

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

DANIELA MAYUMI USUDA PRADO ROCHA

**INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE CASTANHAS BRASILEIRAS SOBRE O PESO
CORPORAL, APETITE, RESPOSTA GLICÊMICA E MARCADORES
INFLAMATÓRIOS EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO**

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2021**

DANIELA MAYUMI USUDA PRADO ROCHA

**INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE CASTANHAS BRASILEIRAS SOBRE O PESO
CORPORAL, APETITE, RESPOSTA GLICÊMICA E MARCADORES
INFLAMATÓRIOS EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Helen Hermana M. Hermsdorff

Coorientadores: Josefina Bressan
Leandro Licursi de Oliveira

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Rocha, Daniela Mayumi Usuda Prado, 1987-

R672i

2021 Influência do consumo de castanhas brasileiras sobre o peso

corporal, apetite, resposta glicêmica e marcadores
inflamatórios em mulheres com excesso de peso / Daniela
Mayumi Usuda Prado Rocha. – Viçosa, MG, 2021.

1 tese eletrônica (211 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: Helen Hermana Miranda Hermsdorff.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.44-52.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.099>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Mulheres - Nutrição. 2. Castanha-do-brasil na nutrição humana. 3. Apetite. 4. Glicemia. 5. Inflamação. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 613.2082

DANIELA MAYUMI USUDA PRADO ROCHA

INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE CASTANHAS BRASILEIRAS SOBRE O PESO CORPORAL, APETITE, RESPOSTA GLICÊMICA E MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 31 de agosto de 2021.

Assentimento:


Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha
Autora


Helen Hermana Miranda Hermsdorff
Orientadora

À Alice, meu maior presente durante essa caminhada da pós-graduação.

AGRADECIMENTOS

Eu agradeço à minha família pelo apoio, em especial aos meus pais, Márcio e Valéria, e minha irmã, Isabela, pelo amor, carinho, e por tudo que sempre fizeram por mim.

Ao meu esposo, Márcio, pelo amor, compreensão, companheirismo e apoio incondicional.

À Alice, minha filha, por ser minha luz e fonte constante de incentivo e alegria. Obrigada por preencher meus dias com tanto amor e doçura.

À minha orientadora, Helen, pela orientação e dedicação. Ao longo de tantos anos de orientação, eu posso dizer que mais que uma orientadora, eu encontrei em você uma grande companheira de trabalho, cujo auxílio foi essencial para que esse projeto fosse concluído. Saiba que eu sou muito grata por todo apoio, compreensão e confiança. Também não posso deixar de agradecer por me proporcionar vivenciar tantas experiências ao longo desses anos, tanto na área de ensino, quanto na pesquisa e também em projetos de extensão. Sem sombra de dúvidas, você teve papel fundamental na minha formação profissional e acadêmica. Obrigada.

Aos meus coorientadores e professores, Josefina e Leandro, obrigada por tanto ao longo desses anos. Vocês contribuíram para o aprimoramento desse trabalho e para o meu crescimento profissional e acadêmico.

Aos envolvidos na execução desse projeto, em especial, as companheiras, Ana Paula, Alexsandra Samara, Brenda, Dandara, Mírian e Yuliana que foram fundamentais para a execução do projeto. À Ana Paula, ficam também meus sinceros agradecimentos pela amizade e super parceria, em todo esse processo.

As voluntárias da pesquisa por possibilitarem a concretização do trabalho.

Aos amigos, em especial aqueles que sempre estiveram presentes, mesmo separados pela distância que a pandemia impôs. Um agradecimento especial aos amigos e colegas da pós-graduação do LAMECC, LAC, LIA, PROCARDIO-UFV e RENOB-MG por toda ajuda e pelos momentos de descontração.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, e aos professores do Departamento de Nutrição e Saúde pela contribuição da minha formação acadêmica, desde a graduação. Aqui eu não poderia deixar de mencionar as professoras Andréia, Carminha e Rita Alfenas, que contribuíram para o meu crescimento profissional na pós-graduação. As técnicas administrativas e de laboratório, em especial à Natália, Rita e Solange, muito obrigada por todo auxílio prestado ao longo desses anos. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM), situado na UFV, pela estrutura e equipamento para análise de marcadores inflamatórios, com o equipamento de citometria de fluxo.

Aos Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC) e Laboratório de Análises Clínicas (LAC), situados na UFV, pela disponibilização do espaço físico e equipamentos necessários às análises realizadas.

Ao Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, bem como a coordenadora Ana Cristina Simões e Silva e sua doutoranda Roberta pela estrutura, apoio técnico e auxílio nas análises de hormônios do apetite no equipamento Luminex.

A Embrapa Agroindústria Tropical - Fortaleza – Ceará, Amêndoas do Brasil® e a Inovam Brasil® que forneceram a matéria-prima para a realização do estudo (castanhas de caju e de castanhas-do-brasil).

A Bioclin (Quibasa - Química Básica Ltda), por meio do projeto denominado Projeto Brasil Escola, que forneceu suprimentos para algumas das dosagens bioquímicas necessárias para caracterizar o perfil bioquímico dos participantes do estudo.

A professora Silvia Eloiza Priore pelo fornecimento do kit de citocinas inflamatórias utilizado nesse estudo.

Ao professor Cláudio Lísias Mafra de Siqueira, sua aluna de doutorado Fernanda e a técnica Ananda, por todo auxílio prestado nas análises de expressão gênica, que embora não puderam compor o presente trabalho, contribuíram para o treinamento e conhecimento técnico sobre os processos envolvidos dessa análise.

E, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização do presente trabalho meus sinceros agradecimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

ROCHA, Daniela Mayumi Usuda Prado, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2021. **Influência do consumo de castanhas brasileiras sobre o peso corporal, apetite, resposta glicêmica e marcadores inflamatórios em mulheres com excesso de peso.** Orientadora: Helen Hermana Miranda Hermsdorff. Coorientadores: Josefina Bressan e Leandro Licursi de Oliveira.

O consumo de castanhas tem efeitos benéficos à saúde, quando incorporadas em uma alimentação saudável e balanceada. Contudo, o papel das castanhas no controle do peso, a saciedade, homeostase glicêmica e inflamação, especialmente das castanhas brasileiras (CB: *Anacardium occidentale* e *Bertholletia excelsa*) não está ainda estabelecido. Assim, o presente estudo avaliou os efeitos do consumo de 45 g de CB (15g de castanha-do-brasil + 30g de castanha de caju) sobre a perda de peso, apetite, resposta glicêmica e inflamação, em mulheres adultas com excesso de peso em risco cardiometabólico. Vinte e nove mulheres participaram de um ensaio clínico randomizado controlado aberto de oito semanas, para receber uma dieta com restrição calórica (-500 kcal/d) contendo CB ou uma dieta isenta de castanhas com mesma restrição (grupo controle). No início e no final do estudo, as participantes compareceram ao Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal da Universidade Federal de Viçosa (LAMECC/ UFV) pela manhã após jejum noturno (10-12h) para avaliação do peso corporal e da composição corporal. Nesse momento, também foram avaliados os escores subjetivos de apetite pós-prandial pela escala visual analógica (EVA) antes e após o consumo (0, 10, 60, 120, 180 e 240 min.) de uma bebida contendo castanhas (grupo CB) ou isenta de castanhas (controle). Também foram avaliados o consumo de almoço *ad libitum*, EVA aos 280 min e registro alimentar nas 24 h subsequentes em ambiente livre. As concentrações plasmáticas de glicemia, insulina, grelina, GIP, GLP-1 e leptina foram dosadas em jejum e 60, 120 e 240 minutos após bebida teste. Os marcadores inflamatórios adiponectina, resistina, PAI-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A e TNF foram determinados em jejum e 240 min pós-prandial. Os valores de HOMA-IR, do índice de triglicerídeo-glicose (TyG), do cortisol, e da PCR em jejum também foram avaliados. Após oitos semanas de intervenção nutricional, as mulheres no grupo CB tiveram perda significativa de peso,

mas similar àquela do grupo controle. Contudo, nas participantes aderentes ao protocolo de restrição calórica (82%), foi observada uma maior perda de peso e de gordura corporal, em comparação ao grupo controle. Além disso, a grelina (Δ AUC) diminuiu no grupo CB em comparação ao grupo controle, após 8 semanas. Em relação a resposta inflamatória, o grupo controle apresentou aumento pós-prandial da citocina pró-inflamatória IL-6 e, possivelmente, como mecanismo de compensação, estimulou o aumento do hormônio anti-inflamatório cortisol. O consumo de CB, por sua vez, evitou o aumento pós-prandial da IL-6, sem alterar outros marcadores inflamatórios avaliados. Ainda, o consumo de CB não alterou as respostas de jejum ou pós-prandial relacionadas ao controle glicêmico. Como conclusão, o consumo de 45 g das CB (*Anacardium occidentale* e *Bertholetia excelsa*), associado a uma dieta com restrição calórica, apresentou efeitos benéficos no peso e na perda de gordura corporal, além de potencial para aumentar a saciedade e um efeito modesto sobre a inflamação. Ainda, o consumo agudo e crônico das castanhas brasileiras não foi capaz de alterar as respostas pós-prandiais glicêmicas e insulinêmicas, em mulheres com excesso de peso normoglicêmicas, em risco cardiometabólico.

Palavras-chave: Apetite. Castanhas. Glicemia. Inflamação. Mulheres. Nutrição.

ABSTRACT

ROCHA, Daniela Mayumi Usuda Prado, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2021. **Influence of Brazilian nuts consumption on body weight, appetite, glycemic response and inflammatory markers in overweight women.** Adviser: Helen Hermana Miranda Hermsdorff. Co-advisers: Josefina Bressan and Leandro Licursi de Oliveira.

The consumption of nuts has beneficial effects on health, when incorporated into a healthy and balanced diet. However, the role of nuts in weight control, satiety, glycemic homeostasis and inflammation, especially of Brazilian nuts (BN: *Anacardium occidentale* and *Bertholletia excelsa*), is not well established. Thus, the present study evaluated the effects of 45 g of BN (15g of Brazil nuts + 30g of cashew nuts) on weight loss, appetite, glycemic response, and inflammation in overweight adult women at cardiometabolic risk. Twenty-nine women participated in an 8-week open-label randomized controlled trial to receive an energy-restricted diet (-500 kcal/d) containing BN or a nut-free diet with the same energy restriction (control group). At the beginning and at the end of the study, the participants attended the Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal of Universidade Federal de Viçosa (LAMECC/UFV) in the morning after an overnight fast (10-12h) to assess body weight and body composition. At that time, subjective scores of postprandial appetite were evaluated by visual analogue scale (VAS) before and after consumption (0, 10, 60, 120, 180, and 240 min.) of a drink containing nuts (group BN) or free of nuts (control). Ad libitum lunch consumption, VAS at 280 min and food record in the subsequent 24 h in an open environment were also evaluated. Plasma concentrations of blood glucose, insulin, ghrelin, GIP, GLP-1 and leptin were measured in fasting and 60, 120 and 240 minutes after the test drink. Inflammatory markers, adiponectin, resistin, PAI-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL -17A, and TNF were determined at fasting and 240 min postprandial. HOMA-IR, triglyceride-glucose index (TyG), cortisol, and fasting CRP concentrations were also evaluated. After eight weeks of nutritional intervention, women in the BN group had significant weight loss, but similar to that of the control group. However, in those energy-restriction protocol compliance participants (82%), a greater loss of weight and body fat was observed, compared to the control group.

Furthermore, ghrelin (Δ AUC) decreased in the BN group compared to the control group after 8 weeks. Regarding the inflammatory response, the control group showed a postprandial increase in the proinflammatory cytokine IL-6 and, possibly, as a compensation mechanism, it stimulated the increase in the anti-inflammatory hormone cortisol. The consumption of BN, in turn, prevented the postprandial increase in IL-6, without altering the other inflammatory markers evaluated. Furthermore, BN consumption did not change fasting or postprandial responses related to glycemic control. In conclusion, the consumption of 45 g of BN (*Anacardium occidentale* and *Bertholletia excelsa*), combined with a calorie-restricted diet, had beneficial effects on weight and body fat loss, as well as a potential to increase satiety and a modest effect on inflammation. Furthermore, the acute and chronic consumption of Brazilian nuts was not able to alter postprandial glycemic and insulinemic responses in normoglycemic overweight women at cardiometabolic risk.

Keywords: Appetite. Blood glucose. Inflammation. Nuts. Nutrition. Women.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Benefícios potenciais do consumo de castanhas sobre fatores de risco cardiometabólicos.41

Figura 2. (A) Fluxograma do estudo; **(B)** Fluxograma do dia do teste (pré e pós-intervenção).....52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sumarização dos estudos clínicos que investigaram o efeito do consumo de castanhas brasileiras sobre o peso corporal e outras medidas antropométricas.	33
Tabela 2. Composição nutricional do jantar padrão (sanduíche de frango com suco de uva).	200
Tabela 3. Composição nutricional das bebidas testes e controle para estudo pós-prandial.	201

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgRP: peptídeo relacionado à agoutir, do inglês *agouti-related peptide*

CART: transcrito regulado pela cocaína e anfetamina, do inglês *cocaine- and amphetamine-regulated transcript*

CB: castanhas brasileiras

DCV: doença cardiovascular

DM2: diabetes mellitus tipo 2

EVA: escala visual analógica

GIP: polipeptídeo insulínico dependente de glicose, do inglês *glucose-dependent insulinotropic polypeptide*

GLP: peptídeo semelhante ao glucagon, do inglês *glucagon-like peptide*

HbA1c: hemoglobina glicada

HDL: lipoproteína de alta densidade, do inglês *high-density lipoprotein*

HOMA: do inglês *Homeostasis Model Assessment*

IFN: interferon

IL: interleucina

LDL: lipoproteínas de baixa densidade, do inglês *low-density lipoprotein*

NPY: neuropeptídeo Y

PC-R: proteína C reativa

POMC: proopiomelanocortina

SNC: sistema nervoso central

TNF: fator de necrose tumoral, do inglês *tumor necrosis factor-alpha*

TyG: índice triglicéridos-glicose, do espanhol *índice triglicéridos y glucosa*

VLDL: lipoproteína muito de baixa densidade, do inglês *very-low-density lipoprotein*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. HIPÓTESE	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	21
4. REVISÃO DE LITERATURA	22
4.1 Obesidade: problema de saúde pública	22
4.2 Obesidade e hormônios reguladores do apetite	23
4.3 Obesidade e controle glicêmico	25
4.4 Obesidade e inflamação	26
4.5 Tratamento e controle da obesidade	27
4.6 Castanhas e benefícios à saúde	28
4.6.1 Castanha de caju (<i>Anacardium occidentale</i>)	28
4.6.2 Castanha-do-brasil (<i>Berthotia excelsa</i>)	29
4.6.3 Castanhas, peso corporal e adiposidade	31
4.6.4 Castanhas e apetite	35
4.6.5 Castanhas e glicemia	36
4.6.6 Castanhas e inflamação	37
4.6.7 Mecanismos envolvidos nos efeitos benéficos das castanhas	38
5. METODOLOGIA	42
5.1 Delineamento do estudo	42
5.2 Participantes	42
5.3 Recrutamento	43
5.4 Período de pré-intervenção: <i>run-in</i>	48
5.5 Aleatorização	49
5.6 Intervenção nutricional	49
5.7 Critérios de descontinuidade do estudo (exclusão)	51

5.8 Consumo e comportamento alimentar	53
5.9 Medidas antropométricas, de composição corporal e pressão arterial.....	54
5.10 Dia de teste pós-prandial.....	54
5.10.1 Avaliação do consumo alimentar.....	55
5.10.2 Avaliação das sensações subjetivas de apetite	55
5.10.3 Avaliação da palatabilidade.....	56
5.10.4 Coleta e separação das amostras biológicas	56
5.10.5 Marcadores metabólicos	57
5.10.6 Marcadores hormonais do apetite	57
5.10.7 Marcadores inflamatórios	58
5.11 Retorno às participantes.....	58
5.12. Tratamento e análise dos dados	59
6. RESULTADOS	60
6.2 ARTIGO 1: Effects of nut-enriched energy-restricted diet on food intake, appetite, and peptide hormones in women at cardiometabolic risk (Brazilian Nuts Study): a randomized controlled trial	61
6.3 ARTIGO 2: Long-term consumption of Brazilian nuts did not affect glucose homeostasis in overweight non-diabetic woman (Brazil Nut Study): a randomized controlled trial	107
6.4 ARTIGO 3: Inflammatory response by a nut-enriched energy-restricted diet in overweight women (Brazil Nut Study): a randomized controlled trial	130
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	169
8. CONCLUSÃO.....	172
REFERÊNCIAS.....	173
APÊNDICE A: Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	187
APÊNDICE B: Questionário de triagem telefônica	187
APÊNDICE C: Questionário de triagem presencial	193
APÊNDICE D: Cartilha de orientações – <i>run-in</i>	196
APÊNDICE E: Registro alimentar de 24 horas.....	198
APÊNDICE F: Composição nutricional do jantar padrão.....	200
APÊNDICE G: Composição nutricional das bebidas testes e controle.....	201

APÊNDICE H: Artigos científicos publicados e desenvolvidos no doutorado.....	202
APÊNDICE I: Capítulos de livro publicados e desenvolvidos no doutorado.....	204
ANEXO A: Questionário sobre o comportamento alimentar.....	205
ANEXO B: Questionário de Sintomas Gastrointestinais.....	207
ANEXO C: Escala visual analógica (EVA) para sensações subjetivas do apetite...	208
ANEXO D: Escala visual analógica (EVA) para palatabilidade	210

1. INTRODUÇÃO

O sobrepeso e a obesidade são definidos como o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que apresenta prejuízos à saúde. Trata-se de um problema de saúde de proporções pandêmicas, no qual cerca de 39% dos adultos apresentam sobrepeso e 13% têm obesidade no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011, 2020). A obesidade está associada a um risco aumentado de desenvolver várias doenças e condições crônicas, incluindo diabetes mellitus tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares (DCV), alguns tipos de câncer e outros (ARNOLD et al., 2015; BHUPATHIRAJU; HU, 2016; ISLAMI et al., 2019; KHAN et al., 2018; KIM; LEE; LIM, 2017). Globalmente, o sobrepeso e a obesidade estão associados à 6ª maior causa de morte, com mais de 5 milhões de mortes, em decorrência de estar com sobrepeso ou obesidade em 2019 (GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS*, 2020; GBD 2019 RISK FACTORS COLLABORATORS, 2020).

