo, pode aumentar o risco de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (149).

O granulado de Castanha-do-Brasil é produzido após a extração parcial mecânica à frio, em ar atmosférico, do óleo extravirgem da Castanha-do-Brasil, quando o composto resultante da extração do lipídeo é triturado e comercializado no mercado. O granulado apresenta redução de aproximadamente 35% do teor de lipídeos em comparação à Castanha-do-Brasil. Porém, é capaz de preservar as características da Castanha-do-Brasil *in natura*, em relação ao alto teor de selênio e polifenóis totais. Além disso, é um produto de fácil inclusão no cardápio de pequenas e grandes refeições, e como ingrediente de receitas.

### 3 JUSTIFICATIVA

As doenças do aparelho circulatório são as principais causas de morte em homens e mulheres no Brasil. A HAS é a condição mais comum nos cuidados de saúde primários e, junto com a dislipidemia aterogênica, representam fatores associados à fisiopatologia das doenças cardiovasculares. Indivíduos com hipertensão e dislipidemia apresentam estresse oxidativo aumentado. Estudos mostraram que o desequilíbrio oxidativo está associado à disfunção endotelial na hipertensão e hipercolesterolemia. A Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) apresenta características nutricionais comuns ao grupo das castanhas, sendo ainda, o alimento com o maior conteúdo de selênio. Podendo melhorar significativamente a atividade da enzima glutathione peroxidase, uma selenoproteína envolvida no sistema antioxidante. Dessa forma, é relevante investigar o efeito da Castanha-do-Brasil no estado antioxidante e na função endotelial microvascular de indivíduos hipertensos e dislipidêmicos.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil associado à dieta na qualidade da dieta, biomarcadores de estado antioxidante e parâmetros da função endotelial microvascular de pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Descrever a composição nutricional, teor de selênio, polifenóis e capacidade antioxidante do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil;
- b) Descrever o consumo de alimentos ultraprocessados e ingredientes de adição no início de final da intervenção nutricional;
- c) Avaliar o efeito do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil associado à dieta no (s):
  - ✓ Parâmetros antropométricos, pressão arterial, glicemia e lipídeos séricos;
  - ✓ Concentrações de 8-isoprostano plasmático e LDL-oxidada, atividade da enzima Glutathione Peroxidase plasmática, Capacidade antioxidante total do plasma;
  - ✓ Recrutamento de capilares e densidade capilar funcional da pele;
  - ✓ Fluxo microvascular da pele em resposta à substância vasoativa e na hiperemia reativa pós-oclusiva.

## 5 MÉTODOS

### 5.1 ASPECTOS ÉTICOS

O protocolo do estudo foi registrado no Sistema Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE 0008.0.197.185-11), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (HUCCF/UFRJ) sob o número do protocolo 007/11 (Anexo A) e pelo CEP do Instituto Nacional de Cardiologia (INC) sob o protocolo 0316/11 (Anexo B), em que foram recrutados e submetidos ao protocolo de pesquisa os pacientes interessados, de acordo com os critérios de elegibilidade (item 5.2).

Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo C), após esclarecimento sobre os procedimentos realizados, riscos e benefícios durante a pesquisa.

O protocolo deste estudo foi registrado na Rede Brasileira de Ensaios Clínicos (REBEC) disponível em <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-2vsvs3/> (Anexo D) e no ClinicalTrials.gov sob número NCT01990391.

### 5.2 POPULAÇÃO

Cento e trinta e sete indivíduos foram recrutados no Serviço de Aterosclerose e Prevenção de Doença Cardiovascular do Instituto Nacional de Cardiologia (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) no período de setembro de 2011 até setembro de 2012, para verificação dos critérios de elegibilidade. Destes, foram selecionados 125 pacientes.

Foram incluídos no estudo adultos maiores que 20 anos de ambos os sexos, com diagnóstico prévio de dislipidemia e hipertensão arterial, em uso de medicação.

Os critérios de exclusão foram apresentar aversão ou alergia alimentar à Castanha-do-Brasil; gestantes e lactantes; estar em dieta de restrição calórica ou uso de suplementos alimentares com minerais ou vitaminas antioxidantes; estar em uso de substâncias corticoides; apresentar insuficiência renal crônica, hepatopatia, câncer; apresentar doença reumática ou doença sistêmica do tecido conjuntivo.

### 5.3 DESENHO DO ESTUDO E PLANO DE TRABALHO

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, cruzado, duplo cego, controlado por placebo em que foi fornecido granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil ou placebo, juntamente com uma dieta calculada individualmente de acordo com as diretrizes para dislipidemia e hipertensão arterial (36, 59, 150) (item 5.5).

Cada etapa da intervenção nutricional teve duração de três meses (12 semanas) e retornos mensais (Figura 5). Após a primeira etapa de tratamento os participantes passaram por um período de *washout* de um mês, neste período não receberam nem granulado de Castanha-do-Brasil, nem placebo. A randomização ocorreu em blocos de 10 e foi baseada em uma tabela de números aleatórios gerados no programa aberto online Openepi (151). A tabela de números aleatórios ficou sob sigilo com um pesquisador, o qual codificava os frascos dos produtos alimentares e não tinha contato com o centro onde foi realizado o estudo.

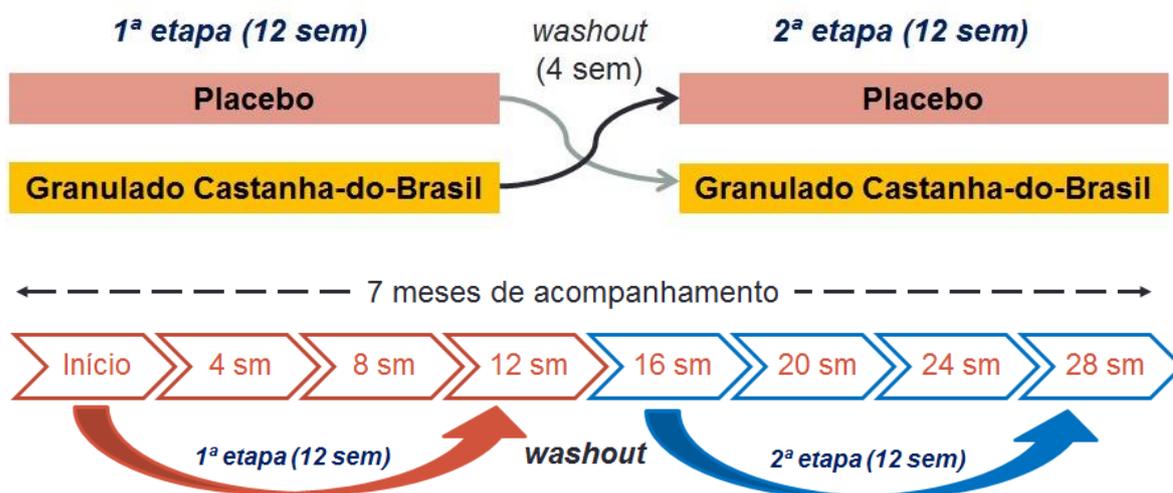


Figura 5. Fluxograma de consultas ao longo do estudo.

Os participantes do estudo foram avaliados em todas as consultas no Instituto Nacional de Cardiologia. Na consulta de triagem, os pacientes responderam a um

questionário sobre informações sociodemográficas, de doença atual, doença progressa, utilização de medicamentos e hábitos de vida (Anexo E). Também foi investigada atividade física (Anexo F).

Em todas as consultas foi realizada uma rotina de coleta de sangue em jejum, avaliação antropométrica, aplicação de recordatório alimentar de 24 horas (Anexo G). Nas consultas iniciais e após 12 semanas de cada etapa do tratamento (início, 12 sem, 16 sem e 28 sem) foi aferida a pressão arterial sistêmica, avaliada a reatividade microvascular e analisadas as concentrações de 8-isoprostano e LDL-oxidada, atividade da GPx3, Capacidade antioxidante total do plasma e concentração plasmática total de nitrito e nitrato, além da rotina.

#### 5.4 INTERVENÇÃO NUTRICIONAL

O granulado de Castanha-do-Brasil (Ouro Verde Amazônia<sup>®</sup> - Mato Grosso, Brasil) é produzido após a extração parcial à frio do óleo extravirgem da Castanha-do-Brasil, e o composto resultante da extração do lipídeo é triturado e comercializado. Foi entregue um frasco de plástico branco opaco, contendo a quantidade de 430g de produto, suficiente para um mês. Foi orientado o consumo diário de 01 colher medida nivelada, entregue junto com o frasco, correspondendo à dose de 13g por dia ( $\approx 227,5 \mu\text{g}$  de selênio).

Por ser um alimento de apresentação semelhante a uma farinha, o granulado de Castanha-do-Brasil possibilitou a elaboração de um placebo que foi utilizado para o mascaramento do estudo. O placebo (Mane do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) foi composto por farinha de mandioca torrada aromatizada (aroma de nozes) e levemente corada (corante natural caramelo) de forma a se aproximar da aparência e cheiro do granulado de Castanha-do-Brasil. Foi entregue 01 frasco de plástico branco opaco por mês contendo 430g de placebo, orientando-se o consumo diário de 01 colher medida nivelada, entregue junto com o frasco, perfazendo a dose de 10g por dia. A quantidade excedente de produto dos frascos deveria ser desprezada após o recebimento de um novo frasco. A Figura 6 mostra o aspecto visual de ambos os produtos.

O cálculo da dieta foi individualizado, baseado nas fórmulas de Valor Energético Total (VET) para homens e mulheres com idade maior ou igual a 19 anos, de acordo com

estado nutricional, sendo considerado o coeficiente de atividade física 1,0 (152). Então, foi descontado do VET calculado a quantidade de 64 Kcal, referente ao valor energético do granulado de Castanha-do-Brasil. A distribuição de macronutrientes foi balanceada e seguiu as recomendações para hipertensão arterial e dislipidemia (Quadro 1 e 2) (36, 59, 150).



Figura 6. Aspecto visual do granulado de Castanha-do-Brasil e do placebo, e o frasco onde eram envasados.

No primeiro dia de intervenção (T0), os indivíduos receberam um planejamento alimentar (Anexo H), previamente elaborado, distribuído em cinco ou seis refeições (café da manhã, colação, almoço, lanche, jantar e, opcionalmente, ceia) e uma lista de substituição (Anexo I) com todos os grupos de alimentos componentes do planejamento alimentar.

Os grupos de alimentos foram chamados de: grupos do pão (cereais café da manhã/lanche), grupo do leite, grupo das frutas, grupo das margarinas light, grupo do queijo, grupo do arroz (cereais e tubérculos), grupo do feijão (leguminosas), grupo das carnes (carne, frango e peixe), grupo das verduras (hortaliças A), grupo dos legumes (hortaliças B).

Para a obtenção do valor energético de cada grupo foram calculadas as médias da composição centesimal de todos os alimentos componentes de cada grupo, a partir das tabelas da USDA (153), IBGE(154) e TACO(139). O número de porções era ajustado para alcançar o valor calórico das dietas prescritas.

Além disso, os indivíduos receberam um exemplo de cardápio semanal (Anexo J) e orientações nutricionais compostas de instruções de preparo de alimentos, alimentos a serem evitados, e a quantidade de óleo para o preparo de alimentos (Anexo K).

Quadro 1. Recomendações para o planejamento dietético.

Nutrientes	Recomendações diárias *
Proteína	15% do VET
Carboidrato	50 – 60 % do VET
Lipídeo	25 – 35% do VET
Ácidos graxos saturados	< 7% do VET
Ácidos graxos monoinsaturados	≤ 20% do VET
Ácidos graxos poliinsaturados	≤ 10% do VET
Colesterol	< 300mg
Fibra	20 – 30g
Sódio	2,4g **

Fonte: \* Sposito *et al.* (2007), \*\* V Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (2010)

Quadro 2. Recomendações dietéticas para a redução da hipercolesterolemia

	<b>Preferir</b>	<b>Consumir com moderação</b>	<b>Ocasionalmente em pouca quantidade</b>
Cereais	Grãos integrais	Pão refinado, arroz e massas, biscoitos,	Pães doces, bolos, tortas, <i>croissants</i> , cereais açucarados
Vegetais	Vegetais crus e cozidos		Vegetais preparados na manteiga ou creme
Leguminosas	Todos, incluindo soja		
Frutas	Frescas ou congeladas	Frutas secas, geleia diet	
Doces e adoçantes	Adoçantes não calóricos	Mel, chocolates, doces	Bolos e sorvetes
Carnes e peixes	Peixe, frango sem a pele, cortes de carne bovina magra	Carne de porco, frutos do mar	Salsichas, salames, toucinho, costelas, vísceras
Alimentos lácteos e ovos	Leite e iogurte desnatados, clara de ovos	Leite semidesnatado, queijos brancos e derivados magros	Queijos amarelos e cremosos, gema de ovo, leite e iogurte integrais
Molhos para temperar e cozinhar	Vinagre, limão	Óleos vegetais, margarinas leves, molhos de salada, maionese	Manteiga, margarinas sólidas, gorduras de porco e trans, óleo de coco
Preparo dos alimentos	Grelhados, cozidos e no vapor	Assados e refogados	Fritos

Fonte: Adaptado de V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (2013).

### 5.5 COMPOSIÇÃO DO GRANULADO DE CASTANHA-DO-BRASIL

A composição centesimal, conteúdo de selênio e capacidade antioxidante foram realizados em amostras dos lotes de produção dos anos 2011, 2012 e 2013. O teor de

selênio foi determinante para o estabelecimento da quantidade de granulado a ser oferecido na intervenção nutricional.

O conteúdo de selênio foi analisado de acordo com o método descrito por Benicasa et al. (155) e adaptado para utilizar 0,3 g de amostra, 6 mL de ácido nítrico bidestilado e 3mL de peróxido de hidrogênio (ambos da Merck®, Alemanha). As amostras foram decompostas em forno de microondas (Provecto Analítica DGT 100 plus). As soluções resultantes foram transferidas para um frasco de polietileno e diluídas para 50 ml com água destilada e deionizada (Sistema MilliQ, Millipore, USA, resistividade mínimo de 18 cm ohms). A leitura do isótopo  $^{77}\text{Se}$  foi realizada por ICP-MS (Agilent 7500 CX). A precisão foi avaliada por testes de recuperação e análise de um material de referência certificado (DOLT-3). Foram observadas as recuperações de aproximadamente 100%.

A umidade, cinzas, gordura bruta, fibra bruta e proteína ( $N \times 6,25$ ) foram determinadas de acordo com os métodos padrão (156). Teor de fibra bruta foi determinado por digestão alcalina e ainda ácida (90 °C durante 1 hora) num digestor de fibra (Marconi, MA-444, Brasil). O teor de carboidratos disponíveis foi determinado pela diferença em relação aos teores de proteína, gordura, umidade, cinzas e fibra bruta. Valores calóricos foram calculados utilizando o sistema de fator geral Atwater: carboidratos (4 kcal g<sup>-1</sup>), lipídeos (9 kcal g<sup>-1</sup>) e proteína (4 Kcal g<sup>-1</sup>). Todas as análises foram realizadas em quadruplicatas. A composição de ácidos graxos foi avaliada pelos métodos MA-CQ.014 (157, 158).

As amostras de granulado de Castanha-do-Brasil foram extraídas com metanol 50% (II) (159). Foram pesados 10 g de amostra e diluídos em 20 ml de solução de extração sob agitação ao abrigo da luz, durante 1 hora. Os extratos foram filtrados e diluídos para 100 ml com água destilada.

#### Compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais das amostras foi determinado de acordo com o método de *Folin Ciocalteu*, como descrito por Singleton & Rossi, com ligeiras modificações (160). No ensaio, foram utilizados 0,5 mL dos extratos (20, 50 e 100 mg.ml<sup>-1</sup>), 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 4%. A leitura foi realizada após duas horas espectrofotômetro a 750 nm. O ácido gálico, no intervalo de concentração

específica (0-100 mg.mL<sup>-1</sup>), foi utilizado para construir uma curva de calibração. A concentração de compostos fenólicos, nas amostras, é expressa como equivalentes de ácido gálico, os quais refletem o conteúdo fenólico que a quantidade de ácido gálico em mg por grama de peso seco das amostras. Os compostos fenólicos totais nas amostras foram analisados em triplicatas.

#### Ensaio 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH)

Foi realizada por captura de radical DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazilo). Para a análise das amostras foram adicionados 3 mL de solução de metanol de DPPH, uma alíquota de 0,5 ml de amostras (20, 50 e 100 mg.ml<sup>-1</sup>), contendo diferentes extratos. As leituras foram feitas em um espectrofotômetro a 517 nm, 30 minutos após o início da reação. Todas as determinações foram realizadas em triplicado e incluíram um controle (sem antioxidante). O declínio da leitura da densidade óptica das amostras foi correlacionado com o controle, que estabelece a percentagem de descoloração DPPH. Permitindo calcular, após o estabelecimento do equilíbrio da reação, a quantidade de antioxidante gasta para reduzir DPPH 50% (CE50) (161).

#### Capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC)

A capacidade de eliminação do radical cátion (2,2-azino-di [3-etilbenzotiazolino sulfonato]) (ABTS +) foi medida, utilizando o método descrito por Van den Berg *et al* (162) e modificado por Siriwardhana & Shahidi (163). Trolox (6-hidroxi ácido 2,5,7,8 tetrametilcroman-2-carboxílico) foi usado como um antioxidante padrão e para o cálculo da capacidade eliminadora dos extratos de granulado de Castanha-do-Brasil como TEAC. A atividade de eliminação de radicais do granulado de Castanha-do-Brasil foi calculada como  $\mu\text{Mol trolox/g}$  de amostra em 07 min. A leitura das absorvâncias ocorreu a 734nm.

#### Método de redução do ferro (FRAP)

O FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) dos extratos foi mensurado(152). O reagente FRAP foi preparado a partir de solução TPTZ (10 mmol / L) em ácido clorídrico

(40 mmol / L) e solução de FeCl<sub>3</sub> (20 mmol / L), misturados com tampão de acetato (0,3 mol / L, pH 3,6). A absorção a 593 nm foi medida. A capacidade antioxidante (FRAP) foi expressa em equivalentes de Fe<sup>3+</sup> + (mmol Fe<sup>3+</sup> + / g de amostra). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 5.6 QUESTIONÁRIOS DE INFORMAÇÕES GERAIS

Foi aplicado um questionário para obtenção de informações sócio-demográficas, de doença atual, doença pregressa, utilização de medicamentos e hábitos de vida.

Foram considerados idosos os indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos de acordo com o Estatuto do Idoso (164).

Para avaliar a atividade física foi utilizado um questionário já validado na população brasileira (165). Foram considerados como fisicamente ativos os pacientes que realizavam pelo menos 150 min. de exercício de intensidade moderada por semana, de acordo com a recomendação internacional (166).

O hábito de fumar foi categorizado em não fumante ou fumante, e o hábito do etilismo em presente ou ausente. Considerou-se ex-fumante de acordo com a OMS aqueles, que, após terem sido fumantes, deixaram de fumar há pelo menos um mês(167).

O recordatório alimentar de 24h (R24h) foi aplicado em todas as consultas, com a finalidade de avaliar a ingestão alimentar e para controlar possíveis fatores de confundimento.

## 5.7 AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE ALIMENTOS E NUTRIENTES

Os R24h tiveram as medidas caseiras dos alimentos consumidos identificadas e convertidas para gramatura segundo tabela de equivalentes e medidas caseiras (168). Em seguida, esses dados foram inseridos no programa *Food Processor* versão 7.2 (EshaResearch, Salem, EUA, 1998) para o cálculo do valor energético total (VET), macronutrientes (carboidratos, proteínas, lipídeos totais e ácidos graxos), fibras e Se.

## 5.8 CÁLCULO DO ÍNDICE DE QUALIDADE DA DIETA REVISADO

Para avaliação da qualidade da dieta foi utilizado o índice de qualidade da dieta revisado (IQD-R) para a população brasileira (126) nos R24h dos tempos iniciais e finais de cada intervenção (T0, T90, T120 e T210). O IQD-R foi baseado nas recomendações do Guia Alimentar da População Brasileira (2006) (125), da Organização Mundial de Saúde (OMS) (169), do *Institute of Medicine* (170), no *Healthy Eating Index 2005* (HEI-2005) (123) e da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) (150).

O IQD-R avalia 12 componentes, sendo 9 referentes a grupos de alimentos: (1) frutas totais (inclui frutas e sucos de frutas naturais), (2) frutas integrais (exclui sucos de frutas), (3) vegetais totais (inclui leguminosas apenas depois que a pontuação máxima de carnes, ovos e leguminosas for atingida), (4) vegetais totais (vegetais verde-escuros, alaranjados e leguminosas), (5) cereais totais (representa o grupo dos cereais, raízes, tubérculos e alimentos ricos em carboidratos, tais como biscoitos, massas, batatas e outros, considerados a base energética do consumo alimentar da população brasileira), (6) cereais integrais, (7) leite e derivados (inclui leite e derivados e bebidas à base de soja), (8) carnes, ovos e leguminosas e (9) óleos (incluem as gorduras mono e poli-insaturadas, óleos das oleaginosas e gordura de peixe); e dois nutrientes: (10) gordura saturada e (11) sódio e, por fim, o componente (12) Gord\_AA que representa a soma do valor energético, proveniente da gordura sólida, álcool e açúcar de adição. Para a obtenção da pontuação de cada um dos componentes do IQD-R, todos os alimentos do R24h foram agrupados conforme os componentes do IQD-R. Para o cálculo do número de porções pela densidade energética, foi utilizado o valor total das calorias do grupo de alimento e o valor das calorias por grupo indicados pelo Guia Alimentar e aplicado à seguinte equação: 
$$= (\text{total das calorias do grupo} / \text{caloria do grupo pelo Guia}) \times 1000 / \text{Valor Energético Total (VET) do R24h}.$$

Foi atribuída uma pontuação de acordo com a ingestão alimentar. Então, atribuiu-se pontuação máxima (cinco ou 10 pontos) para a ingestão maior ou igual às porções recomendadas dos grupos de alimentos por 1.000 kcal, zero para ausência do consumo, e valores intermediários foram calculados proporcionalmente à quantidade consumida (Quadro 3).

Quadro 3. Critérios para cálculo do IQD-R.

	Pontuação máxima	Critérios para pontuação máxima		Critérios pontuação mínima ou intermediária
		por 1000 kcal	Kcal/porção	
IQD-R	100			
Cereais totais <sup>a</sup>	10	2,0 porções	150 Kcal	} 0 → Ausência de consumo Cálculo proporcional
Cereais integrais		1,0 porção	150 Kcal	
Frutas totais <sup>b</sup>	5	1,0 porção	70 Kcal	
Frutas inteiras <sup>c</sup>	5	0,5 porção	70 Kcal	
Vegetais totais <sup>d</sup>	5	1,0 porção	15 Kcal	
Vegetais verde-escuros e alaranjados <sup>d</sup>	5	0,5 porção	15 Kcal	
Carnes, ovos e leguminosas	10	1,0 porção	190 Kcal	
Leite e derivados <sup>e</sup>	10	1,5 porções	120 Kcal	
Óleos <sup>f</sup>	10	0,5 porção	73 Kcal	
Gordura saturada	10	≤ 7% do VET	---	0 → ≥ 15% do VET 8 → 10% do VET
Sódio	10	≤ 0,7g	---	0 → ≥ 2,0g/1000 Kcal 8 → 1g/1000 kcal
Gord_AA	20	≤ 10% do VET	---	0 → ≥ 35% do VET Cálculo proporcional

<sup>a</sup> Cereais totais: representa o grupo dos Cereais, raízes e tubérculos; <sup>b</sup> Inclui frutas e sucos de frutas naturais; <sup>c</sup> Exclui frutas de sucos; <sup>d</sup> Inclui leguminosas apenas depois que a pontuação máxima de Carnes, ovos e leguminosas for atingida; <sup>e</sup> Inclui leite e derivados e bebidas à base de soja; <sup>f</sup> Inclui as gorduras mono e poli-insaturadas, óleos das oleaginosas e gordura de peixe. Gord\_AA: gordura sólida, álcool e açúcar de adição

**Fonte:** Adaptado de Previdelli et al. 2011.

A pontuação máxima da gordura saturada foi atribuída quando o indivíduo consumia menos que 7% do VET de ácidos graxos saturados na dieta, o ponto de corte intermediário (10% do VET) correspondeu a 8 pontos, e o consumo acima de 15% do VET foi pontuado como zero(126). A pontuação máxima para sódio ocorreu para o consumo 750mg/1000 kcal (10 pontos). A pontuação intermediária foi baseada no valor máximo

estipulado pelo Guia Alimentar da População Brasileira (125)1000mg/1000 kcal (8 pontos), e zero correspondeu ao consumo  $> 2000$  mg/1000 kcal. No grupo Gord\_AA foi atribuída a pontuação máxima (20 pontos) para o consumo  $\leq 10\%$  do VET e zero para consumo  $\geq 35\%$ , para pontuação intermediária foi realizado cálculo proporcional. Os componentes do IQD-R foram investigados separadamente sob dois aspectos: a frequência da pontuação máxima e a contribuição energética para o VET no início e fim de cada intervenção nutricional. Foi calculada a mudança do IQD-R entre o início e o fim de cada intervenção, e este valor foi categorizado em maior que zero, representando aumento do IQD-R, e menor que zero, representando redução do IQD-R. Essas categorias foram utilizadas para identificar uma possível associação entre o aumento na qualidade da dieta e a evolução dos parâmetros antropométricos, clínicos e bioquímicos.

Para avaliação dos alimentos ultraprocessados, foi quantificada a ocorrência de consumo de alimentos como biscoitos, embutidos, refrigerantes, sucos industrializados, e ingredientes de adição açúcar, sódio e óleo vegetal (171) no R24h. Foi calculada a energia desses alimentos e valores expressos em Kcal.

## 5.9 VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E PRESSÃO ARTERIAL

A avaliação antropométrica consistiu na aferição de peso (Kg), estatura (m) e perímetro da cintura (cm), cálculo do índice de massa corporal (IMC) e razão Cintura/Estatura (RCEst).

O peso corporal (Kg) foi avaliado utilizando-se balança antropométrica eletrônica (Filizola®, São Paulo, Brasil) com capacidade máxima de 180 Kg e precisão de 100g, posicionada sob superfície plana. Os pacientes eram pesados descalços, portando roupas leves (172).

A estatura foi aferida, em metros, por meio de estadiômetro (acurácia de 1mm, Standard Sanny®, São Paulo, Brasil) acoplado a balança, com os pacientes descalços, cabeça posicionada na posição de Frankfurt com os braços estendidos ao longo do corpo (172).

A partir das medidas de peso e estatura, foi calculado o IMC, definido como: peso (kg)/estatura<sup>2</sup>(m<sup>2</sup>) (173). A RCEst foi calculada como: Cintura (cm)/Estatura (cm) (174).

O perímetro da cintura (PC em cm) foi aferido com fita métrica inextensível e flexível (acurácia de 0,1 cm, Standard Sanny®, São Paulo Brasil), com o indivíduo na posição ereta, abdômen relaxado, braços ao lado do corpo e os pés juntos, sendo a medida realizada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca(173). Foram considerados os seguintes pontos de corte para PC: homens PC  $\geq 102$  cm e mulheres PC  $\geq 88$  cm (173).

O índice de adiposidade visceral (IAV) (175) também foi calculado por meio das fórmulas:

$$\text{Homens: IAV} = (\text{PC} / 39,68 + (1,88 \times \text{IMC})) \times (\text{TG} / 1,03) \times (1,31/\text{HDL-c})$$

$$\text{Mulheres: IAV} = (\text{PC} / 36,58 + (1,89 \times \text{IMC})) \times (\text{TG} / 0,81) \times (1,52/\text{HDL-c})$$

Em que, PC = perímetro da cintura em cm; IMC = índice de massa corporal em Kg/m<sup>2</sup>; TG = triglicerídeos em mmol/L (fator de conversão: TG mg/dL / 88,57); HDL-c: lipoproteína de alta densidade em mmol/L (fator de conversão: HDL-c mg/dL / 38,67).