De fato, o excesso de adiposidade tem sido associado a uma inflamação crônica, estéril, de baixa intensidade (subclínica) ou metainflamação (inflamação nos tecidos metabólicos), caracterizada pelo aumento modesto dos marcadores pró-inflamatórios circulantes e ausência dos sinais clínicos da inflamação (MRAZ; HALUZIK, 2014). Essa inflamação subclínica na obesidade tem sido associada com distúrbios metabólicos, incluindo a resistência à insulina, lipotoxicidade, e efeitos nocivos a outros órgãos metabólicos, como o fígado, músculo e pâncreas (CHOE et al., 2016).

Além dos perigos para a saúde, a obesidade tem impacto econômico global estimado em 2 trilhões de dólares ou de 2,8% do produto interno bruto (PIB) global (TREMMELE et al., 2017). Mais recentemente, a pandemia de doença coronavírus 2019 (COVID-19) apresenta uma crise de saúde pública sem precedentes e, neste contexto, a obesidade emergiu como um fator de risco independente para doença COVID-19 na sua forma mais grave e também para mortalidade (DU et al., 2021; STEFAN; BIRKENFELD; SCHULZE, 2021).

A obesidade é uma doença multifatorial, mas cujo desbalanço energético, ou balanço energético positivo tem papel importante na sua fisiopatologia, e está intimamente ligada ao sistema nervoso central (SNC) que atua como regulador metabólico chave

que integra sinais periféricos, modula o fluxo autonômico e regula o consumo alimentar (HILLEBRAND; DE WIED; ADAN, 2002; LEE; MATTSON, 2014). Nesse sentido, as abordagens terapêuticas dietéticas e nutricionais no controle da obesidade que tem como alvo a redução calórica moderada (500 a 1.000 kcal/dia) (ABESO, 2016; RAYNOR; CHAMPAGNE, 2016) para uma perda de peso aproximada de 0,5 a 1,0 kg por semana (WISHNOFSKY, 1958). Contudo, tratamentos bem-sucedidos ainda representam um desafio na maioria das práticas clínicas (PLOURDE; PRUD'HOMME, 2012).

Nesse contexto, o consumo de castanhas¹ se destaca pelo seu potencial benéfico no manejo da obesidade, na resistência à insulina e controle glicêmico, e também na inflamação (AKHLAGHI et al., 2020; CASAS et al., 2016; SALAS-SALVADÓ et al., 2014). As castanhas são alimentos altamente calóricos, boas fontes de ácidos graxos (principalmente insaturados), fibras, proteínas vegetais e minerais e contêm compostos bioativos, como polifenóis, tocoferóis, fitoesteróis e fenólicos (ROS, 2010), e o seu consumo tem sido associado a efeitos positivos principalmente nos desfechos cardiovasculares, hipertensão e menor risco de mortalidade (BECERRA-TOMÁS et al., 2019; DE SOUZA et al., 2020; SCHWINGSHACKL et al., 2017). Apesar do alto teor de gordura, as evidências existentes sugerem que o consumo de castanhas incorporado como parte de um padrão alimentar saudável pode ser uma estratégia eficaz para fazer modificações dietéticas viáveis para a prevenção primária da obesidade e ajudar na perda de peso (ESLAMI; SHIDFAR; DEHNAD, 2019; LI et al., 2018; LIU et al., 2019). Ainda, o consumo de castanhas parece modular o apetite pós-prandial, por suprimir a sensação de fome e o desenho de comer, além de aumentar a sensação de plenitude, apresentando potencial benéfico sobre o controle do consumo alimentar (TAN; DHILLON; MATTES, 2014a). Em relação ao efeito do consumo de castanhas sobre a inflamação, estudos do PREDIMED (PREvencion com Dieta MEDiterranea) tem investigado e apontado benefícios, em contexto da Dieta Mediterrânea (CASAS et al., 2016).

¹ Castanha será a terminologia usada para descrever a amêndoa, que botanicamente é a parte comestível de frutos secos e sementes sem casca, de alimentos tais como amêndoas, avelã, castanha de caju, castanha do Brasil, pistache, macadâmia, nozes.

Contudo, devido a limitação dos estudos que investigam esta questão, ainda são necessárias outras evidências para determinar os benefícios para a saúde, especialmente das castanhas brasileiras, como a castanha de caju e castanha-do-brasil, que fazem parte do grupo das castanhas menos estudadas.

2. HIPÓTESE

A hipótese do presente trabalho é que o consumo de castanhas brasileiras (*Anacardium occidentale* e *Bertholletia excelsa*) está associado a maior perda de peso, devido à promoção de resposta prolongada de saciedade e, conseqüentemente, à redução da ingestão calórica, em comparação ao grupo controle. Além disso, acreditamos que o consumo dessas castanhas possa melhorar a resposta glicêmica e a inflamação, em relação ao controle.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do consumo de castanhas brasileiras (*Anacardium occidentale* e *Bertholletia excelsa*) associado a uma restrição calórica na perda de peso e composição corporal, e seus efeitos sobre a saciedade, resposta glicêmica e inflamação em mulheres com risco cardiometabólico.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as participantes do estudo segundo características sociodemográficas, clínicas, antropométricas e de composição corporal, comportamento alimentar, e de estilo de vida;
- Avaliar a mudança de medidas antropométricas e de composição corporal, após oito semanas de consumo diário de castanhas brasileiras associada a uma restrição calórica;
- Avaliar o efeito do consumo de castanhas brasileiras associada a uma dieta com restrição calórica, no início e ao final da intervenção, sobre:
 - Os escores subjetivos do apetite, consumo alimentar *ad libitum* e consumo em vida livre, e concentração de hormônios reguladores do apetite;
 - A resposta glicêmica pós-prandial, bem como sua palatabilidade e aceitabilidade;
 - As concentrações de marcadores inflamatórios, nos estados de jejum e pós-prandial.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Obesidade: problema de saúde pública

A obesidade é definida como um acúmulo excessivo de gordura corporal, sendo comumente classificada mediante um índice de massa corporal (IMC) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ (WHO, 2019). Trata-se de uma condição reconhecida como doença desde 1985 pelo *Consensus Development Conference on Obesity (National Institute of Health)* (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011), a qual é caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de lipídios, com prejuízos à saúde, e cuja expressão fenotípica resulta da interação entre fatores genéticos e ambientais (BRESSAN; HERMSDORFF, 2008; WHO, 2019).

Frequentemente descrita como uma pandemia mundial, a obesidade é uma doença multifatorial que está associada ao desenvolvimento de fatores de risco cardiometabólico, como hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, resistência à insulina e DM2, podendo levar a DCV (BELL; KIVIMAKI; HAMER, 2014; DEMARCO; AROOR; SOWERS, 2014; ECKEL et al., 2015; POIRIER et al., 2006; WORMSER et al., 2011). A maior incidência de eventos cardiovasculares em pessoas com obesidade parece estar relacionada à disfunção endotelial e inflamação crônica subclínica (ENGIN, 2017; VIRDIS, 2016). Segundo uma recente pesquisa realizada com 239 estudos prospectivos, envolvendo mais de 10 milhões de pessoas de 32 países pertencentes a quatro continentes, o excesso de peso e a obesidade resultaram em morte prematura e aumentaram o risco de mortalidade por todas as causas (DI ANGELANTONIO et al., 2016).

Desde 1980, a prevalência mundial do excesso de peso vem aumentando (STEVENS et al., 2012), com incremento anual médio da obesidade no mundo é de 0,6% (CDC, 2014). Na atualidade, cerca de 39% da população adulta mundial apresenta excesso de peso (IMC $\geq 25 \text{ kg/m}^2$) e quase 13% apresenta obesidade (IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011, 2020). No Brasil, a pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel), de 2019, mostrou que mais da metade (55,4%) dos brasileiros acima de 18 anos apresenta excesso de peso. E que dois a cada dez brasileiros (20,3%) estão obesos. Esse percentual é 72% maior que o obtido na primeira vez que o trabalho foi

realizado, em 2006 (BRASIL, 2007, 2020). Esse aumento da obesidade tem impacto econômico global estimado em 2 trilhões de dólares ou de 2,8% do produto interno bruto (PIB) global (TREMMELE et al., 2017). Quando comparadas às pessoas com peso normal, aquelas com obesidade tem um gasto 46% maior com internações, 27% mais consultas ambulatoriais, e um gasto 80% maior com medicamentos (SMITH; SMITH, 2016). Além dos custos diretos e indiretos com a saúde, a obesidade tem repercussão socioeconômica considerável na forma de perda de produtividade e crescimento econômico perdido como resultado da perda de dias de trabalho, menor produtividade no trabalho, mortalidade e incapacidade permanente (TREMMELE et al., 2017). Sob essa perspectiva, compreendemos que a obesidade não tem apenas implicações adversas para a saúde e qualidade de vida, mas também socioeconômicas.

Mais recentemente, a pandemia de doença coronavírus 2019 (COVID-19) apresenta uma crise de saúde pública sem precedentes e, neste contexto, a obesidade emergiu como um fator de risco forte e independente para doença COVID-19 mais grave e morte (DU et al., 2021; STEFAN; BIRKENFELD; SCHULZE, 2021).

4.2 Obesidade e hormônios reguladores do apetite

A homeostase energética, ou balanço energético, tem papel importante na etiologia da obesidade, e está intimamente ligada ao sistema nervoso central (SNC) que atua como regulador metabólico chave que integra sinais periféricos, modula o fluxo autonômico e regula o consumo alimentar (HILLEBRAND; DE WIED; ADAN, 2002; LEE; MATTSON, 2014). Nesse sentido, vários circuitos cerebrais se regulam mutuamente para modular as vias neuronais autônomas e os órgãos endócrinos (influenciando diretamente a homeostase energética), apetite (desejo de comer), saciedade (sensação de satisfação ou plenitude) e prazer alimentar (palatabilidade e recompensa derivada da comida) (LEE; MATTSON, 2014). Trata-se de um sistema neuroendócrino complexo, cuja desregulação contribui para as altas taxas de obesidade associadas ao aumento do consumo de alimentos (HILLEBRAND; DE WIED; ADAN, 2002; LEE; MATTSON, 2014).

O hipotálamo atua como centro de controle do apetite e da saciedade, que recebe e integra sinais periféricos, transportados através da barreira hematoencefálica, que

interagem com neurônios que podem expressar vários neuropeptídeos anorexígenos, como a proopiomelanocortina (POMC) e transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART) que inibem a alimentação e promovem a perda de peso; bem como orexigênicos que estimulam o consumo alimentar e o ganho de peso, tais como neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo relacionado à agoutir (AgRP) (AUSTIN; MARKS, 2009; LEE; MATTSON, 2014). Juntos, esses neurônios e neuropeptídeos modulam as sensações de fome e saciedade e, por fim, o ganho e a perda de peso.

Assim, a detecção e transmissão de sinais periféricos do estado metabólico é um processo importante pelo qual o SNC regula o peso corporal (LEE; MATTSON, 2014). Nesse sentido, a grelina, ou peptídeo liberador do hormônio do crescimento (GH), se destaca como único peptídeo orexígeno periférico circulante conhecido, ou estimulante do apetite (AUSTIN; MARKS, 2009). O aumento da grelina, em estado de jejum prolongado, por sua vez leva ao ganho de peso, em parte por estimular a produção de NPY e AgRP no núcleo arqueado (AUSTIN; MARKS, 2009). Além disso, a grelina está associada com a redução do gasto energético de repouso e catabolismo no tecido adiposo (APOVIAN, 2016). Em contraste com a grelina, existem muitos peptídeos periféricos que estão associados à saciedade (AUSTIN; MARKS, 2009). Hormônios, como o peptídeo semelhante ao glucagon (GLP), oxintomodulina (OXM), leptina, peptídeo tirosina-tirosina (PYY) e colecistocinina (CCK), sinalizam para áreas importantes do SNC envolvidas no controle do apetite (APOVIAN, 2016). Os efeitos da leptina, por exemplo, são neuromoduladores, estimulando uma cascata de sinalização específica que resulta na inibição de peptídeos orexigênicos (NPY e AgRP), enquanto estimula peptídeos anorexígenos (incluindo POMC e CART), que consequentemente leva à diminuição do apetite e aumento do gasto de energia (AUSTIN; MARKS, 2009; LEE; MATTSON, 2014). O intestino delgado também responde aos nutrientes pela secreção de vários sinais de saciedade incluindo colecistocinina (CCK), peptídeo YY, serotonina, glutamato, enterostatina e glucagon like peptide-1 (LEE; MATTSON, 2014). O GLP-1 estimula a liberação de insulina por um mecanismo glicose-dependente e inibe a liberação de glucagon. Os efeitos não glicêmicos incluem promoção da saciedade, provavelmente pelo retardo no esvaziamento gástrico, e consequente perda de peso (APOVIAN, 2016; AUSTIN; MARKS, 2009). O polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) é outra

incretina secretada pelo estômago e pelas células K no duodeno e jejuno em resposta à ingestão de nutrientes, que leva à secreção de insulina glicose-dependente, promoção do armazenamento de energia por meio de ações diretas no tecido adiposo e inibição da apoptose (AUSTIN; MARKS, 2009).

Sugere-se que em indivíduos obesos a resposta pós-prandial de saciedade é atenuada, em relação a hormônios como GLP-1, PYY e CCK, e que há supressão pós-prandial reduzida do hormônio orexigêno grelina. A perda de peso induzida pela restrição calórica, por outro lado, altera os hormônios periféricos e tende a aumentar o apetite e promover a recuperação do peso (LEAN; MALKOVA, 2016). Assim, diante do exposto, é importante compreender como estratégias para o tratamento da obesidade, como dietas e componentes alimentares específicos (ALHABEEB et al., 2021), podem modular essas vias relacionadas com o controle da ingestão alimentar.

4.3 Obesidade e controle glicêmico

Segundo a Organização Mundial da Saúde, estima-se que mais de 2 milhões de mortes no mundo são atribuídas às concentrações elevadas de glicose no sangue (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016). A hiperglicemia pós-prandial (e hiperinsulinemia relacionada), por sua vez, tem sido implicada na etiologia das doenças crônicas, como DM2 e DCV, sugerindo que a intervenção precoce para normalizar a glicose pós-prandial pode ser uma estratégia na redução do risco cardiometabólico (BAO et al., 2011; BLAAK et al., 2012). O estado pós-prandial compreende a maior parte do tempo em que passamos um dia (AUGUSTIN et al., 2015). Portanto, o gerenciamento pós-prandial da glicose sanguínea ideal é essencial em pessoas com e sem diabetes (AUGUSTIN et al., 2015), uma vez que as concentrações elevadas de glicose promovem estresse oxidativo, inflamação e levam a complicações diabéticas crônicas (DOMINGUETI et al., 2016), pois induz um estado de glicotoxicidade, com redução progressiva da secreção da célula beta, ou a perda progressiva da função glicostática do pâncreas, levando a um ciclo vicioso com piora progressiva do estado hiperglicêmico (GELONEZE; LAMOUNIER; COELHO, 2006). Além disso, a homeostase pós-prandial da glicose, e da insulina, tem papel no controle do apetite, por meio da modulação dos hormônios do apetite, promovendo o controle do peso corporal (BRAND-MILLER et al., 2006). Esta noção é apoiada pelas

descobertas de que a secreção de insulina basal e secreção de insulina estimulada por glicose é maior em pâncreas de animais obesos do que magros (VAN VLIET et al., 2020). Dessa forma, a identificação e o controle precoce da hiperglicemia pós-prandial podem constituir um objetivo terapêutico importante na prevenção do diabetes e das comorbidades associadas.

4.4 Obesidade e inflamação

A inflamação é uma resposta fisiológica componente da imunidade inata e necessária para a manutenção da homeostase corporal. Neste processo, vários mediadores inflamatórios são liberados, incluindo moléculas de adesão celular, citocinas, quimiocinas, dentre outros agentes inflamatórios (KVIETYS; GRANGER, 2012). Alguns desses biomarcadores envolvem fatores de transcrição, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B, do inglês, *nuclear factor kappa B*) e transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3, do inglês, *signal transducers and activators of transcription*), citocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF, do inglês, *tumor necrosis factor*), interleucinas (IL)-1, IL-6, IL-8, e proteína quimiotática de monócitos –1 (MCP-1, do inglês, *monocyte chemoattractant protein-1*), enzimas inflamatórias como as ciclooxigenase (COX)-2, 5-lipoxigenase (LOX), 12-LOX, metaloproteinases de matriz (MMP, do inglês, *matrix metalloproteinases*) e outros fatores como proteína C reativa (PC-R) e moléculas de adesão (AGGARWAL, 2004; PRASAD, 2014). Entretanto, quando se estabelece uma resposta inflamatória excessiva ou crônica temos um desbalanço na homeostasia, com efeitos deletérios que promovem um estado patológico inflamatório, que tem sido associado ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, tais como a obesidade, DM2, DCV e câncer (SIMENTAL-MENDÍA; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ; REYES-ROMERO, 2013).

O excesso de adiposidade tem sido associado a uma inflamação crônica, estéril, de baixa intensidade (subclínica) ou metainflamação (inflamação nos tecidos metabólicos), caracterizada pelo aumento modesto dos marcadores pró-inflamatórios circulantes e ausência dos sinais clínicos da inflamação (MRAZ; HALUZIK, 2014). A origem desse processo inflamatório na obesidade é incerta, porém a expansão do tecido adiposo com hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos, juntamente com estímulos autócrinos, parácrinos e endócrinos iniciam a emissão de sinais quimiotáticos que

recrutam células imunes e levam a infiltração de macrófagos para o tecido adiposo (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011). Dessa forma, a disfunção dos adipócitos e o acúmulo de macrófagos no tecido adiposo contribuem para alterações na produção de várias substâncias bioativas, conhecidas como adipocitocinas ou adipocinas, com desequilíbrio entre marcadores anti e pró-inflamatórios, e consequente aumento de marcadores inflamatórios circulantes como das citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF e MCP-1), levando a inflamação crônica subclínica associada a obesidade (CARRARO et al., 2015; CHOE et al., 2016; JUNG; CHOI, 2014). Essa inflamação subclínica na obesidade tem sido associada com distúrbios metabólicos, incluindo a resistência à insulina, lipotoxicidade, e efeitos nocivos a outros órgãos metabólicos, como o fígado, músculo e pâncreas (CHOE et al., 2016).