Foram avaliadas a pressão arterial sistólica (PAS) e a diastólica (PAD) por meio de um esfigmomanômetro; aferidas duas vezes por profissional treinado, com intervalo de 1min, imediatamente antes da realização do exame da reatividade microvascular e o valor médio entre as duas aferições foi utilizado como a pressão arterial do paciente(35). Foi considerada pressão arterial aumentada, quando PA Sistólica  $\geq 140$  mmHg ou PA diastólica  $\geq 90$  mmHg (35). A pressão arterial média (PAM) foi calculada como PAD + 1/3 (PAS-PAD) e foi utilizada no cálculo da avaliação da função endotelial.

## 5.10 VARIÁVEIS LABORATORIAIS

As amostras de sangue foram coletadas após 12 horas de jejum noturno e as avaliações bioquímicas foram realizadas por meio de método automatizado (ARCHITECT ci8200, Abbott ARCHITECT®, Abbott Park, IL, EUA), utilizando kits comerciais (Abbott ARCHITECT c8000®, Abbott Park, IL, EUA). Foram avaliadas as concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol (HDL-c). Os valores de LDL-

colesterol (LDL-c) foram calculados pela fórmula de Friedewald *et al* (176) quando Triglicerídeos < 400mg/dL.

Foram calculados os índices Triglicerídeos/HDL-c (177) e Log10 (Triglicerídeos/HDL-c) que representam o índice aterogênico do plasma (178).

O HDL-c foi categorizado em níveis adequados quando > 40mg/dL em homens ou >50mg/dL em mulheres, triglicerídeos aumentados quando  $\geq$  150mg/dL, e LDL-c aumentado quando >100mg/dL(59). Utilizou-se a meta tolerável da glicemia de jejum (< 130 mg/dL) para avaliar o controle glicêmico dos diabéticos (179).

As concentrações de selênio plasmático foram analisadas em amostras de plasma coletadas em tubos NH Elementos Traços com heparina sódica (VACUETTE®) armazenadas a -20°C até a realização das análises. As análises foram conduzidas no espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (NexIon™ 300X, Perkin Elmer, Massachusetts, EUA)(180). As amostras de plasma (0,5 g) foram adicionadas de 0,5 mL de ácido nítrico e diluídas com água para 5,0 mL de volume final. As concentrações do isótopo <sup>80</sup>Se foram monitoradas, em razão da baixa concentração de selênio encontrado em amostras de plasma. Além disso, as análises foram realizadas no modo DRC com 0,75mL min<sup>-1</sup> de metano para controlar as interferências. As concentrações de selênio plasmático foram utilizadas como marcador de adesão ao consumo dos produtos. Se plasmático baixo foi considerado quando <90 µg/L(181).

A atividade antioxidante da glutathione peroxidase plasmática (GPx3) foi determinada por ensaio colorimétrico (Cayman Inc., USA) baseado no método de Paglia & Valentine (182) com sensibilidade de 50 nmol/min/mL, coeficiente de variação intra-ensaio 5,7% e coeficiente de variação inter-ensaio 7,2%.

A capacidade antioxidante total (CAOT) foi avaliada no plasma por meio da atividade de varredura do radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)(183). O ensaio foi realizado por meio da adição de 20µl de plasma a 380µl de tampão fosfato de sódio (pH 7,4) e, posteriormente, a 400µl de solução 0,1mM de DPPH em metanol. A mistura foi incubada durante 30 minutos à temperatura ambiente ao abrigo da luz e, logo em seguida, a absorbância das amostras a 520nm foi medida em espectrofotômetro (Sequoia-Turner modelo 340, Sequoia-Turner Corp. Mountain View, CA) e comparada ao padrão, contendo apenas a solução de DPPH. Os resultados foram expressos em percentual de descoloração

do radical DPPH, isto é, o sequestro ou varredura de radicais livres, calculado pela fórmula: % de Varredura:  $(\text{AbsP}-\text{AbsAm}) / \text{AbsP} * 100$ .

Como marcador de estresse oxidativo, foram dosados, no plasma, o 8-isoprostano (8-epi PGF $2\alpha$ ) e LDL-oxidada. O 8-epi PGF $2\alpha$  foi determinado com kit comercial (Cayman Inc., USA) pelo método de ELISA (184, 185) e apresenta sensibilidade 2,7pg/mL.

A LDL-oxidada foi determinada com kit comercial (MercoDIA, Uppsala, Sweden) baseado no método de ELISA (186, 187). As amostras foram diluídas em 1:6400. O kit apresenta coeficiente de variação intra-ensaio = 6.13% e sensibilidade = 0.05 ng/ml.

A concentração plasmática total de nitrito e nitrato (NO $_2^-$ +NO $_3^-$ ) foi avaliada com kit comercial (Cayman Inc., USA), baseado em ensaio colorimétrico com reação de Griess (188). O kit comercial possui sensibilidade de 2,5 $\mu$ M e 2,7% de coeficiente de variação intra-ensaio.

#### 5.11 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR

A reatividade microvascular cutânea foi avaliada por meio da técnica de *Laser Speckle Contrast Imaging* (fluxometria laser *speckle*), segundo protocolo estabelecido previamente (104), padronizada e validada (189, 190). O sistema de fluxometria de laser *speckle* (comprimento de onda de 780 nm; PeriCam PSI-NR, Perimed AB, Järfälla, Suécia) acoplado ao sistema farmacológico de microiontoforese (PeriIont, Perimed AB) foi utilizado para a avaliação não-invasiva e em tempo real das variações de fluxo microvascular independentes (estímulo acetilcolina) e dependente (hiperemia reativa pós-oclusiva - HRPO) do endotélio. As imagens foram analisadas pelo software do fabricante (PIMSoft, Perimed, Järfälla, Sweden). Para esta avaliação os pacientes permaneceram 20min. em repouso na posição supina em ambiente com temperatura controlada ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e cerca de 1h após refeição leve. Todos os indivíduos fizeram uso das suas medicações habituais na manhã do teste. Os tabagistas eram aconselhados a permanecer 4h sem fumar antes da realização do estudo. As medidas de fluxo microvascular cutâneo foram expressas em unidades arbitrárias de perfusão (UAP) de acordo com o consenso europeu (*European Laser Doppler User's Groups*, London 1992) e foram divididas pela PAM para gerar dados

de Condutância Vascular Cutânea (CVC), expressas como unidades arbitrárias de perfusão por mmHg (UAP/mmHg).

A densidade capilar funcional (DCF) média, ou seja, o número de capilares funcionais em 01 mm<sup>2</sup> de pele dos pacientes foi avaliada através de microscopia intravital de alta resolução em cores (Moritex, Cambridge, UK) na pele do dorso da segunda falange do dedo médio da mão não dominante, tal como foi descrito detalhadamente por Antonios et al. (191, 192). A aquisição e análise posterior das imagens foram realizadas através de sistema integrado semi-automático (Microvision Instruments, Evry, France). Foi avaliado o período sem estímulo e na hiperemia reativa pós-oclusiva induzida pelo bloqueio do fluxo sanguíneo arterial durante 3 min. através de manguito de esfigmomanômetro inflado a 50 mmHg acima da pressão sistólica no braço dos indivíduos. As imagens foram gravadas 30 - 60 segundos após a liberação do fluxo arterial (pico da resposta hipêremica pós-isquêmica). A contagem do número total de capilares por campo microscópico (1 mm<sup>2</sup>) foi realizada através de programa de análise de imagens semiautomático calibrado previamente (Saisam, Microvision Instruments, Evry, France) em três campos microscópicos contíguos.

## 5.12 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

O cálculo amostral foi realizado com uma amostra piloto dos primeiros 10 participantes, considerando o valor de incremento de 15 nmol/mim/mL, correspondente a 15% na atividade GPx3 após a intervenção com Castanha-do-Brasil. Foi considerado poder de 80% e intervalo de confiança de 95% bilateral. O tamanho amostral calculado foi 63 por grupo e a ele foi acrescido 30% para contabilizar possíveis perdas, totalizando 81.

As análises estatísticas foram conduzidas no software IBM® SPSS® *Statistics* versão 21. Foram incluídos, na análise estatística, apenas os pacientes que concluíram o estudo. Os resultados foram apresentados como média ± DP ou Mediana (25% - 75%). A normalidade das variáveis foi investigada, usando o teste *Kolmogorov-Smirnov*. Para avaliar as diferenças nas variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado para avaliação intergrupos e o teste Mc Nemar para avaliação de dados categóricos pareados ao longo do tempo. Para comparação dos teores de polifenóis e atividade antioxidante do

granulado de Castanha-do-Brasil com dados da Castanha-do-Brasil inteira e da película da Castanha-do-Brasil, provenientes de outro estudo, foi utilizado o teste *One-Way* ANOVA. Para avaliar o efeito intragrupos de intervenção (Castanha-do-Brasil e Placebo) nos parâmetros de consumo alimentar, antropométricos e laboratoriais paramétricos foi utilizado o teste ANOVA de medidas repetidas (ANOVA-R) e considerada a estatística de multivariada por meio do teste Wilk's Lambda. Para os dados não paramétricos de consumo alimentar, antropometria e laboratoriais foi aplicado o teste *Friedman*. Foi considerado o fator intergrupos do teste ANOVA-R na comparação entre os grupos de intervenção para as mesmas variáveis paramétricas. Para a comparação entre grupos das variáveis não paramétricas foi calculada a taxa de variação mensal e utilizado o Teste *t Student*. Os parâmetros da microcirculação sistêmica foram testados por meio do Teste *t Student* pareado ou *Wilcoxon Signed Ranks*, enquanto que o efeito entre os grupos de intervenção foi avaliado pelo teste Teste *t Student* ou *Mann-Whitney U* de acordo com a distribuição das variáveis. Para investigar a associação entre a atividade da GPx3 e a LDL-oxidada ou o 8-epi PGF2 $\alpha$  foi realizado o modelo de regressão linear múltipla, considerando o fator entre grupos de intervenção, e em seguida ajustada para sexo, idade, diabetes, tabagismo e IMC. Considerou-se como valor de significância  $p < 0,05$ .

## 6 RESULTADOS

Cento e trinta e sete pacientes foram recrutados. Destes, 136 eram elegíveis ao estudo, porém 11 se recusaram a participar, por falta de disponibilidade de tempo. Com isso, 125 pacientes foram randomizados, destes 91 concluíram todas as etapas do estudo, ocasionando uma perda de 27,2%. A Figura 7 mostra o fluxo de acompanhamento dos pacientes e as perdas ao longo do estudo. A perda de seguimento foi maior durante a intervenção com o granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil, porém não houve nenhum relato de desistência relacionado ao uso ao produto.

Os indivíduos que completaram o estudo eram mais velhos, apresentavam menor escolaridade e maior controle glicêmico (Tabela 1). Em relação aos demais parâmetros, não houve diferença entre as perdas de seguimento e os pacientes que concluíram o estudo.

A maior parte do grupo estudado era idoso (57,1%) e não houve diferença entre a frequência dos gêneros. As principais comorbidades foram diabetes (46,2%) e sobrepeso/obesidade (67,0%). Foram observados 29,7% (n = 27) de obesidade e 62,6% dos pacientes apresentaram acúmulo excessivo de gordura abdominal no início do estudo. Os principais eventos e procedimentos clínicos foram infarto agudo do miocárdio (IAM) e cirurgia de revascularização do miocárdio (CRM) (Tabela 1). A média do tempo de diagnóstico de Diabetes, HAS e dislipidemia foi de aproximadamente 10 anos e 50% da população apresentou tempo de HAS maior que 9 anos e de dislipidemia maior que 8 anos. Dentre os diabéticos, metade dos indivíduos apresentou tempo de doença maior que 8 anos.

A frequência de tabagismo foi alta e os ex-tabagistas representaram 61,5% (n=56) do grupo estudado. Também foi observada a alta frequência de etilismo e sedentarismo. A maior parte do grupo de estudo apresentou baixa escolaridade (Tabela 1).

As medicações mais usadas pelo grupo de estudo foram: estatinas (81,3%), fibratos (33%), hipoglicemiante oral (48,4%), simpaticolítico (72,5%), inibidores da enzima conversora de angiotensinogênio (53,8%), diuréticos (49,5%), bloqueadores do canal de cálcio (40,7%), bloqueador de receptor AT1 (36,3%), vasodilatadores (12,1%), AAS (65,9%).

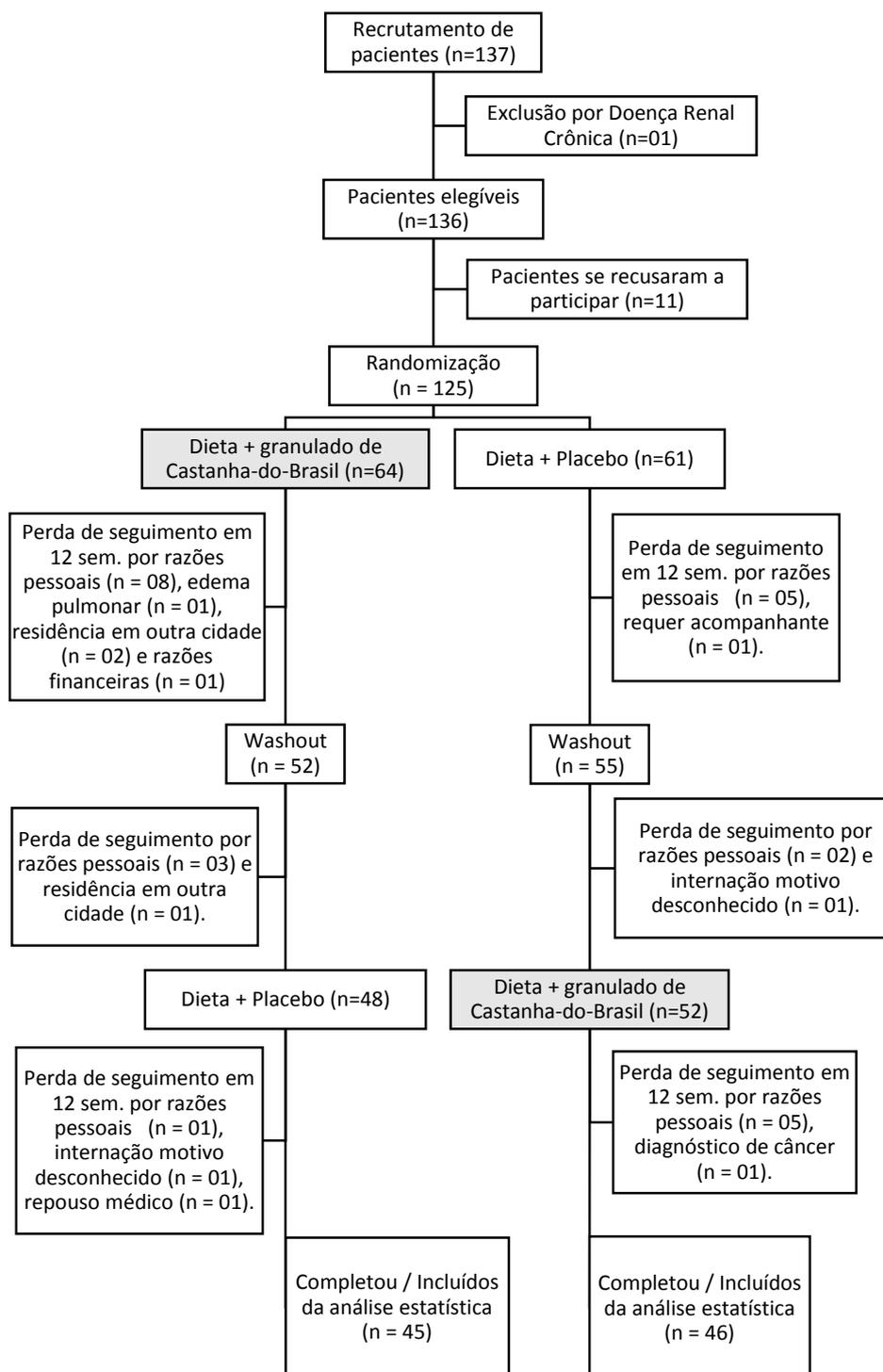


Figura 7. Fluxograma de pacientes em cada fase do estudo.

Tabela 1 – Características do grupo que completou o estudo comparado aos que não completaram o estudo.

	<b>Completo estudo/ Incluídos na análise estatística (n=91)</b>	<b>Não completou estudo (n = 34)</b>
Idade (anos) *	62,1 ± 9,3	56,9 ± 10,5
Sexo masculino – n (%)	47 (51,6)	19 (55,9)
Diabéticos – n (%)	42 (46,2)	17 (50,0)
Sobrepeso / Obesidade – n (%)	61 (67,0)	26 (78,8)
AVE – n (%)	06 (6,6)	02 (5,9)
IAM – n (%)	39 (42,9)	11 (32,4)
Angioplastia percutânea das coronárias – n (%)	22 (24,2)	08 (23,5)
CRM – n (%)	29 (31,9)	08 (23,5)
Angina – n (%)	36 (39,6)	16 (47,1)
Tempo de DM (anos)#	10,6 ± 11,2	11,2 ± 8,3
Tempo de HAS (anos)	11,8 ± 9,7	10,7 ± 8,6
Tempo de DLP (anos)	10,1 ± 9,7	9,3 ± 7,8
Tabagistas – n (%)	23 (25,3)	07 (21,9)
Etilistas – n (%)	32 (37,2)	09 (29,0)
Sedentarismo – n (%)	68 (74,7)	27 (79,4)
Estado civil (casado) – n (%)	54 (60,0)	20 (62,5)
Escolaridade – n (%) *		
0 – 9 anos	64 (71,1)	17 (53,1)
10 – 12 anos	18 (20,0)	14 (43,8)
≥ 12 anos	08 (8,9)	01 (3,1)
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28,8 ± 5,1	30,8 ± 5,5
PC (cm)	100,1 ± 12,3	104,4 ± 12,5
PAS (mmHg)	146,5 ± 28,7	137,9 ± 21,1
PAD (mmHg)	81,8 ± 13,7	83,2 ± 13,0
Glicose (mg/dL) §*	109,0 (90,0 - 137,0)	120,0 (102,5 - 174,0)
Triglicérido (mg/dL) §	153,0 (119,0 - 226,0)	211,0 (118,0 - 456,5)
Colesterol Total (mg/dL)	204,4 ± 61,7	217,7 ± 114,7
HDL-colesterol (mg/dL)	39,7 ± 12,3	35,8 ± 9,2
LDL-colesterol (mg/dL)	125,8 ± 54,8	116,8 ± 61,9

n (%), Média ± DP, Mediana (25<sup>o</sup> - 75<sup>o</sup> percentil). \* p < 0,05. Teste Qui-quadrado, Teste *t Student*, §Teste *Mann-Whitney U*. # Foram considerados apenas os diabéticos. DM: diabetes; HAS: Hipertensão arterial, DLP: dislipidemia; AVE: acidente vascular encefálico, IAM: infarto agudo do miocárdio, CRM: cirurgia de revascularização do miocárdio, IMC: índice de massa corporal, PC: perímetro da cintura, PAS: pressão arterial sistólica, PAD: pressão arterial diastólica, HDL: lipoproteína de alta densidade, LDL: lipoproteína de baixa densidade.

Embora todos os pacientes estivessem recebendo tratamento medicamentoso para dislipidemia e hipertensão, 60,4% apresentaram pressão arterial aumentada no início do estudo. Em relação às concentrações de lipídeos séricos, 94,5% dos pacientes apresentaram alguma alteração no perfil lipídico no início no estudo, sendo 52,7% triglicerídeos aumentados, 60,4% LDL-c aumentado e 33,3% apresentaram ambos os parâmetros alterados. Dentre os diabéticos, mais da metade não atingiu a meta tolerável de controle da glicemia (52,4%, n = 22).

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil, placebo e Castanha-do-Brasil. Pode ser observado que o granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil apresentou 42,7% de lipídeos e 26,3% de proteínas, diferentemente do placebo, com maior conteúdo de carboidrato. Dos ácidos graxos, o mais prevalente foi o poli-insaturado do tipo linoleico (n-6), seguido do ácido graxo monoinsaturado. O granulado de Castanha-do-Brasil também apresentou alto teor de fibra alimentar (19,9%).

Tabela 2. Composição nutricional do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil, placebo e Castanha-do-Brasil.

	Placebo <sup>2</sup> (10g)	Granulado de Castanha- do-Brasil (13g)	Castanha-do-Brasil <sup>3</sup> (13g)
Energia (kcal)	36,5	64,38 ± 1,51	85,28
Umidade (%)	8,3	5,84 ± 0,40	0,45
Carboidrato (g) <sup>1</sup>	8,92	0,17 ± 0,02	0,63
Proteína (g)	0,12	3,42 ± 0,04	1,86
Lipídeos (g)	0,03	5,56 ± 0,01	8,64
AG saturado (g)	0,01	1,31	1,96
16:0 (palmítico) (g)	0,009	0,76	1,18
18:0 (esteárico) (g)	0,001	0,52	0,75
AG monoinsaturado (g)	0,01	1,58	3,19
AG poli-insaturado (g)	Tr	2,10	2,67
18:3 (n-3) (g)	0,001	0,003	0,003
18:2 (n-6) (g)	0,003	2,09	2,7
<i>Trans</i> -isômeros totais (g)	NA	<0,001	Tr
Fibras (g)	0,65	2,58 ± 0,18	0,97
Cinzas (g)	0,10	0,50 ± 0,09	0,46
Selênio (µg)	0,07 <sup>3</sup>	227,5 ± 2,6	249,21

Dados representam a média ± desvio-padrão. NA: não analisado. Tr: traço.<sup>1</sup> Carboidrato calculado por diferença, exceto fibras.<sup>2</sup> Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO), NEPA-UNICAMP.<sup>3</sup> *National Nutrient Database for Standard Reference*, volume 26, 12078.

A composição do granulado de Castanha-do-Brasil se assemelhou à Castanha-do-Brasil, exceto pelo menor teor de lipídeos totais e ácidos graxos monoinsaturados e maior teor de proteína e fibra alimentar.

Foram avaliados, também, os polifenóis e a capacidade antioxidante do granulado de Castanha-do-Brasil, e foi observado que o Granulado de Castanha-do-Brasil apresentou teor de polifenóis totais livres similar à Castanha-do-Brasil, maior capacidade de redução do DPPH e maior captura do radical ABTS em relação à Castanha-do-Brasil inteira, como mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Teor de polifenóis e atividade antioxidante do granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil da Castanha-do-Brasil <sup>1</sup>.

	Granulado de Castanha-do-Brasil	Castanha-do-Brasil inteira <sup>1</sup>	Película da Castanha-do-Brasil <sup>1</sup>
Polifenóis livres <sup>a</sup>	265,1 ± 18,94 <sup>#</sup>	331,39 ± 21,51	1140,36 ± 81,83
Redução % de DPPH	30,93 ± 2,59* <sup>#</sup>	20,33 ± 1,56	95,34 ± 3,08
FRAP <sup>b</sup>	3,26 ± 0,43	---	---
Captura do radical ABTS <sup>c</sup>	51,37 ± 9,51* <sup>#</sup>	36,28 ± 2,49	92,82 ± 0,56

Média ± Desvio Padrão.<sup>1</sup> Fonte John & Shahidi (193): Extração com 80% metanol. Teste *One-Way* ANOVA e pós-teste Bonferroni. \* $p < 0,05$  Granulado de Castanha-do-Brasil vs. Castanha-do-Brasil; <sup>#</sup> $p < 0,05$  Granulado de Castanha-do-Brasil vs. Película da Castanha-do-Brasil. GAE: ácido gálico; DPPH: 2,2-difenil-1-picrylhydrazil; FRAP: Poder antioxidante de redução férrica; ABTS: 2,20-azino-bis (ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico) <sup>a</sup> Polifenóis livres expresso como mg de GAE/100g. <sup>b</sup>FRAP expresso como  $\mu\text{mol/sulfato ferroso /g}$ . <sup>c</sup> Captura do radical ABTS expresso como  $\mu\text{mol de trolox/g}$

Durante a intervenção nutricional com granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil foi observado aumento significativo da ingestão de lipídeos, devido ao aumento da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados ( $p < 0,001$ ), contribuindo para o aumento significativo da razão n6/n3 ( $p < 0,001$ ). Além disso, foi observado o aumento da ingestão de selênio ( $p < 0,001$ ), como já era esperado (Tabela 4). Não houve modificação da ingestão de carboidrato, proteína e fibras ao longo do estudo.

A Tabela 5 apresenta a contribuição dos grupos de alimentos para o Valor Energético Total (VET) da dieta. E, nesse caso, pode-se observar redução significativa do consumo de leguminosas em ambos os grupos de intervenção e, ainda, redução do consumo de frutas e aumento do consumo de gordura saturada no grupo Dieta + granulado de Castanha-do-Brasil.

A média geral do IQD-R, no início do estudo, foi  $72,3 \pm 10,55$  pontos. Não houve diferença do índice de qualidade da dieta entre os gêneros ( $p=0,144$ ), diabéticos e não diabéticos ( $p=0,382$ ), indivíduos tabagistas e não-tabagistas ( $p=0,493$ ), eutróficos e sobrepeso/obesidade ( $p=0,271$ ) e em diferentes níveis de escolaridade ( $p=0,270$ ). Contudo, os etilistas apresentaram índice de qualidade da dieta significativamente menor que os não-etilistas ( $66,1 \pm 9,8$  vs.  $72,7 \pm 10,6$ ;  $p= 0,009$ ; respectivamente).

Não foi observada mudança na média da qualidade da dieta durante o estudo em ambos os grupos de intervenção (Placebo de  $71,4 \pm 8,7$  para  $73,4 \pm 8,4$ ,  $p=0,053$ ; Castanha de  $73,0 \pm 9,0$  para  $72,0 \pm 8,6$ ,  $p=0,319$ ).

A Figura 8 analisa a frequência de pontuação máxima de cada componente do IQD-R isoladamente. Observa-se que um pequeno percentual do grupo de estudo atingiu o consumo recomendado de cereais integrais e leite e derivados, além disso, menos de 50% do grupo consumiu, adequadamente, cereais totais, frutas totais e integrais e gordura saturada. Houve redução significativa para a pontuação máxima da gordura saturada no grupo Dieta + granulado de Castanha-do-Brasil, que ocorreu em virtude do aumento de gordura saturada demonstrado na Tabela 5.

A investigação do consumo energético, proveniente de alimentos ultraprocessados como biscoitos, embutidos, refrigerantes e sucos industrializados, mostrou redução significativa do consumo de biscoitos, açúcar de adição, óleos vegetais independente da intervenção nutricional (Figura 9). Não houve diferença para o consumo de embutidos, sucos industrializados e sódio total em ambas as intervenções nutricionais. O consumo de sódio no início do estudo foi alto  $2964,7$  ( $2070,0 - 4090,9$ ) mg e  $2483,5$  ( $1944,5 - 3876,8$ )mg nos grupos placebo e castanha, respectivamente.

Tabela 4. Consumo de energia, macronutrientes, fibra alimentar e selênio ao longo do estudo de acordo com intervenção nutricional.

	Início	4 sem	8 sem	12 sem	p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>
VET (Kcal/dia)						
Placebo	1497,7 ± 587,9	1354,2 ± 584,5	1258,3 ± 578,2	1378,7 ± 594,2	*	NS
GCB	1385,0 ± 636,6	1444,2 ± 795,2	1373,4 ± 608,9	1355,1 ± 505,1	NS	
CHO (% VET)						
Placebo	51,6 (42,3 - 58,9)	53,1 (44,8 - 59,3)	53,7 (45,8 - 65,4)	55,1 (48,1 - 62,0)	NS	*
GCB	56,4 (46,1 - 64,1)	52,3 (43,9 - 61,9)	52,6 (43,9 - 59,9)	50,7 (44,6 - 57,7)	NS	
PTN (% VET)						
Placebo	22,4 (16,4 - 30,0)	23,1 (16,3 - 28,5)	21,0 (15,0 - 28,0)	22,0 (15,5 - 27,3)	NS	NS
GCB	21,8 (17,4 - 25,9)	20,3 (16,1 - 28,0)	19,6 (15,4 - 26,3)	21,2 (17,6 - 25,4)	NS	
LIP (% VET)						
Placebo	24,4 (18,3 - 31,6)	23,0 (17,7 - 30,2)	22,0 (16,2 - 31,0)	22,2 (21,6 - 34,3)	NS	*
GCB	21,1 (15,7 - 33,9)	25,0 (19,2 - 34,2)	25,4 (18,4 - 31,4)	28,2 (21,6 - 34,3)	*	
AGS (% VET)						
Placebo	7,2 (5,0 - 11,1)	7,1 (4,8 - 10,1)	6,8 (4,6 - 9,3)	6,7 (4,5 - 10,2)	NS	*
GCB	8,2 (4,1 - 10,8)	8,2 (5,3 - 11,9)	6,6 (5,0 - 11,1)	8,9 (5,4 - 12,6)	NS	
AGMI (% VET)						
Placebo	8,8 (5,4 - 12,9)	7,2 (3,8 - 11,9)	6,9 (3,7 - 12,9)	6,9 (4,5 - 13,2)	NS	*
GCB	7,3 (5,3 - 10,4)	8,2 (5,4 - 12,5)	8,2 (5,3 - 12,6)	9,8 (5,9 - 14,3)	NS	
AGPI (% VET)						
Placebo	2,9 (2,0 - 4,0)	2,7 (1,3 - 4,2)	2,5 (1,2 - 4,3)	2,6 (1,8 - 4,2)	NS	#
GCB	2,6 (1,8 - 4,2)	3,8 (2,8 - 5,8)	4,5 (3,0 - 7,1)	4,5 (3,2 - 7,1)	#	
AG n6/n3						
Placebo	7,7 ± 6,7	7,7 ± 4,7	7,8 ± 4,7	8,2 ± 4,3	NS	#
GCB	6,9 ± 4,3	12,3 ± 6,0	14,7 ± 7,5	15,6 ± 11,0	#	
Fibras (g/dia)						
Placebo	21,0 ± 11,6	20,9 ± 18,3	18,6 ± 10,9	18,9 ± 9,9	NS	NS
GCB	19,4 ± 12,0	22,2 ± 11,7	22,0 ± 10,4	21,0 ± 10,3	NS	
Se (µg/dia)						
Placebo	62,8 ± 44,7	59,0 ± 44,6	58,6 ± 46,8	58,5 ± 33,7	NS	#
GCB	57,5 ± 42,7	276,9 ± 36,4	281,9 ± 47,8	282,8 ± 36,9	#	

Os valores são expressos como Média ± Desvio Padrão ou Mediana (Percentil 25 – 75). \* p < 0,05 e # p < 0,001. p<sup>1</sup> Teste de ANOVA-R ou *Friedman* para modificação ao longo do tempo do estudo (início, 4 sem, 8 sem e 12 sem) em cada intervenção nutricional. p<sup>2</sup> Teste ANOVA-R fator entre grupos ou Teste Mann-Whitney para taxa variação ao longo do tempo (variáveis não-paramétricas). VET: Valor energético total; CHO: carboidrato; PTN: proteína; LIP: lipídeos; AGS: ácido graxo saturado; AGMI: ácido graxo monoinsaturado; AGPI: ácido graxo poli-insaturado; AG n6/n3: razão entre os ácidos graxos linoleico e linolênico; Se: selênio, Sem: semanas.

Tabela 5. Contribuição dos grupos de alimentos para o Valor Energético Total (VET) de acordo com a intervenção nutricional.

Grupos de alimentos (% VET)	Todos			Dieta + Placebo			Dieta + Castanha-do-Brasil			p <sup>2</sup> (12 sem)	p <sup>3</sup> (Δ)
	Início	12 sem	p <sup>1</sup>	Início	12 sem	p <sup>1</sup>	Início	12 sem	p <sup>1</sup>		
Cereais totais <sup>a</sup>	<b>30,7</b> (21,8 - 41,6)	<b>33,7</b> (26,9 - 43,7)	0,143	<b>31,4</b> (22,0-44,1)	<b>35,0</b> (27,9-44,4)	0,157	<b>29,8</b> (21,7 - 42,1)	<b>32,2</b> (24,7 - 43,0)	0,493	0,208	0,640
Frutas totais <sup>b</sup>	<b>6,6</b> (1,3 - 12,5)	<b>6,4</b> (1,5 - 11,7)	0,563	<b>5,7</b> (0,0-10,2)	<b>7,8</b> (2,0-13,8)	0,201	<b>7,4</b> (2,1 - 14,3)	<b>4,6</b> (0,7 - 10,5)	0,042	0,058	0,023
Frutas integrais <sup>c</sup>	<b>2,9</b> (0,0 - 7,0)	<b>3,8</b> (0,0 - 7,7)	0,311	<b>2,1</b> (0,0-6,8)	<b>4,0</b> (0,0-8,7)	0,055	<b>3,1</b> (0,0 - 7,4)	<b>3,4</b> (0,0 - 7,3)	0,680	0,346	0,117
Vegetais totais <sup>d</sup>	<b>1,6</b> (0,7 - 2,8)	<b>1,6</b> (0,8 - 2,8)	0,590	<b>1,7</b> (0,7-2,8)	<b>1,6</b> (0,7-3,0)	0,492	<b>1,5</b> (0,7 - 2,8)	<b>1,6</b> (0,8 - 2,7)	0,982	0,818	0,583
Vegetais verde-escuros e alaranjados <sup>d</sup>	<b>0,07</b> (0,0 - 1,1)	<b>0,00</b> (0,0 - 1,0)	0,155	<b>0,3</b> (0,0-1,2)	<b>0,0</b> (0,0-1,1)	0,122	<b>0,0</b> (0,0 - 0,9)	<b>0,0</b> (0,0 - 1,0)	0,747	0,894	0,327
Carnes e ovos	<b>20,9</b> (11,6 - 31,8)	<b>19,5</b> (12,4 - 28,4)	0,338	<b>22,7</b> (11,7-32,8)	<b>18,8</b> (11,6-28,2)	0,428	<b>19,7</b> (11,2 - 30,5)	<b>20,4</b> (12,7 - 28,9)	0,659	0,781	0,733
Leguminosas	<b>6,6</b> (1,7 - 11,1)	<b>5,6</b> (0,0 - 8,1)	0,029	<b>6,7</b> (0,0-10,6)	<b>5,6</b> (1,7-7,9)	0,337	<b>6,6</b> (2,4 - 12,7)	<b>5,6</b> (0,0 - 8,9)	0,037	0,953	0,451
Leite e derivados <sup>e</sup>	<b>7,2</b> (2,5 - 13,7)	<b>7,8</b> (3,0 - 13,2)	0,780	<b>7,3</b> (2,8-13,7)	8,0 (3,7-13,1)	0,903	<b>6,7</b> (2,1 - 13,7)	<b>7,8</b> (2,9-13,5)	0,790	0,637	0,882
Óleos <sup>f</sup>	<b>7,0</b> (3,3 - 10,5)	<b>5,5</b> (3,0 - 9,2)	0,117	<b>7,9</b> (3,5-11,4)	<b>5,4</b> (2,8-9,2)	0,017	<b>5,0</b> (2,9-9,5)	<b>5,6</b> (3,4-9,0)	0,631	0,937	0,020
Gordura saturada	<b>7,1</b> (5,6 - 9,2)	<b>7,9</b> (6,2 - 9,9)	0,095	<b>7,9</b> (6,0-9,2)	7,4 (5,7-9,5)	0,808	<b>6,8</b> (5,6-9,5)	<b>8,1</b> (6,5-10,1)	0,006	0,047	0,723
Gord AA	<b>4,1</b> (2,0 - 10,9)	<b>4,5</b> (2,0 - 10,1)	0,622	<b>4,1</b> (1,9-10,2)	<b>4,4</b> (2,1-8,5)	0,931	<b>4,7</b> (2,1-12,3)	<b>5,1</b> (1,9-10,6)	0,590	0,799	0,621

Os valores são expressos como mediana (25% – 75%). O que é o valor em negrito? <sup>a</sup> Cereais totais: representa o grupo dos Cereais, raízes e tubérculos e cereais integrais; <sup>b</sup> Inclui frutas e sucos de frutas naturais; <sup>c</sup> Exclui frutas de sucos; <sup>d</sup> Inclui leguminosas apenas depois que a pontuação máxima de Carnes, ovos e leguminosas for atingida; <sup>e</sup> Inclui leite e derivados e bebidas à base de soja; <sup>f</sup> Inclui as gorduras mono e poli-insaturadas, óleos das oleaginosas e gordura de peixe; Gord\_AA: calorias provenientes de gordura sólida, álcool e açúcar de adição. <sup>1</sup> Teste Wilcoxon. <sup>2</sup> Teste de Mann Whitneyem 12 sem entre Dieta + Placebo e Dieta + Granulado de Castanha-do-Brasil. <sup>3</sup> Teste de Mann Whitneyentre os Δ (12 sem – Início) Dieta + Placebo e Dieta + Granulado de Castanha-do-Brasil. Sem: semanas.

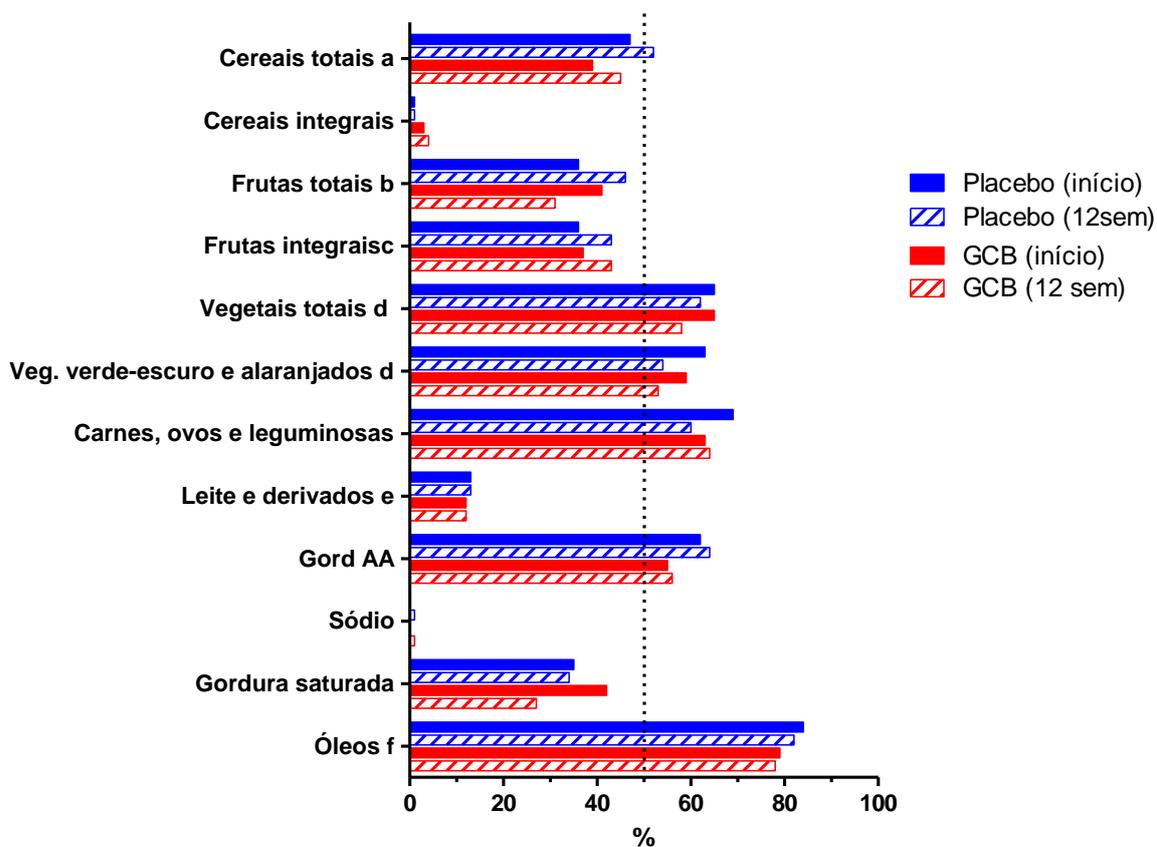


Figura 8. Frequência da pontuação máxima dos componentes do Índice de Qualidade da Dieta Revisado (IQD-R) de acordo com a intervenção nutricional em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

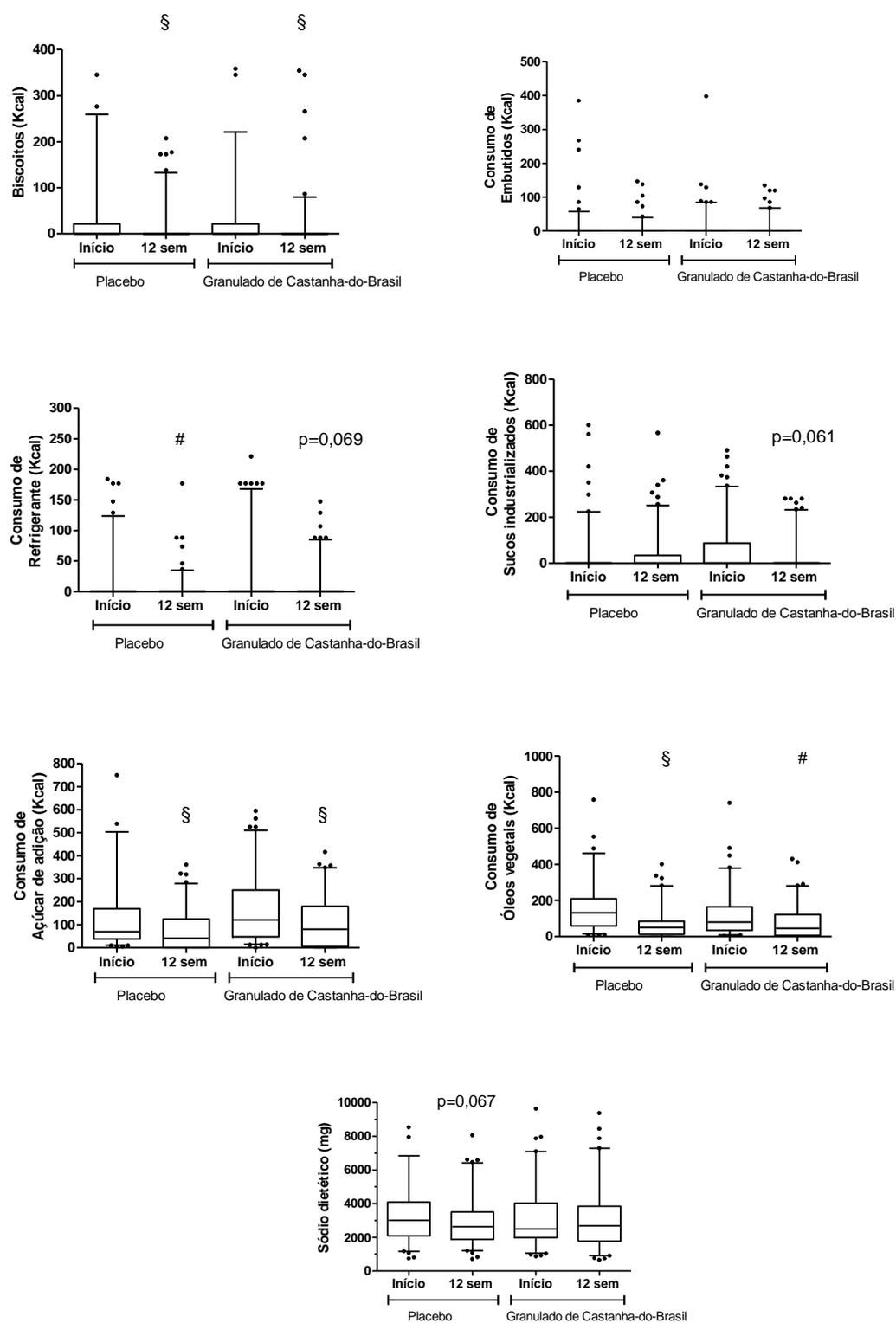


Figura 9. Consumo de alimentos ultraprocessados e ingredientes de adição no início e final de cada intervenção nutricional. #  $p < 0,05$  e §  $p < 0,001$ . Teste *Wilcoxon signed rank*.

Não houve mudança na evolução dos seguintes dados antropométricos e clínicos: peso, IMC, PC, PAS e PAD (Tabela 6). Porém, durante doze semanas de intervenção nutricional com granulado de Castanha-do-Brasil foi possível observar redução significativa da Razão cintura-estatura (RCEst). O Índice de adiposidade visceral aumentou significativamente durante a intervenção com placebo. Os valores de PAS encontravam-se, em média, acima do valor de normalidade (140 mmHg) no início e fim de ambas intervenções. Ao final do estudo, 52,8% (n = 48) dos pacientes apresentavam valores de pressão arterial elevados.

Não houve modificação do tempo semanal despendido com atividade física durante a intervenção (início, 4 sem, 8 sem e 12 sem), com dieta + placebo (p=0,690) e dieta + granulado de Castanha-do-Brasil (p=0,474).

Os parâmetros bioquímicos glicose, colesterol total, LDL-c, triglicerídeos, Apo A1 e Apo B não mostraram mudança, independente da intervenção nutricional (Tabela 7). Entretanto, pode ser observado aumento significativo do HDL-colesterol e redução significativa da Razão LDL-c/HDL-c durante o consumo do granulado de Castanha-do-Brasil. Enquanto que, durante a intervenção com placebo, houve aumento significativo da Razão TG/HDL-c. A glicemia de jejum e os triglicerídeos apresentaram valores médios acima do valor de normalidade no início e fim de ambas as intervenções.

Contudo, dentre os pacientes que apresentavam concentração sérica de LDL-c > 100mg/dL no início do estudo, 10,5% (n = 6) e 18,0% (n = 11) reduziram o LDL-c para menos de 100 mg/dL na dieta placebo e dieta granulado de Castanha-do-Brasil respectivamente. E aqueles que apresentavam Triglicerídeo sérico  $\geq$  150,0 mg/dL no início do estudo, 18,9% (n = 10) e 13,0% (n = 7) reduziram o Triglicerídeo plasmático para  $\leq$  150,0 mg/dL na dieta placebo e granulado de Castanha-do-Brasil respectivamente.

A Tabela 8 apresenta os resultados de associação entre o aumento ou redução, da qualidade da dieta (IQD-R) com a evolução dos parâmetros antropométricos, da pressão arterial sistêmica e exames laboratoriais de acordo com a intervenção nutricional. Foi observada a redução significativa das concentrações de Triglicerídeos séricos e do 8-epi PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  após intervenção com dieta + granulado de Castanha-do-Brasil no grupo que apresentou aumento da qualidade da dieta em relação ao placebo. E é possível observar uma tendência para redução da pressão arterial sistólica e diastólica, do colesterol total, LDL-c e LDL-oxidada, e tendência para aumento do HDL quando houve aumento da

qualidade da dieta após intervenção com dieta + granulado de Castanha-do-Brasil, apesar de não ter sido observada significância estatística.

Tabela 6. Características antropométricas e pressão arterial de acordo com a intervenção nutricional em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

	Início	4 sem	8 sem	12 sem	p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>
Peso (Kg)						
Placebo	75,0 ± 14,9	74,9 ± 14,9	75,1 ± 15,2	75,1 ± 15,4	NS	NS
GCB	75,2 ± 15,3	75,2 ± 15,3	75,2 ± 15,5	75,2 ± 15,6	NS	
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )						
Placebo	28,3 ± 4,9	28,3 ± 4,9	28,4 ± 5,0	28,4 ± 5,1	NS	NS
GCB	28,3 ± 5,0	28,3 ± 5,1	28,3 ± 5,1	28,3 ± 5,2	NS	
PC (cm)						
Placebo	98,9 ± 11,4	98,9 ± 11,4	99,0 ± 11,7	98,6 ± 11,8	NS	NS
GCB	99,4 ± 12,3	99,3 ± 11,8	98,8 ± 12,3	98,8 ± 12,3	*	
PAS (mmHg)						
Placebo	145,3 ± 27,9	141,9 ± 36,2	146,3 ± 38,5	140,6 ± 24,3	NS	NS
GCB	141,4 ± 26,0	142,7 ± 23,4	144,6 ± 24,3	142,7 ± 24,0	NS	
PAD (mmHg)						
Placebo	81,0 ± 14,4	82,4 ± 17,9	85,3 ± 20,9	78,4 ± 14,4	NS	NS
GCB	78,9 ± 9,8	78,1 ± 12,8	83,8 ± 14,7	78,1 ± 9,6	NS	
RCEst						
Placebo	0,610 ± 0,072	0,610 ± 0,071	0,610 ± 0,074	0,608 ± 0,073	NS	NS
GCB	0,610 ± 0,072	0,609 ± 0,070	0,606 ± 0,071	0,606 ± 0,071	*	
IAV						
Placebo	3,0 (2,2 – 4,5)	2,9 (1,8 – 4,4)	2,9 (1,5 – 4,4)	3,1 (1,6 – 4,7)	*	NS
GCB	3,2 (2,0 – 5,3)	3,1 (1,8 – 4,9)	3,0 (1,9 – 4,6)	3,1 (1,8 – 5,6)	NS	

Média ± Desvio Padrão, Mediana (25<sup>o</sup> - 75<sup>o</sup> percentil). \* p<0,05. p<sup>1</sup> Teste de ANOVA-R ou *Friedman* para modificação ao longo do tempo do estudo (início, 4 sem, 8 sem e 12 sem) em cada intervenção nutricional. p<sup>2</sup> Teste de ANOVA-R fator entre grupos (Placebo vs. Granulado de Castanha-do-Brasil) ou Teste Mann-Whitney para taxa variação ao longo do tempo (variáveis não-paramétricas). GCB: Granulado de Castanha-do-Brasil, Sem: semanas, IMC: índice de massa corporal; PC: perímetro da cintura, PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica, RCEst: Razão cintura (cm) – estatura (cm); IAV: Índice de adiposidade visceral.

Tabela 7. Características bioquímicas e marcadores aterogênicos de acordo com a intervenção nutricional em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

	Início	4 sem	8 sem	12 sem	p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>
Glicose (mg/dL)						
Placebo	109,0 (92,3-139,0)	105,5 (92,3-138,0)	109,0 (93,0-139,0)	105,5 (94,0-146,3)	NS	NS
GCB	104,0 (92,5-126,5)	102,0 (92,0-130,0)	103,0 (89,5-135,5)	107,0 (93,5-138,5)	NS	
CT (mg/dL)						
Placebo	199,1 ± 61,7	190,0 ± 56,3	195,3 ± 57,9	200,3 ± 64,8	NS	NS
GCB	204,5 ± 64,3	201,6 ± 69,3	206,0 ± 84,8	202,7 ± 63,1	NS	
HDL-c (mg/dL)						
Placebo	38,9 ± 13,5	39,4 ± 11,9	39,6 ± 11,8	41,1 ± 13,0	NS	NS
GCB	38,8 ± 11,7	39,6 ± 10,9	38,8 ± 11,9	41,3 ± 14,7	*	
LDL-c (mg/dL)						
Placebo	109,5 (87,8-145,3)	105,0 (86,5-138,3)	112,0 (84,8-138,3)	109,0 (82,3-146,5)	NS	NS
GCB	115,0 (87,0-143,5)	106,0 (84,0-143,0)	106,0 (88,5-151,0)	111,0 (87,0-144,5)	NS	
TG (mg/dL)						
Placebo	153,5 (112,3-229,0)	146,0 (107,8-211,5)	158,0 (93,3-238,3)	165,0 (103,3-220,3)	NS	NS
GCB	153,0 (120,0-236,5)	155,0 (106,0-229,0)	146,0 (110,0-222,5)	161,0 (114,5-242,0)	NS	
CT / HDL-c						
Placebo	5,4 (4,0-6,7)	4,9 (4,0-5,9)	4,9 (3,8-6,1)	5,1 (3,8-6,1)	*	NS
GCB	5,0 (4,1-6,4)	5,0 (3,9-6,1)	5,0 (4,1-6,1)	4,8 (3,8-6,1)	NS	
LDL-c/HDL-c						
Placebo	3,1 (2,3-4,2)	2,9 (2,2-3,8)	3,0 (2,2-4,0)	2,9 (2,1-3,8)	NS	NS
GCB	3,1 (2,4-3,8)	3,0 (2,2-3,9)	3,0 (2,5-3,9)	2,8 (2,2-3,8)	*	
TG / HDL-c						
Placebo	4,3 (2,6-7,0)	3,8 (2,5-6,2)	4,0 (2,0-7,8)	4,5 (2,4-6,8)	*	NS
GCB	4,4 (2,9 - 7,4)	4,1 (2,5-6,9)	4,3 (2,6-6,6)	4,1 (2,4 - 6,7)	NS	
Log (TG/HDL-c)						
Placebo	0,65 ± 0,34	0,61 ± 0,30	0,61 ± 0,36	0,61 ± 0,37	NS	NS
GCB	0,66 ± 0,36	0,63 ± 0,33	0,65 ± 0,36	0,65 ± 0,37	NS	
Apo A-1 (mg/dL)						
Placebo	146,4 ± 31,3	142,0 ± 28,6	144,0 ± 26,3	139,9 ± 23,7	NS	NS
GCB	147,4 ± 26,3	141,6 ± 28,0	140,8 ± 22,4	142,6 ± 27,2	NS	
Apo B (mg/dL)						
Placebo	101,9 ± 22,9	99,1 ± 27,4	99,1 ± 27,3	103,8 ± 28,3	NS	NS
GCB	101,8 ± 26,0	97,6 ± 27,7	100,0 ± 25,5	102,0 ± 27,0	NS	

Média ± Desvio padrão ou Mediana (25° - 75° percentil). \* p < 0,05. p<sup>1</sup> Teste de ANOVA-R ou *Friedman* para modificação ao longo do tempo do estudo (início, 4 sem, 8 sem e 12 sem) em cada intervenção nutricional. p<sup>2</sup> Teste de ANOVA-R fator entre grupos ou Teste Mann-Whitney para taxa variação ao longo do tempo (variáveis não-paramétricas). Sem: semanas, CT: colesterol total; HDL-c: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: triglicerídeos, Apo A-1: apolipoproteína A-1; Apo B: apolipoproteína B.

Tabela 8. Associação entre o aumento ou redução do IQD-R com antropometria, pressão arterial, lipídeos séricos e estresse oxidativo de acordo com a intervenção nutricional.

	Dieta + Placebo			Dieta + Castanha-do-Brasil			p <sup>2</sup>
	Reduziu IQD-R (n = 35)	Aumentou IQD-R (n = 45)	p <sup>1</sup>	Reduziu IQD-R (n = 44)	Aumentou IQD-R (n = 32)	p <sup>1</sup>	
Δ Peso (Kg)	0,32 ± 0,43	-0,04 ± 0,24	0,469	0,21 ± 0,23	-0,34 ± 0,76	0,492	0,706
Δ IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	0,12 ± 0,17	-0,01 ± 0,09	0,501	0,06 ± 0,09	-0,09 ± 0,28	0,619	0,766
Δ PC (cm)	0,03 ± 0,51	1,86 ± 2,14	0,467	-0,68 ± 0,41	-0,63 ± 0,43	0,935	0,334
Δ PAS (mmHg)	-4,57 ± 4,67	-1,14 ± 3,43	0,546	-0,24 ± 2,45	-2,09 ± 3,62	0,662	0,851
Δ PAD (mmHg)	-3,46 ± 2,58	0,20 ± 1,30	0,211	0,31 ± 1,46	-2,00 ± 2,20	0,384	0,392
Δ Glicose (mg/dL)	-3,92 ± 4,96	0,18 ± 8,84	0,707	-2,51 ± 5,02	0,58 ± 7,35	0,720	0,974
Δ CT (mg/dL)	-5,39 ± 6,85	8,61 ± 6,87	0,159	-3,11 ± 7,52	-7,39 ± 7,33	0,696	0,125
Δ TG (mg/dL)	-42,53 ± 19,33	18,96 ± 12,56	0,007	12,00 ± 25,12	-33,19 ± 25,10	0,223	0,045
Δ HDL-c (mg/dL)	3,08 ± 1,17	1,64 ± 1,40	0,446	1,49 ± 1,16	4,03 ± 1,90	0,231	0,304
Δ LDL-c (mg/dL)	-2,81 ± 6,74	4,43 ± 6,41	0,441	1,36 ± 6,59	-11,61 ± 7,13	0,195	0,103
Δ LDL-oxidada (U/L)	-2,71 ± 3,80	2,01 ± 3,52	0,365	-3,38 ± 2,82	-6,81 ± 4,87	0,517	0,136
Δ 8-epi PGF <sub>2α</sub> (pg/mL)	2,44 ± 1,26	2,18 ± 0,93	0,868	1,47 ± 1,57	-4,58 ± 1,76	0,013	< 0,001
Δ GPx3 (nmol/mim/mL)	-0,64 ± 6,37	3,09 ± 5,47	0,657	15,89 ± 10,66	18,87 ± 10,69	0,852	0,153

Os valores são expressos como média ± EP. Δ = 12 semanas – início.