Por outro lado, o metabolismo de nutrientes tem papel importante na modulação da resposta imunológica e podem influenciar a resposta inflamatória. O consumo de gorduras, particularmente saturada tem efeitos pró-inflamatórios importantes, devido ao seu potencial de ativação dos receptores do tipo toll (TLR-4) (CÂNDIDO et al., 2018; DA SILVA et al., 2020; ROCHA et al., 2016; ROCHA; BRESSAN; HERMSDORFF, 2017a). As gorduras insaturadas, por sua vez, apresentam um potencial anti-inflamatório (CÂNDIDO et al., 2018; COELHO et al., 2017; ROCHA; BRESSAN; HERMSDORFF, 2017a), que podem ser uma alternativa importante para a modulação da inflamação induzida pela obesidade. Assim, entender como alimentos ou padrões alimentares podem ser usados no tratamento da inflamação crônica induzida pela obesidade pode auxiliar nas estratégias de prevenção e tratamento da obesidade.

4.5 Tratamento e controle da obesidade

A dieta, particularmente, o padrão alimentar ou componentes alimentares estão envolvidos na gênese das desordens metabólicas, por seu papel sobre a inflamação e o estresse oxidativo (HERMSDORFF et al., 2011a; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ et al., 2015; ROCHA et al., 2016; ROCHA; BRESSAN; HERMSDORFF, 2017a), saciedade (DA SILVA et al., 2020; DREWNOWSKI, 2009; ROGERS, 1990), sono (GOMES DOMINGOS; HERMSDORFF; BRESSAN, 2017), e regulação metabólica (GARAULET; GÓMEZ-ABELLÁN, 2014; HERMSDORFF et al., 2011b). Por outro lado,

a perda de peso associada a uma restrição calórica tem resultado no controle dessa inflamação crônica, com a redução nas concentrações de TNF, IL-6, leptina, de moléculas de adesão ICAM-I, além da PC-R (HERMSDORFF et al., 2009a, 2009b, 2011b).

A obesidade é uma doença complexa e multifatorial, resultado de uma combinação de causas e fatores contribuintes, incluindo fatores genéticos, comportamentais e ambientais (HRUBY; HU, 2015). Dentre os fatores de risco modificáveis, ou comportamentais, podemos citar o estilo de vida, o padrão alimentar, a atividade física e o sono (HRUBY; HU, 2015). Diante disso, os principais tratamentos para obesidade adulta incluem aconselhamento clínico centrado na dieta, atividade física e mudança de comportamento, farmacoterapia e cirurgia bariátrica (DIETZ et al., 2015). Nesse sentido, as abordagens terapêuticas dietético-nutricionais no controle da obesidade têm como alvo a redução calórica moderada (500 a 1.000 kcal/dia) (ABESO, 2016; RAYNOR; CHAMPAGNE, 2016) para uma perda de peso aproximada de 0,5 a 1,0 kg por semana (WISHNOFSKY, 1958). Contudo, tratamentos bem-sucedidos representam um desafio na maioria das práticas clínicas (PLOURDE; PRUD'HOMME, 2012). Sobre essa perspectiva, identificar estratégias efetivas de prevenção e controle da obesidade são urgentes e necessárias para reverter as tendências atuais. Nesse sentido destacam-se estratégias individualizadas e que promovam mudanças no comportamento alimentar (DE ALMEIDA et al., 2020; VAZ DE MELO RIBEIRO et al., 2020).

4.6 Castanhas e benefícios à saúde

4.6.1 Castanha de caju (*Anacardium occidentale*)

A castanha de caju possui um sabor atrativo muito apreciado pelos consumidores de castanhas/nozes, além disso apresenta importância econômica para cajueiro devido ao seu valor comercial (DE PAIVA; DE BARROS; CAVALCANTI, 2009). O cajueiro é nativo das Américas Central e do Sul, sendo o Brasil considerado seu local de origem. Atualmente, existem espécies cultivadas em regiões tropicais, e em algumas áreas subtropicais (DE PAIVA; DE BARROS; CAVALCANTI, 2009) (DENDENA; CORSI, 2014; MONTEIRO et al., 2015; OLIVEIRA, 2014). Nesse sentido, a cadeia produtora da castanha de caju apresenta forte importância econômica, gerando emprego e

renda para milhares de pessoas e um volume de negócios significativo para países dependentes de agronegócios (DE PAIVA; DE BARROS; CAVALCANTI, 2009). Ainda, sua produção representa um valor comercial importante para os pequenos agricultores de países emergentes (DENDENA; CORSI, 2014). Em nível de varejo, o agronegócio da castanha de caju gera cerca de dois bilhões de dólares anuais, e ocupa o terceiro lugar entre as nozes/castanhas mais comercializadas no mercado internacional (MARIA et al., 2012). Apesar de ser a terceira castanha mais produzida em todo o mundo, até o momento, muito pouca pesquisa foi feita sobre o consumo da castanha de caju (RICO; BULLÓ; SALAS-SALVADÓ, 2015).

O consumo diário de 28–64 g/dia de castanha de caju, durante 28 dias, reduziu as concentrações de colesterol e de LDL em homens e mulheres em risco cardiometabólico (MAH et al., 2017). Além disso, o consumo regular de 30 g de castanha de caju, por 12 semanas, reduziu a pressão arterial sistólica e aumentou a lipoproteína de alta densidade (HDL), em indivíduos com DM2 (MOHAN et al., 2018). Ambas intervenções, com castanha de caju, apresentaram resultados benéficos na perspectiva da melhora do risco de eventos cardiovasculares, com a manutenção do peso corporal (MAH et al., 2017; MOHAN et al., 2018). Tais benefícios parecem estar relacionadas a composição nutricional das castanha de caju, que apesar da sua elevada densidade energética (≈ 600 kcal/100 g), apresentam elevada concentração de ácidos graxos insaturados (79.7 %), principalmente ácido oleico e linoleico (60,7 % e 17,8% do total de ácidos graxos, respectivamente), combinado a uma variedade de esteróis, vitaminas e aminoácidos e fibra alimentar (RICO; BULLÓ; SALAS-SALVADÓ, 2015). Contudo, em um estudo com indivíduos com síndrome metabólica, o consumo diário de 20% do valor energético total (63–108 g/dia), não melhorou o perfil lipídico, resposta glicêmica e inflamatória após oito semanas de intervenção. Os autores do estudo especularam que em indivíduos com excesso de peso, em virtude do forte papel da obesidade sobre os marcadores de risco cardiometabólico, o consumo de castanhas tem benefícios limitados quando a perda de peso não é alcançada (PIETERS et al., 2005).

4.6.2 Castanha-do-brasil (*Berthotia excelsa*)

A castanha-do-brasil é um espécie nativa da Amazônia, e que foi descoberta originalmente crescendo em solos duros e bem drenados ao longo do rio Amazonas

em países como Brasil, Peru, Colômbia, Venezuela e Equador (CARDOSO et al., 2017; YANG, 2009). Dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, mostram que no mundo são produzidos 119 mil toneladas de castanha-do-brasil (FAO, 2018). Atualmente, a Bolívia é o maior produtor de castanha-do-brasil (31%), seguido do Brasil (27%) e Costa do Marfim (9,6%) (FAO, 2018). Trata-se de um produto extrativista, de grande interesse comercial nacional e internacional, sendo considerada um produto com grande potencial para impulsionar o desenvolvimento socioeconômico das comunidades amazônicas (SOCIOECON; PIAGA, 2017). A castanha-do-brasil é uma boa fonte de micronutrientes, particularmente selênio, fitoesteróis, tocoferol, esqualeno e fenólicos, todos atribuídos a vários benefícios potenciais para a saúde (YANG, 2009). Dentre esses micronutrientes, destaca-se o selênio presente na castanha-do-brasil, considerada uma das fontes alimentares mais concentradas desse mineral, que pode acumular 100–1000 mg de selênio/g (CARDOSO et al., 2017). Além disso, o selênio tem ação anti-inflamatória e antioxidante, e está associado a potenciais benefícios cardiovasculares (CARDOSO et al., 2017; HERMSDORFF et al., 2009c; JOSEPH, 2013; OSTER; PRELLWITZ, 1990; ZULET et al., 2009).

A castanha-do-brasil tem elevada densidade calórica (700 kcal/100g) e é uma boa fonte de lipídios (25% de ácidos graxos mono-insaturados e 21% de ácidos graxos poli-insaturados; ressalta-se que o ácido α -linolênico contribui para 7% das gorduras totais). A concentração de ácidos graxos saturados (15% do total de lipídios) é mais elevada que outras castanhas, como a castanha de caju, mas, possui concentrações mais elevadas de magnésio, cobre e zinco. As castanhas-do-brasil, ainda, são consideradas fonte de selênio (5,0 – 71,5 $\mu\text{g/g}$), que variam conforme a região de origem, sendo maior nas regiões amazônica e no nordeste do Brasil, e menor na região sudeste do país (CARDOSO et al., 2017).

Da mesma forma que a castanha de caju, o efeito do consumo de castanha-do-brasil na saúde, tem sido pouco explorado em estudos da área. Destacam-se os estudos que observaram a eficácia do seu consumo (2 castanhas/dia/12 semanas; 15-30g/3 dias/semana) na melhora do estado do selênio devido a sua elevada disponibilidade desse nutriente nessa castanha (MARTENS et al., 2015; THOMSON et al., 2008). E em indivíduos em hemodiálise, foi observado que o consumo diário de uma castanha-

do-brasil reduziu a inflamação e o estresse oxidativo, após 3 meses de intervenção (STOCKLER-PINTO et al., 2014a).

4.6.3 Castanhas, peso corporal e adiposidade

Embora o consumo de castanhas seja associado a benefícios à saúde, principalmente a fatores de risco cardiovascular (BECERRA-TOMÁS et al., 2019; DE SOUZA et al., 2020; SCHWINGSHACKL et al., 2017), devido à sua alta densidade calórica, são levantadas preocupações em relação à sua contribuição para o ganho de peso no consumo de longo prazo (ESLAMI; SHIDFAR; DEHNAD, 2019). Pois, dietas com alimentos altamente calóricos geralmente têm sido associadas ao aumento do peso corporal e da adiposidade, enquanto o consumo de uma dieta com alimentos com baixo conteúdo calórico tem efeitos potencialmente benéficos para prevenir a obesidade (DU et al., 2009; MENDOZA; DREWNOWSKI; CHRISTAKIS, 2007; PÉREZ-ESCAMILLA et al., 2012). Contudo, um recente estudo de meta-análise, mostrou que apesar do consumo de castanhas ser associado ao aumento da ingestão calórica, em indivíduos com sobrepeso, o seu consumo não está associado a efeitos negativos sobre o peso corporal (AKHLAGHI et al., 2020). No entanto, poucos estudos clínicos exploram essa questão com o consumo de castanhas brasileiras.

Em uma breve revisão da literatura, nós identificamos apenas seis estudos clínicos randomizados e controlados que investigaram o efeito do consumo de 28-108 g/dia de castanhas de caju (n= 5) (BAER; NOVOTNY, 2019; DAMAVANDI et al., 2019; MAH et al., 2017; MOHAN et al., 2018; MUKUDDER-PETERSEN et al., 2007) e 5 g/dia castanha-do-brasil (n=1) (REIS et al., 2019), entre 4-12 semanas e 8 semanas respectivamente, sobre o peso corporal e outras medidas antropométricas, em indivíduos adultos. Os estudos foram sumarizados na **Tabela 1**. Ressaltamos que publicações diferentes, mas com resultados do mesmo estudo, foram apresentados uma única vez aqui. Nós observamos que nenhum dos estudos já realizados com castanha de caju ou castanha-do-brasil foi elaborado e/ou propôs aos participantes uma dieta para perda de peso. E, apesar das castanhas fornecerem uma quantidade calórica expressiva (~600-700 kcal/100g), o ganho de peso e outras alterações antropométricas não foram relatadas nesses estudos. Ao analisar a síntese desses resultados por meio da meta-análise, apenas quatro estudos com castanhas de caju apresentaram dados para sua condução. Os resultados agrupados indicaram que não

houve efeito do consumo de castanhas de caju sobre o ganho de peso (diferença da média: 0,13; IC95%: -0,08-0,34; I^2 : 0%). E a avaliação de qualidade dos estudos mostrou que o risco de viés é incerto, principalmente, em relação a metodologia de randomização, alocação e cegamento (ROCHA et al., 2021).

Dessa forma o consumo de castanhas brasileiras não promoveu o ganho de peso em longo prazo, sugerindo o efeito benéfico do seu consumo na manutenção do peso corporal, apesar da sua alta densidade calórica. Contudo, existe uma escassez de literatura sobre os efeitos das intervenções com castanhas brasileiras. Ainda, o efeito combinado dessas castanhas em uma dieta de restrição calórica parece ser uma estratégia ainda inexplorada nos estudos clínicos.

Tabela 1. Sumarização dos estudos clínicos que investigaram o efeito do consumo de castanhas brasileiras sobre o peso corporal e outras medidas antropométricas.

Autor, ano	Desenho do estudo	Participantes	Run-in	Intervenção	Duração	Wash-out	Resultado da intervenção sobre o peso corporal
Estudos com castanha de caju							
Mukuddem-Petersen et al. 2007	Randomizado, paralelo e controlado	Adultos com síndrome metabólica n:43(19H/24M) idade: 45,5 ± 10,2 anos	3 semanas com dieta controle	Grupo intervenção: consumo de castanha de caju (20% da ingestão energética diária; 63-108 g/d) + ingestão habitual (n: 21) Grupo controle: sem consumo de castanhas + ingestão habitual (n: 22)	8 semanas	-	↔ Peso, IMC, PC
Mah et al. 2017	Randomizado, controlado, cruzado	Adultos n: 51 idade: 55.7 ± 10,1 anos	-	Grupo intervenção: dieta para manutenção de peso + castanhas de caju (28– 64 g/dia) (n: 51) Grupo controle: dieta para manutenção de peso (n: 51)	4 semanas	2 semanas	↔ Peso
Damavandi et al. 2019	Randomizado, paralelo e controlado	Adultos com DM2 n: 43 (H:9/M:34) idade: 53.86 ± 7.22 anos	-	Grupo intervenção: consumo de castanha de caju (10% da ingestão energética diária; ~ 28 g/dia) + ingestão habitual (n: 21) Grupo controle: sem consumo de castanhas + ingestão habitual (n: 22)	8 semanas	-	↔ Peso, IMC, PC
Baer and Novotny 2019	Randomizado, controlado, cruzado	Adultos n: 40 (H: 20/M:20) idade= 56.8 ± 10.8 anos	-	Grupo intervenção: consumo de castanha de caju (42 g/dia) + dieta padronizada (n: 39) Grupo controle: dieta padronizada (n:40)	4 semanas	1 semana	↔ Peso

Autor, ano	Desenho do estudo	Participantes	Run-in	Intervenção	Duração	Wash-out	Resultado da intervenção sobre o peso corporal
Mohan et al., 2018	Randomizado, paralelo e controlado	Adultos com DM2 n:269 (H:145/M:121) idade: 50,8 ± 9,5 anos	1 semana com consumo de 30g/dia de castanha de caju	Grupo intervenção: consumo de castanha de caju (30 g/dia) + dieta padronizada para DM2 (n:129) Grupo controle: dieta padronizada para DM2 sem castanhas (n:140)	12 semanas	2 semanas	↔ Peso, IMC, PC
Estudos com castanha-do-brasil							
Reis et al. 2019	Randomizado, paralelo, controlado	Mulheres adultas n:54 (H:0/M:54) idade: 39.7 ± 1.2 anos	-	Grupo intervenção: castanha-do-brasil (1 unidade/dia; ~5g/dia) + dieta habitual (n: 29) Grupo controle: dieta habitual (n:25)	8 semanas	-	↔ Peso, IMC, PC

Dados apresentados em média ± DP. H: homem. M: mulher. IMC: índice de massa corporal. PC: perímetro da cintura. ↔ sem efeito significativo

4.6.4 Castanhas e apetite

Estudos prospectivos têm demonstrado que o consumo de castanhas no longo prazo tem efeitos importantes no controle da obesidade, sendo associado a um menor ganho de peso e menor risco de sobrepeso/obesidade (JACKSON; HU, 2014). Esses efeitos benéficos do consumo de castanhas sobre o peso parecem ter relação com o controle do consumo alimentar (JACKSON; HU, 2014; TAN; DHILLON; MATTES, 2014b). Estudos clínicos têm demonstrado que o consumo de castanhas modula o apetite pós-prandial, podendo suprimir a sensação de fome e o desejo de comer, além de aumentar a sensação de plenitude. Dessa forma, o consumo de castanhas ao longo prazo pode ter efeitos benéficos por afetar o consumo alimentar (TAN; DHILLON; MATTES, 2014a). Contudo, as evidências provêm basicamente de estudos com castanhas e amendoim. Ainda, um recente estudo de revisão sistemática, com vários tipos de castanhas (noz, amêndoa, avelã e amendoim), demonstrou que a sensação de fome é suprimida após o consumo de castanhas, mas não há efeitos sobre a sensação de plenitude (AKHLAGHI et al., 2020). A heterogeneidade dos achados foi alta, demonstrando que os dados dos estudos são muito dispersos decorrente possivelmente de diferenças estatísticas dos efeitos das intervenções, participantes diferentes ou diferentes tipos de estudos, entre outros. Dessa forma, os resultados devem ser interpretados com cautela, e mais estudos ainda são necessários para entender melhor a relação entre consumo de castanhas e seus efeitos sobre o apetite.

Considerando estudos com hormônios reguladores do apetite, há alguns estudos que exploraram o efeito do consumo das castanhas sobre esses marcadores. O consumo de castanhas no longo prazo (24 semanas), reduziu o hormônio orexígeno grelina e ao mesmo tempo aumentou as concentrações de PYY e GLP-1, modulando o apetite em adultos com excesso de peso (ST-ONGE; CAMPBELL; ROYCHOUDHURY, 2020). Em indivíduos com DM2, o consumo de castanhas também aumentou as concentrações de GLP-1, após 3 meses de intervenção (REN et al., 2020). O consumo de pistaches também parece estimular o aumento de GIP e GLP-1, mas, não mostrou efeito na grelina em indivíduos com síndrome metabólica (KENDALL et al., 2014). O

consumo de pasta de amendoim também melhorou a saciedade por meio do aumento das concentrações de PYY, GLP-1 e CCK, em mulheres com obesidade e DM2 (REIS et al., 2013). Já o consumo de um mix de castanhas resultou em uma redução nas concentrações pós-prandiais de grelina e leptina em adultos com excesso de peso, promovendo a saciedade e melhora da resistência a leptina nesses indivíduos (GODWIN et al., 2019).