Reduziu IQD-R: Δ IQD-R ≤ 0; Aumentou IQD-R: Δ IQD-R > 0.

<sup>1</sup> Teste *t student* intra grupo de intervenção. <sup>2</sup>Teste *t student* inter grupo de intervenção para Δ IQD-R > 0.

IMC: índice de massa corporal; PC: perímetro da cintura, PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica, CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; HDL-c: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; 8-epi PGF<sub>2α</sub>: 8-epi prostaglandina F<sub>2α</sub>; GPx3: glutathione peroxidase plasmática.

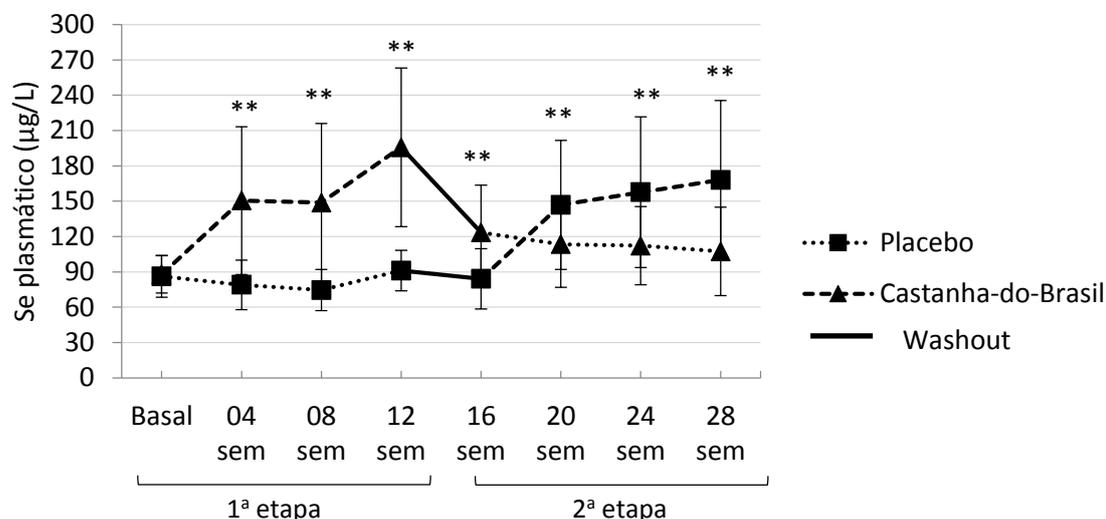


Figura 10. Evolução do selênio plasmático ao longo do estudo, de acordo com a intervenção nutricional e no período de *washout*. Sem: semanas. \*\* Teste *t Student* entre grupos  $p < 0,01$ .

A concentração basal de Se plasmático do grupo estudado foi de  $87,0 \pm 16,8 \mu\text{g/L}$ , e foi observado que 57,1% ( $n=52$ ) dos pacientes apresentaram baixo Se plasmático ( $<90 \mu\text{g/L}$ ). Ao longo do tratamento, as concentrações plasmáticas de Se aumentaram significativamente (Figura 10) com a intervenção de Castanha-do-Brasil (Total  $180,6 \pm 67,1 \mu\text{g/L}$ , 1ª etapa  $195,8 \pm 67,4 \mu\text{g/L}$  e 2ª etapa  $168,0 \pm 67,4 \mu\text{g/L}$ ). Após intervenção com placebo 39,6% ( $n=36$ ) dos pacientes apresentaram baixas concentrações de Se plasmático, enquanto que apenas 4,4% ( $n=4$ ) apresentaram baixas concentrações de Se plasmático após intervenção com Castanha-do-Brasil. Ao final do estudo (28 sem), a mediana e quartis de Se plasmático foram  $124,0 (92,25 - 168,25) \mu\text{g/L}$ . Foi possível verificar o efeito *carry over* nas concentrações de Se, após o período de *washout* do grupo que iniciou a intervenção com o granulado de Castanha-do-Brasil na Figura 10. Porém, esse efeito não foi observado entre os tempos basais da primeira e segunda etapa para as variáveis antropométricas, clínicas e bioquímicas (Tabela 9).

Tabela 9. Comparação das características antropométricas, clínicas, e bioquímicas entre o início da 1ª etapa e o início da 2ª etapa (após o *washout*).

	Etapa 1 (basal)	Etapa 2 (16 sem)	p
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28,8 ± 5,1	28,6 ± 5,3	NS
PC (cm)	100,1 ± 12,3	98,1 ± 16,1	NS
PAS (mmHg)	146,5 ± 28,7	141,1 ± 27,1	NS
PAD (mmHg)	81,8 ± 13,7	76,0 ± 11,9	0,003
Glicose (mg/dL)	109 (90,0 – 137,0)	105 (93,0 – 131,5)	NS
Triglicerídeo (mg/dL)	153,0 (119,0 – 226,0)	157,0 (108,5 – 231,5)	NS
Colesterol Total (mg/dL)	204,4 ± 61,7	198,8 ± 62,3	NS
HDL-colesterol (mg/dL)	39,0 (31,0 – 47,3)	36,0 (28,5 – 46,0)	NS
LDL-colesterol (mg/dL)	113,0 (88,0 – 151,5)	112,0 (84,5 – 141,5)	NS

Média ± desvio-padrão ou Mediana (25<sup>o</sup> - 75<sup>o</sup> percentil). Teste *t Student* pareado ou *Wilcoxon Signed Ranks*. IMC: índice de massa corporal; PC: perímetro da cintura, PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica, CT: colesterol total; HDL-c: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: triglicerídeos,

Foi observado aumento significativo da atividade da GPx3 e redução da LDL-oxidada após a intervenção com dieta + granulado de Castanha-do-Brasil (Tabela 10). No final de 12 semanas a capacidade antioxidante total do plasma foi menor na dieta placebo em relação a dieta com Castanha-do-Brasil (p = 0,024).

Tabela 10. Efeito do consumo de granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil nos marcadores antioxidantes e de estresse oxidativo em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

	Dieta + Placebo		Dieta + Granulado de Castanha-do-Brasil	
	Início	12 semanas	Início	12 semanas
Selênio (µg/L)	103,5 ± 36,2	98,7 ± 29,6	86,4 ± 21,3 <sup>§</sup>	180,6 ± 67,1 <sup># §</sup>
AtividadeGPx3 (nmol/mim/mL)	107,5 ± 27,8	115,1 ± 38,1	112,7 ± 40,1	128,3 ± 38,3 <sup>*, ‡</sup>
CAOT (%)	20,4 ± 4,4	18,7 ± 5,6	20,1 ± 4,7	20,4 ± 4,8 <sup>‡</sup>
8-epiPGF <sub>2α</sub> (pg/mL)	14,6 ± 7,8	16,4 ± 9,8 <sup>*</sup>	15,8 ± 9,5	15,6 ± 8,1
LDL-ox (U/L)	64,4 ± 21,0	63,8 ± 23,0	65,6 ± 24,7	60,7 ± 20,9 <sup>*</sup>
LDL-ox/LDL-c	0,56 ± 0,18	0,57 ± 0,19	0,57 ± 0,18	0,53 ± 0,15

Média ± Desvio padrão, Mediana (25<sup>o</sup> - 75<sup>o</sup> percentil). Teste *t Student* pareado ou *Wilcoxon signed-rank*, Teste *t Student* independente ou Mann-Whitney U. \* p<0,05 e # p<0,001 na linha entre início e 12 semanas da mesma intervenção. ‡ p<0,05 e § p<0,001 na linha entre o mesmo tempo das intervenções. GPx3: glutathione peroxidase plasmática; CAOT: capacidade antioxidante total do plasma; 8-epi PGF<sub>2α</sub>: 8-epi prostaglandina F<sub>2α</sub>; LDL: lipoproteína de baixa densidade.

A Figura 11 mostra o percentual de variação dos marcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante de acordo com intervenção nutricional ao final do estudo.

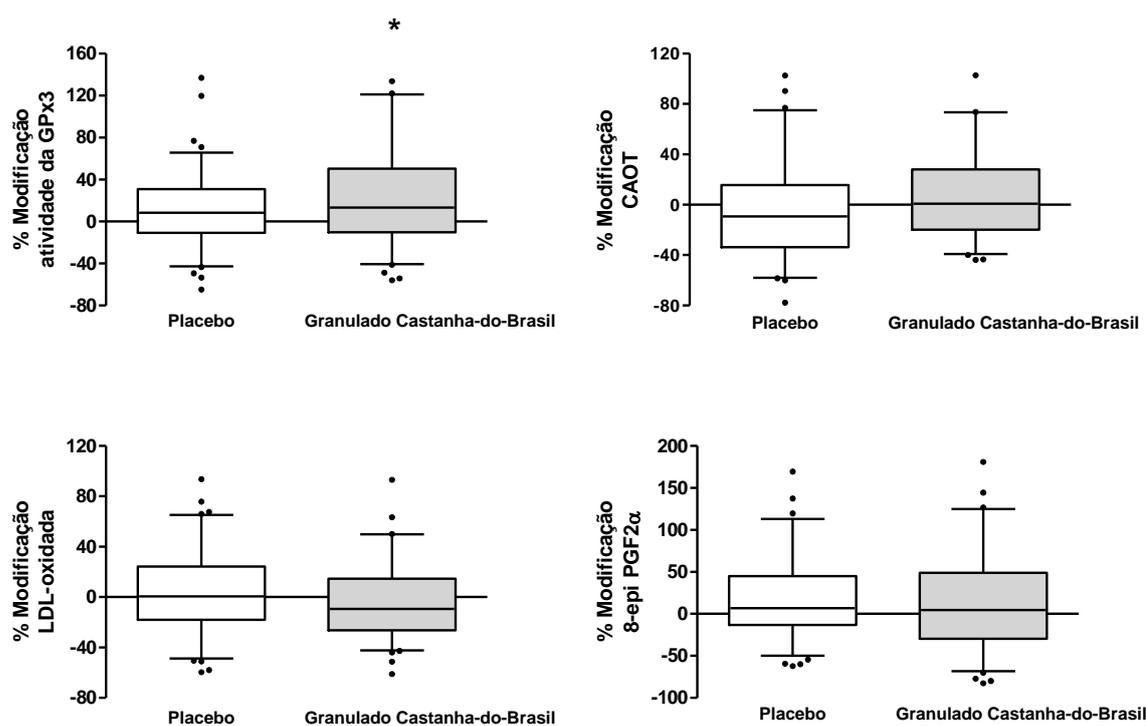


Figura 11. Modificações percentuais dos marcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante de acordo com intervenção nutricional. Média  $\pm$  EP. \*  $p < 0,05$ . GPx3: glutathiona peroxidase plasmática; CAOT: capacidade antioxidante total do plasma; LDL-ox: LDL-oxidada; 8-epi PGF<sub>2 $\alpha$</sub> : 8-epi prostaglandina F<sub>2 $\alpha$</sub> .

A Figura 12 apresenta a associação inversa significativa entre a LDL-oxidada e a atividade da GPx3 após intervenção com granulado de Castanha-do-Brasil. E uma tendência pode ser observada entre 8-epi PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  e a atividade da GPx3, sem significância estatística. Entretanto, após ajuste para sexo, idade, diabetes, tabagismo e IMC, tanto a associação inversa entre a concentração de LDL-oxidada e atividade da GPx3 permaneceu significativa (B -0,491, IC95% -0,892; -0,089,  $p = 0,017$ ), como a associação inversa entre 8-epi PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  e a atividade da GPx3 se tornou significativa após ajuste (B -1,292, IC95% -2,288; -0,296,  $p = 0,012$ ).

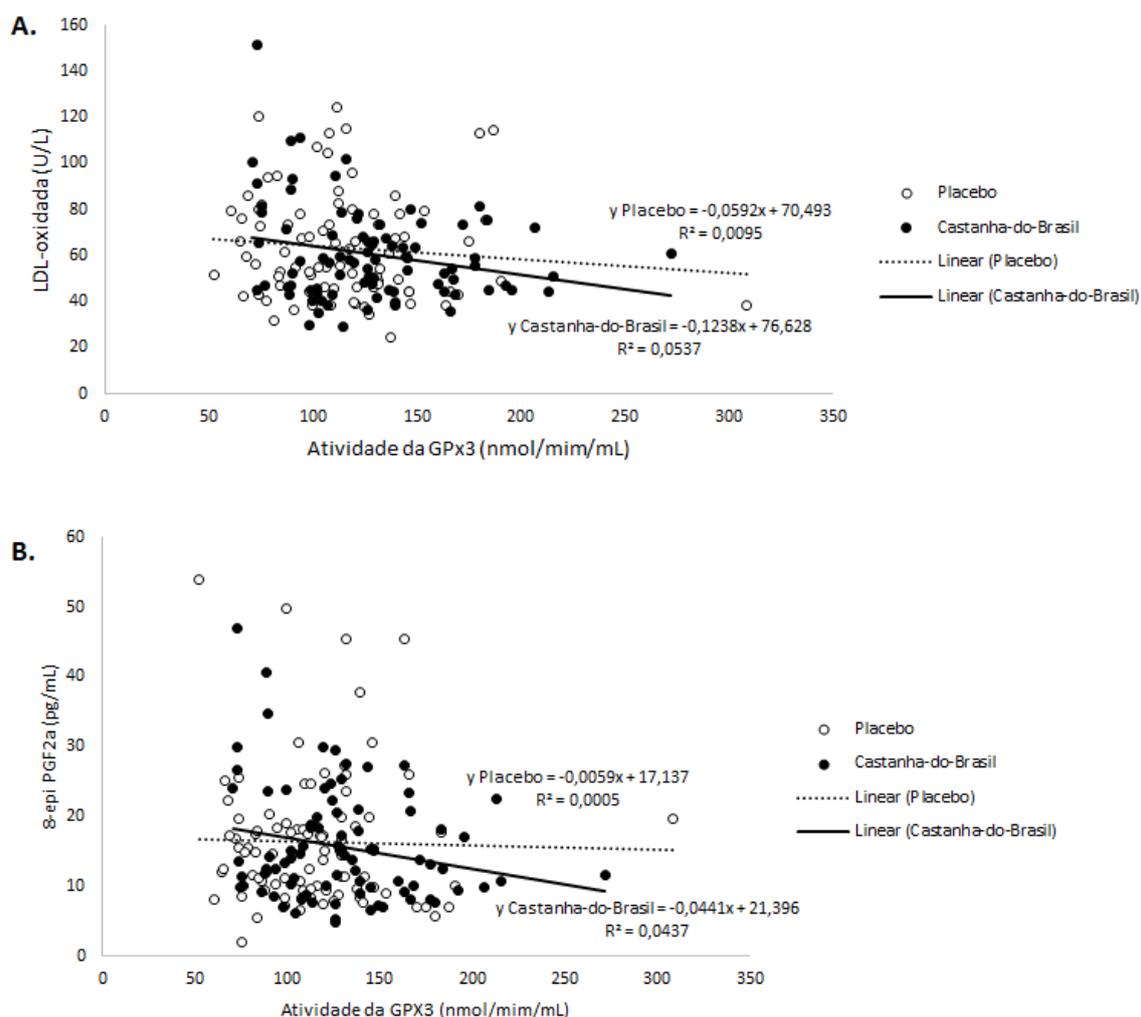


Figura 12. Regressão linear múltipla entre a atividade da GPx3e os marcadores de estresse oxidativo de acordo com a intervenção nutricional. (A) Castanha-do-Brasil ( $p = 0,032$ ) e Placebo ( $p = 0,371$ ); (B) Castanha-do-Brasil ( $p = 0,052$ ) e Placebo ( $p = 0,836$ ).

Na Figura 13, pode-se observar o aumento significativo de 26% na concentração plasmática de  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  após a dieta associada ao granulado de Castanha-do-Brasil. E, na Figura 14, o aumento da densidade capilar funcional (basal) e recrutamento de capilares na HRPO em ambos os grupos de intervenção em todos os tempos de estudo.

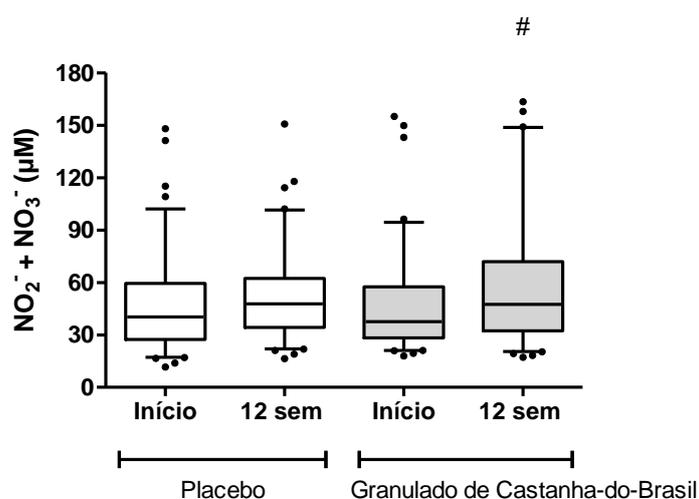


Figura 13. Efeito da intervenção nutricional nas concentrações de  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  plasmáticas. Barras representam IC 95%. #  $p < 0,05$ . Teste *t Student* pareado entre início e 12 semanas para cada intervenção.  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ : nitrito e nitrato plasmático total.

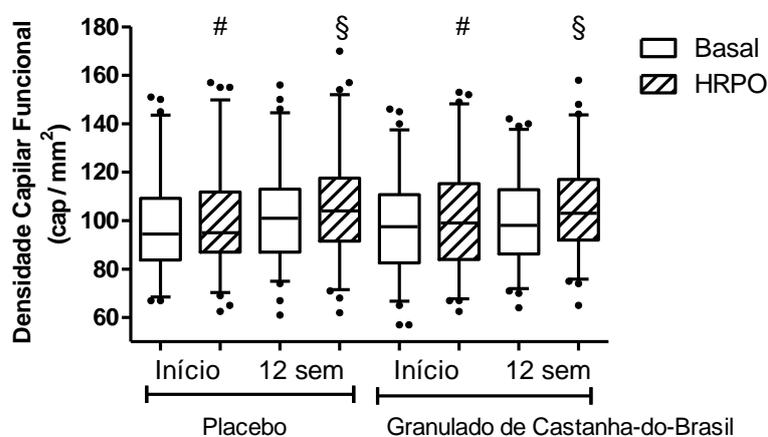


Figura 14. Densidade capilar funcional e recrutamento de capilares na HRPO em pacientes hipertensos e dislipidêmicos. Barras representam IC 95%. #  $p < 0,05$  e §  $p < 0,001$ . Teste *t Student* pareado entre HRPO e basal por tempo (início ou 12 sem). HRPO: hiperemia reativa pós-oclusiva, Cap: capilares funcionais.

Não foi observada uma resposta diferente entre o grupo castanha e o placebo marcadores da função microvascular endotelial em resposta ao estímulo farmacológico

com acetilcolina. O estímulo da HRPO mostrou redução significativa do Pico na CVC, porém quando avaliado o incremento no fluxo sanguíneo (CVC HRPO pico-basal) após a intervenção com granulado de Castanha-do-Brasil, não foi significativo (Figura 15).

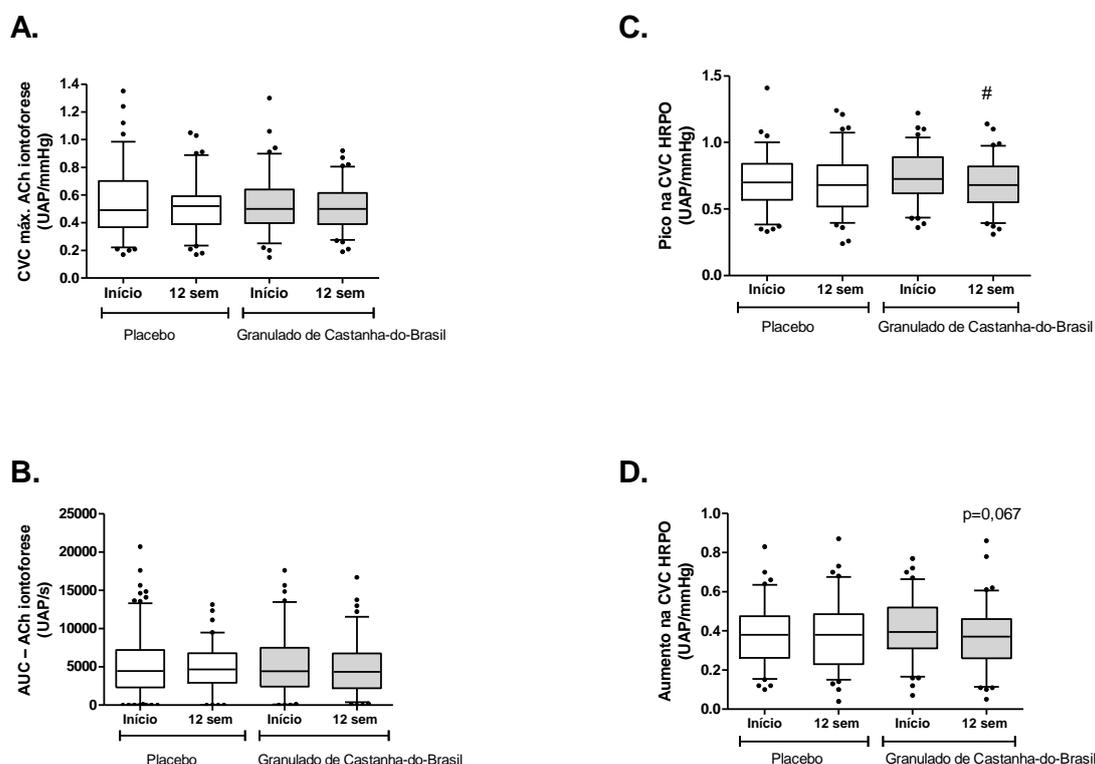


Figura 15. Efeito do granulado de Castanha-do-Brasil na reatividade microvascular de pacientes hipertensos e dislipidêmicos. # $p < 0,05$ . Teste *t Student* pareado entre início e 12 semanas para cada intervenção. Barras representam IC 95%. ACh: acetilcolina, CVC: condutância vascular cutânea, HRPO: hiperemia reativa pós-oclusiva. AUC: área sob a curva, UAP: unidade arbitrária de perfusão.

Não foi observada correlação entre o tempo de doença e os marcadores de resposta endotelial microvascular ao final das intervenções ( $p > 0,05$ ).

A Tabela 11 mostra a evolução dos parâmetros da função endotelial microvascular e densidade capilar funcional ao longo de todo o acompanhamento de acordo com a ordem das intervenções. É possível observar um aumento gradativo da densidade capilar funcional em ambos os grupos, principalmente na primeira etapa, independente da intervenção nutricional.

Tabela 11. Evolução das concentrações de  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  plasmático, densidade capilar funcional e parâmetros da função endotelial microvascular ao longo do tempo de acordo com a ordem de intervenção.

	Grupo com ordem Placebo → Castanha					Grupo com ordem Castanha → Placebo				
	Placebo(n= 44)		Castanha-do-Brasil (n= 45)		p1	Castanha-do-Brasil(n= 43)		Placebo(n= 43)		p1
	Basal	12 sem	16 sem	28 sem		Basal	12 sem	16 sem	28 sem	
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ( $\mu\text{M}$ )	46,0 ± 23,4	54,4 ± 27,9	51,3 ± 35,8	62,9 ± 46,7	NS	44,4 ± 19,7	53,5 ± 28,4*	47,9 ± 29,9	53,8 ± 42,8	NS
DCF basal (cap/mm <sup>2</sup> )	92,8 ± 16,6	102,8 ± 19,3#	105,3 ± 15,2	105,0 ± 16,6	‡	90,9 ± 20,8	95,7 ± 19,9#	108,3 ± 19,6	105,6 ± 22,1	‡
DCF na HRPO (cap/mm <sup>2</sup> )	94,0 ± 17,0	105,8 ± 19,5#	108,7 ± 18,9§	109,0 ± 17,8§	‡	94,3 ± 22,7	98,8 ± 19,6*§	111,6 ± 22,1§	111,9 ± 25,4§	‡
DCF HRPO-basal (cap/mm <sup>2</sup> )	1,27 ± 8,06	2,94 ± 9,46	3,44 ± 8,46	4,00 ± 6,83	NS	2,08 ± 8,20	1,85 ± 6,81	3,31 ± 7,90	6,31 ± 7,39	NS
AUC ACh (UAP/s)	5568 ± 4018	5114 ± 2701	5910 ± 4256	4830 ± 3382	NS	4733 ± 3517	4969 ± 3336	4859 ± 4190	4471 ± 3096	NS
ACh CVC máx (UAP/mmHg)	0,55 ± 0,24	0,54 ± 0,18	0,56 ± 0,21	0,51 ± 0,17	NS	0,50 ± 0,19	0,52 ± 0,15	0,55 ± 0,25	0,49 ± 0,17	NS
ACh CVC Δ (UAP/mmHg)	0,30 ± 0,17	0,28 ± 0,15	0,28 ± 0,17	0,26 ± 0,13	NS	0,27 ± 0,14	0,26 ± 0,14	0,26 ± 0,21	0,24 ± 0,14	NS
HRPO CVC máx (UAP/mmHg)	0,69 ± 0,19	0,70 ± 0,23	0,73 ± 0,20	0,67 ± 0,16*	NS	0,75 ± 0,17	0,70 ± 0,20	0,72 ± 0,21	0,68 ± 0,16	NS
HRPO CVC Δ (UAP/mmHg)	0,37 ± 0,14	0,38 ± 0,18	0,40 ± 0,16	0,35 ± 0,15*	NS	0,41 ± 0,13	0,39 ± 0,16	0,39 ± 0,15	0,37 ± 0,14	NS

Média ± DP. p1 = ANOVA-R do basal até 28 sem para cada Grupo (‡ p<0,001). \* p < 0,05 e # p < 0,01 Teste *t Student* pareado na linha dentro da mesma intervenção (Castanha ou Placebo).§ p<0,05 Teste *t Student* pareado na coluna entre DCF basal e DCF na HRPO.  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ : nitrito e nitrato plasmático total; DCF: Densidade capilar funcional; cap: Capilares; HRPO: Hiperemia reativa pós-oclusiva; AUC: Área sob a curva; ACh: Acetilcolina; UAP: Unidades arbitrárias de perfusão; s: segundos; CVC: condutância vascular cutânea; CVC Δ: condutância vascular cutânea Pico – basal; mmHg: milímetros de mercúrio.

## 7 DISCUSSÃO

Padrões alimentares caracterizados por um maior consumo de frutas, vegetais, grãos integrais, laticínios com baixo teor de gordura, e fontes de carne magra estão associados a um menor risco de morbidade e mortalidade (17, 18). Nos EUA, as Recomendações Dietéticas para a América, a Associação Americana do Coração (AHA) e outras organizações de saúde recomendam hábitos alimentares saudáveis para a prevenção de doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas.