Encontramos apenas um estudo clínico com castanhas brasileiras, que mostrou que o consumo agudo de castanhas-do-brasil aumentou a saciedade pós-prandial, em adultos saudáveis (ROSENSTOCK et al., 2020). Assim, poucos estudos avaliaram esse efeito com castanhas brasileiras, e além da maioria dos estudos clínicos apresentar a limitação de trabalhar apenas com sensações subjetivas do apetite. Faltam estudos que investigaram a questão da saciedade também com marcadores hormonais da saciedade.

4.6.5 Castanhas e glicemia

Estudos epidemiológicos indicam que o consumo de castanhas pode ser uma estratégia importante para prevenção do DM2, contudo os resultados desses achados em estudos de revisão sistemática e meta-análise são controversos (AFSHIN et al., 2014; AUNE et al., 2016; LUO et al., 2014; ZHOU et al., 2014), e indicam que estudos clínicos são necessários para confirmação.

Nesse sentido, alguns estudos de revisão e meta-análise foram conduzidos para verificar a relação entre o efeito do consumo de castanhas sobre marcadores do controle glicêmico. O estudo mais recente mostrou que o consumo de castanhas diminuiu significativamente o HOMA-IR e a insulina de jejum, mas não alterou a hemoglobina glicada (HbA1c) ou a glicose de jejum em estudos clínicos randomizados e controlados (TINDALL et al., 2019). Já em indivíduos com DM2, o consumo de castanhas melhorou no controle glicêmico, com efeitos sobre HbA1c e a glicemia de jejum, enquanto a redução da insulina de jejum e do HOMA-IR não atingiram significância (VIGUILIOUK et al., 2014). De forma semelhante, outra meta-análise demonstrou efeitos benéficos do consumo do pistache no controle glicêmico, em

indivíduos com pré-diabetes (NTZOUVANI; ANTONOPOULOU; NOMIKOS, 2019). Assim, observamos que há evidências de que o consumo de castanhas tem impacto positivo no controle glicêmico, e que pode desempenhar um papel na melhoria da sensibilidade à insulina e, portanto, na redução do risco de DM2. Contudo, os estudos que avaliaram esses efeitos com castanhas brasileiras são escassos e controversos (DONADIO et al., 2018; MUKUDEM-PETERSEN et al., 2007; REIS et al., 2019; ROSENSTOCK et al., 2020). E, ainda, de forma categórica, os estudos de meta-análise apontam que mais ensaios clínicos, bem conduzidos, com maior duração e qualidade superior são necessários para avaliar o impacto das castanhas nos marcadores de controle glicêmico.

4.6.6 Castanhas e inflamação

O impacto do consumo de castanhas sobre as doenças cardiovasculares tem sido bem documentado (BECERRA-TOMÁS et al., 2019; DE SOUZA et al., 2020; SCHWINGSHACKL et al., 2017), assim, os possíveis mecanismos protetores envolvidos tem sido alvo de estudos, como a relação entre o consumo de castanhas e a inflamação.

O consumo de castanhas tem sido bem estudado no contexto da Dieta Mediterrânea, em estudos do PREDIMED (*PREvención com Dieta MEDiterranea*). Recentes estudos do PREDIMED mostraram o efeito anti-inflamatório do consumo regular de castanhas sobre marcadores relacionados com a aterosclerose, como PC-R, IL-6, TNF, MCP-1 (proteína quimioatraente de monócito 1), em até cinco anos de intervenção (CASAS et al., 2016).

Em um estudo de meta-análise, realizado por Mazidi et al. (2016), mostrou que o consumo de castanhas não apresentou efeito sobre marcadores da inflamação (PC-R, IL6, IL10, TNF e adiponectina). De forma semelhante, um estudo meta-análise mais recente com estudos clínicos randomizados e controlados, com pelo menos três semanas de duração, concluiu que há evidências para efeitos favoráveis do consumo de castanhas sobre a função endotelial. Contudo, também não foi encontrado efeito significativo em biomarcadores pró-inflamatórios, como a PC-R, TNF, IL-6, ICAM-

1(molécula de adesão intercelular-1, do inglês *intercellular adhesion molecule 1*), VCAM-1 (molécula 1 de adesão de célula vascular, do inglês *vascular cell adhesion molecule 1*) ou do biomarcador anti-inflamatório, a adiponectina. Porém, os autores do estudo sugerem que a ausência de efeito encontrada pode ser devido à falta de consistência observada entre os estudos. Como pontos que precisam ser melhorados nos estudos eles apontam a necessidade de estudos clínicos randomizados e controlados, que incorporem o consumo de castanhas nas calorias consumidas na dieta; transparência do registro dos protocolos dos estudos; além de grupos controles adequados para comparação para minimizar os efeitos dos fatores de confusão (NEALE et al., 2017a). Além disso, em recente revisão sobre o tema, Silveira e et al. (2020) apontam que o consumo crônico de castanhas parece melhorar o estresse oxidativo; no entanto, os resultados dos estudos ainda são controversos, pois os benefícios parecem depender do tipo de castanha, da dose e das características clínicas da população. Em face da relação entre inflamação e estresse oxidativo, mais estudos são necessários para identificar a relação do consumo de castanhas sobre esses marcadores.

4.6.7 Mecanismos envolvidos nos efeitos benéficos das castanhas

Apesar de ser um alimento com alta densidade calórica, o consumo regular de castanhas tem sido associado a impactos positivos sobre o risco cardiometabólico, isso devido a sua composição nutricional, que apresenta alto conteúdo de gordura insaturada, e baixo em gordura saturada. Além disso, as castanhas são fontes de componentes bioativos, tais como polifenóis, flavonoides, carotenoides, além de vitaminas e minerais (KIM; KEOGH; CLIFTON, 2017) (**Figura 1**).

Como apresentamos, o consumo de castanhas não está associado ao ganho de peso, essa proteção em relação ao ganho de peso, ocorre possivelmente devido ao aumento da saciedade, gasto de energia e excreção de gordura fecal. O conteúdo de fibras das castanhas é associado ao aumento da saciedade, provavelmente por retarda o esvaziamento gástrico e prolongar o tempo de trânsito gastrointestinal, aumentando assim a interação entre os nutrientes e as células que liberam os hormônios da saciedade (REBELLO; GREENWAY; DHURANDHAR, 2014). Além

disso, o consumo de alimentos com alto conteúdo de gorduras monoinsaturadas, como as castanhas, parece ter efeito favorável no aumento da termogênese e no gasto energético, contribuindo para o controle do peso corporal e para redução da adiposidade. De fato, o efeito termogênico das gorduras insaturadas (mono e poli-insaturadas), que são mais facilmente oxidadas do que as gorduras saturadas, tem sido relatado (CASAS-AGUSTENCH et al., 2009; CISNEROS et al., 2019; KRISHNAN; COOPER, 2014; TAKEUCHI et al., 1995). Além disso, estudos de isótopos marcados indicam que monoinsaturadas $\geq$ poli-insaturadas $>$ saturadas é a ordem preferida para a oxidação de gorduras da dieta; no entanto, estudos bem controlados ainda são necessários para elucidar melhor esse efeito (KRISHNAN; COOPER, 2014). O mecanismo molecular envolvido pode ser a ativação aumentada de gordura monoinsaturada da sinalização de PGC-1 α / PPAR α para promover o metabolismo oxidativo de uma maneira dependente de SIRT1 (NAJT et al., 2020). Além disso, o mediador lipídico endógeno derivado do ácido graxo monoinsaturado (ácido oleico), a oleoiletanolamida mostrou induzir a lipólise por meio da ativação do PPAR α , o que está possivelmente relacionado a benefícios clínicos sobre o controle do peso corporal e a adiposidade (BOWEN et al., 2017). Ainda, devido a estrutura e composição das castanhas inteiras, sua mastigação e digestão não são ineficientes, limitando a quantidade de lipídios absorvidos, os quais são perdidos nas fezes. Essa perda de energia, provavelmente contribui em parte para o controle do peso corporal (TRAORET et al., 2008).

Em relação a inflamação, nós já demonstramos os potenciais efeitos da gordura saturada sobre a resposta inflamatória, por mecanismos que envolvem a ativação de receptores do TLR-4 que promovem o estímulo para produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, favorecendo a endotoxemia metabólica (ROCHA et al., 2016). Além disso, os ácidos graxos insaturados, que se apresentam em grande quantidade nas castanhas, por sua vez, parecem ter efeitos anti-inflamatórios quando comparados aos ácidos graxos saturados (ROCHA; BRESSAN; HERMSDORFF, 2017a). Dessa forma, a substituição de gordura saturada por insaturada, parece contribuir para redução dos marcadores da inflamação. Ainda, minerais e componentes bioativos das castanhas parecem modular o estresse oxidativo e a

inflamação, através da inibição da peroxidação lipídica, da oxidação de LDL, e também da regulação positiva da Nrf2 (fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2) (SILVEIRA et al., 2020).

Já o potencial impacto benéfico do consumo de castanhas sobre o controle glicêmico parece estar relacionado com o seu elevado conteúdo de os ácidos graxos insaturados. O mecanismo envolvido ainda não é muito claro, mas, as gorduras monoinsaturadas estimulam a secreção de GLP-1, que regulam o *clearance* da glicose e melhoram a sensibilidade a insulina. Além disso, as castanhas são fontes de fibras, que podem reduzir a glicemia e a resposta insulínica pós-prandiais. Ainda, evidências sugerem que o aumento do estresse oxidativo e a inflamação estão associados à resistência à insulina nas células beta. As castanhas, por sua vez, contêm diferentes tipos de antioxidantes, como flavonoides, polifenóis e tocoferóis que podem ter papel importante na modulação do estresse oxidativo e da inflamação, e consequentemente melhorar a resposta das células beta à glicose e à ação da insulina (CASAS-AGUSTENCH; BULLÓ; SALAS-SALVADÓ, 2010; KIM; KEOGH; CLIFTON, 2017).

Diante do exposto, investigar o efeito de castanhas brasileiras sobre a perda de peso, o apetite, a resposta glicêmica e a inflamação subclínica possibilitar-nos-á identificar como fatores modificáveis, como a dieta, podem contribuir no tratamento da obesidade e das comorbidades associadas.

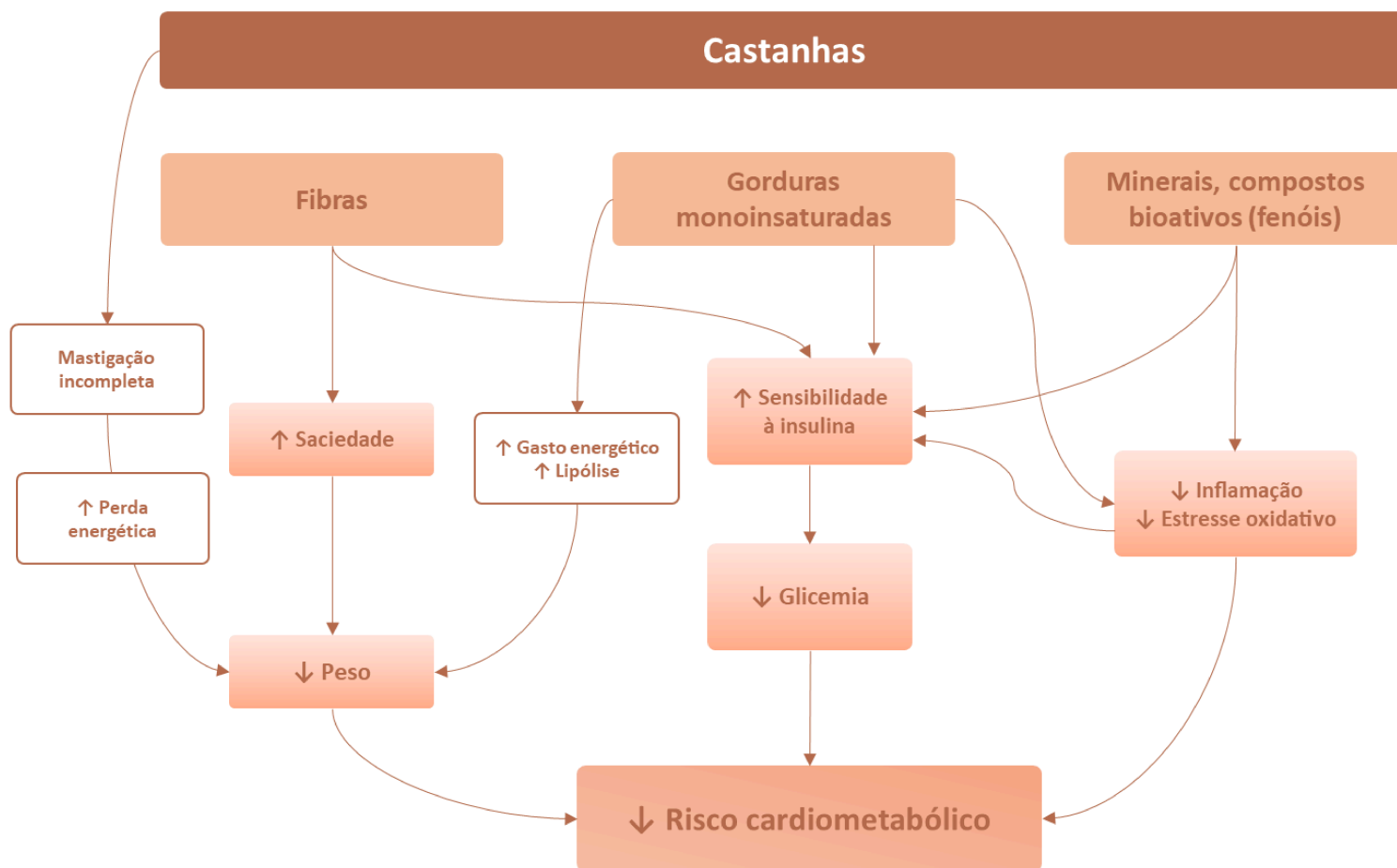


Figura 1. Benefícios potenciais do consumo de castanhas sobre fatores de risco cardiometabólicos.
Fonte: autoria própria

5. METODOLOGIA

5.1 Delineamento do estudo

O presente projeto faz parte do Estudo Castanhas Brasileiras que é ensaio clínico controlado aleatorizado paralelo de oito semanas, com mulheres em risco cardiometabólico, elaborado para avaliar o efeito de uma restrição calórica contendo castanhas brasileiras (grupo CB), em comparação com uma restrição calórica sem castanhas (grupo controle) sobre o peso e composição corporal, apetite, ingestão alimentar e outros marcadores de risco Cardiometabólico. O estudo foi conduzido no Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC) do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa. As participantes foram recrutadas entre junho de 2019 e março de 2020.

Todos os procedimentos descritos no presente projeto de pesquisa estão de acordo com a Resolução CNS/466 de 2012 e Declaração de Helsinki (BRASIL, 2012; WORLD MEDICAL ASSOCIATION et al., 2013), que tratam dos princípios éticos na pesquisa clínica. O mesmo, foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, e teve início após sua aprovação (número do parecer: 3.395.257, CAAE: 92004818.0.0000.5153). Todas as participantes receberam informações sobre os objetivos e os procedimentos realizados no estudo. Aquelas que aceitaram as condições, termos e objetivos, bem como concordaram com a coleta de materiais biológicos, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido em duas vias (**APÊNDICE A**: Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)). Ainda, o presente estudo foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC, nº RBR-3ntxrm).

5.2 Participantes

Para esse estudo foram incluídas mulheres adultas com idade de 20 a 55 anos com excesso de peso (igual ou maior que 27 kg/m²), perímetro da cintura elevado (igual ou maior que 80 cm) e excesso de gordura corporal (igual ou maior que 32%) associados a presença de um ou mais fatores de risco cardiometabólico: triglicerídeos igual ou

maior que 150 mg/dL, pré-hipertensão arterial (igual ou maior que 130 e/ou 85 mmHg para pressões arteriais sistólicas e diastólicas, respectivamente) ou glicemia de jejum igual ou maior que 100 mg/dL; ou mulheres adultas com idade de 20 a 55 anos com obesidade (igual ou maior que 30 kg/m²), perímetro da cintura elevado (igual ou maior que 80 cm) e excesso de gordura corporal (igual ou maior que 32%), independente da presença de fatores de risco cardiometabólicos. Os critérios de não inclusão, foram gestantes, lactantes ou mulheres na menopausa; atletas; veganas; fumantes; com histórico de HIV, doenças do sistema digestivo, fígado, rim, DCV, tireoide, câncer, doenças inflamatórias e distúrbios alimentares; história de abuso de drogas e / ou álcool; aversão ou alergia a castanhas; episódio infeccioso no último mês; uso de anti-inflamatórios, corticosteroides, antibióticos e outros que possam afetar o apetite e metabolismo energéticos; instabilidade do peso (5% do peso normal) nos últimos 3 meses; consumo habitual de castanhas maior que 30 g/dia; consumo de álcool maior que 21 unidades (aprox. 168g) por semana; problemas dentários que interferem na mastigação; consumo de suplementos vitamínicos, minerais e ômega 3.

5.3 Recrutamento

As participantes do estudo foram recrutadas na comunidade local (Viçosa, Minas Gerais, Brasil) por meio da afixação de cartazes e distribuição de panfletos no comércio local, nos Programa de Saúde da Família (PSF), nos Núcleos de Apoio à Saúde da Família (NASF) e divulgação do estudo em emissoras de rádio e redes sociais, página da *web* da UFV, mídia *indoor* e carro de som deixando a disposição um telefone e e-mail para contato.

Após contato telefônico, ou por e-mail, foi realizada uma triagem telefônica (**APÊNDICE A**: Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE))

ESTUDO
castanhas brasileiras

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A Sra. está sendo convidada como voluntária a participar da pesquisa “Efeito do consumo diário de castanhas brasileiras sobre redução do peso e composição corporal, metabolismo energético, apetite, ingestão alimentar, reguladores metabólicos e marcadores genéticos”. Nesta pesquisa nós pretendemos avaliar o efeito de uma dieta reduzida em calorias associada ao consumo diário de amêndoas de castanhas brasileiras sobre a perda de peso e regulação metabólica em mulheres adultas com excesso de peso e risco cardiometabólico. O motivo que nos leva a estudar as amêndoas brasileiras é o grande valor nutricional desses alimentos e seus prováveis benefícios para a saúde.