Vários estudos demonstraram o efeito benéfico do consumo frequente de castanhas na redução do risco de eventos e de morte por DAC (19), redução das concentrações dos lipídeos séricos (22), e dos níveis pressóricos (23); por essas razões as castanhas são consideradas componentes de uma dieta cardioprotetora(24), recebendo alegação de saúde pela agência americana FDA (*Food and Drug Administration*) (194).

A Castanha-do-Brasil faz parte do grupo das castanhas e se destaca neste grupo por apresentar elevado teor de selênio. O mecanismo pelo qual a Castanha-do-Brasil oferece benefícios à saúde, dá-se principalmente pela sua participação no sistema de defesa antioxidante através das selenoproteínas. Sendo a GPx, a principal selenoproteína envolvida neste processo (138).

Foi demonstrado que os biomarcadores de estresse oxidativo e atividade antioxidante estão alterados na HAS (81). Esse achado baseia-se no aumento dos produtos de peroxidação lipídica e redução da atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPx) (81, 82). Na hipercolesterolemia observaram-se elevadas concentrações de LDL-oxidada e da atividade da SOD, como mecanismo compensatório (195).

Estudos mostraram que o estresse oxidativo está associado à disfunção endotelial na hipertensão (7) e hipercolesterolemia (8). Estudos prospectivos, em humanos, demonstraram que a disfunção endotelial é um preditor independente de eventos cardiovasculares adversos e de mau prognóstico em longo prazo (9). Foi demonstrado que indivíduos hipertensos e dislipidêmicos apresentam função endotelial reduzida em comparação com controles saudáveis (10), e a agressão do endotélio vascular está diretamente relacionada à disfunção endotelial (11). Existe uma associação entre a melhora

da função endotelial e aumento da sobrevida em pacientes com DAC (12), portanto, a avaliação da microcirculação é importante nas doenças cardiovasculares (13).

Até o momento não existe nenhum estudo na literatura que tenha avaliado o efeito do consumo de Castanha-do-Brasil no estado antioxidante e reatividade microvascular em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

#### 7.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, TEOR DE SELÊNIO, DE POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO GRANULADO PARCIALMENTE DESENGORDURADO DE CASTANHA-DO-BRASIL

O granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil mostrou preservar as mesmas características da Castanha-do-Brasil, como maior contribuição dos lipídeos para o valor energético do produto, alto teor de proteína, aproximadamente 20% de fibra alimentar e alto conteúdo de selênio (138).

O ácido graxo poli-insaturado que prevalece no granulado de Castanha-do-Brasil é o ácido linoleico (n-6). A substituição da gordura saturada por ácidos graxos n-6 resultou em regulação positiva da expressão dos receptores hepáticos SR-BI (*scavenger receptor type BI*) em hamsters (196). O SR-BI é o receptor hepático para HDL e promove a captação seletiva do conteúdo de colesterol esterificado da HDL para subsequente reutilização hepática ou excreção biliar (197). Um estudo realizado nos EUA com 1098 indivíduos brancos, japoneses, americanos descendentes de japoneses e coreanos, entre 40 e 49 anos, investigou a associação entre o ácido linoleico e as lipoproteínas séricas. E observou associação positiva significativa a concentração sérica deste ácido graxo poli-insaturado e a partícula de HDL, assim como o tamanho da partícula de HDL (198). No caso dos pacientes dislipidêmicos, o ácido linoleico pode contribuir de forma positiva para o controle da hipercolesterolemia.

As castanhas são alimentos com alto teor de fibra e uma porção (50g) de castanhas pode contribuir para a ingestão de 7 a 20% da recomendação diária para adultos (25g de fibra alimentar) (20). A relação entre o consumo de fibras e redução do risco de DCV já está bem estabelecido na literatura (199) e os mecanismos são principalmente redução da

absorção de colesterol e gordura, redução da absorção e aumento da síntese de ácidos biliares, estímulo da produção de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente o propionato, o qual tem demonstrado inibir a síntese endógena de colesterol (199).

O teor de selênio na Castanha-do-Brasil varia muito, pois depende principalmente do teor de selênio no solo, do tamanho da noz de Castanha-do-Brasil, das concentrações entre plantas, da localização da planta no campo, dentre outros (25). Pode ser observado que o granulado de Castanha-do-Brasil possui teores de Se similares às encontradas na Castanha-do-Brasil, de acordo com a tabela da USDA (140).

O granulado contém parte da pele escura da Castanha-do-Brasil, visto que é proveniente da massa resultante da prensagem a frio das castanhas juntamente com a pele escura seguida da trituração dessa massa. Estudos demonstraram que a pele das castanhas é o local onde se concentra o maior teor de polifenóis e atividade antioxidante nas castanhas (135, 193). Isso pode ser observado pelas análises de polifenóis totais do granulado de Castanha-do-Brasil que apresentaram altas concentrações comparáveis ao encontrado por John e Shahidi (193). E também alta atividade antioxidante, demonstrada pela captura do radical DPPH e radical ABTS.

Estudo que avaliou o teor de polifenóis totais em frutas e vegetais consumidos no Brasil observou variação entre 15,3 e 215,7 mg GAE/100g de peso fresco nas frutas, correspondendo ao papaya e banana, respectivamente. E observou nos vegetais, que o teor de polifenóis variou de 13,7 mg GAE/100g de peso fresco do tomate até 113,2 mg GAE/100g de peso fresco da cebola (143). Com isso, podemos observar que o teor de polifenóis do granulado de Castanha-do-Brasil se aproxima dos alimentos com maior teor polifenóis consumidos no Brasil.

## 7.2 QUALIDADE DA DIETA ASSOCIADA À INTERVENÇÃO NUTRICIONAL

O aumento da ingestão de lipídeos totais e ácidos graxos poli-insaturados, durante a intervenção com granulado parcialmente desengordurado de Castanha-do-Brasil, pode ter

ocorrido em razão do consumo do produto alimentar, visto que a castanha é uma oleaginosa rica em lipídeos poli-insaturados e monoinsaturados.

O presente estudo observou média de qualidade da dieta maior que estudo realizado com idosos na região sul do Brasil ( $HEI = 66,63 \pm 10,97$ ) (200), isso pode ter acontecido em razão de serem pacientes hipertensos e dislipidêmicos, acompanhados por um centro de referência e de já terem recebido orientações sobre alimentos hábitos alimentares saudáveis relacionados a doença cardiovascular. Outro estudo investigou a qualidade da dieta em pacientes que também estavam sob tratamento para controle dos lipídeos séricos, um ano após o diagnóstico de doença coronariana e observou baixa qualidade da dieta em grande parte dos indivíduos. Neste estudo foi investigado o IQD alternativo, desenhado para avaliar nove componentes de uma dieta saudável para o coração, que varia de 0 até 80 pontos (201). A média do índice investigado foi  $30,8 \pm 13$ , bem menor que a média encontrada no presente estudo. A baixa qualidade da dieta esteve associada com o tabagismo, baixa escolaridade, obesidade, alta ingestão de gordura e baixa ingestão calórica (201). Porém, no presente estudo, nenhum desses fatores apresentou associação à qualidade da dieta significativamente.

Na comparação entre as médias, não houve modificação do índice de qualidade da dieta ao longo do presente estudo, independente da intervenção nutricional. Um estudo recente examinou as tendências temporais na qualidade da dieta geral para a prevenção DAC durante as últimas duas décadas (1980-1982 até 2000-2002) e usou índices de qualidade da dieta semelhantes ao IQD-R (202). Os pesquisadores observaram melhora na qualidade da dieta durante as últimas duas décadas, principalmente relacionada ao aumento de consumo total de cereais, cereais integrais, e redução das gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras *trans*, e colesterol. No entanto, a melhoria da qualidade global da dieta parece ter estabilizado durante o último período de 5 anos, quando as dietas de baixo carboidrato se tornaram populares (202). O que provavelmente resultou na baixa qualidade da dieta no presente estudo foi o alto consumo de gordura saturada, baixa ingestão de leite e derivados e alto consumo de sódio, o que refletiu na baixa pontuação para esses componentes.

O aumento do consumo de gordura saturada, após a intervenção com dieta + Granulado de Castanha-do-Brasil, na avaliação da contribuição calórica dos componentes

do IQD-R no VET, não reflete a composição de ácidos graxos do granulado de Castanha-do-Brasil. Provavelmente, esses pacientes consumiram mais carnes, queijos e derivados de leite ricos em gordura, como requeijão e creme de leite. Pode ser observado o aumento, ainda que não significativo, da contribuição calórica do grupo das carnes e leite para o VET final dessa intervenção. Um estudo observou que a principal fonte de gordura saturada na dieta de uma coorte, nos EUA, foi a carne vermelha, o queijo, e outros laticínios (203).

A redução do consumo de biscoitos e açúcar de adição foram pontos positivos que podem ser destacados. A ingestão estimada de sódio pelo grupo de estudo foi alta, ou seja, maior que o limite recomendado (2000mg/dia) (204). E não houve redução significativa ao longo da intervenção nutricional. A ingestão elevada de sódio está associada com a pressão arterial elevada, um importante fator de risco para a doença cardiovascular(205). Um estudo mostrou que o autorrelato da adesão a uma dieta hipossódica não é confiável em pacientes com insuficiência cardíaca, pois eles associam a ideia de seguir uma dieta pobre em sódio, principalmente, ao fato de não usarem sal para cozinhar ou de não usarem sal à mesa, mas não com a redução da frequência de ingestão de alimentos processados ricos em sódio (206). No presente estudo não foi observada a redução significativa do consumo de embutidos, refrigerantes e sucos industrializados, mostrando que o maior desafio para redução do consumo de sódio na população investigada pode estar relacionado à conscientização para redução do consumo de alimentos ultraprocessados.

O fato do consumo de sódio ter sido elevado no grupo estudado e de não ter reduzido com a intervenção nutricional unido à provável falta de adesão à terapia medicamentosa, pode estar associado à manutenção dos valores pressóricos, que em média não estavam alterados. Contudo, 60,4% dos pacientes apresentaram pressão arterial elevada no início do estudo e 52,8% no final, mesmo sob tratamento medicamentoso. Os medicamentos anti-hipertensivos são o tratamento convencional para a hipertensão e reduzem o risco cardiovascular em 25% em pacientes com hipertensos (207, 208). No entanto, a adesão aos medicamentos anti-hipertensivos é muitas vezes baixa. Um estudo mostrou que a proporção de pacientes aderentes à medicação anti-hipertensiva foi de 56% para chineses, de 40% para sul-asiáticos, e 66% para os brancos (risco ajustado  $p < 0,001$ ). E as variáveis comuns, associadas com a maior adesão entre os três grupos étnicos, foram idade avançada, um grande número de comorbidades de Charlson (índice composto por 20

condições clínicas que apresentam associação com prognóstico e sobrevida em idosos) e renda média mais elevada (209).

Não foi observada uma associação significativa entre a qualidade da dieta e a evolução dos parâmetros antropométricos e clínicos. Contudo, foi observado redução significativa dos triglicerídeos séricos no grupo que apresentou incremento do IQD-R.

### 7.3 EVOLUÇÃO DOS PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS, PRESSÃO ARTERIAL E LIPÍDEOS SÉRICOS DURANTE A INTERVENÇÃO NUTRICIONAL

A baixa de adesão à dieta, em virtude do baixo consumo de frutas, cereais integrais, leite e derivados e alta ingestão de sódio e gordura saturada pode ter refletido na manutenção dos marcadores antropométricos, pressão arterial e glicemia observada após a intervenção nutricional. Do mesmo modo, uma metanálise, que avaliou trinta e um ensaios clínicos randomizados, mostrou que dietas que incluíram castanhas não tiveram efeito significativo no peso corporal, IMC ou circunferência da cintura em comparação com dietas controles (210).

Os ensaios clínicos que investigaram o efeito do consumo de castanhas na pressão arterial são muito variados e a maior parte mostrou que o consumo de castanhas não está associado a mudanças na pressão arterial. Entretanto, a redução na pressão arterial sistólica ou diastólica pode ser observada após consumo de dieta enriquecida com castanhas em quatro estudos, enquanto que um estudo observou aumento da PAS e PAD (21). Um fato interessante é que os estudos clínicos que não encontraram associação tinham desenho *crossover*, enquanto que todos os quatro estudos que encontraram associação tinham desenho paralelo. Talvez o desenho *crossover* não seja um bom desenho de estudo para demonstrar tal associação devido à possibilidade do efeito *carry over*.

Os estudos ainda são inconsistentes em relação ao efeito do consumo de castanhas em longo prazo na homeostase da glicose. Um estudo recente demonstrou o efeito agudo dose-dependente do consumo de uma mistura de castanhas na redução da glicemia e insulinemia pós-prandial em indivíduos saudáveis e diabéticos (211), e uma metanálise

com ensaios clínicos randomizados mostrou que a ingestão diária média de 56g/dia de castanhas, por um período médio de 8 semanas, reduz significativamente a glicose de jejum e a hemoglobina glicada (HbA1c) em indivíduos diabéticos tipo 2, mas não reduziu a insulinemia e nem o índice de resistência à insulina (HOMA-IR) (212). Esses efeitos ocorreram, provavelmente, em razão do teor de fibras, proteínas e lipídeos presente nas castanhas, o que contribui para menor absorção de glicose.

Em relação aos lipídeos séricos, o consumo de castanhas tem demonstrado efeito positivo na redução da concentração de colesterol total, de LDL-c, índices de risco aterogênico (CT/HDL-c e LDL-c/HDL-c) e na hipertrigliceridemia (22). Um ensaio clínico simples não controlado com mulheres obesas observou aumento do HDL-c e redução dos índices de risco aterogênico após consumo de uma unidade por dia de Castanha-do-Brasil durante 8 semanas (213), porém outro estudo com indivíduos normolipidêmicos não observou efeito nos lipídeos séricos após consumo de 45g/d de Castanha-do-Brasil por quinze dias (214), o que pode estar associado ao curto tempo de intervenção do estudo.

A Castanha-do-Brasil apresenta em sua composição alto teor de gordura insaturada (75,6%) em razão dos ácidos graxos monoinsaturados (39,3%) e poli-insaturados do tipo linoléico (36,1%) e teor de  $\beta$ -sitosterol (76% dos esteróis totais) em quantidade equivalente ao azeite de oliva (215), que podem contribuir para melhora da dislipidemia (22, 216).

No presente estudo foi observado aumento significativo do HDL-c após intervenção com dieta + Granulado de Castanha-do-Brasil. Isto pode estar associado ao teor de ácidos graxos poli-insaturados n-6 presente na Castanha-do-Brasil, pois foi demonstrado por Choo *et al*, que a concentração sérica deste ácido graxo apresentou associação positiva com a partícula de HDL sérica (198). Ainda, foi possível observar redução satisfatória do LDL-c em 10,5% (dieta placebo) e 18,0% (dieta granulado de Castanha-do-Brasil) dos pacientes que apresentavam esse parâmetro alterado inicialmente, e redução, do triglicérido sérico em 18,9% (dieta placebo) e 13,0% (dieta granulado de Castanha-do-Brasil) ao final de 12 semanas.

Uma metanálise demonstrou a associação significativa do consumo de castanhas com a redução 8,3% da razão LDL-c/HDL-c (22). O presente estudo observou redução significativa deste índice após a intervenção com dieta + granulado de Castanha-do-Brasil,

o que pode estar associado à combinação do aumento significativo do HDL-c, e da redução, ainda que não significativa, do LDL-c.

#### 7.4 EVOLUÇÃO DOS MARCADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE A INTERVENÇÃO NUTRICIONAL

A concentração sérica de selênio dos participantes do presente estudo mostrou um estado nutricional inadequado para 57,1% (<90 µg/L), logo, esses indivíduos poderiam se beneficiar com o consumo do granulado de Castanha-do-Brasil, melhorando a atividade da enzima glutatona peroxidase (GPx) em indivíduos com baixa concentração de Se plasmático (28).

Foi observado no presente estudo aumento significativo das concentrações plasmáticas de Se durante a intervenção com Granulado de Castanha-do-Brasil, e o grupo que recebeu o granulado na primeira etapa do estudo, apresentou efeito *carry over* após o período de *washout* nas concentrações de Se plasmático. Outro estudo com suplementação de Se (100 µg/dia), por seis semanas, observou que as concentrações plasmáticas de Se reduziram drasticamente nas duas primeiras semanas após a cessação da suplementação e após quatro semanas atingiram concentrações semelhantes ao basal, ainda que um pouco mais elevada, mantendo-se até a sexta semana de *washout*(217). Existem duas principais reservas de Se no corpo humano, a primeira é a selenometionina, que parece não apresentar função fisiológica distinta da metionina, e a segunda é a glutatona peroxidase 1, presente no eritrócito (145). A principal forma de Se presente na Castanha-do-Brasil é a selenometionina (148).

Houve uma associação entre a redução dos marcadores de estresse oxidativo e o aumentado IQD-R após intervenção com granulado de Castanha-do-Brasil. O 8-epi PGF<sub>2α</sub> é um biomarcador de peroxidação lipídica e reduziu significativamente com o aumento do IQD-R durante a intervenção com granulado de Castanha-do-Brasil. A LDL-oxidada também apresentou redução associada ao aumento do IQD-R durante o consumo de granulado de Castanha-do-Brasil, porém não foi significativo. Estudo populacional

realizado com adultos mostrou associação inversa entre F<sub>2</sub>-isoprostanos e consumo de  $\alpha$ -tocoferol, ácido ascórbico, Vitamina A e  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno (218). Ainda observou que as concentrações médias de F<sub>2</sub>-isoprostanos reduziram com o aumento dos quintis de um escore de qualidade da dieta. Além disso, as castanhas têm a capacidade de reduzir o estresse oxidativo, como observado no estudo de Jenkins et al (219), no qual houve redução do isoprostano urinário em idosos hiperlipidêmicos após consumo médio de 73g/dia de amêndoas durante um mês.

Assim como a amêndoa, avelã, macadâmia, pinha e castanha de caju; a Castanha-do-Brasil também possui elevada capacidade antioxidante total (135). O Se é um mineral traço que está envolvido na proteção contra o estresse oxidativo via selenoproteínas, como a glutathione peroxidase, que participa do sítio ativo desta enzima antioxidante (181). Além disso, a Castanha-do-Brasil possui alto teor de  $\beta$ -tocoferol (88,3% do tocoferóis totais), um potente antioxidante (215). Muitos processos enzimáticos e não enzimáticos podem gerar ERs no organismo humano e existem evidências que ligam esses processos à fisiopatologia da doença cardiovascular (220). O processo de peroxidação lipídica é iniciado pela reação de uma ERO com um ácido graxo insaturado e propagado por radicais peroxilas (221). A função bioquímica da glutathione peroxidase é reduzir os hidroperóxidos lipídicos aos seus álcoois correspondentes e reduzir o peróxido de hidrogênio livre a água (222). A atividade celular da enzima GPx1 (eritrocitária) estava reduzida em pacientes com DAC e a baixa atividade desta enzima foi um preditor para evento cardiovascular em cinco anos (223). Assim como o presente estudo, outros estudos também observaram o aumento da atividade da GPx após a intervenção com Castanha-do-Brasil em indivíduos com baixo Se plasmático (28), em mulheres obesas (213) e em pacientes com DRC em hemodiálise (224).

As lipoxigenases são fontes produtoras de EROs, pois catalisam a incorporação de oxigênio em ácidos graxos poli-insaturados (225). Algumas isoformas das lipoxigenases estão relacionadas à promoção da aterosclerose por meio da geração de EROs e oxidação de lipídeos, como a LDL-oxidada (226). Em indivíduos saudáveis, a quantidade de LDL-oxidada circulante é um preditor independente de aterosclerose (227) e doença arterial coronariana clínica (228); baseado nisso a avaliação das concentrações plasmáticas de LDL-oxidada tem sido proposta como biomarcador de risco de DCV além das concentrações de LDL-c. Ensaios clínicos, avaliando diferentes tipos e quantidades de

castanhas, indicaram melhora do estado oxidativo após consumo de castanhas (229). A redução de 15% em média na LDL-oxidada de homens e mulheres hiperlipidêmicos foi observada após consumo de amêndoas (37 ou 75g/dia) por um mês comparado à dieta controle (230). O presente estudo mostrou redução significativa da concentração de LDL-oxidada após a intervenção com granulado de Castanha-do-Brasil e ainda observou que essa redução esteve associada inversamente com o aumento da atividade da GPx3, mostrando a relação benéfica das propriedades antioxidantes da Castanha-do-Brasil como parte da orientação nutricional de pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

Os F2-isoprostanos são produtos oxidados do ácido araquidônico, gerados a partir de reações não-enzimáticas, e podem ser derivados de fontes de ácidos graxos esterificados como as membranas de fosfolípidos ou LDL circulante (220). Uma vez formados, esses compostos são estruturalmente estáveis *in vivo*, podendo circular na sua forma livre ou permanecerem esterificados em fosfolípidos e podem ser encontrados tanto na urina como no plasma, por isso são considerados bons marcadores de estresse oxidativo (231). Concentrações elevadas de F2-isoprostanos estão associadas com a extensão e gravidade da doença arterial coronariana (232). Em outro estudo, o consumo de Castanha-do-Brasil (15 a 25g/dia), por quatro meses, não alterou o 8-epi PGF2 $\alpha$  urinário de adolescentes obesas (29). Da mesma forma, o consumo de 13g/dia de granulado de Castanha-do-Brasil no presente estudo não alterou a concentração plasmática de 8-epi PGF2 $\alpha$  após doze semanas, mas foi observada uma associação inversa significativa deste marcador com a atividade da GPx3, quando ajustado para sexo, idade, diabetes, tabagismo e IMC.

#### 7.5 EVOLUÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR DURANTE A INTERVENÇÃO NUTRICIONAL

A Castanha-do-Brasil contém quantidade relevante de L-arginina (2,15g/100g) (140), que é um precursor de óxido nítrico (potente vasodilatador) (233), o que pode ter contribuído para a melhora significativa no aumento de NO $_2^-$ +NO $_3^-$  plasmático, porém não foi capaz de exercer efeito sobre a função endotelial microvascular. Ao contrário, outros estudos mostraram que a suplementação com L-arginina melhorou a função endotelial associada à hipercolesterolemia (234) e hipertensão (235), porém esses estudos utilizaram

quantidades muito superiores de L-arginina em relação ao encontrado na Castanha-do-Brasil.

Outros ensaios clínicos testaram o efeito do consumo de castanhas na vasodilatação dependente do endotélio, e três estudos observaram melhora significativa da vasodilatação dependente do endotélio após utilização de dieta enriquecida com nozes (136, 137, 236) e um com pistache (237). Os efeitos benéficos foram observados em indivíduos hipercolesterolêmicos, diabéticos e saudáveis; os tratamentos tiveram duração de 04 semanas ou no período pós-prandial, e as doses variaram de 40 a 65g/dia para nozes, 60-100g/dia para pistache, comparadas à dieta regular, dieta do mediterrâneo ou dieta enriquecida com óleo de oliva.

No presente estudo a quantidade de granulado de Castanha-do-Brasil utilizada foi menor (13g) em comparação aos demais estudos com castanhas. A dose da intervenção foi definida com base no teor de selênio do granulado de Castanha-do-Brasil para que não ultrapassasse o limite diário máximo de tolerância (UL = 400 µg/dia) (145) e que não ultrapassasse muito a quantidade de 200 µg/dia de Se, a qual parece estar diretamente relacionada ao prejuízo da homeostase da glicose (181). Porém, foi observado que o alto teor de selênio e o alto teor de polifenóis do granulado de Castanha-do-Brasil foi equivalente aos teores de outros alimentos ricos em polifenóis consumidos pela população brasileira.

Contudo, a população investigada trata-se de um grupo com idade avançada, que apresentou elevado tempo de HAS, dislipidemia e DM, são pacientes que já apresentaram evento cardiovascular e estão em uso de medicação a longo prazo. Portanto, a função endotelial destes indivíduos pode apresentar baixa responsividade à intervenção nutricional.

Por outro lado, assim como o presente estudo, três estudos não observaram resultado significativo na melhora da função endotelial após o consumo de diferentes tipos de castanhas e até redução da resposta vascular no período pós-prandial. O primeiro utilizou avelã em homens hipercolesterolêmicos, na dose de 40g/dia por 4 semanas (238), e não observou mudança no diâmetro dos vasos periféricos após estímulo farmacológico e na hiperemia reativa pós-oclusiva. Nesse estudo foram incluídos indivíduos hipertensos que faziam uso de medicação, assim como o presente estudo. O segundo utilizou mistura de

castanhas (nozes, amêndoas e avelã) em homens e mulheres com síndrome metabólica, na dose de 30g/dia por 12 semanas, e observou pequena redução da resposta vasodilatadora na hiperemia pós-oclusiva avaliada por pletismografia nos grupos intervenção e controle, porém não foi significativa (239). O terceiro estudo avaliou o efeito agudo do consumo de amêndoas nas doses de 47 ou 96,5g em homens jovens e saudáveis na função vascular por meio da tonometria de aplanação da artéria radial e também observou significativo pico de redução da resposta vascular 2h após o consumo das refeições teste e controle, sem diferença estatística entre os grupos (240). Os estudos utilizam métodos diferentes para avaliação da função endotelial, o que dificulta a comparabilidade dos resultados.

Embora os pacientes hipertensos e dislipidêmicos deste estudo tenham aumentado 88% as concentrações plasmáticas de Se após a intervenção com granulado de Castanha-do-Brasil, a resposta microvascular endotelial não mostrou alteração significativa em relação ao basal. O efeito do selênio na função microvascular foi investigado anteriormente em homens saudáveis, que receberam 300µg Se/dia por 48 semanas, e não foi observada uma melhora na função endotelial ou resposta arterial periférica no grupo estudado, o qual já recebia selênio adequado na dieta habitual (241). Apenas um estudo clínico investigou função microvascular por capilaroscopia periungueal, após o consumo de Castanha-do-Brasil (15-25 g/dia) em adolescentes obesas, e observou aumento significativo 13,9% do fluxo sanguíneo médio e 9,52% no fluxo sanguíneo máximo na HRPO após 16 semanas de intervenção (29). Uma observação importante foi que essas adolescentes não apresentavam nenhuma doença associada à obesidade.

Estudo mostrou que a medicação hipolipemiante pode exercer efeito benéfico na função endotelial por meio da redução dos lipídeos séricos. Foi observado aumento de 6,86% do fluxo circulatório periférico mediado por vasodilatação associada à redução significativa do LDL-colesterol após tratamento com sinvastatina por oito semanas (242). Outro estudo mostrou que a rarefação capilar e a disfunção endotelial microvascular em pacientes hipertensos responderam, favoravelmente, ao tratamento farmacológico anti-hipertensivo por seis meses (243). A população do presente estudo, apesar de realizar tratamento medicamentoso para hipertensão, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia apresentou em sua maioria valores pressóricos alterados (60,4% dos indivíduos) e valores dos lipídeos séricos alterados (94,5%), o que poderia estar influenciando a função endotelial desses pacientes. Além disso, o tempo de doença desses pacientes, também,

poderia ser um fator que contribuiu para não alteração da resposta microvascular após a intervenção dietética.

Acreditamos que a Castanha-do-Brasil é um alimento que apresentou potencial benéfico sobre o estresse oxidativo, capacidade antioxidante e produção de óxido nítrico na saúde de indivíduos hipertensos e dislipidêmicos.

## 8 LIMITAÇÕES

O presente estudo apresenta limitações que podem ter influenciado os achados como:

- A grande perda amostral seletiva em relação à idade, escolaridade e glicemia de jejum.
- O período de intervenção de 12 semanas – os ensaios clínicos com castanhas que demonstraram efeitos benéficos variaram muito o tempo de intervenção, talvez fosse necessário um prazo maior para verificar efeito na reatividade microvascular;
- A gravidade dos pacientes relacionado ao tempo de doença, evento cardiovascular prévio e baixo controle da pressão e dos lipídeos séricos, o que pode ter influenciado para os achados em relação à reatividade microvascular. Contudo o estudo demonstrou efeito benéfico para o estado antioxidante;
- A heterogeneidade dos participantes – apesar de o desenho de estudo *crossover* permitir que o paciente seja seu próprio controle, a variabilidade dos marcadores ao longo do estudo foi alta e isso pode ter influenciado os achados;
- O efeito *carry over* em relação à concentração plasmática de selênio – apesar disso não foi observada diferença entre os grupos no tempo basal de cada etapa, mostrando que as variáveis de interesse não sofreram mesmo efeito;
- O uso de apenas um inquérito para avaliação o consumo alimentar e conseqüentemente, a qualidade da dieta, pois podem ter ocorrido dias atípicos de consumo.
- A adesão ao tratamento anti-hipertensivo e para dislipidemia estava prejudicada neste grupo de pacientes, contudo, de acordo com a avaliação do selênio plasmático, os indivíduos consumiram o granulado de Castanha-do-Brasil.

## 9 CONCLUSÕES

- A composição do granulado mostrou preservar as mesmas características da Castanha-do-Brasil e ter alto teor de selênio e polifenóis totais, além de apresentar alta atividade antioxidante.
- O grupo de estudo não mostrou melhora na qualidade da dieta ao longo do estudo, o que pode indicar baixa adesão a dieta de base neste estudo de intervenção nutricional.
- Também não foi observada mudança dos parâmetros antropométricos e clínicos, independente da intervenção nutricional. Porém, a intervenção com dieta + granulado de Castanha-do-Brasil mostrou aumento significativo do HDL-c e da razão LDL-c/HDL-c.
- Nossos dados demonstraram que o granulado de Castanha-do-Brasil contribuiu para o aumento do selênio plasmático, redução do estado oxidativo da LDL e aumento da atividade antioxidante enzimática da GPx3 em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.
- A dieta associada ao granulado de Castanha-do-Brasil na dose de 13g/dia ( $\approx 227,5\mu\text{g}$  de Se) mostrou melhora significativa na circulação de óxido nítrico por meio do aumento de  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  plasmático e recrutamento de capilares, porém um dos marcadores da função endotelial mostrou pequena redução significativa da vasodilatação dependente do endotélio na HRPO após 12 semanas de intervenção em pacientes hipertensos e dislipidêmicos.

## REFERÊNCIAS

1. Moore AF, Florez JC. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and implications for antidiabetic therapy. *Annual Review of Medicine*. 2008;59:95-111.
2. James PA, Oparil S, Carter BL, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: Report from the panel members appointed to the eighth joint national committee (jnc 8). *JAMA*. 2014;311(5):507-20.
3. WHO. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: World Health Organization; 2011.
4. Castelli WP, Anderson K, Wilson PWF, Levy D. Lipids and risk of coronary heart disease The Framingham Study. *Annals of Epidemiology*. 1992;2(1-2):23-8.
5. Gigante DP, Moura ECd, Sardinha LMV. Prevalência de excesso de peso e obesidade e fatores associados, Brasil, 2006. *Revista de Saúde Pública*. 2009;43:83-9.
6. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBdF, Manfredini V, Benfato MdS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Química Nova*. 2007;30:1323-38.
7. Ferroni P, Basili S, Paoletti V, Davì G. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2006;16(3):222-33.
8. Palombo C, Lubrano V, Sampietro T. Oxidative stress, F2-isoprostanes and endothelial dysfunction in hypercholesterolemia. *Cardiovascular Research*. 1999;44(3):474-6.
9. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic Impact of Coronary Vasodilator Dysfunction on Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease. *Circulation*. 2000;101(16):1899-906.
10. Cordovil I, Huguenin G, Rosa G, Bello A, Köhler O, de Moraes R, et al. Evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging. *Microvascular Research*. 2012;83(3):376-9.
11. Ansell BJ. Evidence for a Combined Approach to the Management of Hypertension and Dyslipidemia. *American Journal of Hypertension*. 2005;18(9):1249-57.
12. Fichtlscherer S, Breuer S, Zeiher AM. Prognostic Value of Systemic Endothelial Dysfunction in Patients With Acute Coronary Syndromes: Further Evidence for the Existence of the "Vulnerable" Patient. *Circulation*. 2004;110(14):1926-32.
13. Mathiassen ON, Buus NH, Sihm I, Thybo NK, Mårn B, Schroeder AP, et al. Small artery structure is an independent predictor of cardiovascular events in essential hypertension. *Journal of Hypertension*. 2007;25(5):1021-6 10.97/HJH.0b013e32805bf8ed.
14. Fung TT, Willett WC, Stampfer MJ, Manson JE, Hu FB. Dietary patterns and the risk of coronary heart disease in women. *Arch Intern Med*. 2001;161(15):1857-62.
15. Hu FB, Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Spiegelman D, Willett WC. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(4):912-21.
16. Brunner EJ, Mosdol A, Witte DR, Martikainen P, Stafford M, Shipley MJ, et al. Dietary patterns and 15-y risks of major coronary events, diabetes, and mortality. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(5):1414-21.
17. Larsson SC, Åkesson A, Wolk A. Overall diet quality and risk of stroke: A prospective cohort study in women. *Atherosclerosis*. 2014;233(1):27-9.

18. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E, et al. Diet and overall survival in elderly people. *Bmj*. 1995;311(7018):1457-60.
19. Sabaté J, Ang Y. Nuts and health outcomes: new epidemiologic evidence. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;89(5):1643S-8S.
20. Ros E. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(5):1649S-56.
21. Casas-Agustench P, López-Uriarte P, Ros E, Bulló M, Salas-Salvadó J. Nuts, hypertension and endothelial function. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2011;21, Supplement 1(0):S21-S33.
22. Sabate J, Oda K, Ros E. Nut Consumption and Blood Lipid Levels: A Pooled Analysis of 25 Intervention Trials. *Arch Intern Med*. 2010;170(9):821-7.
23. Martínez-Lapiscina EH, Pimenta AM, Beunza JJ, Bes-Rastrollo M, Martínez JA, Martínez-González MA. Nut consumption and incidence of hypertension: The SUN prospective cohort. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2010;20(5):359-65.
24. Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L. Components of a Cardioprotective Diet: New Insights. *Circulation*. 2011;123(24):2870-91.
25. Freitas SCd, Gonçalves EB, Antoniassi R, Felberg I, Oliveira SPd. Meta-analysis of selenium content in Brazil nuts. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2008;11(1):54-62.
26. Schomburg L, Köhrle J. On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2008;52(11):1235-46.
27. Rayman MP. The importance of selenium to human health. *The Lancet*. 2000;356(9225):233-41.
28. Thomson CD, Chisholm A, McLachlan SK, Campbell JM. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(2):379-84.
29. Maranhao P, Kraemer-Aguiar L, de Oliveira C, Kuschnir M, Vieira Y, Souza M, et al. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Nutrition & Metabolism*. 2011;8(1):32.
30. Smith SC, Collins A, Ferrari R, Holmes DR, Logstrup S, McGhie DV, et al. Our Time: A Call to Save Preventable Death From Cardiovascular Disease (Heart Disease and Stroke). *Circulation*. 2012;126(23):2769-75.
31. WHO. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control: policies, strategies, and interventions. Mendis S, Puska P, Norrving B editors. Geneva: World Health Organization; 2011.
32. Mansur AdP, Favarato D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2012;99:755-61.
33. Soares GP, Brum JD, Oliveira GMMd, Klein CH, Silva NASE. Evolução de indicadores socioeconômicos e da mortalidade cardiovascular em três estados do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2013;100:147-56.
34. Stampfer MJ, Ridker PM, Dzau VJ. Risk Factor Criteria. *Circulation*. 2004;109(25 suppl 1):IV-3-IV-5.
35. V Diretrizes de Monitoração Ambulatorial Da Pressão Arterial (MAPA) e III Diretrizes de Monitoração Residencial da Pressão Arterial (MRPA). *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2011;97:1-2.

36. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2010;95:I-III.
37. Danaei G, Finucane MM, Lin JK, Singh GM, Paciorek CJ, Cowan MJ, et al. National, regional, and global trends in systolic blood pressure since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 786 country-years and 5.4 million participants. *The Lancet*. 2011;377(9765):568-77.
38. Franco OH, Peeters A, Bonneux L, de Laet C. Blood pressure in adulthood and life expectancy with cardiovascular disease in men and women: life course analysis. *Hypertension*. 2005;46(2):280-6.
39. Turnbull F. Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials. *Lancet*. 2003;362(9395):1527-35.
40. Gu Q, Dillon CF, Burt VL, Gillum RF. Association of hypertension treatment and control with all-cause and cardiovascular disease mortality among US adults with hypertension. *Am J Hypertens*. 2010;23(1):38-45.
41. Irvin MR, Shimbo D, Mann DM, Reynolds K, Krousel-Wood M, Limdi NA, et al. Prevalence and correlates of low medication adherence in apparent treatment-resistant hypertension. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn)*. 2012;14(10):694-700.
42. Yue Z, Bin W, Weilin Q, Aifang Y. Effect of medication adherence on blood pressure control and risk factors for antihypertensive medication adherence. *Journal of evaluation in clinical practice*. 2014.
43. Fuchs FD, Fuchs SC. Blood pressure targets in the treatment of high blood pressure: a reappraisal of the J-shaped phenomenon. *Journal of human hypertension*. 2014;28(2):80-4.
44. BRASIL. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: hipertensão arterial sistêmica. (Cadernos de Atenção Básica, n. 37). Brasília: Ministério da Saúde; 2013.
45. Elmer PJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Simons-Morton D, Stevens VJ, Young DR, et al. Effects of comprehensive lifestyle modification on diet, weight, physical fitness, and blood pressure control: 18-month results of a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;144(7):485-95.
46. Frisoli TM, Schmieder RE, Grodzicki T, Messerli FH. Beyond salt: lifestyle modifications and blood pressure. *Eur Heart J*. 2011;32(24):3081-7.
47. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2012;33(13):1635-701.
48. Dickinson HO, Mason JM, Nicolson DJ, Campbell F, Beyer FR, Cook JV, et al. Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hypertens*. 2006;24(2):215-33.
49. Gropelli A, Giorgi DM, Omboni S, Parati G, Mancia G. Persistent blood pressure increase induced by heavy smoking. *J Hypertens*. 1992;10(5):495-9.
50. Gropelli A, Omboni S, Parati G, Mancia G. Blood pressure and heart rate response to repeated smoking before and after beta-blockade and selective alpha 1 inhibition. *Journal of hypertension Supplement : official journal of the International Society of Hypertension*. 1990;8(5):S35-40.

51. S Perreault, M Dorais, L Coupal, G Paradis, M R Joffres, Grover SA. Impact of treating hyperlipidemia or hypertension to reduce the risk of death from coronary artery disease  
CMAJ. 1999;160(10):1449-55.
52. 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) Final Report. *Circulation*. 2002;106(25):3143.
53. Carmena R, Duriez P, Fruchart J-C. Atherogenic Lipoprotein Particles in Atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(23 suppl 1):III-2-III-7.
54. Kapur NK, Ashen D, Blumenthal RS. High density lipoprotein cholesterol: an evolving target of therapy in the management of cardiovascular disease. *Vascular health and risk management*. 2008;4(1):39-57.
55. Vergeer M, Holleboom AG, Kastelein JJP, Kuivenhoven JA. The HDL hypothesis: does high-density lipoprotein protect from atherosclerosis? *Journal of Lipid Research*. 2010;51(8):2058-73.
56. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(20):2292-333.
57. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;129(25 suppl 2):S1-S45.
58. Toth PP, Potter D, Ming EE. Prevalence of lipid abnormalities in the United States: the National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2006. *J Clin Lipidol*. 2012;6(4):325-30.
59. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2013;101:1-20.
60. Grundy SM, Balady GJ, Criqui MH, Fletcher G, Greenland P, Hiratzka LF, et al. Primary Prevention of Coronary Heart Disease: Guidance From Framingham: A Statement for Healthcare Professionals From the AHA Task Force on Risk Reduction. *Circulation*. 1998;97(18):1876-87.
61. Petrella RJ, Merikle E, Jones J. Prevalence and treatment of dyslipidemia in canadian primary care: A retrospective cohort analysis. *Clinical Therapeutics*. 2007;29(4):742-50.
62. Wietlisbach V, Marques-Vidal P, Kuulasmaa K, Karvanen J, Paccaud F. The relation of body mass index and abdominal adiposity with dyslipidemia in 27 general populations of the WHO MONICA Project. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2013;23(5):432-42.
63. Fernandes RA, Christofaro DGD, Casonatto J, Codogno JS, Rodrigues EQ, Cardoso ML, et al. Prevalência de dislipidemia em indivíduos fisicamente ativos durante a infância, adolescência e idade adulta. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2011;97:317-23.
64. Pereira JC, Barreto SM, Passos VMA. O perfil de saúde cardiovascular dos idosos brasileiros precisa melhorar: estudo de base populacional. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2008;91:1-10.

65. Musunuru K. Atherogenic Dyslipidemia: Cardiovascular Risk and Dietary Intervention. *Lipids*. 2010;45(10):907-14.
66. Kathiresan S, Otvos JD, Sullivan LM, Keyes MJ, Schaefer EJ, Wilson PWF, et al. Increased Small Low-Density Lipoprotein Particle Number: A Prominent Feature of the Metabolic Syndrome in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2006;113(1):20-9.
67. Choy PC, Siow YL, Mymin D, O K. Lipids and atherosclerosis. *Biochemistry and Cell Biology*. 2004;82(1):212-24.
68. Schierer CL, Hood IC, Mirchandani HG. Atherosclerotic cardiovascular disease and sudden deaths among young adults in Wayne County. *The American journal of forensic medicine and pathology*. 1990;11(3):198-201.
69. Kones R. Molecular sources of residual cardiovascular risk, clinical signals, and innovative solutions: relationship with subclinical disease, undertreatment, and poor adherence: implications of new evidence upon optimizing cardiovascular patient outcomes. *Vascular health and risk management*. 2013;9:617-70.
70. Mora S, Wenger NK, Demicco DA, Breazna A, Boekholdt SM, Arsenault BJ, et al. Determinants of residual risk in secondary prevention patients treated with high- versus low-dose statin therapy: the Treating to New Targets (TNT) study. *Circulation*. 2012;125(16):1979-87.
71. Murphy SA, Cannon CP, Wiviott SD, McCabe CH, Braunwald E. Reduction in recurrent cardiovascular events with intensive lipid-lowering statin therapy compared with moderate lipid-lowering statin therapy after acute coronary syndromes from the PROVE IT-TIMI 22 (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction 22) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(25):2358-62.
72. Gould AL, Rossouw JE, Santanello NC, Heyse JF, Furberg CD. Cholesterol reduction yields clinical benefit: impact of statin trials. *Circulation*. 1998;97(10):946-52.
73. Oktyabrsky O, Smirnova G. Redox regulation of cellular functions. *Biochemistry (Moscow)*. 2007;72(2):132-45.
74. Tahara EB, Navarete FD, Kowaltowski AJ. Tissue-, substrate-, and site-specific characteristics of mitochondrial reactive oxygen species generation. *Free radical biology & medicine*. 2009;46(9):1283-97.
75. Tsuda H, Kawada N, Kaimori JY, Kitamura H, Moriyama T, Rakugi H, et al. Febuxostat suppressed renal ischemia-reperfusion injury via reduced oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;427(2):266-72.
76. Filippin LI, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM. Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatóide. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2008;48:17-24.
77. Droge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95.
78. Fritz R, Bol J, Hebling U, Angermüller S, Völkl A, Fahimi HD, et al. Compartment-dependent management of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by peroxisomes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;42(7):1119-29.
79. Bierl C, Voetsch B, Jin RC, Handy DE, Loscalzo J. Determinants of Human Plasma Glutathione Peroxidase (GPx-3) Expression. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(26):26839-45.
80. Katusic ZS. Superoxide anion and endothelial regulation of arterial tone. *Free radical biology & medicine*. 1996;20(3):443-8.

81. Redón J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A, et al. Antioxidant Activities and Oxidative Stress Byproducts in Human Hypertension. *Hypertension*. 2003;41(5):1096-101.
82. Ward NC, Hodgson JM, Puddey IB, Mori TA, Beilin LJ, Croft KD. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. *Free radical biology & medicine*. 2004;36(2):226-32.
83. MONTUSCHI P, BARNES PJ, ROBERTS LJ. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *The FASEB Journal*. 2004;18(15):1791-800.
84. Mello AP, da Silva IT, Abdalla DS, Damasceno NR. Electronegative low-density lipoprotein: origin and impact on health and disease. *Atherosclerosis*. 2011;215(2):257-65.
85. Avogaro P, Bon GB, Cazzolato G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. *Arteriosclerosis (Dallas, Tex)*. 1988;8(1):79-87.
86. Delgado Roche L, Martínez Sánchez G. El estrés oxidativo en la enfermedad cardiovascular: evidencias para un tratamiento más integral. *Revista Cubana de Farmacia*. 2009;43:0-.
87. Kita T, Kume N, Minami M, Hayashida K, Murayama T, Sano H, et al. Role of Oxidized LDL in Atherosclerosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;947(1):199-206.
88. Struijker-Boudier HA, Rosei AE, Bruneval P, Camici PG, Christ F, Henrion D, et al. Evaluation of the microcirculation in hypertension and cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2007;28(23):2834-40.
89. Levy BI, Ambrosio G, Pries AR, Struijker-Boudier HA. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation*. 2001;104(6):735-40.
90. Kenney WL, Cannon JG, Alexander LM. Cutaneous microvascular dysfunction correlates with serum LDL and sLOX-1 receptor concentrations. *Microvascular Research*. 2013;85(0):112-7.
91. Noon JP, Walker BR, Webb DJ, Shore AC, Holton DW, Edwards HV, et al. Impaired microvascular dilatation and capillary rarefaction in young adults with a predisposition to high blood pressure. *The Journal of Clinical Investigation*. 1997;99(8):1873-9.
92. Villela NR, Kramer-Aguiar LG, Bottino DA, Wiernsperger N, Bouskela E. Metabolic disturbances linked to obesity: the role of impaired tissue perfusion. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2009;53:238-45.
93. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of Hypertension*. 2007;25(6):1105-87 10.097/HJH.0b013e3281fc975a.
94. Levy BI, Schiffrin EL, Mourad J-J, Agostini D, Vicaut E, Safar ME, et al. Impaired Tissue Perfusion: A Pathology Common to Hypertension, Obesity, and Diabetes Mellitus. *Circulation*. 2008;118(9):968-76.
95. Rizzoni D, Porteri E, Boari GEM, De Ciuceis C, Sleiman I, Muiesan ML, et al. Prognostic Significance of Small-Artery Structure in Hypertension. *Circulation*. 2003;108(18):2230-5.
96. De Ciuceis C, Porteri E, Rizzoni D, Rizzardi N, Paiardi S, Boari GEM, et al. Structural Alterations of Subcutaneous Small-Resistance Arteries May Predict Major Cardiovascular Events in Patients With Hypertension. *Am J Hypertens*. 2007;20(8):846-52.

97. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;39(2):257-65.
98. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(7):1149-60.
99. Gokce N. Clinical Assessment of Endothelial Function: Ready for Prime Time? *Circulation: Cardiovascular Imaging*. 2011;4(4):348-50.
100. Hamburg NM, Benjamin EJ. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. *Trends Cardiovasc Med*. 2009;19(1):6-11.
101. Holowatz LA, Thompson-Torgerson CS, Kenney WL. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md : 1985). 2008;105(1):370-2.
102. Henricson J, Tesselaar E, Persson K, Nilsson G, Sjoberg F. Assessment of microvascular function by study of the dose-response effects of iontophoretically applied drugs (acetylcholine and sodium nitroprusside)--methods and comparison with in vitro studies. *Microvasc Res*. 2007;73(2):143-9.
103. Roustit M, Millet C, Blaise S, Dufournet B, Cracowski JL. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvascular Research*. 2010;80(3):505-11.
104. Souza EG, De Lorenzo A, Huguenin G, Oliveira GMM, Tibiriçá E. Impairment of systemic microvascular endothelial and smooth muscle function in individuals with early-onset coronary artery disease: studies with laser speckle contrast imaging. *Coronary Artery Disease*. 2014;25(1):23-8 10.1097/MCA.0000000000000055.
105. Morris SJ, Shore AC. Skin blood flow responses to the iontophoresis of acetylcholine and sodium nitroprusside in man: possible mechanisms. *The Journal of physiology*. 1996;496 ( Pt 2):531-42.
106. Morris SJ, Shore AC, Tooke JE. Responses of the skin microcirculation to acetylcholine and sodium nitroprusside in patients with NIDDM. *Diabetologia*. 1995;38(11):1337-44.
107. Farkas K, Kolossvary E, Jarai Z, Nemcsik J, Farsang C. Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser Doppler flowmetry in patients with essential hypertension. *Atherosclerosis*. 2004;173(1):97-102.
108. Andersson SE, Edvinsson ML, Alving K, Edvinsson L. Vasodilator effect of endothelin in cutaneous microcirculation of heart failure patients. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2005;97(2):80-5.
109. Balmain S, Padmanabhan N, Ferrell WR, Morton JJ, McMurray JJ. Differences in arterial compliance, microvascular function and venous capacitance between patients with heart failure and either preserved or reduced left ventricular systolic function. *European journal of heart failure*. 2007;9(9):865-71.
110. Gilman G. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 10a Edição ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2005.
111. Debbabi H, Uzan L, Mourad JJ, Safar M, Levy BI, Tibirica E. Increased skin capillary density in treated essential hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 2006;19(5):477-83.
112. Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension*. 1999;33(4):998-1001.

113. Antonios TF, Rattray FE, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Maximization of skin capillaries during intravital video-microscopy in essential hypertension: comparison between venous congestion, reactive hyperaemia and core heat load tests. *Clin Sci (Lond)*. 1999;97(4):523-8.
114. Tibirica E, Souza EG, De Lorenzo A, Oliveira GMM. Reduced systemic microvascular density and reactivity in individuals with early onset coronary artery disease. *Microvascular Research*. 2015;97(0):105-8.
115. Fleming JA, Holligan S, PM K-E. Dietary Patterns that Decrease Cardiovascular Disease and Increase Longevity. *J Clin Exp Cardiol*. 2013;S6:006.
116. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas M-I, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *New England Journal of Medicine*. 2013;368(14):1279-90.
117. de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation*. 1999;99(6):779-85.
118. Kastorini CM, Milionis HJ, Ioannidi A, Kalantzi K, Nikolaou V, Vemmos KN, et al. Adherence to the Mediterranean diet in relation to acute coronary syndrome or stroke nonfatal events: a comparative analysis of a case/case-control study. *Am Heart J*. 2011;162(4):717-24.
119. Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, Salas-Salvado J, Ruiz-Gutierrez V, Covas MI, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;145(1):1-11.
120. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1997;336(16):1117-24.
121. Obarzanek E, Sacks FM, Vollmer WM, Bray GA, Miller ER, 3rd, Lin PH, et al. Effects on blood lipids of a blood pressure-lowering diet: the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Trial. *Am J Clin Nutr*. 2001;74(1):80-9.
122. Jacobs DR, Steffen LM. Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2003;78(3):508S-13S.
123. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM, Reeve BB. Evaluation of the Healthy Eating Index-2005. *J Am Diet Assoc*. 2008;108(11):1854-64.
124. Fisberg RM, Slater B, Barros RR, Lima FdD, Cesar CLG, Carandina L, et al. Índice de Qualidade da Dieta: avaliação da adaptação e aplicabilidade. *Revista de Nutrição*. 2004;17:301-18.
125. Brasil. Guia alimentar para a população brasileira : promovendo a alimentação saudável In: *Nutrição*. MdSSdAàSC-GdPdAe, editor. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. p. 210p.
126. Previdelli ÁN, Andrade SCd, Pires MM, Ferreira SRG, Fisberg RM, Marchioni DM. Índice de Qualidade da Dieta Revisado para população brasileira. *Revista de Saúde Pública*. 2011;45:794-8.
127. Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, Castro IR, Cannon G. A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cad Saude Publica*. 2010;26(11):2039-49.
128. Moubarac JC, Martins AP, Claro RM, Levy RB, Cannon G, Monteiro CA. Consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health. Evidence from Canada. *Public Health Nutr*. 2013;16(12):2240-8.

129. Malik VS, Schulze MB, Hu FB. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(2):274-88.
130. Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD. Effects of soft drink consumption on nutrition and health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Public Health.* 2007;97(4):667-75.
131. Monasta L, Batty GD, Cattaneo A, Lutje V, Ronfani L, Van Lenthe FJ, et al. Early-life determinants of overweight and obesity: a review of systematic reviews. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity.* 2010;11(10):695-708.
132. Lima R, Moreira L, Rossato S, Silva R, Fuchs S. P2-155 Consumption of ultra-processed food is associated with blood pressure in hypertensive individuals. *Journal of Epidemiology and Community Health.* 2011;65(Suppl 1):A263.
133. Ros E, Mataix J. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. *British Journal of Nutrition.* 2006;96(SupplementS2):S29-S35.
134. Huynh NN, Chin-Dusting J. AMINO ACIDS, ARGINASE AND NITRIC OXIDE IN VASCULAR HEALTH. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2006;33(1-2):1-8.
135. Blomhoff R, Carlsen MH, Andersen LF, Jacobs DR. Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition.* 2006;96(SupplementS2):S52-S60.
136. Ros E, Nunez I, Perez-Heras A. A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects. A randomized crossover trial. *ACC Current Journal Review.* 2004;13(6):19-20.
137. Cortés B, Núñez I, Cofán M, Gilabert R, Pérez-Heras A, Casals E, et al. Acute Effects of High-Fat Meals Enriched With Walnuts or Olive Oil on Postprandial Endothelial Function. *Journal of the American College of Cardiology.* 2006;48(8):1666-71.
138. Yang J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. *LWT - Food Science and Technology.* 2009;42(10):1573-80.
139. TACO: Tabela Brasileira de Composição de alimentos: NEPA-UNICAMP; 2006.
140. U.S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service. 2013. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 26. Nutrient Data Laboratory Home Page 2013. Available from: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>
141. Ryan E, Galvin K, O'Connor TP, Maguire AR, O'Brien NM. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 2006;57(3-4):219-28.
142. Yang J, Liu RH, Halim L. Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. *LWT - Food Science and Technology.* 2009;42(1):1-8.
143. Faller ALK, Fialho E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. *Revista de Saúde Pública.* 2009;43:211-8.
144. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigo R, et al. Characterization of Mammalian Selenoproteomes. *Science.* 2003;300(5624):1439-43.
145. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington, DC: The National Academies Press, 2000 9780309085250.
146. Chang JC, Gutenmann WH, Reid CM, Lisk DJ. Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. *Chemosphere.* 1995;30(4):801-2.
147. Combs GF. Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition.* 2001;85(05):517-47.