Esse estudo terá duração de 8 semanas e a coleta dos dados será realizada ao início, durante e ao final do estudo. Ao longo desse período a Sra. seguirá uma dieta reduzida em calorias, a qual poderá ou não ser acompanhada da ingestão de castanhas brasileiras fornecidas quinzenalmente pelos pesquisadores. Além disso, enquanto participar do estudo a Sra. deverá manter o nível de atividade física habitual e evitar o consumo de bebida alcoólica.

Ao iniciar e ao finalizar sua participação no estudo, a Sra. deverá comparecer ao laboratório em duas ocasiões. Na primeira será realizado o teste de permeabilidade intestinal e na segunda as demais avaliações do estudo. Em ambos os dias será necessário a realização de jejum noturno de 10-12 horas. Nas noites anteriores à realização do jejum, a Sra. deverá consumir um jantar padrão (sanduíche e suco), fornecido pelos pesquisadores. No dia do teste de permeabilidade intestinal, a Sra. comparecerá ao laboratório em jejum, onde fará a ingestão de uma bebida contendo açúcares. Em seguida, deverá permanecer no laboratório por um período de 4 horas, durante o qual serão coletadas amostras de urina em um frasco apropriado. Ao final do teste, será fornecido um almoço e a Sra. será liberada para suas atividades habituais.

No segundo dia de testes, a Sra. também deverá comparecer ao laboratório após jejum (10-12 horas) e fará a ingestão de uma bebida contendo ou não amêndoas de castanhas brasileiras. Em seguida, permanecerá no laboratório por cerca de 6 horas, e após, também receberá um almoço fornecido pelos pesquisadores. Nesse dia será realizado a avaliação do peso, altura, gordura corporal, gasto de energia e coleta de amostras de urina durante o período de permanência no laboratório e de sangue (20 mL) em jejum e 1, 2 e 4 horas após o desjejum. Nessa ocasião, como parte dos procedimentos da pesquisa, a Sra. responderá a questionários estruturados contendo perguntas sobre sua história clínica e socioeconômica, hábitos alimentares, nível de atividade física, comportamento frente ao alimento e qualidade do sono, com tempo e aplicação previsto em 1 hora. Ademais, as amostras de fezes deverão ser entregues ao início e ao final do estudo, em um dia de sua escolha. A partir dos dados e amostras coletadas durante o estudo, serão realizadas análises sanguíneas completas, avaliação de micro-organismos intestinais e atividade de genes relacionados com inflamação, estresse oxidativo e metabolismo.

Todos procedimentos invasivos indispensáveis ao estudo serão realizados por profissionais treinadas, minimizando ao máximo eventuais riscos e desconfortos. A coleta de sangue será realizada por um técnico em enfermagem, utilizando apenas materiais descartáveis, sendo possível uma sensação incômoda ou dolorida na hora de inserir a agulha e formação de hematomas no local da entrada da agulha algumas horas após o teste. O técnico em enfermagem será orientado a ser o mais preciso possível para evitar estes incômodos. No caso de eventuais complicações no momento da punção venosa, serão prestados os primeiros socorros no local pelo técnico em enfermagem e, caso haja necessidade, a Sra. será encaminhado para a Divisão de Saúde para demais cuidados. O uso da bioimpedância elétrica para avaliação da gordura corporal é desaconselhada a pessoas que possuam marca-passo ou quaisquer aparelhos eletrônicos semelhantes, pinos, placas metálicas e gestantes. Na ausência dessas restrições, a realização do exame de bioimpedância elétrica não está associado a prejuízos à saúde. Durante a realização das sessões de calorimetria indireta (Deltatrac) para avaliação do gasto de energia, a Sra. deverá permanecer deitada em decúbito dorsal (de costas) em uma maca, por um período de 30 minutos/sessão, movendo-se o mínimo possível. Esse procedimento será realizado em uma sala fechada, com temperatura controlada, e será permitido assistir televisão, caso a Sra. deseje. Os alimentos fornecidos no estudo serão elaborados com matéria prima de boa procedência e qualidade, os quais serão bem acondicionados visando manutenção da qualidade nutricional e microbiológica.

Para evitar qualquer tipo de constrangimento no momento da aferição das medidas e preservar a sua privacidade a avaliação antropométrica será realizada em uma sala fechada, silenciosa, por um profissional treinado. Durante a aplicação dos questionários, a Sra. poderá deixar de responder a uma ou a um conjunto de perguntas caso sinta-se constrangida, sem que isso traga qualquer alteração na relação de tratamento por parte dos pesquisadores. Da mesma forma, as amostras biológicas de fezes e urina serão coletadas e entregues em frascos adequados, fornecidos pelos pesquisadores, e sem identificação nominal.

Quanto aos benefícios, a Sra. terá seu estado nutricional avaliado e receberá um plano alimentar individualizado, visando a redução de peso corporal. Além disso, tanto o consumo de castanhas quanto a dieta restrita em calorias estão associados a benefícios à saúde. Ainda, a Sra. terá acesso aos seus dados de avaliação antropométrica, composição corporal e exames bioquímicos. Ao final do estudo, a Sra. receberá um novo plano alimentar individualizado, visando a manutenção de hábitos alimentares saudáveis e a adequação dos marcadores bioquímicos que se apresentarem fora dos níveis de normalidade.

Para participar deste estudo a Sra. não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, diante de eventuais danos, identificados e comprovados, decorrentes da pesquisa, a Sra. tem assegurado o direito à indenização. A Sra. tem garantida plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem necessidade de comunicado prévio. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na

forma em que a Sra. é atendida pelos pesquisadores. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. A Sra. não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar. Seu nome ou o material que indique sua participação não serão liberados sem a sua permissão.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no “Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC - UFV)” e a outra será fornecida à Sra.

Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de “cinco anos” após o término da pesquisa. Depois desse tempo, os mesmos serão destruídos.

Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade, atendendo à legislação brasileira, em especial, à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, e utilizarão as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, contato _____, fui informada dos objetivos da pesquisa **“Efeito do consumo diário de castanhas brasileiras sobre redução do peso e composição corporal, metabolismo energético, apetite, ingestão alimentar, reguladores metabólicos e marcadores genéticos”** de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

Pesquisadores Responsáveis:

Dra. Josefina Bressan – 31 38992692
 Dra. Helen Hermana Miranda Hermsdorff – 31 38991269
 Ana Paula Silva Caldas – 31 38993388
 Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha - 31 38993388

Endereço: Av. P.H. Rolfs s/n. Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC), Departamento de Nutrição e Saúde, Centro de Ciências Biológicas II, sala 50, 6º andar. Campus Universitário. Viçosa/MG.

Telefone: (31) 3988-3388

E-mail: castanhasbrasilas@gmail.com

Em caso de discordância ou irregularidades sob o aspecto ético desta pesquisa, a Sra. poderá consultar:

CEP/UFV – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 Universidade Federal de Viçosa
 Edifício Arthur Bernardes, piso inferior
 Av. PH Rolfs, s/n – Campus Universitário
 Cep: 36570-900 Viçosa/MG
 Telefone: (31)3899-2492
 Email: cep@ufv.br
 www.cep.ufv.br

Viçosa, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B: Questionário de triagem telefônica) para agendamento de uma visita presencial para aquelas participantes pré-selecionadas e interessadas em participar do estudo.

Após concordância em participar do estudo e assinatura do TCLE, foi verificada a elegibilidade das participantes por meio de um questionário de seleção presencial semiestruturado (**APÊNDICE C**: Questionário de triagem presencial) com questões referentes a história clínica e dietética, dados sociodemográficos, antropométricos e de composição corporal, pressão arterial e exames bioquímicos. A respeito dos exames bioquímicos, as participantes poderiam apresentar exames atuais (últimos três meses) de glicose de jejum e triglicerídeos. Caso não apresentassem esses exames, foi solicitado a sua realização em Laboratório de Análises Bioquímicas local, sem custo para as participantes.

5.4 Período de pré-intervenção: *run-in*

Um período de *run-in*, pré-intervenção ou pré-aleatorização, de uma semana foi aplicado para identificar e excluir potenciais participantes não aderentes ao protocolo da pesquisa. Assim, após a verificação da elegibilidade das participantes (e após resultado dos exames bioquímicos, quando aplicável), as participantes receberam uma cartilha contendo orientações para manutenção da alimentação e atividade física habituais; não consumo de determinados alimentos (azeite de oliva, bebidas alcóolicas, castanhas, nozes e amendoim, suplementos vitamínicos, minerais e ômega 3); bem como não iniciar o consumo de tabaco nesse período (**APÊNDICE D**: Cartilha de orientações – *run-in*).

Ainda, as participantes foram orientadas quanto ao preenchimento de três registros alimentares de 24 horas (**APÊNDICE E**: Registro alimentar de 24 horas), em dois dias de semana e um dia de final de semana, para avaliação do seu consumo alimentar habitual.

Ao término do período de *run-in*, essas compareceram ao laboratório para entrega dos três registros alimentares, aferição do peso corporal e verificação do cumprimento das orientações. Aquelas mulheres que apresentarem variação superior a ± 1 kg no

peso corporal (instabilidade ponderal), que não mantiveram a atividade física habitual, relataram o consumo de alimentos e/ou bebidas não permitidos, ou tabagismo foram consideradas más respondedoras a intervenção, e, portanto, não foram incluídas na pesquisa.

5.5 Aleatorização

Após completar o período de *run-in*, as participantes foram alocadas, aleatoriamente, pelo método de minimização (ABRAMSON, 2011) estratificado com base na idade, IMC e percentual de gordura corporal, com três níveis por fator, para garantir uma distribuição equilibrada dos potenciais fatores que poderiam interferir nas variáveis de desfecho. Sequências de alocação aleatória foram geradas usando o software WinPepi, versão 11.65 (Copyright J.H. Abransom, 23 de agosto de 2016).

5.6 Intervenção nutricional

As necessidades energéticas totais foram estimadas de acordo com o cálculo do gasto energético total para mulheres com sobrepeso/obesidade (TRUMBO et al., 2002), para cada participante, sob a qual foi aplicado um déficit de 500 kcal/dia (ABESO, 2016; RAYNOR; CHAMPAGNE, 2016). Assim, de acordo com a alocação, as participantes receberam:

- 1) Grupo controle: plano alimentar com restrição calórica (-500 kcal/dia) sem castanhas;
- 2) Grupo castanhas brasileiras (CB): plano alimentar com restrição calórica (-500 kcal/dia) contendo castanhas brasileiras (15 g de castanhas-do-brasil e 30 g de castanhas de caju);

Os planos alimentares entregues às participantes possuíam cinco opções de cardápios diários, lista de substituições permitidas, orientações e receitas, que foram prescritos de acordo com a Faixa de Distribuição de Macronutrientes Aceitável (AMDR, do inglês, *Acceptable Macronutrient Distribution Range*) (24), sob supervisão de um nutricionista.

A cada duas semanas, as participantes deveriam comparecer a consultas de acompanhamento. Na ocasião, as participantes do grupo CB receberiam pacotes individuais laminados e embalados à vácuo, contendo 45 g de castanhas brasileiras (15 g de castanhas-do-brasil e 30 g de castanhas de caju) cada, para consumo diário. As participantes do grupo CB eram instruídas a consumir as castanhas pela manhã (colação) em sua forma crua e sem sal, na porção fornecida, e a não consumir outros tipos de castanhas. Para evitar o compartilhamento das castanhas com familiares e amigos, nós fornecemos um adicional (30%) a cada participante durante as visitas. Além disso, as participantes do grupo de controle receberam, durante as consultas, um molho para salada à base de óleo de soja e limão (proporção de 2:1, respectivamente) para consumo diário (duas colheres, no almoço e jantar), visando substituir as calorias com alto conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados do grupo CB, com calorias equivalentes principalmente de ácidos graxos poli-insaturados em suas refeições. As participantes do grupo controle também foram aconselhadas a não consumir qualquer outro tipo de molho para salada ou castanhas nas refeições. O consumo diário de castanhas ou molho para salada, nas porções indicadas para cada grupo, foram contabilizados na restrição calórica de -500 kcal/dia dos planos alimentares (**Figura 2A**).

O cumprimento do protocolo foi verificado durante as visitas, com a devolução da embalagem e registro do consumo alimentar. Além disso, todos os participantes foram orientados a manter constante a atividade física habitual.

O período de intervenção com plano alimentar com restrição calórica teve duração de oito semanas. Segundo recomendações da *Food Drug Administration* (FDA, 2009), para avaliação científica de estudos de alegações de saúde, intervenções (no caso de ensaios aleatorizados controlados) devem apresentar duração mínima de 3 semanas ou mais para assegurar que qualquer mudança no desfecho seja em resposta à intervenção dietética. Portanto, o período de 8 semanas foi escolhido para garantir que o presente estudo estivesse em acordo com a referida recomendação e que também se alinhasse com durações semelhantes às aquelas de estudos clínicos incluídos em meta-análises que exploraram o efeito do consumo de castanhas sobre

marcadores de risco cardiometabólico (NEALE et al., 2017a; VIGUILIOUK et al., 2014).

5.7 Critérios de descontinuidade do estudo (exclusão)

Durante o período de oito semanas de intervenção, foram considerados critérios de descontinuidade: participantes que não apresentassem boa adesão ao protocolo do estudo ($\leq 80\%$ de consumo de castanhas); que manifestassem qualquer reação adversa ao consumo das castanhas; que engravidassem ou manifestassem sintomas da menopausa (diagnosticada pelo médico).

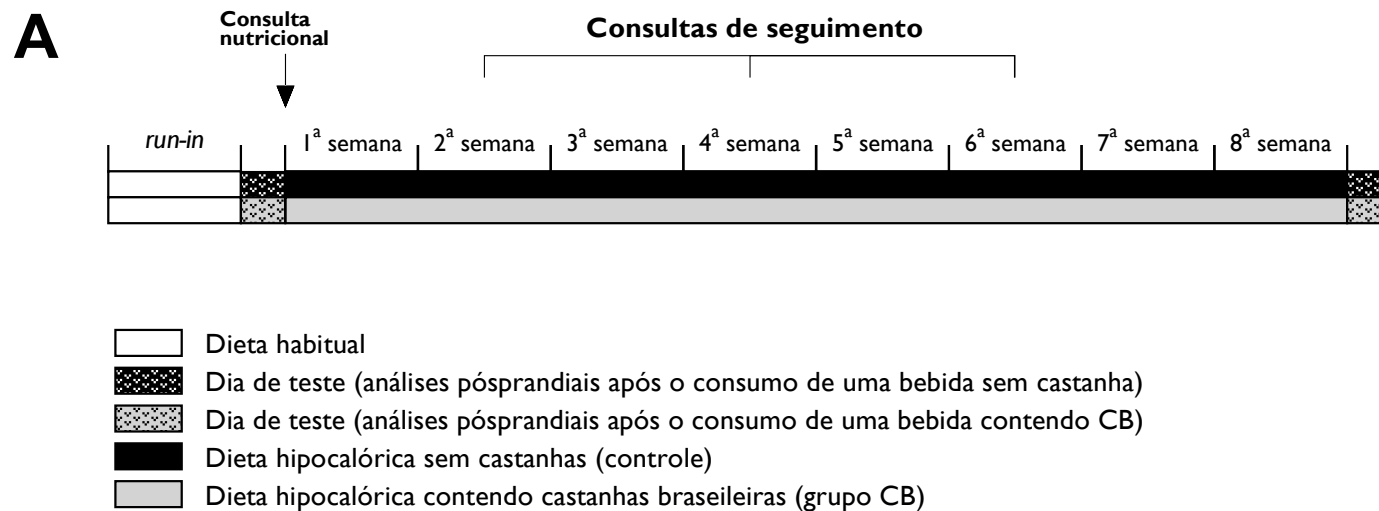
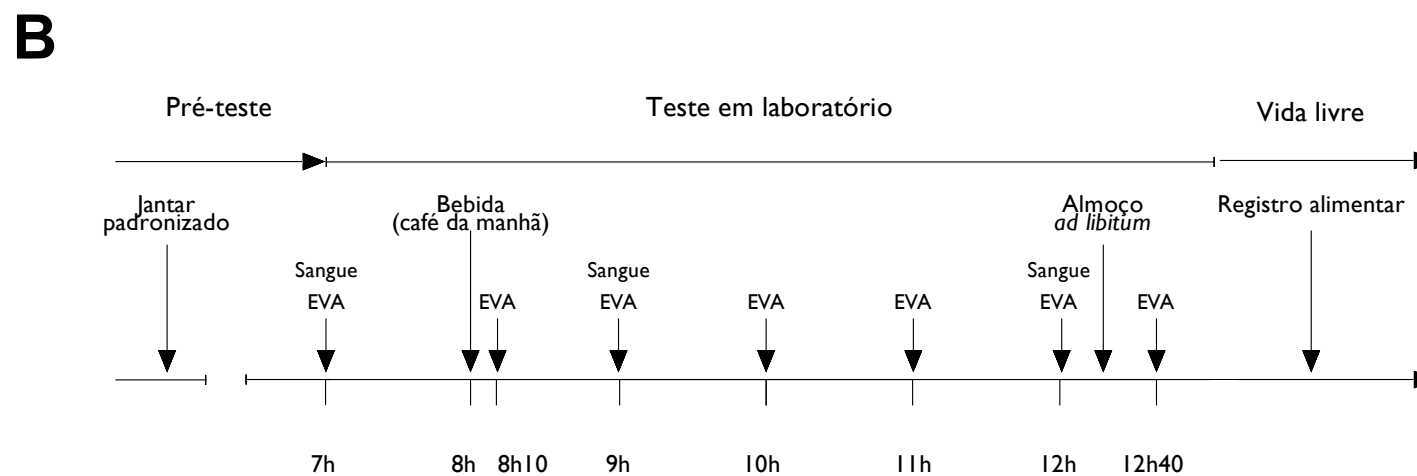


Figura 2. (A) Fluxograma do estudo; **(B)** Fluxograma do dia do teste (pré e pós-intervenção).

EVA – Escala analógica visual.



5.8 Consumo e comportamento alimentar

Três recordatórios alimentares de 24 horas (após 15, 30 e 45 dias do período de intervenção) foram aplicados durante as consultas de acompanhamento para monitorar a adesão à dieta. Os dados de consumo alimentar foram inseridos no software REC24h-ERICA (BARUFALDI et al., 2016), que possui um banco de dados composto por uma lista de itens incluídos no banco de dados de compras de alimentos e bebidas da Pesquisa de Orçamentos Familiares (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA; COORDENAÇÃO DE TRABALHO E RENDIMENTO, 2011). Os alimentos que não constavam no banco de dados foram acrescentados pelos entrevistadores. A quantidade consumida de cada alimento foi convertida em medidas de massa (em gramas) e/ou volume (mililitros) (VINET; ZHEDANOV, 2011) para relacionar os dados de consumo alimentar com uma tabela de composição nutricional (VINET; ZHEDANOV, 2011) no software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS Inc. versão 26.0) e, a seguir, estimou-se a ingestão de energia e nutrientes. Em seguida, a média dos três recordatórios alimentares de 24 horas foi considerada para avaliação do consumo.

O questionário *The Three Factor Eating Questionnaire* na versão reduzida de 21 itens (TFEQ-R21) (NATACCI; JÚNIOR, 2011) foi aplicado, no início e ao final da intervenção, para identificar e caracterizar os comportamentos de restrição cognitiva, que avalia o controle sobre a ingestão alimentar para influenciar o peso corporal e a forma corporal; descontrole alimentar, que mede a tendência de perder o controle sobre a alimentação ao sentir fome ou ao ser exposto a estímulos externos; e alimentação emocional, que avalia a propensão a comer em excesso em relação a estados de humor negativos, por exemplo, quando se sente solitário, ansioso ou deprimido (THOLIN et al., 2005). Os escores desses domínios foram calculados, e variaram entre 1 e 4, com escores mais altos sendo indicativos de maior restrição cognitiva, descontrole alimentar e alimentação emocional (CAPPELLERI et al., 2009).

5.9 Medidas antropométricas, de composição corporal e pressão arterial

O peso e a composição corporal das participantes foram aferidos por meio de bioimpedância elétrica tetrapolar (InBody, modelo 230, BiospaceCo., Ltd), com capacidade máxima de 250 kg, com as participantes trajando roupas leves e sem sapatos, e em jejum. A estatura foi aferida utilizando estadiômetro de parede (Seca, modelo 206, Hamburg, Germany), com extensão máxima de 2 metros, precisão de um milímetro. O IMC foi calculado por meio do peso dividido pela altura ao quadrado (kg/m^2), e classificado de acordo com os pontos de corte da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017). O perímetro da cintura foi aferido com o indivíduo em pé, usando uma fita métrica flexível e inelástica durante a expiração normal, sobre a cicatriz umbilical. Medidas do perímetro da cintura ≥ 80 cm serão adotadas para a classificação da obesidade abdominal (CORLATTI; FATTORINI; NELLI, 2015). O perímetro do quadril foi aferido na maior proeminência do mesmo, com a participante de pé. Em seguida, foi calculada a razão cintura-quadril (RCQ), pela divisão do perímetro da cintura dividido pelo perímetro do quadril. A circunferência do pescoço foi medida no nível da cartilagem tireoide.

A pressão arterial sistólica e diastólica foi aferida por meio de monitor de braço automático (Omron Healthcare, Inc., modelo HEM 7200, EUA), com precisão de 03 mmHg, seguindo protocolo proposto pelo fabricante. A medida foi realizada no braço esquerdo e direito, e a média desses valores foi calculada para determinar o valor da pressão arterial.

Todas medidas antropométricas, de composição corporal e pressão arterial foram realizadas antes e ao final do período de intervenção nutricional.

5.10 Dia de teste pós-prandial

Todos os procedimentos descritos a seguir foram realizados antes e ao final do período de intervenção nutricional.

5.10.1 Avaliação do consumo alimentar

As participantes receberam um jantar padronizado (576 kcal; 53% de carboidratos, 25% de lipídios e 22% de proteínas), que consistia em um sanduíche de frango com 200 mL de suco de uva (**APÊNDICE F**: Composição nutricional do jantar padrão), para ser consumido na noite anterior ao teste em laboratório às 7h, após um jejum noturno (10-12h). No laboratório, as participantes foram orientadas a consumir em até 10 minutos, 400 mL de uma bebida sem castanhas (controle); ou uma bebida à base de castanhas brasileiras (contendo, 15g castanhas-do-brasil e 30g de castanhas de caju), de acordo com a alocação nos grupos de intervenção. As bebidas oferecidas eram isocalóricas (437 kcal) e tinham distribuição de macronutrientes semelhante (**APÊNDICE G**: Composição nutricional das bebidas testes e controle). Durante as sessões de laboratório, as participantes consumiram apenas água (limitado a 300 mL) e mantiveram movimento corporal mínimo (sentadas). Por volta do meio-dia, foi ofertado para as participantes um almoço contendo ~ 1 kg de macarrão à bolonhesa e um copo de 200 mL de suco de uva (~ 1570 kcal/almoço), para consumo *ad libitum*. O resto ingesta e as sobras limpas foram pesadas, e a ingestão calórica foi calculada. As participantes foram liberadas, e orientadas a preencher um diário de ingestão alimentar de 24 horas com quaisquer alimentos e bebidas que consumiram após deixar o local do estudo (condição de vida livre) (**Figura 2B**), e a preencher um questionário de sintomas gastrointestinais para identificarmos qualquer desconforto ou alteração que pudesse estar relacionado ao consumo das bebidas (**ANEXO B**: Questionário de Sintomas Gastrointestinais).

5.10.2 Avaliação das sensações subjetivas de apetite

As sensações de fome e saciedade foram avaliadas usando escalas visuais analógicas (EVA) de 100 mm, com sensações opostas ancoradas em cada extremidade (por exemplo, “eu não estou com fome” e “eu nunca estive com tanta fome”) (**ANEXO C**: Escala visual analógica (EVA) para sensações subjetivas do apetite) (FLINT et al., 2000). As participantes foram orientadas a fazer marcações verticais na linha correspondente aos seus sentimentos naquele momento. Os questionários foram feitos na forma de pequenos blocos, contendo uma questão em

cada página, que deveriam ser respondidos sem fazer referência à resposta anterior ou discutir a resposta com outra pessoa. A cada nova aplicação, as perguntas eram apresentadas em uma ordem diferente (aleatória). Esses questionários foram aplicados nas avaliações em laboratório, em jejum (0 min), imediatamente após (~ 10 min) e 60, 120, 180 e 240 minutos após o consumo da bebida sem castanhas (controle) ou com castanhas brasileiras (grupo CB), e novamente após consumir o almoço *ad libitum* (~ 280 min). Os escores de apetite foram determinadas medindo a distância (em cm) do lado esquerdo até a marca da linha. Além disso, para integrar as sensações de apetite em um índice, calculamos o Escore do Apetite (EA) (CHAPUT et al., 2010), onde menores valores de EA estavam associados a uma maior supressão do apetite.

5.10.3 Avaliação da palatabilidade

A palatabilidade das bebidas foram avaliadas considerando o apelo visual, o cheiro, o gosto, o gosto residual e a palatabilidade geral empregando a mesma escala de 100 milímetros ancoradas pela resposta mais negativa (à esquerda) e a mais positiva (à direita) (**ANEXO D**: Escala visual analógica (EVA) para palatabilidade, empregando a escala visual analógica de Flint et al. (2000)). As participantes foram orientadas a fazer marcações verticais na linha na região que melhor representasse suas sensações imediatamente após o consumo da bebida (teste ou controle).

5.10.4 Coleta e separação das amostras biológicas

Em jejum e após 60, 120 e 240 minutos pós-prandiais foram realizadas coletas de sangue à vácuo, por um técnico de enfermagem capacitado. A técnica de coleta à vácuo foi adotada por entender que há evidências de que a colocação de cânula vasculares, além de ser um procedimento mais invasivo, pode afetar as concentrações de citocinas inflamatórias (como a IL-6), refletindo em concentrações de marcadores inflamatórios locais e não sistêmicos (SEILER; MÜLLER; HIEMKE, 1994).

Após a coleta, em tubos apropriados, ocorreu a centrifugação e separação de amostras biológicas, que ficaram armazenadas em ultra freezer a -80°C até o momento da análise.

5.10.5 Marcadores metabólicos

As concentrações séricas de LDL, HDL, colesterol total, triglicerídeos e plasmáticas de glicose foram analisadas em autoanalisador (BS-200 Mindray® Chemistry Analyzer, Nanshan, China) seguindo a metodologia dos kits comerciais Bioclin® (Quibasa - Química Básica Ltda). O VLDL (lipoproteína de muito de baixa densidade) foi determinado pela equação de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

A concentração sérica de insulina foi realizada utilizando imunoensaio de eletroquimioluminescência (Beckman Coulter, Inc. EUA). Para determinar o grau de resistência insulínica foram calculados os índices HOMA-IR (do inglês, *Homeostasis Model Assessment*) (MATTHEWS et al., 1985) e o TyG (do espanhol *índice triglicéridos y glucosa*), recentemente sugerido por Guerrero-Romero et al. (GUERRERO-ROMERO et al., 2010), conforme indicados a seguir:

$$\text{HOMA-IR} = [(\text{insulinemia de jejum (mU/L)} \times \text{glicemia de jejum (mmol/L)})/22,5]$$

$$\text{TyG: Ln} [(\text{triglicerídeos de jejum (mg/dL)}) \times (\text{glicemia de jejum (mg/dL)})/2]$$

5.10.6 Marcadores hormonais do apetite

Os hormônios do apetite (grelina ativa, GIP, GLP-1 ativo e leptina) foram determinadas usando um ensaio multiplex baseado em xMAP personalizado (Milliplex Map Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel - Metabolism Multiplex Assay, cat. no. HMHEMAG-34K, Millipore), de acordo com informações do fabricante. O ensaio foi realizado no instrumento MAGPIX® (Luminex Corporation, Texas, EUA), e os resultados analisados no programa Milliplex Analyst (MilliporeSigma) e apresentados em pg/mL.

5.10.7 Marcadores inflamatórios

As interleucinas plasmáticas (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF, IFN- γ) foram determinadas por meio de citometria de fluxo no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa no citômetro BD FACSVerse™ (BD Biosciences, EUA), utilizando kits comerciais específicos para cada marcador (BD Biosciences, EUA), conforme instruções do fabricante. Os dados foram analisados no software FCAP Array Software v3.0 (BD Biosciences, EUA).

Os marcadores adiponectina, resistina e PAI-1 total foram determinadas usando um ensaio multiplex baseado em xMAP personalizado (Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1, cat. no. HADK1MAG-61K, Millipore), de acordo com informações do fabricante. O ensaio foi realizado no instrumento MAGPIX® (Luminex Corporation, Texas, EUA), e os resultados analisados no programa Milliplex Analyst (MilliporeSigma) e apresentados em pg/mL.

A concentração sérica de proteína C reativa ultrasensível (PC-R us) foi determinada por meio do analisador Olympus AU5200 (Olympus Diagnostic Systems, Tóquio, Japão), por turbidimetria. A concentração de cortisol sérico foi realizada por imunoensaio de eletroquimioluminescência (Beckman Coulter DXI, Inc. EUA).

5.11 Retorno às participantes

Ao final da intervenção, cada participante recebeu um relatório individual com os resultados das mudanças nas medidas antropométricas e de composição corporal, bem como da pressão arterial. Além disso, elas foram orientadas a respeito da importância da manutenção de uma alimentação saudável e sobre o consumo adequado de boas fontes lipídicas. Para as participantes excluídas durante o período de *run-in* ou durante o período de intervenção, também foi oferecido retorno nutricional com orientação sobre alimentação saudável e entrega de um relatório contendo das informações coletadas até o momento de desligamento do estudo.

5.12. Tratamento e análise dos dados

A imputação de dados multiníveis foi utilizada para dados ausentes ou não quantificados, para análises de medidas repetidas de EVA, hormônios do apetite, glicemia, insulina e marcadores inflamatórios usando o pacote mice no programa R (BUUREN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, 2011, 2021). A área abaixo da curva (AUC, do inglês, area under the curve) para os escores de EVA, EA, hormônios do apetite, glicemia e insulina foram calculadas pelo método trapezoidal no software GraphPad Prism versão 8.4.3 (GraphPad Software, La Jolla California USA). Os testes de Shapiro-Wilk e de Levene foram utilizados para avaliar a normalidade da distribuição e a homocedasticidade das variâncias, respectivamente. O teste t pareado ou o teste de Wilcoxon foram usados para avaliar o efeito do tempo entre os tratamentos, entre cada grupo, conforme normalidade. As diferenças entre os grupos foram analisadas com os testes t de Student ou Mann-Whitney, conforme normalidade. E os testes de análise de variância de três fatores para medidas repetidas foram realizados com as variáveis dependentes EVA, hormônios do apetite, glicemia, insulina e marcadores da inflamação, no qual o grupo (controle vs grupo CB) foi analisado como fator entre sujeitos, e os períodos pré- e pós-intervenção (medidas antes vs. após 8 semanas) e os tempos (medidas pós-prandiais: T1, T2, ... , Tn), fatores intra-sujeitos. Essas análises foram aplicadas para avaliar o efeito do grupo, do período pré- e pós-intervenção e tempo na modulação das variáveis, durante o teste pós-prandial. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS Inc. versão 26.0). O nível α de 5% foi considerado significativo.

6. RESULTADOS

Os resultados do presente estudo são apresentados aqui na forma de três artigos científicos, apresentados a seguir. Outras produções acadêmicas realizadas durante o doutorado (artigos científicos já publicados e capítulos de livros escritos), relacionadas ou não ao presente estudo, também estão descritas separadamente (ver **APÊNDICE H**: Artigos científicos publicados e desenvolvidos no doutorado e **APÊNDICE I**: Capítulos de livro publicados e desenvolvidos no doutorado), por terem constituído uma etapa importante do doutoramento.

6.2 ARTIGO 1: Effects of nut-enriched energy-restricted diet on food intake, appetite, and peptide hormones in women at cardiometabolic risk (Brazilian Nuts Study): a randomized controlled trial

Brazilian nuts effects on food intake and appetite

Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha ^a,

Ana Paula Silva Caldas ^a,

Ana Cristina Simões e Silva ^b,

Josefina Bressan ^a,

Helen Hermana Miranda Hermsdorff ^a

^a Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 369570-900, MG, Brazil

^b Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 30130-100, MG, Brazil

Email addresses: mayumi.dani@gmail.com (DMUPR), paulacaldas06@hotmail.com (APSC), acssilva@hotmail.com (ACSS), jbrm@ufv.br (JB), helenhermana@ufv.br (HHMH)

ABSTRACT

We aim to evaluate the acute and long-term effects of Brazilian nuts (BN) included in an energy-restricted intervention on food intake, appetite, and peptide hormones. Twenty-eight women at cardiometabolic risk participated in an 8-week open-label controlled randomized clinical trial, to receive an energy-restricted diet containing BN (15g of Brazil nuts + 30g of cashew nuts) or an energy-restricted nut-free diet (control). We assessed fasting body weight and body composition. Postprandial subjective appetite ratings were measured by the visual analogue scale (VAS) *prior* to and after consumption (0, 10, 60, 120, 180, and 240 min) of a 437-kcal nut-enriched (BN group) or nut-free (control) breakfast meal. Thereafter, *ad libitum* lunch was served, and another VAS was completed at 280 min. Plasma concentrations of ghrelin, GIP, GLP-1, and leptin were measured at fasting and at 60, 120, and 240 min after the breakfast meal test. Lastly, subsequent reported 24h energy intake was assessed in a free-living setting. After 8-weeks, BN group showed greater weight loss (mean difference, 2.21 kg, 95% CI, 0.24-4.17 kg; $p = 0.03$) and lower body fat (mean difference, 2.31 kg, 95% CI, 0.22-4.39 kg; $p = 0.03$) in comparison to the control, in those calorie-restriction protocol compliance participants (82%). Also, ghrelin (Δ AUC) decreased in BN group in comparison to the control (mean difference, 1978 pg/mL*min, 95% CI, 27-3929 pg/mL*min; $p = 0.047$). Thus, BN consumption, as part of a healthy dietary pattern, have beneficial effects on weight and body fat loss, and the potential to increase satiety.

Keywords: dietary restriction; *Anacardium occidentale*; appetite regulation; *Bertholletia excelsa*; obesity; weight reduction programs.

1. Introduction

Overweight and obesity are defined as abnormal or excessive fat accumulation that presents a risk to health. Recent estimates report that around 39% of adults were overweight and 13% of adults have obesity worldwide (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011, 2020). Obesity is associated with an increased risk of developing several chronic diseases and conditions, including type 2 diabetes, cardiovascular diseases, cancer, and others (ARNOLD *et al.*, 2015; BHUPATHIRAJU; HU, 2016; ISLAMI *et al.*, 2019; KHAN *et al.*, 2018; KIM; LEE; LIM, 2017). Globally, overweight and obesity are associated with the 6th leading causes of death, with over 5 million deaths as a result of being overweight or obese in 2019 (GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS*, 2020; GBD 2019 RISK FACTORS COLLABORATORS, 2020). Aside from health dangers, the average medical costs of people who have obesity were \$1,901 more than those of normal weight, accounting for \$149.4 billion in the United States (KIM; BASU, 2016). More recently, the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic presents an unprecedented public health crisis, and in this context, obesity has emerged as a strong and independent risk factor for more severe COVID-19 and death (DU *et al.*, 2021; STEFAN; BIRKENFELD; SCHULZE, 2021). Therefore, obesity is a common, serious, and costly disease.

Although obesity has traditionally been considered as a disease of energy imbalance, it is a chronic multifactorial disease resulting from complex relationships between biological, genetic, social, environmental, and behavioral determinants (ARGYRAKI *et al.*, 2018). Energy-restricted diets are the actual dietary treatment for people with obesity. According to expert guidelines, a calorie-restricted diet of 500 kcal/day is an adequate approach to meaningful weight loss (JENSEN *et al.*, 2014). Despite that, effective dietary strategies to support a healthy and sustainable energy deficit remain an unmet goal in most clinical practices (MAKRIS; FOSTER, 2011; PLOURDE; PRUD'HOMME, 2012).