148. Dumont E, De Pauw L, Vanhaecke F, Cornelis R. Speciation of Se in *Bertholletia excelsa* (Brazil nut): A hard nut to crack? *Food Chemistry*. 2006;95(4):684-92.
149. Rayman MP, Stranges S. Epidemiology of selenium and type 2 diabetes: Can we make sense of it? *Free Radical Biology and Medicine*. 2013;65(0):1557-64.
150. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2007;88:2-19.
151. Dean AG, Sullivan KM, MM. S. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health 2003 [cited 2010]. Available from: [www.OpenEpi.com](http://www.OpenEpi.com).
152. Amarowicz R, Troszyńska A, Shahidi F. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ALMOND SEED EXTRACT AND ITS FRACTIONS. *Journal of Food Lipids*. 2005;12(4):344-58.
153. U.S. Department of Agriculture, Service. AR. USDA National Nutrient Database for Standard Reference 2005. Release 18:[Available from: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>].
154. IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. In: Ministério do Planejamento OeG, editor. Rio de Janeiro 2011.
155. Benincasa C, Lewis J, Perri E, Sindona G, Tagarelli A. Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta*. 2007;585(2):366-70.
156. AOAC AOOAC-. Official Methods of Analysis. 16 ed: AOAC, Washington, DC; 1995.
157. Firestone D. Official methods and recommended practices of American Oil Chemists Society. 6th ed. Urbana: AOCS; 2009.
158. L Hartman, Lago RC. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory practice* 1973;22(6):475-6 passim.
159. Larrauri JA, Rupérez P, Saura-Calixto F. Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997;45(4):1390-3.
160. Wijeratne SS, Abou-Zaid MM, Shahidi F. Antioxidant polyphenols in almond and its coproducts. *J Agric Food Chem*. 2006;54(2):312-8.
161. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*. 1995;28(1):25-30.
162. van den Berg R, Haenen GRMM, van den Berg H, Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*. 1999;66(4):511-7.
163. Siriwardhana SKW, Shahidi F. Antiradical activity of extracts of almond and its by-products. *J Amer Oil Chem Soc*. 2002;79(9):903-8.
164. Lei nº 10.741, de 1º de outubro de 2003.
165. Gomes VB, Siqueira KS, Sichieri R. Atividade física em uma amostra probabilística da população do Município do Rio de Janeiro. *Cadernos de Saúde Pública*. 2001;17:969-76.
166. Physical Activity Guidelines Advisory Committee Report. Washington, DC: Dept of Health and Human Services, 2008.
167. Organization. WH. Tobacco country profiles. 2nd ed. Proceedings of the 12th World Conference on Tobacco or Health. Helsinki, Finland WHO; 2003.

168. Pacheco M. Tabela de Equivalentes, Medidas Caseiras e Composição Química dos Alimentos Rio de Janeiro: Rubio; 2006. 654 p.
169. WHO. Global strategy on diet and physical activity. Geneva: World Health Organization, 2004.
170. Medicine. NAOsIo, Board FaN. Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate. Washington, DC: 2004 9780309085250.
171. Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, de Castro IR, Cannon G. Increasing consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health: evidence from Brazil. *Public Health Nutr.* 2011;14(1):5-13.
172. Gibson RS. Principles of nutritional assessment. 2 ed. New York: Oxford University Press; 2005. 908 p.
173. WHO. Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 1998. 265 p.
174. Browning LM, Hsieh SD, Ashwell M. A systematic review of waist-to-height ratio as a screening tool for the prediction of cardiovascular disease and diabetes: 0.5 could be a suitable global boundary value. *Nutrition research reviews.* 2010;23(2):247-69.
175. Amato MC, Giordano C, Galia M, Criscimanna A, Vitabile S, Midiri M, et al. Visceral Adiposity Index: A reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care.* 2010;33(4):920-2.
176. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry.* 1972;18(6):499-502.
177. Maruyama C, Imamura K, Teramoto T. Assessment of LDL particle size by triglyceride/HDL-cholesterol ratio in non-diabetic, healthy subjects without prominent hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb.* 2003;10(3):186-91.
178. Dobiášová M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apob-lipoprotein-depleted plasma (FERHDL). *Clinical Biochemistry.* 2001;34(7):583-8.
179. Sociedade Brasileira de Diabetes [organização José Egidio Paulo de Oliveira, Vencio] S. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014. São Paulo: AC Farmacêutica; 2014.
180. Labat L, Dehon B, Lhermitte M. Rapid and simple determination of selenium in blood serum by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Anal Bioanal Chem.* 2003;376(2):270-3.
181. Rayman MP. Selenium and human health. *The Lancet.* 2012;379(9822):1256-68.
182. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine.* 1967;70(1):158-69.
183. Janaszewska A, Bartosz G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation.* 2002;62(3):231-6.
184. Maclouf J, Grassi J, Pradelles P. Development of Enzyme-Immunoassay Techniques for Measurement of Eicosanoids. In: Walden T, Jr., Hughes H, editors. *Prostaglandin and Lipid Metabolism in Radiation Injury*: Springer US; 1987. p. 355-64.
185. Pradelles P, Grassi J, Maclouf J. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: an alternative to radioimmunoassay. *Analytical Chemistry.* 1985;57(7):1170-3.

186. Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, et al. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(5):844-8.
187. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation.* 1998;98(15):1487-94.
188. Guevara I, Iwanejko J, Dembińska-Kieć A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, et al. Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clinica Chimica Acta.* 1998;274(2):177-88.
189. Roustit M, Millet C, Blaise S, Dufournet B, Cracowski JL. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvasc Res.* 2010;80(3):505-11.
190. Rousseau P, Mahe G, Haj-Yassin F, Durand S, Humeau A, Leftheriotis G, et al. Increasing the "region of interest" and "time of interest", both reduce the variability of blood flow measurements using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res.* 2011.
191. Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension.* 1999;33(4):998-1001.
192. Antonios TF, Rattray FE, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Maximization of skin capillaries during intravital video-microscopy in essential hypertension: comparison between venous congestion, reactive hyperaemia and core heat load tests. *Clin Sci (Lond).* 1999;97(4):523-8.
193. John JA, Shahidi F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). *Journal of Functional Foods.* 2010;2(3):196-209.
194. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Qualified health claims subject to enforcement discretion. Nuts and heart disease., Docket No. 02P-0505 (2003).
195. Augusti PR, Ruviaro AR, Quatrin A, Somacal S, Conterato GMM, Vicentini JT, et al. Imbalance in superoxide dismutase/thioredoxin reductase activities in hypercholesterolemic subjects: relationship with low density lipoprotein oxidation. *Lipids in Health and Disease.* 2012;11:79-.
196. Spady DK, Kearney DM, Hobbs HH. Polyunsaturated fatty acids up-regulate hepatic scavenger receptor B1 (SR-BI) expression and HDL cholesteryl ester uptake in the hamster. *J Lipid Res.* 1999;40(8):1384-94.
197. Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science.* 1996;271(5248):518-20.
198. Choo J, Ueshima H, Curb JD, Shin C, Evans RW, El-Saed A, et al. Serum n-6 fatty acids and lipoprotein subclasses in middle-aged men: the population-based cross-sectional ERA-JUMP study. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(5):1195-203.
199. Satija A, Hu F. Cardiovascular Benefits of Dietary Fiber. *Curr Atheroscler Rep.* 2012;14(6):505-14.
200. Da Costa Louzada M, Chagas Durgante P, De Marchi RJ, Neves Hugo F, Balbinot Hilgert J, Pereira Padilha DM, et al. Healthy eating index in southern brazilian older adults and its association with socioeconomic, behavioral and health characteristics. *J Nutr Health Aging.* 2012;16(1):3-7.
201. McCullough ML, Willett WC. Evaluating adherence to recommended diets in adults: the Alternate Healthy Eating Index. *Public Health Nutr.* 2006;9(1a):152-7.

202. Lee S, Harnack L, Jacobs DR, Jr., Steffen LM, Luepker RV, Arnett DK. Trends in diet quality for coronary heart disease prevention between 1980-1982 and 2000-2002: The Minnesota Heart Survey. *J Am Diet Assoc.* 2007;107(2):213-22.
203. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Ascherio A, Colditz GA, Speizer FE, et al. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 1999;70(6):1001-8.
204. Mozaffarian D, Fahimi S, Singh GM, Micha R, Khatibzadeh S, Engell RE, et al. Global Sodium Consumption and Death from Cardiovascular Causes. *New England Journal of Medicine.* 2014;371(7):624-34.
205. He FJ, Li J, Macgregor GA. Effect of longer-term modest salt reduction on blood pressure. *The Cochrane database of systematic reviews.* 2013;4:Cd004937.
206. Colin-Ramirez E, McAlister FA, Woo E, Wong N, Ezekowitz JA. Association Between Self-reported Adherence to a Low-Sodium Diet and Dietary Habits Related to Sodium Intake in Heart Failure Patients. *The Journal of cardiovascular nursing.* 2014.
207. Psaty BM, Lumley T, Furberg CD, Schellenbaum G, Pahor M, Alderman MH, et al. Health outcomes associated with various antihypertensive therapies used as first-line agents: a network meta-analysis. *Jama.* 2003;289(19):2534-44.
208. van Vark LC, Bertrand M, Akkerhuis KM, Brugts JJ, Fox K, Mourad JJ, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors reduce mortality in hypertension: a meta-analysis of randomized clinical trials of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors involving 158,998 patients. *Eur Heart J.* 2012;33(16):2088-97.
209. Liu Q, Quan H, Chen G, Qian H, Khan N. Antihypertensive medication adherence and mortality according to ethnicity: a cohort study. *The Canadian journal of cardiology.* 2014;30(8):925-31.
210. Flores-Mateo G, Rojas-Rueda D, Basora J, Ros E, Salas-Salvado J. Nut intake and adiposity: meta-analysis of clinical trials. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(6):1346-55.
211. Kendall CWC, Esfahani A, Josse AR, Augustin LSA, Vidgen E, Jenkins DJA. The glycemic effect of nut-enriched meals in healthy and diabetic subjects. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 2011;21, Supplement 1(0):S34-S9.
212. Vigiuliouk E, Kendall CW, Blanco Mejia S, Cozma AI, Ha V, Mirrahimi A, et al. Effect of tree nuts on glycemic control in diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled dietary trials. *PLoS One.* 2014;9(7):e103376.
213. Cominetti C, de Bortoli MC, Garrido Jr AB, Cozzolino SMF. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. *Nutrition Research.* 2012;32(6):403-7.
214. Strunz CC, Oliveira TV, Vinagre JCM, Lima A, Cozzolino S, Maranhão RC. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoproteins, and high-density lipoprotein function in human subjects. *Nutrition research (New York, NY).* 2008;28(3):151-5.
215. Chunhieng T, Hafidi A, Pioch D, Brochier J, Didier M. Detailed study of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) oil micro-compounds: phospholipids, tocopherols and sterols. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* 2008;19:1374-80.
216. Baumgartner S, Mensink RP, Plat J. Plant sterols and stanols in the treatment of dyslipidemia: new insights into targets and mechanisms related to cardiovascular risk. *Current pharmaceutical design.* 2011;17(9):922-32.
217. Méplán C, Crosley LK, Nicol F, Beckett GJ, Howie AF, Hill KE, et al. Genetic polymorphisms in the human selenoprotein P gene determine the response of selenoprotein

- markers to selenium supplementation in a gender-specific manner (the SELGEN study). *The FASEB Journal*. 2007;21(12):3063-74.
218. Meyer KA, Sijtsma FPC, Nettleton JA, Steffen LM, Van Horn L, Shikany JM, et al. Dietary patterns are associated with plasma F2-isoprostanes in an observational cohort study of adults. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013;57(0):201-9.
219. Jenkins DJA, Kendall CWC, Marchie A, Josse AR, Nguyen TH, Faulkner DA, et al. Almonds Reduce Biomarkers of Lipid Peroxidation in Older Hyperlipidemic Subjects. *The Journal of Nutrition*. 2008;138(5):908-13.
220. Sugamura K, Keaney JF. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;51(5):978-92.
221. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005;338(1):668-76.
222. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasiah U, et al. Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2014;436(0):332-47.
223. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2003;349(17):1605-13.
224. Stockler-Pinto MB, Mafra D, Farage NE, Boaventura GT, Cozzolino SM. Effect of Brazil nut supplementation on the blood levels of selenium and glutathione peroxidase in hemodialysis patients. *Nutrition*. 2010;26(11-12):1065-9.
225. Brash AR. Lipoxygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *J Biol Chem*. 1999;274(34):23679-82.
226. Zhao L, Funk CD. Lipoxygenase Pathways in Atherogenesis. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2004;14(5):191-5.
227. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(7):1162-7.
228. Meisinger C, Baumert J, Khuseynova N, Loewel H, Koenig W. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation*. 2005;112(5):651-7.
229. Kris-Etherton PM, Hu FB, Ros E, Sabate J. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. *J Nutr*. 2008;138(9):1746s-51s.
230. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Parker TL, Connelly PW, Qian W, et al. Dose response of almonds on coronary heart disease risk factors: blood lipids, oxidized low-density lipoproteins, lipoprotein(a), homocysteine, and pulmonary nitric oxide: a randomized, controlled, crossover trial. *Circulation*. 2002;106(11):1327-32.
231. Morrow JD. Quantification of isoprostanes as indices of oxidant stress and the risk of atherosclerosis in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(2):279-86.
232. Vassalle C, Botto N, Andreassi MG, Berti S, Biagini A. Evidence for enhanced 8-isoprostane plasma levels, as index of oxidative stress in vivo, in patients with coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2003;14(3):213-8.
233. Preli RB, Klein KP, Herrington DM. Vascular effects of dietary l-arginine supplementation. *Atherosclerosis*. 2002;162(1):1-15.

234. Kawano H, Motoyama T, Hirai N, Kugiyama K, Yasue H, Ogawa H. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is improved by L-arginine administration: possible role of oxidative stress. *Atherosclerosis*. 2002;161(2):375-80.
235. Siani A, Pagano E, Iacone R, Iacoviello L, Scopacasa F, Strazzullo P. Blood pressure and metabolic changes during dietary l-arginine supplementation in humans. *American Journal of Hypertension*. 2000;13(5):547-51.
236. Ma Y, Njike VY, Millet J, Dutta S, Doughty K, Treu JA, et al. Effects of Walnut Consumption on Endothelial Function in Type 2 Diabetic Subjects: A randomized controlled crossover trial. *Diabetes Care*. 2010;33(2):227-32.
237. Sari I, Baltaci Y, Bagci C, Davutoglu V, Erel O, Celik H, et al. Effect of pistachio diet on lipid parameters, endothelial function, inflammation, and oxidative status: A prospective study. *Nutrition*. 2010;26(4):399-404.
238. Mercanligil SM, Arslan P, Alasalvar C, Okut E, Akgul E, Pinar A, et al. Effects of hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adult men. *Eur J Clin Nutr*. 2007;61(2):212-20.
239. López-Uriarte P, Nogués R, Saez G, Bulló M, Romeu M, Masana L, et al. Effect of nut consumption on oxidative stress and the endothelial function in metabolic syndrome. *Clinical Nutrition*. 2010;29(3):373-80.
240. Berry SE, Tydeman EA, Lewis HB, Phalora R, Rosborough J, Picout DR, et al. Manipulation of lipid bioaccessibility of almond seeds influences postprandial lipemia in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(4):922-9.
241. Hawkes WC, Laslett LJ. Selenium supplementation does not improve vascular responsiveness in healthy North American men. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2009;296(2):H256-H62.
242. Ling MC, Ruddy TD, deKemp RA, Ukkonen H, Duchesne L, Higginson L, et al. Early effects of statin therapy on endothelial function and microvascular reactivity in patients with coronary artery disease. *Am Heart J*. 2005;149(6):1137.
243. Kaiser SE, Sanjuliani AF, Estado V, Gomes MB, Tibirica E. Antihypertensive treatment improves microvascular rarefaction and reactivity in low-risk hypertensive individuals. *Microcirculation (New York, NY : 1994)*. 2013;20(8):703-16.

**ANEXOS**

**ANEXO A**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho  
Faculdade de Medicina  
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

CEP - MEMO – n.º 425/11

Rio de Janeiro, 27 de maio de 2011.

Da: Coordenadora do CEP

A (o): Sr. (a) Pesquisador (a): Prof<sup>ª</sup>. Grazielle Vilas Boas Huguenin

Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa.

Sr. (a) Pesquisador (a),

Informo a V. S.a. que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo de pesquisa páginas 001 a 048 e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa: 007/11 - CEP

Título: “Efeito da suplementação do granulado da castanha-do-Brasil na microcirculação e biomarcadores em indivíduos hipertensos e dislipidêmicos”

Pesquisador (a) responsável: Prof<sup>ª</sup>. Grazielle Vilas Boas Huguenin

Data de apreciação do parecer: 19/05/2011

Parecer: "APROVADO"

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório semestral, previsto para 19/11/2011, anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII. 13.d., da Resolução n.º 196/96 – CNS/MS).

Atenciosamente,

  
Prof. Carlos Alberto Guimarães  
Coordenador do CEP

**ANEXO B**

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
SECRETARIA DE ASSISTÊNCIA À SAÚDE  
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**CARTA DE APROVAÇÃO**

Prezados Senhores,

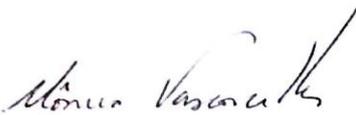
O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Nacional de Cardiologia reuniu-se em 16 de agosto de 2011 e aprovou por unanimidade o projeto:

“Efeito da suplementação do granulado da castanha-do-Brasil na microcirculação e biomarcadores em indivíduos hipertensos e dislipidêmicos”

Pesquisa sob responsabilidade da Investigadora Principal: Grazielle Vilas Bóas Huguenin registrado neste CEP sob o nº 0316/28-02-2011.

Relatórios parciais deverão ser apresentados em 22 de fevereiro de 2012 e em 22 de agosto de 2012.

Rio de Janeiro, 22 de agosto de 2011.

  
Mônica Moura de Vasconcellos  
Coordenadora do CEP do INC

**Dra. Mônica Moura de Vasconcellos**  
Instituto Nacional de Cardiologia  
Coordenadora do Comitê de ética em Pesquisa  
Ministerio da Saúde  
Matr. 6229686 - CRM nº 5237539-9

**ANEXO C**

Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ  
Centro de Ciências da Saúde - CCS  
Instituto de Nutrição Josué de Castro

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996, Conselho Nacional de Saúde**

**Efeito da suplementação com granulado de Castanha-do-Brasil na microcirculação e biomarcadores em indivíduos hipertensos e dislipidêmicos.**

O Sr (a) está convidado (a) a participar de um estudo que tem por objetivo avaliar o efeito do tratamento nutricional associado a um tipo de farinha de Castanha-do-Brasil em várias alterações no seu organismo causadas por substâncias prejudiciais e pelas doenças cardiovasculares, tais como pressão alta, elevação da glicose e gordura no sangue e alteração de pequenos vasos sanguíneos que fazem mal para o seu coração. Além disso, algumas características que podem estar presente no sangue das pessoas estão associadas ao aumento dessas substâncias prejudiciais. Essa farinha da Castanha-do-Brasil é um alimento rico em nutrientes, um deles é chamado selênio, que ajuda a combater a formação das substâncias prejudiciais no nosso corpo.

Este estudo está sendo realizado pela Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Glorimar Rosa, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gláucia Maria Moraes de Oliveira, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Annie B.S. Moreira, Doutoranda em Medicina/Cardiologia Grazielle Vilas Bôas Huguenin e pela Mestranda em Medicina/Cardiologia Roberta França de Carvalho do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. Os resultados desse estudo ajudarão no tratamento nutricional das doenças cardiovasculares.

Ao participar deste estudo, pediremos para o Sr(a) responder um questionário, contendo perguntas para a obtenção de informações gerais (nome, sexo, idade, escolaridade, endereço e telefone de contato, história familiar, uso de medicamentos, etc). Faremos perguntas sobre a sua alimentação e avaliaremos a sua pressão arterial, peso, estatura, circunferência da cintura e gordura corporal. Coletaremos 07 tubos de sangue em jejum de 12 horas para avaliar exames de sangue. Será realizado um exame no quarto dedo da mão esquerda para visualização dos pequenos vasos sanguíneos. Este exame serve para avaliar o funcionamento dos vasos sanguíneos menores do seu corpo.

O sangue será coletado na veia do seu antebraço, por profissional capacitado, seguindo todas as normas de segurança, utilizando material descartável. Faremos 5 coletas de sangue em dias diferentes. A primeira coleta será realizada no início do estudo, em seguida: 30 dias, 60 dia, 90 dias, 120 dias, 150 dias, 180 dias e 210 dias. A quantidade total de sangue a ser coletado para as análises será de 65 mililitros. Informamos que poderão surgir desconfortos devido à hematomas e dor no local da punção venosa.

O Sr (a) receberá dieta nutricionalmente adequada para uma reeducação alimentar, seguindo as recomendações para o tratamento da aterosclerose. O senhor poderá receber uma embalagem contendo a farinha de Castanha-do-Brasil. Durante esse período faremos consultas mensais, nas quais avaliaremos o seu peso, circunferência da cintura, gordura corporal e a sua alimentação. Nessas consultas, o Sr(a) poderá esclarecer qualquer dúvida.

Este estudo trará benefícios a sua saúde, pois promove a perda de peso e a reeducação alimentar. O Sr(a) não sofrerá nenhum risco ao participar do estudo. A participação nesse estudo não contempla recompensa de qualquer natureza e nem o ressarcimento das despesas com transporte e alimentação. O Sr(a) não pagará pelo exame de sangue e pelas outras avaliações.

É garantida a liberdade de se recusar a participar ou de retirar o seu consentimento, em qualquer etapa da pesquisa, sem penalização alguma. Os resultados da pesquisa serão fornecidos somente se o Sr(a) completar todas as etapas do estudo. Garantimos sigilo absoluto quanto aos

dados pessoais coletados e resultados obtidos. Após o término da pesquisa, as informações serão transcritas dos questionários para arquivos no computador e mantidos em local reservado. Os resultados serão divulgados no meio científico e os participantes terão acesso a estes, após a conclusão das análises.

Em caso de qualquer dúvida, as pesquisadoras responsáveis pelo estudo Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Glorimar Rosa, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Gláucia Moraes, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Annie S.B. Moreira, a Doutoranda em Medicina (Cardiologia) Grazielle Vilas Bôas Huguenin, Mestranda em Medicina (Cardiologia) Roberta de Carvalho França encontram-se à sua disposição pelos telefones (21) 2562 – 6596, (21) 9827 – 7284 (Glorimar Rosa), (21) 8689-1908 (Grazielle Huguenin) e (21) 8126-8194 (Roberta França) ou no Instituto de Nutrição Josué de Castro da UFRJ, localizado na Avenida Brigadeiro Trompowski, s/n<sup>o</sup>, CCS, bloco J, 2<sup>o</sup> andar, sala 25, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, CEP: 21941 – 590. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n. 255 – Cidade Universitária – Sala 01D-46/1<sup>o</sup> andar; telefone 2562-2480 – E-mail: [cep@hucff.ufrj.br](mailto:cep@hucff.ufrj.br); O CEP funciona de segunda-feira a sexta-feira, de 08 horas às 15 horas.

### CONSENTIMENTO

“Fui devidamente informada sobre o presente estudo. Minha participação é voluntária, ficando claros os objetivos da pesquisa, os procedimentos a serem realizados, assim como os riscos, benefícios e sigilo dos dados fornecidos. Ficou claro que não receberei recompensa de qualquer natureza, não serei ressarcido pelos gastos com transporte e alimentação, e que não terei de pagar pelo exame de sangue e outras avaliações. Poderei retirar meu consentimento, antes ou durante o estudo, sem penalidades ou prejuízo a mim. Estou ciente de que receberei os resultados somente se concluir todas as etapas do estudo”.

<p style="text-align: center;"><b>(nome da voluntária)</b></p>	<p>Data: ____ / ____ / ____</p>
<p style="text-align: center;"><b>(assinatura da voluntária)</b></p>	<p>Data: ____ / ____ / ____</p>
<p><b>Prof<sup>a</sup> Dra. Glorimar Rosa</b> <b>(Pesquisadora Responsável)</b></p>	<p>Data: ____ / ____ / ____</p>
<p><b>Prof<sup>a</sup> Dra. Glauclia Moraes</b> <b>(Pesquisadora Responsável)</b></p>	<p>Data: ____ / ____ / ____</p>
<p><b>Prof<sup>a</sup> Dra. Annie S.B. Moreira</b> <b>(Pesquisadora Responsável)</b></p>	<p>Data: ____ / ____ / ____</p>
<p><b>Doutoranda Grazielle Vilas Bôas Huguenin</b> <b>(Pesquisadora Responsável)</b></p>	<p>Data: ____ / ____ / ____</p>

**ANEXO D**

Registro na Rede Brasileira de Ensaio Clínicos

RBR-2vsvs3

Efeito da suplementação com granulado da Castanha-do-Brasil na microcirculação e biomarcadores em indivíduos hipertensos e dislipidêmicos

**Data de registro:** 27 de Junho de 2012 às 13:16

**Last Update:** 10 de Fev. de 2014 às 17:54

[HTTP://WWW.ENSAIOSCLINICOS.GOV.BR/RG/RBR-2VSVS3/](http://www.ensaiosclnicos.gov.br/rg/RBR-2vsvs3/)

## ANEXO E

**Questionário para a Coleta de Informações –  
PROJETO CASTANHA-DO-BRASIL**

Nome do entrevistador: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## I – Dados Pessoais

Nome: \_\_\_\_\_ Código: \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_  
 Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 Cor da pele (auto-relatado): \_\_\_\_\_  
 Estado civil: ( ) Solteiro(a) ( ) Casado(a) ( ) Divorciado(a) ( ) Viúvo(a)  
 Naturalidade: \_\_\_\_\_ Nacionalidade: \_\_\_\_\_  
 Profissão: \_\_\_\_\_ Turno/horário de trabalho: \_\_\_\_\_  
 Renda familiar: \_\_\_\_\_ Nº de residentes: \_\_\_\_\_  
 Moradia: ( ) Sozinho(a) ( ) Com a família

Marque abaixo o grau de instrução do chefe de família :

( ) Analfabeto / Até 3a. Série Fundamental	= Analfabeto / Primário incompleto
( ) Até 4a. Série Fundamental (antigo primário)	= Primário completo / Ginásial incompleto
( ) Fundamental completo (antigo ginásial)	= Ginásial completo / Colegial incompleto
( ) Médio completo (antigo colegial)	= Colegial completo / Superior incompleto
( ) Superior completo 8	= Superior completo Superior completo 8

Marque abaixo a quantidade de itens que você possui em sua casa.

Televisão em cores	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Rádio	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Banheiro	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Automóvel	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Empregada mensalista	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Máquina de lavar	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Videocassete e/ou DVD	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Geladeira	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	( ) 0	( ) 1	( ) 2	( ) 3	( ) 4 ou +

## II – História da Doença Atual

( ) Diabetes	Há quanto tempo?
( ) HAS	Há quanto tempo?
( ) Dislipidemia	Há quanto tempo?
( ) Doença Renal	Há quanto tempo?
( ) Hipotireoidismo	Há quanto tempo?

Outros: \_\_\_\_\_

## III – História Familiar

( ) Obesidade ( ) Diabetes Mellitus II ( ) Hipertensão ( ) Dislipidemia \_\_\_\_\_  
 ( ) Doenças Cardiovasculares \_\_\_\_\_

## IV – História Social

Tabagismo: ( ) Fuma ( ) Não fuma ( ) Ex-fumante  
 Por quanto tempo fuma/fumou? \_\_\_\_\_ Quantos cigarros/dia? \_\_\_\_\_  
 Se parou, há quanto tempo parou? \_\_\_\_\_



**IX - Dados Laboratoriais**

<b>Exames</b>	<b>T0</b>	<b>T30</b>	<b>T60</b>	<b>T90</b>	<b>T120</b>	<b>T150</b>	<b>T180</b>	<b>T210</b>
Colesterol Total (mg/dL)								
HDL-colesterol (mg/dL)								
LDL-colesterol (mg/dL)								
Triglicerídeos (mg/dL)								
Apo A-1								
Apo B								
Glicose (mg/dl)								

<b>Parâmetros</b>	<b>T0</b>	<b>T90</b>	<b>T120</b>	<b>T210</b>
Atividade GPx-3				
8-isoprostano				
LDL-ox				
Catalase				
Capacidade Total antioxidante do Plasma (DPPH)				
Se				

X - Microcirculação:

**Parâmetros:** *Densidade capilar (capillaries/mm<sup>2</sup>) – Videocapilaroscopia*

<b>Mão não dominante</b>	<b>T0</b>	<b>T90</b>	<b>T120</b>	<b>T210</b>
Basal (B)				
Hiperemia (PORH)				

**Parâmetros:** *Reatividade microvascular cutânea - Fluxometria laser speckle*

<b>Braço direito</b>	<b>T0</b>	<b>T90</b>	<b>T120</b>	<b>T210</b>
Basal (APU/s)				
Dose 1 (APU/s)				
Dose 2 (APU/s)				
Dose 3 (APU/s)				
Dose 4 (APU/s)				
Dose 5 (APU/s)				
Dose 6 (APU/s)				
AUC (APU)				

APU: unidades arbitrárias de perfusão

**ANEXO F****QUESTIONÁRIO DE ATIVIDADE FÍSICA (SICHERI, 2001)**

Nome do morador \_\_\_\_\_ Código: \_\_\_\_\_

Modelo de questionário sobre atividade física para todos os indivíduos com 12 anos ou mais:

01) Qual foi a sua ocupação no último mês.

 não teve  dona de casa

código: \_\_\_\_\_ outras: \_\_\_\_\_

horas por dia \_\_\_\_\_ dias por semana \_\_\_\_\_

02) Além desta ocupação tem outra.

 sim  não

código: \_\_\_\_\_ outras: \_\_\_\_\_

horas por dia \_\_\_\_\_ dias por semana \_\_\_\_\_

03) Como vai para o trabalho?

 não vai, não se aplica  andando bicicleta  carro transporte coletivo  outro: \_\_\_\_\_

04) Se vai andando, de bicicleta ou outro meio que dispensa energia (patins, etc...), quanto tempo gasta por dia somando ida e volta.