In this sense, nuts are high-caloric dense foods, which are good sources of fatty acids (mainly unsaturated), fiber, plant protein, and minerals, and contain bioactive compounds, such as polyphenols and phytosterols (ROS, 2010). Besides, despite

their high fat content, the existing evidence suggests that nut consumption incorporated as part of a healthy dietary pattern could be an effective strategy for making attainable dietary modifications for the primary prevention of obesity and help in weight loss (ESLAMI; SHIDFAR; DEHNAD, 2019; LI *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2019). However, due to limited studies investigating this issue, there are still needed more to determine the health benefits of specific nuts. Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) is a species native to the Amazon, recognized for their antioxidant properties, due to their selenium content, associated with the main benefits of their consumption for human health (CARDOSO *et al.*, 2017; MARTENS *et al.*, 2015; THOMSON *et al.*, 2008; YANG, 2009). Cashew nut (*Anacardium occidentale*) also originates from Brazil, occurring naturally on Caatinga, Cerrados and Amazonian biomes, and the health benefits associated with its consumption include improvement in lipid profile and blood pressure (DE BRITO; DE OLIVEIRA SILVA; RODRIGUES, 2018; MAH *et al.*, 2017; MOHAN *et al.*, 2018). However, clinical data have been limited, and as far as we known, no study has been conducted on regular consumption of these nuts in a program for weight reduction.

This study aimed to assess the acute and long-term effects of Brazil and cashew nuts, included in an energy-restricted intervention on food intake, appetite, and hormones in women at cardiometabolic risk. We hypothesized that Brazilian nuts consumption would be associated with greater weight loss, due to the promotion of prolonged satiety response and consequently in reducing caloric intake, in comparison to the control group.

2. Methodology

2.1. Study Design

The Brazilian Nuts Study is an 8-week open-label controlled randomized clinical trial with two parallel groups, with women at cardiometabolic risk design to evaluate the effect of an energy-restricted diet containing Brazilian nuts (BN group), compared to an energy-restricted nut-free diet (control group) on body weight, body composition, appetite, food intake, and others cardiometabolic risk markers. The study visits occurred at the Laboratory of Energy Metabolism and Body Composition

(LAMECC) of the Department of Nutrition and Health at Universidade Federal de Viçosa-MG, Brazil. Participants were recruited between June 2019 and March 2020.

2.2. *Participants*

We recruited women with overweight (BMI $\geq 27\text{kg/m}^2$), high waist circumference (≥ 80 cm), and high body fat percentage ($\geq 32\%$) associated with at least one other component of metabolic syndrome: triglycerides ≥ 150 mg/dL, high blood pressure arterial ($\geq 130/85$ mmHg) or high fasting glucose (≥ 100 mg/dL); or women with obesity (BMI $\geq 30\text{ kg/m}^2$), regardless of the presence of metabolic complications. The exclusion criteria included pregnancy, nursing mothers, or women in menopause; athletes; vegans; smokers; with a history of HIV, illness or digestive, liver, kidney, cardiovascular, thyroid, cancer, inflammatory diseases, and eating disorders; drug/alcohol abuse; aversion or allergy to nuts; infectious episode in the last month; use of anti-inflammatory drugs, corticosteroids, antibiotics and others that may affect energy appetite and metabolism; weight instability (5% of usual weight) in the last 3 months; usual consumption of nuts ≥ 30 g/day; alcohol consumption ≥ 21 units (168 g) per week; dental problems that interfere with chewing; consumption of vitamin, mineral, and omega 3 supplements. All participants provided informed written consent. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (WORLD MEDICAL ASSOCIATION *et al.*, 2013) and was approved by the local ethics committee (Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos of Universidade Federal de Viçosa; CAAE: 92004818.0.0000.5153). The clinical trial was registered at the Brazilian Registry of Clinical Trials – ReBEC (Trial Registry: <https://ensaiosclinicos.gov.br/>; Identifier: RBR-3ntxrm).

2.3. *Run-in*

During the first week of treatment, previously to randomization, all participants were instructed to maintain their usual activities and eating habits, but with restrictions to consume nuts, oleaginous seeds, dried fruit, cocoa, cinnamon, olive oil, and alcoholic beverages. At the end of the run-in period, the women with body weight variation higher than ± 1 kg or that reported the consumption of not permitted foods or beverages, were considered "poor responders" and were excluded from the study.

2.4. *Randomization*

After the run-in period, randomization was performed using the minimization method (ABRAMSON, 2011) stratified based on age, BMI, and body fat percentage, with three levels per factor, to ensure a balanced distribution of potential factors that could interfere in the outcome variables. Random allocation sequences were generated using the WinPepi software, version 11.65 (Copyright J.H. Abransom, Aug 23, 2016) by researches.

2.5. *Energy-restricted meal plans*

Total energy requirements were estimated according to total energy expenditure for women with overweight/obesity (TRUMBO *et al.*, 2002). Then, a 500-kcal deficit/day was applied. Thereafter, the Brazilian nut (BN) group received an energy-restricted meal plan (-500 kcal/day), containing 15 g of Brazil nuts and 30 g of cashew nuts; and the control group an energy-restricted nut-free meal plan (-500 kcal/day). The energy-restricted meal plans were prescribed according to the Acceptable Macronutrient Distribution Range (AMDR) (TRUMBO *et al.*, 2002), under the supervision of a dietitian. To accomplish these goals, the participants received written material that included recipes and attended follow-up appointments every two weeks during the study. At follow-up appointments, participants of the BN group were provided with individual vacuum-sealed aluminum laminated packages containing 45 g of Brazilian nuts (15 g of Brazil nuts + 30 g of cashew nuts) to consume daily throughout the study. The BN group participants were further instructed to consume the nuts in their unsalted, raw form, and not to consume any nuts other than the allotted quantity provided. As an attempt to avoid any sharing of the BN supplement with family members, an additional (30%) was supplied to each participant during visits. Furthermore, participants of the control group received salad dressing based on soy oil and lemon (2:1 ratio, respectively) to consume two spoons twice a day (lunch and dinner) during the study, taught to substitute the high-MUFA calories from nuts of BN group, with equivalent calories mainly from PUFA in their meals. Control participants were also advised not to consume any type of salad dressing or nuts. The daily consumption of nuts or salad dressing, in the portions indicated for each group, did not provide additional calories because they were included within the -500 kcal/day energy-restricted diets. Compliance with the protocol was checked during visits, with the return of packaging (BN and salad dressing) and consumption record. Additionally, all participants were instructed to keep their usual physical activity constant.

2.6. *Dietary assessments*

Dietary information was collected during follow-up appointments (after 15, 30, and 45 days of the intervention period) through three 24-hour dietary recalls for monitoring diet compliance. The food record was entered in the REC24h-ERICA software (BARUFALDI *et al.*, 2016), which has a database composed of a list of items included in the food and beverage purchase database from the *Pesquisa de Orçamentos Familiares* (POF – Brazilian Household Budget Survey) (IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA; COORDENAÇÃO DE TRABALHO E RENDIMENTO, 2011). The food items that were not contained in the database were added by the interviewers. The quantity consumed of the food was converted into measures of mass (in grams) and/or volume (milliliters) (VINET; ZHEDANOV, 2011a) to relate food consumption data to a nutritional composition table (VINET; ZHEDANOV, 2011b) into the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc. version 26.0), and then, we estimated the intake of energy and nutrients. The mean dietary intake (energy, macronutrient, and fiber) was calculated from the analysis of 24-hour dietary recalls.

2.7. *Eating behavior*

Eating behavior traits also were evaluated at baseline and the end of the intervention. The Brazilian version of the Three-Factor Eating Questionnaire version R21 (TFEQ-R21) (NATACCI; FERREIRA JÚNIOR, 2011), which provides scores for cognitive restraint (CR, 6 items) to assesses control over food intake to influence body weight and body shape; uncontrolled eating (UE, 9 items) to measure the tendency to lose control over eating when feeling hungry or when exposed to external stimuli; and emotional eating (EE, 6 items) that assesses the propensity to overeat in relation to negative mood states, e.g., when feeling lonely, anxious, or depressed (6 items) (THOLIN *et al.*, 2005). Domain scores were calculated, and ranged between 1 and 4, with higher scores being indicative of greater CR, UE, and EE (CAPPELLERI *et al.*, 2009).

2.8. *Anthropometric measurements and body composition*

Fasting body weight and body composition were assessed, in light clothing without shoes, using a bioelectrical impedance analysis device (Inbody 230, Biospace Corp., Seoul, Korea), at baseline and after the end of the intervention. Height was measured on a

stadiometer (Seca, model 206, Hamburg, Germany) at baseline. BMI was calculated by weight (kg)/height (m²). Waist circumference (WC) was measured to the nearest 0.1 cm at the end of normal expiration at the umbilical waist (horizontal at the umbilicus) using a non-stretchable tape measure with participants in standing position.

2.9. *Cardiometabolic markers and blood pressure*

Fasting serum triglycerides and plasma glucose concentrations were analyzed in an autoanalyzer (BS-200 Mindray® Chemistry Analyzer, Nanshan, China) following the methodology of the Bioclin® commercial kits (Quibasa - Química Básica Ltda).

Systolic and diastolic blood pressure was measured using an automatic arm monitor (Omron Healthcare, Inc., model HEM 7200, USA), with an accuracy of 03 mmHg, following the protocol proposed by the manufacturer. The measurement was performed on the left and right arms, and the mean of these values was calculated to determine the blood pressure value.

2.10. *Postprandial assessments*

2.10.1. *Meal test and post-test meal*

Participants received a standard dinner (576 kcal; 53% from carbohydrate, 25% from lipids, and 22% from protein), consisting of a chicken sandwich with 200 mL of grape juice, to consume the night before they were asked to attend the laboratory at ~7 a.m. after an overnight fast. At the laboratory, participants received a 437-kcal nut-free (control) or nut-enriched (BN group) breakfast, consisting of a 400 mL of skimmed milk drink, to consume within ~10 min. The drinks were isocaloric, with a similar amount of macronutrients, and masked in color and flavor (**Supplementary Table 1**). During the laboratory sessions, the participants consumed nothing but water (limited at 300 mL) and kept their physical activity to a minimum. Four hours later, participants received an *ad libitum* lunch, consisting of ~1 kg of pasta Bolognese and 200 mL of grape juice (~ 1570 kcal/lunch). The lunch and leftovers were weighed before and after consumption, and energy intake for each meal was calculated. The participants were released to free-living situation and instructed to complete a 24-hour food intake diary for any food and drinks they consumed after they left the study site (**Figure 1**).

2.10.2. Subjective appetite sensation

The sensations of hunger, satiety, fullness, prospective food consumption, and desire to eat something fatty, salty, sweet, or savoury were assessed using 100-mm visual analogue scales (VAS), with opposite sensations anchored at each end (e.g., 'I have never been more hungry' and 'I am not hungry at all') (FLINT *et al.*, 2000). Participants were instructed to make a vertical mark across the line corresponding to their feelings. The questionnaires were made as small booklets showing one question at a time, to answer without referring to the previous rating or to discuss with another person. At each new application, questions were shown in a different random order. These questionnaires were applied on the laboratory sessions, in a fasting state (0 min), immediately after (~10 min) and 60, 120, 180, and 240 minutes after consuming a nut-free (control) or nut-enriched (BN group) breakfast, and again after consuming the *ad libitum* lunch (~280 min). The ratings were determined by measuring the distance (in cm) from the left side of the line to the mark. Moreover, to integrate the appetite sensations into one index, we calculate the Appetite Score (AS) (CHAPUT *et al.*, 2010). Lower AS is associated with greater suppression of appetite.

2.10.3. Peptide hormones

Blood collection occurred during laboratory sessions, in a fasting state (0 min), subsequently at 60, 120, and 240 min after consuming a nut-free (control) or nut-enriched (BN group) breakfast. Blood samples were centrifugated (1500 g, 15 min, 4°C), aliquoted, and stored at -80°C until analysis. Plasma concentrations of peptide hormones were determined using a customized xMAP based multiplex assay (Milliplex Map Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel - Metabolism Multiplex Assay, cat. no. HMHEMAG-34K, Millipore), according to information from the manufacturer, for the following selected analytes: Ghrelin active, glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP), glucagon-like peptide 1 (GLP-1) active, and leptin. The assay was run on the MAGPIX® instrument (Luminex Corporation, Texas, USA). Results were analyzed using the Milliplex Analyst program (MilliporeSigma) and represented in pg/mL.

2.11. Statistical Analysis and Sample Calculation

Data are reported as means $\pm$ SEMs or median (95% CI). Multilevel Multiple Imputation of missing data was performed for repeated analyses of VAS and peptide hormones, using

the mice package in R (BUUREN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, 2011, 2021). The area under the curve (AUC) for VAS ratings, AS, and peptide hormones were computed using the trapezoid rule in GraphPad Prism version 8.4.3 (GraphPad Software, La Jolla California USA). The normality of the data was tested using the Shapiro-Wilk test. Differences between groups were tested over absolute values or delta (Δ) values, calculated as change of values after 8-week intervention (Postintervention – Preintervention difference), with Student's t-test or Mann-Whitney test. Paired t-test or Wilcoxon signed-rank test were used to assess within-group differences. A three-way mixed analysis of variance ($2 \times 2 \times 4$), with hormones as the dependent variable, group (control vs. BN group) as the between-subject factor, and pre-post measurements (pre- vs. postintervention) and time (post-prandial time measurement: T0, T1, T2, T4) as within-subject factors was applied to assess the effect of group, pre-post measurements, and time on peptide hormone modulation, during the postprandial test. Pairwise comparisons were performed if there were statistically significant main effects. Similarly, VAS ratings and AS were tested with three-way mixed ANOVA ($2 \times 2 \times 7$). The Spearman correlation coefficient was used for correlation analysis. The significance level, for all statistical analyses was set at $\alpha = 5\%$ and conducted using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc. version 26.0).

We calculated the sample size required to detect a mean difference of body weight (primary outcome) of 4 kg, between two groups with α set at 0.05 and β set at 0.15 (power at 95%). Calculating for a 30% drop-out rate, a minimum of eleven women for each group were required (MERA; THOMPSON; PRASAD, 1998).

3. Results

3.1. Participants

Of the 136 women assessed for eligibility, 40 were enrolled in the study and randomly assigned to the control ($n=19$) or BN group ($n=21$). Of these, 29 participants ($n= 15$ in the control and $n=14$ in the BN group) completed the 8-week dietary intervention. However, one participant, from the control group, was excluded from the analysis due to incomplete postprandial measurements on the test day at the end of the study. Therefore, 28 participants ($n= 14$ in the control and $n=14$ in the BN group) were analyzed (**Supplementary Figure 1**). **Table 1** shows baseline characteristics, demonstrating balanced clinical variables, including

age, BMI, and body fat, and other eating-related behavior between the two groups.

3.2. *Compliance to the dietary prescription and dietary intake effects*

The dietary prescription of the BN group exhibited significantly higher MUFA content and reduced PUFA content in comparison to the control, due to the nut's composition, and this objective was achieved as planned. The calorie restriction protocol compliance was reached by 82% of the participants (n= 25). Besides, the return of packages of nuts or salad dressings (according to each group), and participants' report of consumption of these foods demonstrated adequacy to the study protocol. In addition, both groups showed significantly higher energy-restriction than planned, according to reports from dietary recalls (**Table 2**).

3.3. *Eating behavior effects*

At baseline, the eating-related behavior was similar between groups (**Table 1**). After the 8-week intervention, cognitive restraint (CR) increased and the uncontrolled eating (UE) was reduced in both groups, but no significant difference was observed between them (**Supplementary Table 2**).

3.4. *Anthropometric measurements and body composition effects*

After the 8-week intervention, both groups achieved significant weight loss ($-2.0 \text{ kg} \pm 0.7 \text{ kg}$ and $-3.5 \text{ kg} \pm 0.6 \text{ kg}$ for control and BN groups, respectively) and reduction of BMI ($-0.8 \text{ kg/m}^2 \pm 0.3 \text{ kg/m}^2$ and $-1.3 \text{ kg/m}^2 \pm 0.2 \text{ kg/m}^2$ for control and BN groups, respectively). Besides, there was a significant body fat mass reduction of $-3.0 \text{ kg} \pm 0.7 \text{ kg}$ and percentage of -1.8% (95% CI: -3.4% to -0.1%), in the BN group, but in the control group the reduction of body fat mass of $-1.1 \text{ kg} \pm 0.6 \text{ kg}$ and percentage of -0.9 (95% CI: -1.4 to 0.5) were not significant. Interestingly, when we explored the relationship between body fat loss and dietary fat consumption, we observed a positive association between body fat loss (kg) and MUFA intake (% daily energy intake), among the BN group participants (Pearson's $\rho = -0.542$, $p = 0.045$).

Moreover, when we analyzed the data excluding participants who did not reach the proposed energy restriction (n= 3 and n= 2, in the control and BN group, respectively), the BN group showed a significant reduction of body weight, BMI, and fat mass, compared to the control group (**Figure 2**).

3.5. Postprandial consumption effects

There was no significant effect of the intervention on energy intake during meal test sessions. However, the BN group showed a reduced, but not significant, in the postprandial energy intake, assessed through *ad libitum* lunch (laboratory session) and subsequent food consumption (free-living setting) (**Table 3**), after the 8-week intervention.

3.6. Subjective appetite effects

The response curves for hunger, satiety, fullness, and prospective food consumption as well as for the desire to eat something fatty, salty, sweet, or savoury are presented for both groups in the supplemental material (**Supplementary Figure 2, Supplementary Figure 3, and Supplementary Figure 4**). There were no significant main effects, two-way effects interactions, neither in three-way interaction between group, time, and pre-post measures for sensations of hunger, satiety, prospective food consumption, desire to eat something fatty, salty, or savoury, and appetite scores. Fullness ($p = 0.03$) and desire to eat something sweet ($p = 0.01$) ratings showed a significant two-way interaction of pre-postintervention*group, and *post hoc* paired tests were conducted to compare differences in pre-postintervention, for each group separately. Paired tests showed that after the 8-week intervention, the sensation of fullness raises ($p = 0.02$), at 120 min postprandial, and the desire to eat something sweet decreases ($p = 0.02$), just before postprandial consumption, in relation to the baseline values, just in the control group. Similarly, results from AUC Fullness change after 8-week intervention, Δ AUC (post-preintervention), demonstrated an increase in fullness sensations in the control group when compared to the BN group. Besides, AUC results from the desire to eat something sweet showed that this sensation was suppressed in the control group, after an 8-week intervention, and the change AUC after 8-week intervention was significant in comparison with the BN group. Furthermore, the control group presented a reduction in the desire to eat something savory, in comparison to baseline (**Supplementary Table 4**).