\_\_\_\_\_ minutos por dia

05) Quantas horas assiste TV ou vídeo ou videogame/computador.

 Não assiste

\_\_\_\_\_ horas por dia \_\_\_\_\_ horas por semana

06) Toma conta de crianças menores de 3 anos?

 sim  não

\_\_\_\_\_ vezes por semana \_\_\_\_\_ horas por dia

07) Faz atividade física regular ou esportes :

 nunca ou quase nunca  algumas vezes  sempre

08) Pratica atividade física, além da locomoção para o trabalho e escola.

 sim  não

Se sim, preencha o quadro a seguir. (Se mais de uma atividade do mesmo grupo, some frequência e duração).

Grupos	Frequência	Duração em minutos
I – Caminhadas	_____ por dia _____ por semana	_____
II – Andar em alta velocidade, Correr, bicicleta, vôlei, ginástica, dança, musculação, pegar onda	_____ por dia _____ por semana	_____
III – Natação, futebol, alpinismo, basquete	_____ por dia _____ por semana	_____
Outros: Quais	_____ por dia _____ por semana	_____

**ANEXO G**

*Recordatório 24h: (preparações, ingredientes, quantidades em medidas caseiras)*

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Dia da Semana representado: \_\_\_\_\_

Acorda: \_\_\_\_\_h Dorme: \_\_\_\_\_h

DESJEJUM _____h	COLAÇÃO _____h	ALMOÇO _____h
Local:	Local:	Local:

LANCHE _____h	JANTAR _____h	CEIA _____h
Local	Local:	Local:

## ANEXO H



INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA / Serviço de aterosclerose e prevenção de DCV  
 UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO / Faculdade de Medicina - Instituto do Coração  
 NUTRICIONISTAS: Grazielle Huguenin e Roberta França



## PLANEJAMENTO ALIMENTAR

Kcal

Refeição	Grupos de Alimentos	Nº porções	Exemplo de Combinação
Café da Manhã :—	Grupo do Leite		
	Grupo do Pão		
	Grupo dos Queijos		
	Grupo das Margarinas		
	Grupo das Frutas		
Colação	Grupo das frutas		
Almoço :—	Grupo das Verduras		
	Grupo do Arroz		
	Grupo do Feijão		
	Grupo da Carne		
	Grupo dos Legumes		
	Grupo das Frutas		
	c.sobremesa de Azeite		
Lanche :—	Grupo do Leite		
	Grupo do Pão		
	Grupo dos Queijos		
	Grupo da Margarina		
	Grupo das Frutas		
Jantar :—	Grupo das Verduras		
	Grupo do Arroz		
	Grupo do Feijão		
	Grupo da Carne		
	Grupo dos Legumes		
	Grupo das Frutas		
	c.sobremesa de Azeite		
Ceia :—	Grupo do Leite		
	Grupo do Pão		
	Grupo das Frutas		

**ORIENTAÇÕES:**

- ✓ Comer o suplemento na quantidade de 1 medida, 1 vez/dia.
- ✓ O suplemento pode ser adicionado na fruta, no iogurte, no almoço ou no jantar.
- ✓ Você não deverá comer nenhum tipo de castanha, nozes, avelã, amêndoa durante a sua participação na pesquisa.
- ✓ Você não poderá faltar às consultas. Caso não possa comparecer, deverá nos avisar nos telefones: (21) 8689-1908 (Dra. Grazielle) ou (21) 8126-8194 (Dra. Roberta). Para que seja remarcada a consulta e você não fique sem o suplemento.
- ✓ É importante que você complete o tratamento para que os resultados deste estudo possam ajudar no tratamento de outras pessoas com as mesmas doenças que você.

**DIABÉTICO**

1. Adoçante indicados: sucralose, steviosídeo, aspartame, acesulfame-K.
2. Evitar biscoitos doces, doces concentrados e guloseimas em geral feitos com açúcar.
3. Usar doces diet, refrigerante zero (moderadamente).

## ANEXO I

Grupo do Leite	Medida caseira
Leite desnatado em pó	2 c sopa cheias
Leite desnatado	1 copo (tipo requeijão)
iogurte Light	1 unidade
iogurte desnatado	1 copo pequeno
iogurte desnatado de fruta	1 unidade
Leite de soja	1 copo (tipo requeijão)

Grupo do pão	Medida caseira
Pão Francês com miolo	1 unid.
Aveia em flocos	2 colheres de sopa cheias
Biscoito maisena	5 unidades
Canjica branca	1 concha média cheia
Creme de arroz em pó	4 colheres de sopa cheias
Amido de Milho	2 colheres de sopa cheias
Pão de Forma	2 fatias
Pão de Forma Integral	2 fatias
Torrada de pão francês	8 unidades grande
Biscoito Água	5 unidades
Milharina	2 colheres de sopa cheias
Torrada industrializada	3 unidades

Grupo dos queijos	Medida caseira
Queijo minas frescal	1 fatia pequena
Ricota	1 fatia média
Requeijão	1 c sopa rasa
Requeijão light	1 c sopa rasa
Queijo Prato	1 fatia pequena

Grupo do arroz	Medida caseira
Aipim cozido	1 c.sopa cheia picada
Arroz branco cozido	1 c.sopa cheia
Arroz integral cozido	1 c.sopa cheia
Arroz parboilizado cozido	1 c.sopa
Batata doce cozida	1 c.sopa cheia picada
Batata inglesa cozida	1 c.sopa cheia picada
Inhame cozido	1 c.sopa cheia picada
Macarrão cozido spaguetti	1 c.sopa
Macarrão integral cozido	1 c.sopa
Milho verde em conserva	1 c sopa cheia
Polenta (angu)	1 c.sopa cheia

Grupo das Frutas	Medida caseira
Abacate	1 c sopa cheia picado
Abacaxi	1 fatia média
Acerola	10 unidades
Água de Coco	1 copo duplo cheio
Banana prata	1 unidade média
Goiaba	1 unidade média
Laranja	1 unidade pequena
Maçã	1 unidade pequena
Mamão	1 fatia pequena
Manga	espada pequena
Melancia	1 fatia média
Melão	fatia grande
Morango	10 unidade média
Pêra	1 unidade média
Pêssego	2 unidade média
Suco de maracujá	1 copo pequeno
Suco de Uva	1 copo pequeno
Tangerina	1 unidade pequena
Uva	15 unidade pequena

Grupo dos legumes	Medida caseira
Abóbora coz	1 c.sopa cheia picada
Abobrinha coz	1 c.sopa cheia picada
Berinjela	1 c.sopa cheia
Beterraba crua	1 c.sopa cheia ralada
Beterraba cozida	1 c.sopa cheia picada
Cenoura crua	1 c.sopa cheia ralada
Cenoura cozida	1 c.sopa cheia picada
Chuchu cozido	1 c.sopa cheia picada
Jiló cozido	1 c.sopa cheia
Quiabo cozida	1 c.sopa cheia
Vagem cozido	1 c.sopa cheia

Grupo das margarinas	Medida caseira
Margarina regular SEM sal	1 c chá rasa
Manteiga SEM sal	1 c chá rasa
Margarina Light sem sal	1 c chá cheia

Grupos das verduras	Medida caseira
Acelga crua	1 colher de sopa cheia picada
Agrão cru	1 colher de sopa cheia picada
Alface crua	1 colher de sopa cheia picada
Bertalha cozida	1 colher de sopa cheia
Brocolis cozido	1 colher de sopa cheia picada
Cebola crua	1 colher de sopa cheia picada
Chicória crua	1 folha média
Couve cozida	1 colher de sopa cheia picada
Couve-Flor cozida	1 colher de sopa cheia picada
Espinafre cozido	1 colher de sopa cheia picada
Repolho cozido	1 colher de sopa cheia picada
Repolho cru	1 colher de sopa cheia picada
Tomate cru	1 fatia média

Grupo das carnes	Medida caseira
Bife grelhado	1 unidade médio
Carne assada	1 fatia média
Carne magra cozida	1 pedaço grande
Proteína de soja crua	1c.sopa cheia
Carne ensopada	2 colher de sopa cheia
Coxa frango assada	2 ud média
Coxa frango ensopada	2 ud média
Filé frango grelhado	1ud média
Filé peixe assado	1 ud média
Peito frango assado	1/2 ud pequeno
Peito frango ensopado	1/2 ud pequeno
Peixe ensopado	1 posta pequena
Peixe grelhado	1 posta média

Grupos do Feijão	Medida caseira
Feijão Preto	1 concha média cheia
Feijão Manteiga	1 concha média cheia
Feijão Branco	1 concha média cheia
Feijão Rajado	1 concha média cheia
Feijão Fradinho	1 concha média cheia
Grão de Bico	3 c. sopa
Ervilha Seca Cozida	4 colher de arroz cheia
Lentilha	1 concha média rasa
Soja em grão	4 colher de sopa cheia

## ANEXO J

	SEGUNDA-FEIRA	TERÇA-FEIRA	QUARTA-FEIRA	QUINTA-FEIRA	SEXTA-FEIRA	SÁBADO	DOMINGO
<b>CAFÉ DA MANHÃ</b>	iogurte desnatado Biscoito Integral	Café com leite desnatado Pão de forma com Margarina sem sal	iogurte desnatado com avela	Café com leite desnatado Pão francês sem miolo com Margarina sem sal	Suco de soja Pão de forma torrado com requeijão light	Café com leite desnatado Pão de forma com Margarina sem sal	iogurte desnatado com farinha de linhaça
<b>COLAÇÃO</b>	BANANA	MAÇÃ	MAMÃO	LARANJA	MAÇÃ	MAMÃO	BANANA
<b>ALMOÇO</b>	Salada de alface, tomate e pepino Azeite Isca de frango acebolada Quiabo Arroz Feijão mulatinho Fruta	Salada de agrião e alface Azeite Picadinho de carne com Abóbora Arroz Feijão preto Fruta	Salada de Macarrão Parafuso c/ Brócolis Azeite Filé de peito de frango grelhado Lentilha Fruta	Salada de alface com Cenoura e beterraba raladas Azeite Peixe Cozido Arroz Feijão mulatinho Fruta	Salada de repolho e cenoura ralada Azeite Peito de frango assado Abobrinha refogada Arroz Feijão mulatinho Fruta	Salada de chicória Azeite Bife de Panela Arroz Feijão Preto Chuchu com Orégano Fruta	Salada de alface, tomate e pepino Azeite Rolê de frango Abóbora cozida Arroz Feijão preto Fruta
<b>LANCHE</b>	Café com leite desnatado Pão de forma com Requeijão light Fruta	iogurte light Fruta picada Farinha de linhaça	Café com leite desnatado Fruta Pão francês sem miolo com Margarina sem sal	Leite desnatado batido com fruta Pão de forma torrado com margarina sem sal	Café com leite desnatado Fruta Pão de forma com Margarina sem sal	iogurte light Fruta Granoia	Suco de soja Torrada com queijo branco
<b>JANTAR</b>	Salada de repolho ralado, cenoura ralada, tomate e cebola Azeite Ensopadinho de carne com vagem Arroz Feijão preto Fruta	Salada de Chicória Azeite Almôndegas de frango Macarrão com vagem refogada e salsinha Feijão preto Fruta	Salada de alface, tomate e pepino Azeite Picadinho de frango com quiabo Arroz Feijão mulatinho Fruta	Salada de feijão fradinho com pimentão, tomate, cebola e salsinha Azeite Frango grelhado Espinafre refogado Arroz Fruta	Salada de agrião Azeite Carne moída Macarrão Abóbora cozida Feijão mulatinho Fruta	Salada de Chicória Azeite Frango assado Cenoura cozida Arroz Lentilha Fruta	Salada de couve e alface picados Azeite Atum light Berinjela refogada Grão-de-bico Arroz Fruta
<b>CEIA</b>	Chá com torradas	Mingau de avela	Mate com biscoito maisena	Mingau de maisena	Chá com Cookie	Mamão com iogurte	Banana amassada com avela

**Atenção:** este cardápio é uma sugestão de combinação dos alimentos. Você pode copiar algumas sugestões desde que esteja de acordo com a sua dieta calculada. Use a sua criatividade, faça da sua alimentação um grande prazer saudável!!

## ANEXO K



INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA / Serviço de aterosclerose e prevenção de DCV  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO / Faculdade de Medicina - Instituto do Coração  
NUTRICIONISTAS: Grazielle Huguenin e Roberta França

**ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS**

1. **NÃO COMER:** amendoim, nozes, castanhas, avelã, castanha-do-pará, amêndoa durante a pesquisa.
2. **ÁGUA:** beber 4 copos de água pela manhã e 4 copos de tarde.

**NAS PEQUENAS REFEIÇÕES**

1. Se você beber bebida de soja, prefira aquelas enriquecidas com cálcio.
2. Consumir Margarinas SEM SAL (comum ou light).
3. Consumir queijos magros: até 8g de gorduras totais em 30g de porção.
4. Não consumir biscoitos recheados, bolos industrializados, folhados, sorvetes e salgados, congelados (hamburger, lasanhas empanados etc), produtos industrializados, chocolate, balas, picolés, leite de coco, coco ralado, camarão, biscoitos salgados e biscoitos com cobertura.
5. Usar açúcar moderadamente ou açúcar light com sucralose. Mas lembre de priorizar o sabor natural das frutas.
6. **Adoçante indicados:** sucralose, steviosídeo, aspartame, acesulfame-K.
7. Evitar adoçantes contendo sacarina sódica e ciclamato de sódio. Leia o rótulo na hora de comprar seu adoçante.
8. Não ultrapassar o número de frutas da sua dieta.

**NAS GRANDES REFEIÇÕES**

9. Não usar saleiro à mesa e usar o mínimo possível de sal no preparo dos alimentos.
10. Evitar alimentos em conservas e enlatados, pois possui muito sal. Se comer milho verde e ervilha deve enxaguar bem para retirar o máximo de sal possível.
11. Temperar a salada com limão, azeite, vinagre, ervas, alho.
12. Não usar temperos prontos em pó ou cubos, pois contém muito sal.
13. **NÃO COMER:** salsichas, linguiças, mortadela, salame, pois contém muito sal e gordura.
14. Preparar os alimentos **GRElhADO, COZIDO, REFOGADO** ou **ASSADO**. Evitar frituras e empanados (no máximo 1 vez por semana)
15. Tirar a gordura aparente das carnes e a pele das aves antes da preparação.
16. Frequência de consumo das carnes:
  - **Peito de frango sem pele** - 3 vezes por semana
  - **Carne bovina** - 3 vezes por semana (PATINHO, CHÁ, LAGARTO, MÚSCULO E ALCATRA)
  - **Peixe** - 1 vez por semana (no mínimo) (Merluza, Sardinha, Pescada, Cação, Tainha, Namorado, sardinha enlatada light, ou atum enlatado light ou outro peixe com bom preço no mercado).
17. Não cozinhar carnes no feijão, pois a gordura passa para o caldo.

18. O azeite não pode ser aquecido. Usar azeite na salada.

19. Atentar para a quantidade de óleo no preparo dos alimentos. Utilizar óleo de soja na seguinte quantidade:

01 xícara de arroz cru (200g)	1 c. sobremesa
01 xícara de feijão cru (180g)	2 c. sobremesa
700g de peito de frango, carne bovina ou peixe crus	2 c. sobremesa
01 escumadeira cheia de legumes (100g)	1 c. sobremesa

20. Para preparar a SOPA deve seguir a seguinte combinação:

1 legume verde	chuchu, vagem, abobrinha, berinjela, maxixe, etc
1 legume amarelo ou branco	batata, inhame, aipim, massa, arroz
1 legume abóbora	cenoura, abóbora
1 verdura	repolho, espinafre, agrião, folha de mostarda, taioba, bortalha
1 carne ou frango	músculo, peito de frango ou coxinha da asa

## ANEXO L

- Produção científica, com parte dos dados da tese, em revistas indexadas na base PUBMED:

**Autores:** Cordovil I<sup>1</sup>, Huguenin G, Rosa G, Bello A, Köhler O, de Moraes R, Tibiriçá E  
**Título:** Evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging.

**Revista:** Microvasc Rev. 2012 May;83(3):376-9. Epub 2012 Jan 31.

**DOI:** 10.1016/j.mvr.2012.01.004.

- Artigo submetido com dados da Tese:

### 5844127001506606 Improvement of antioxidant status after Brazil nut intake in hypertensive and dyslipidemic subjects.

Nutrition Journal Editorial <nutrition@biomedcentral.com> 20 de novembro de 2014 16:54  
 Para: Glauca MM Oliveira <glauciamoraesoliveira@gmail.com>  
 Cc: Grazielle VB Huguenin <grazielle.huguenin@gmail.com>, Glorimar Rosa <glorimar@nutricao.ufrj.br>, Glauca MM Oliveira <glauciamoraesoliveira@gmail.com>, Annie SB Moreira <anniebello@gmail.com>, Tatiana D SaintPierre <tatispierre@puc-rio.br>, Rodrigo A Gonçalves <rodrigoagocalves@gmail.com>, Alessandra RP Mulder <alessandra.mulder@gmail.com>, Anderson R Teodoro <atteodoro@gmail.com>, Ronir R Luiz <ronir@iesc.ufrj.br>

Article title: Improvement of antioxidant status after Brazil nut intake in hypertensive and dyslipidemic subjects.

MS ID : 5844127001506606

Authors : Grazielle VB Huguenin, Glorimar Rosa, Glauca MM Oliveira, Annie SB Moreira, Tatiana D SaintPierre, Rodrigo A Gonçalves, Alessandra RP Mulder, Anderson R Teodoro and Ronir R Luiz

Journal : Nutrition Journal

Dear Dr Oliveira

Thank you for submitting your article. This acknowledgement and any queries below are for the submitting author. This e-mail has also been copied to each author on the paper. Please bear in mind that all queries regarding the paper should be made through the submitting author.

A pdf file has been generated from your submitted manuscript and figures. We would be most grateful if you could check this file and let us know if any aspect is missing or incorrect. Any additional files you uploaded will also be sent in their original format for review.

[http://www.nutritionj.com/imedia/5844127001506606\\_article.pdf](http://www.nutritionj.com/imedia/5844127001506606_article.pdf) (387K)

For your records, please find below link(s) to the correspondence you uploaded with this submission. Please note there may be a short delay in creating this file.

[http://www.nutritionj.com/imedia/1399475626150677\\_comment.pdf](http://www.nutritionj.com/imedia/1399475626150677_comment.pdf)

Your manuscript will be considered by our editors and will aim to contact you with an initial decision on the manuscript within six weeks.

In the meantime, if you have any queries about the manuscript you may contact us on [nutrition@biomedcentral.com](mailto:nutrition@biomedcentral.com). We would also welcome feedback about the online submission process, which can be sent to [info@biomedcentral.com](mailto:info@biomedcentral.com).

Best wishes,

The Nutrition Journal Editorial Team

e-mail: [nutrition@biomedcentral.com](mailto:nutrition@biomedcentral.com)

Web: <http://www.nutritionj.com/>

## ANEXO M

### Prêmios de melhor trabalho em Congresso:

1. **HUGUENIN, GVB**; Moreira, ASB ; Lachtermacher, S; Assad, MHV;Oliveira, G MM ; Rosa, G . **Melhora do estresse oxidativo e atividade antioxidante após consumo de Castanha-do-Brasil em pacientes hipertensos e dislipidêmicos**. In: XXXIII Simpósio do Instituto Nacional de Cardiologia, 2014, Rio de Janeiro.
2. CARVALHO, R. F., **HUGUENIN, G.V.B.**, ROSA, Glorimar, MOREIRA, A. S. B., OLIVEIRA, G. M. M. **Effects os Brazil Nuts supplementation in thyroid hormones and serum lipoproteins in dyslipidemic patients**, 2012.III Brasil Prevent & I Latin American Prevent.

### Participação em congressos:

1. **HUGUENIN, GVB**; Moreira, ASB ; Lachtermacher, S; Assad, MHV;Oliveira, G MM ; Rosa, G . **Melhora do estresse oxidativo e atividade antioxidante após consumo de Castanha-do-Brasil em pacientes hipertensos e dislipidêmicos**. In: XXXIII Simpósio do Instituto Nacional de Cardiologia, 2014, Rio de Janeiro.
2. FORTUNATO, J., ARAUJO, D. F., **HUGUENIN, G.V.B.**, MOREIRA, A. S. B., ROSA, Glorimar. **A ingestão de cálcio e vitamina D está relacionada à resistência à insulina?** 2012. XIII Jornada de Nutrição Parenteral e Enteral da SBNPE-RJ.
3. **Huguenin, Grazielle Vilas Bôas. Alimentos Funcionais no Tratamento do Diabetes Mellitus**, 2012. XIV Encontro de Nutrição do Hospital Central do Exército.
4. CARVALHO, R. F., **HUGUENIN, G.V.B.**, LIMA, M. T., MOREIRA, A. S. B., OLIVEIRA, G. M. M., ROSA, Glorimar. **Aplicabilidade do % de gordura estimado por circunferências corporais na população de idosos - viabilidade do método**, 2012. XVIII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia.
5. CARVALHO, R. F., **HUGUENIN, G.V.B.**, LIMA, M. T., ROSA, Glorimar, OLIVEIRA, G. M. M., MOREIRA, A. S. B. **Associação do % de gordura corporal estimado por circunferências corporais e fatores de risco cardiovascular em pacientes com mais de 50 anos**, 2012. XVIII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia.
6. LIMA, M. T. S., **HUGUENIN, G.V.B.**, FORTUNATO, J., ARAUJO, D. F., MOREIRA, A. S. B., CARVALHO, R. F., ROSA, Glorimar, OLIVEIRA, G. M. M. **Associação da ingestão habitual com perfil bioquímico de homens e mulheres do ambulatório de prevenção de doença cardiovascular e aterosclerose do Instituto Nacional de Cardiologia**, 2012. XXXIII Simpósio do Instituto Nacional de Cardiologia.
7. CARVALHO, R. F., **HUGUENIN, G.V.B.**, MOREIRA, A. S. B., LIMA, M. T. S., PINTO, A. P. M., ROSA, Glorimar **Association between cholesterol, platelet count and inflammatory marker in dyslipidemic population**, 2012. XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición.
8. CARVALHO, R. F., **HUGUENIN, G.V.B.**, MOREIRA, A. S. B., GONZALES, M. M., RIBEIRO, F. P., OLIVEIRA, G. M. M. **Association between C-reactive protein and homocysteine with abdominal obesity in a dyslipidemic population: a cross-sectional**

- analysis, 2012. XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición.
9. LIMA, M. T. S., LACHTERMACHER, S., ASSAD, M., HUGUENIN, G.V.B., MOREIRA, A. S. B. **Circunferência do pescoço: Marcador de alteração de perfil lipídico em dislipidêmicos**, 2012. World Nutrition Rio 2012.
  10. LIMA, M. T. S., HUGUENIN, G.V.B., CARVALHO, R. F., LACHTERMACHER, S., ASSAD, M., MOREIRA, A. S. B. **Circunferência do pescoço: melhor marcador antropométrico de alteração de perfil lipídico**, 2012. XII Jornada SOCERJ de Nutrição em Cardiologia.
  11. **Huguenin, Grazielle Vilas Bôas, LEÃO, Leila Sicupira Carneiro de Souza. Controvérsias no tratamento nutricional do paciente cardiopata**, 2012. VII Jornada de Nutrição Clínica do INJC/UFRJ.
  12. FORTUNATO, J., MOREIRA, A. S. B., ARAUJO, D. F., LIMA, M. T. S., HUGUENIN, G.V.B., CARVALHO, R. F., OLIVEIRA, G. M. M., ROSA, Glorimar. **Efeitos da Suplementação com Castanha-do-Brasil em marcadores do metabolismo glicídico e hormônios tireoidianos**, 2012. XXXIII Simpósio do Instituto Nacional de Cardiologia.
  13. ARAUJO, D. F., HUGUENIN, G.V.B., LIMA, M. T. S., CARVALHO, R. F., FORTUNATO, J., MOREIRA, A. S. B., ROSA, Glorimar. **Efeitos da suplementação com Castanha-do-Brasil nos hormônios tireoidianos e lipoproteínas séricas de pacientes dislipidêmicos e hipertensos**. 2012. XXXIII Simpósio do Instituto Nacional de Cardiologia.
  14. HUGUENIN, G.V.B., CARVALHO, R. F., BARROS, K. C. P., MOREIRA, A. S. B., OLIVEIRA, G. M. M., ROSA, Glorimar **Effects of Granular Brazil Nut on metabolic parameters in dyslipidemic patients: randomized, double-blind, placebo-controlled trial**, 2012. XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición.
  15. CARVALHO, R. F., HUGUENIN, G.V.B., ROSA, Glorimar, MOREIRA, A. S. B., OLIVEIRA, G. M. M. **Effects os Brazil Nuts supplementation in thyroid hormones and serum lipoproteins in dyslipidemic patients**, 2012.III Brasil Prevent& I Latin American Prevent.
  16. FORTUNATO, J., BARROS, K. C. P., HUGUENIN, G.V.B., MOREIRA, A. S. B., ROSA, Glorimar. **Grave inadequação de ingestão dietética em uma população de alto risco cardiovascular**, 2012. XIII Jornada de Nutrição Parenteral e Enteral da SBNPE-RJ.
  17. HUGUENIN, G.V.B. **Linhaça e Frutas Oleaginosas**, 2012. 29º Congresso de Cardiologia da SOCERJ;
  18. MOREIRA, A. S. B., HUGUENIN, G.V.B., FORTUNATO, J., LACHTERMACHER, S., ASSAD, M. **Lipid profile, dietary patterns and response to treatment of dyslipidemic elderly: a gender study**, 2012. XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición.
  19. CARVALHO, R. F., HUGUENIN, G.V.B., LIMA, M. T., Tibiriçá, Eduardo, MOREIRA, A. S. B., ROSA, Glorimar, OLIVEIRA, G. M. M. **Prevalência de hipotireoidismo subclínico em uma população dislipidêmica e comparação entre idosos e adultos**, 2012. XVIII Congresso Brasileiro de Geriatria e Gerontologia; Inst.promotora /financiadora: Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia
  20. **Huguenin, Grazielle Vilas Bôas. As propriedades funcionais das castanhas**, 2011. VII Jornada de Nutrição do Sul Fluminense.
  21. HUGUENIN, G.V.B., MOREIRA, A. S. B., CARVALHO, R. F., Cordovil, Ivan, OLIVEIRA, G. M. M., ROSA, Glorimar, Tibiriçá, Eduardo. **Comparação da função endotelial microvascular sistêmica entre indivíduos saudáveis e pacientes com dislipidemia**, 2011. 29º Congresso de Cardiologia da SOCERJ.

22. **HUGUENIN, G.V.B.**, GONCALVES, R. A., CARVALHO, R. F., OLIVEIRA, G. M. M., ROSA, Glorimar, CAMPOS, R. C. **Selenium content in granular Brazil Nuts**, 2011. Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVII; Inst.promotora/financiadora: Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.