3.7. Peptide hormone effects

Peptide hormone concentrations did not differ between groups at baseline. After 8-week intervention period, the fasting GLP-1 concentration was reduced in the control group (**Supplementary Table 3**). Ghrelin and leptin concentrations did not show a significant main effect for group, pre-post measures and time, or for the interactions between time and

group, pre-post and group, time and pre-post, or for the three-way interaction between group, time, and pre-post measures (**Figure 3**).

4. Discussion

In this study, we showed that consumption of Brazilian nuts (15 g of Brazil nuts + 30 g of cashew nuts) incorporated into an energy-restricted diet resulted in greater reduction of body weight, BMI, and fat mass, particularly in compliant participants. This is an interesting result, because although nuts have been associated with health benefits, mainly on cardiovascular risk factors (BECERRA-TOMÁS *et al.*, 2019; DE SOUZA *et al.*, 2020; SCHWINGSHACKL *et al.*, 2017), due to their high energy density, concerns have been raised regarding its contribution to weight gain in long-term consumption (ESLAMI; SHIDFAR; DEHNAD, 2019). In fact, diets rich in energy-dense foods have generally been associated with increased body weight and adiposity, whereas consumption of a low energy-dense diet has potentially beneficial effects to prevent obesity and improve weight loss and body weight maintenance (DU *et al.*, 2009; MENDOZA; DREWNOWSKI; CHRISTAKIS, 2007; PÉREZ-ESCAMILLA *et al.*, 2012). However, despite the fact that nuts are high-fat and energy-dense foods, regular nut consumption is unlikely to contribute to obesity and may even help in weight loss when consuming an energy-restricted diet (AKHLAGHI *et al.*, 2020).

In metabolic syndrome (MetS) subjects maintained their habitual energy intake, consuming cashew nuts (20% of daily energy intake) for 8 weeks did not change body weight, BMI, and waist circumference (MUKUDDER-PETERSEN *et al.*, 2007). Additionally, adults with type 2 diabetes on a standard diabetic diet plus cashew nuts (30 g/day) and advised to substitute calories from cashew nuts with equivalent calories from carbohydrates in their meals, did not change body weight, BMI, and waist circumference, after 12 weeks of intervention (MOHAN *et al.*, 2018). Regarding Brazil nut consumption, 12 weeks of nutritional counseling along with the consumption of 13 g/day did not improve body weight, BMI, and waist circumference in hypertensive and dyslipidemic subjects (HUGUENIN *et al.*, 2015). Moreover, obese female adolescents, advised not to change their dietary habits, body mass,

BMI, and waist circumference remain unchanged after 16-week supplementation of Brazil nuts (15-25 g/day) (MARANHÃO *et al.*, 2011). Therefore, previous studies with cashew nut or Brazil nut supplementation were not designed nor proposed to the participants a weight loss diet, and despite nuts providing an expressive calorie in food consumption, weight gain has not been reported. Hence, nut consumption seems to have beneficial effects on body weight control, and the combined effect of nuts in an energy-restriction diet appears to be a good strategy to obesity management.

Concerning the relationship between nut consumption and adiposity, unfortunately, changes in body fat have been given little attention in clinical trials. One study with women with obesity consuming Brazil nuts showed no effect on body fat after two months intervention (DUARTE *et al.*, 2017). Nevertheless, in dyslipidemic rats, cashew nut intake with a hyperlipidic diet induced an accumulation of liver fat, although reduced visceral and retroperitoneal fats (DIAS *et al.*, 2019). The mechanisms of reduced fat accumulation in adipose tissue remain to be elucidated, but high-MUFA content in cashew nuts could be responsible for the favorable effect on adiposity. In fact, we found a significant correlation between increased consumption of MUFAs in the diet and weight loss. In this sense, evidence suggests that unsaturated fats (MUFA and PUFA) are more readily oxidized and have a greater thermogenic effect than saturated fats (CASAS-AGUSTENCH *et al.*, 2009; CISNEROS *et al.*, 2019; KRISHNAN; COOPER, 2014; TAKEUCHI *et al.*, 1995). Moreover, labeled isotope studies indicate that MUFA $\geq$ PUFA > SFA is the preferred order for oxidation in the body, however, well-controlled diets are still needed to better confirm this effect (KRISHNAN; COOPER, 2014). The molecular mechanism involved could be MUFA's enhanced activation of PGC-1 α /PPAR α signaling to promote oxidative metabolism in a SIRT1-dependent manner (NAJT *et al.*, 2020). Besides, the endogenous lipid mediator derived from the monounsaturated fatty acid (oleic acid) oleoylethanolamide has been shown to induce lipolysis through the activation of PPAR α , which is possibly related to clinical benefits on body weight (BOWEN *et al.*, 2017). Our findings, then, suggest an anti-obesogenic effect of BN consumption that may, at least partly, involve the favorable

effects of dietary MUFA on fat accumulation.

When assessing consumption during the study intervention period, the BN group showed dietary fats consumption similar to the control group, but with higher MUFA content (whereas control was higher in PUFA). Although both BN- and control groups decreased energy intake during the 8-week intervention, the BN group showed a greater reduction, compared to preintervention. However, BN consumption did not seem to differentially impact the energy intake from *ad libitum* intake and subjective ratings of appetite sensations assessed in the laboratory environment, neither subsequently reported 24h energy intake in a free-living setting. Whereas, the control group improved subjective feelings of appetite, with respect to increased fullness and reduced desire to eat. A recent meta-analysis study showed that hunger was suppressed following nut consumption (AKHLAGHI *et al.*, 2020). In an acute study, mixed nuts promoted satiety and reduced hunger in adults with overweight, but the control group exhibited significantly greater responses (GODWIN *et al.*, 2019). The effects of food intake on sensations of appetite are complex.

In relation to peptide hormones, the BN group showed a postprandial ghrelin reduction (Δ AUC) in comparison to the control group, after an 8-week intervention. Similarly, mixed nut consumption showed a postprandial reduction in ghrelin (ALMEIDA *et al.*, 2020). However, a walnut-containing meal (high-PUFA) did not alter ghrelin postprandial concentrations (ROCK *et al.*, 2017). Interestingly, studies have shown that meals with a high content of unsaturated fats show a greater reduction in ghrelin concentrations, compared to high-saturated meals (STEVENSON; CLEVINGER; COOPER, 2015), and ghrelin postprandial concentrations reduced significantly more after high-MUFA compared with high-PUFA meal (SUN *et al.*, 2019). Altogether, these results suggest stronger satiety induced following MUFA intake in comparison to PUFA. Ghrelin, a 28-amino acid acylated peptide, is the only known circulating orexigenic gastrointestinal hormone (AKALU *et al.*, 2020). During fasting, ghrelin concentrations are high, and targets the hypothalamus and brain stem nuclei to stimulate energy intake, through intensifying hunger. Ghrelin also promotes the use of carbohydrates as a source of fuel while sparing fat to increase body weight by stimulating differentiation of preadipocytes,

adipogenesis, by inhibiting adipocyte apoptosis, and antagonizing lipolysis (AKALU *et al.*, 2020; VARELA *et al.*, 2011). It exhibits these actions via complex neurobiological pathways, including some of the physiological functions mediated through its receptor growth hormone secretagogue receptor (GHS-R). Evidence from experimental studies suggests that ablation of ghrelin receptor (GHS-R) increases energy expenditure by means of upregulation of thermogenic function and reduces adiposity (LIN *et al.*, 2011, 2014). Thus, ghrelin, in addition to an orexigenic mechanism, may regulate energy homeostasis through a thermogenic mechanism. In this sense, the postprandial suppression of ghrelin found in the BN group seems to play an important role in an energy-balanced state, shifting the energy balance from obesogenesis to thermogenesis, and consequently decreasing the feeding and adiposity, promoting a favorable anti-obesogenic state. Therefore, ghrelin reduction could be responsible for the suppression of appetite and greater control of food consumption, besides stimulating mechanisms related to adiposity reduction.

A possible mechanism for the suppression of ghrelin by food is linked to the capability of ghrelin-producing cells to sense nutrients directly and the production of postprandial gut hormones (AKALU *et al.*, 2020). GLP-1 is a gut-derived incretin hormone, which is released into the circulation after food intake, that mediates postmeal satiety and limits energy intake (MURPHY; LE ROUX, 2017; NÄSLUND *et al.*, 1998). The GLP-1 effects possibly occur via its insulinotropic action, as insulin is a known suppressor of plasma ghrelin (MURPHY; LE ROUX, 2017). It has been shown that high-MUFA meal, increase glucagon-like peptide 1 (GLP-1) concentrations when compared with CHO-rich meal (PANIAGUA *et al.*, 2007). Moreover, high-MUFA meals compared to high-PUFA and -SFA induced higher concentrations of GLP-1 (BEYSEN *et al.*, 2002; THOMSEN *et al.*, 1999). Controversial high-fat meals with MUFA, PUFA, and SFA did not find any differences in GLP-1 concentrations in overweight women (STEVENSON; CLEVENGER; COOPER, 2015). In our study, we did not observe changes in fasting or postprandial GLP-1 concentration in the BN group. However, the control group significantly reduced fasting GLP-1 concentrations. In addition, the control group increased the glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) (AUC), not significantly, but the

postprandial increase in GIP was accompanied by a significant reduction in 240 min. GIP is secreted from the upper small intestine, and has been shown to promote energy storage via direct action on adipose tissue by enhancing the activity of lipoprotein lipase and to promote insulin dependent free fatty acid (FFA) uptake in adipocytes (KIM; NIAN; MCINTOSH, 2007). These results could explain, at least in part, why the control group did not show a significant reduction in caloric consumption and adiposity loss, after the 8-week intervention, as occurred in the BN group.

Our study has several strengths and limitations that should be mentioned. First, we evaluated the effect of nut consumption on weight loss, body composition, as well as on appetite, and food consumption through different methods. To assess changes in food consumption, we applied dietary recalls during follow-up appointments. Besides, test meals were conducted during laboratory sessions to evaluate the short and long-term effects of nut consumption on appetite (subjectively, through postprandial VAS questionnaires; and, objectively, with *ad libitum* caloric intake, the release of postprandial peptide hormones, and subsequent consumption under free-living conditions). Moreover, we conducted a randomized controlled feeding trial design, with a real-world energy-restricted intervention and an appropriate control group, which was balanced with the test group in terms of age, anthropometric, body composition, metabolic markers, and eating behaviors. Limitations, on the other hand, regard self-reported data to evaluate nutritional changes that could be a source of information bias. Additionally, after weight loss, particular attention should be given to avoid weight regain and weight cycling, however, this issue was not addressed in the present study. Moreover, the study was conducted with women at cardiometabolic risk, therefore, it may present results that cannot be applied to other populations.

5. Conclusion

In summary, our findings showed that acute consumption of Brazilian (*Bertholletia excelsa* and *Anacardium occidentale*) nuts did not affect appetite or food intake (*ad libitum* energy intake and subsequently consumption in free-living

conditions). However, daily consumption of these Brazilian nuts over 8-weeks promoted sustainable energy restriction intake, which led to weight loss and fat mass in women at cardiometabolic risk. The increased consumption of MUFA (% kcal) and decrease in ghrelin (Δ AUC) concentrations are findings of this study that explain, at least in part, the beneficial adiposity-related effects of long-term consumption of BN when included in a healthy and energy-restricted intervention.

Acknowledgments

We thank all investigators, coordinators, and participants who took part in this study. Embrapa Agroindustria Tropical - Fortaleza – Ceará, and Inovam Brasil® provided the feedstock to carry out the study (cashew nuts and Brazil nuts, respectively). Bioclin (Quibasa - Química Básica Ltda), through the project Projeto Brasil Escola, provide supplies for the biochemical dosages necessary to characterize the biochemical profile of the study participants.

Funding statement

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq), and Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – Brasil (FAPEMIG). ACSS, JB, and HHMH are CNPq fellowship in Research Productivity.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- ABRAMSON, J. H. WINPEPI updated: Computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. **Epidemiologic Perspectives and Innovations**, v. 8, n. 1, p. 1, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1742-5573-8-1>
- AKALU, Y.; MOLLA, M. D.; DESSIE, G.; AYELIGN, B. Physiological Effect of Ghrelin on Body Systems. **International Journal of Endocrinology**, v. 2020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/1385138>
- AKHLAGHI, M.; GHOBADI, S.; ZARE, M.; FOSHATI, S. Effect of nuts on energy intake, hunger, and fullness, a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 84–93, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1514486>
- ALMEIDA, P. P. de; THOMASI, B. B. de M.; COSTA, N. da S.; VALDETARO, L.; PEREIRA, A. D.; GOMES, A. L. T.; STOCKLER-PINTO, M. B. Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K) Retards Gastric Emptying and Modulates Enteric Glial Cells in a Dose-Dependent Manner. **Journal of the American College of Nutrition**, P.P.D. Almeida, Laboratory of Experimental Nutrition, Department of Nutrition and Dietetics, Fluminense Federal University, Rua Mário Santos Braga 30, Niterói, RJ, Brazil, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07315724.2020.1852981>
- ARGYRAKI, A. *et al.* (生物用) HHS Public Access. **2015 IEEE Summer Topicals Meeting Series, SUM 2015**, v. 10, n. 1, p. 1–13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39414-9>
- ARNOLD, M. *et al.* Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: A population-based study. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 1, p. 36–46, 2015. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71123-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71123-4)
- BARUFALDI, L. A.; ABREU, G. D. A.; VEIGA, G. V. Da; SICHIERI, R.; KUSCHNIR, M. C. C.; CUNHA, D. B.; PEREIRA, R. A.; BLOCH, K. V. Programa para registro de recordatório alimentar de 24 horas: Aplicação no Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 2, p. 464–468, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-5497201600020020>
- BECERRA-TOMÁS, N.; PAZ-GRANIEL, I.; KENDALL, C.; KAHLEOVA, H.; RAHELIĆ, D.; SIEVENPIPER, J. L.; SALAS-SALVADÓ, J. Nut consumption and incidence of cardiovascular diseases and cardiovascular disease mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Nutrition Reviews**, v. 77, n. 10, p. 691–709, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz042>
- BEYSEN, C.; KARPE, F.; FIELDING, B. A.; CLARK, A.; LEVY, J. C.; FRAYN, K. N. Interaction between specific fatty acids, GLP-1 and insulin secretion in humans. **Diabetologia**, v. 45, n. 11, p. 1533–41, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-002-0964-9>

BHUPATHIRAJU, S. N.; HU, F. B. Epidemiology of obesity and diabetes and their cardiovascular complications. **Circulation Research**, v. 118, n. 11, p. 1723–1735, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306825>

BOWEN, K. J.; KRIS-ETHERTON, P. M.; SHEARER, G. C.; WEST, S. G.; REDDIVARI, L.; JONES, P. J. H. Oleic acid-derived oleoylethanolamide: A nutritional science perspective. **Progress in Lipid Research**, v. 67, p. 1–15, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.04.001>

BUUREN, S. van; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. **Journal of Statistical Software**, v. 45, n. 3, p. 1–67, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.18637/jss.v045.i03>

BUUREN, S. van; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. **Package ‘mice’**. [S. l.]: CRAN, 2021. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/mice/mice.pdf>

CAPPELLERI, J. C.; BUSHMAKIN, A. G.; GERBER, R. A.; LEIDY, N. K.; SEXTON, C. C.; LOWE, M. R.; KARLSSON, J. Psychometric analysis of the Three-Factor Eating Questionnaire-R21: results from a large diverse sample of obese and non-obese participants. **International Journal of Obesity**, v. 33, n. 6, p. 611–620, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ijo.2009.74>

CARDOSO, B. R.; DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; COZZOLINO, S. M. F. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**, v. 100, n. March, p. 9–18, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.036>

CASAS-AGUSTENCH, P.; LÓPEZ-URIARTE, P.; BULLÓ, M.; ROS, E.; GÓMEZ-FLORES, A.; SALAS-SALVADÓ, J. Acute effects of three high-fat meals with different fat saturations on energy expenditure, substrate oxidation and satiety. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 1, p. 39–45, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2008.10.008>

CHAPUT, J. P.; GILBERT, J. A.; GREGERSEN, N. T.; PEDERSEN, S. D.; SJÖDIN, A. M. Comparison of 150-mm versus 100-mm visual analogue scales in free living adult subjects. **Appetite**, v. 54, n. 3, p. 583–586, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.01.016>

CISNEROS, L. C. V.; MORENO, A. G. M.; LÓPEZ-ESPINOZA, A.; ESPINOZA-GALLARDO, A. C. Effect of the fatty acid composition of meals on postprandial energy expenditure: A systematic review. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 68, n. 7, p. 1022–1031, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9282.65.7.1022>

DE BRITO, E. S.; DE OLIVEIRA SILVA, E.; RODRIGUES, S. Caju— Anacardium occidentale. In: **Exotic Fruits**. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 85–89. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803138-4.00012-5>

DE SOUZA, R. J. *et al.* Association of nut intake with risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 16 countries from 5 continents: Analysis from the Prospective Urban and Rural Epidemiology (PURE) study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 112, n. 1, p. 208–219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa108>

DIAS, C. C. Q.; MADRUGA, M. S.; PINTADO, M. M. E.; ALMEIDA, G. H. O.; ALVES, A. P. V.; DANTAS, F. A.; BEZERRA, J. K. G.; DE MELO, M. F. F. T.; VIERA, V. B.; SOARES, J. K. B. Cashew nuts (*Anacardium occidentale* L.) decrease visceral fat, yet augment glucose in dyslipidemic rats. **PLoS ONE**, v. 14, n. 12, p. e0225736, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225736>

DU, H. *et al.* Dietary energy density in relation to subsequent changes of weight and waist circumference in European men and women. **PLoS ONE**, v. 4, n. 4, p. e5339, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005339>

DU, Y.; LV, Y.; ZHA, W.; ZHOU, N.; HONG, X. Association of body mass index (BMI) with critical COVID-19 and in-hospital mortality: A dose-response meta-analysis. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 117, p. 154373, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2020.154373>

DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; CERCATO, C.; ROGERO, M. M.; COZZOLINO, S. M. F. IUNS. 21st International Congress of Nutrition. Buenos Aires, Argentina, October 15-20, 2017: Abstracts. **Annals of nutrition & metabolism**, v. 71, n. Suppl. 2, p. 1–1433, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000480486>

ESLAMI, O.; SHIDFAR, F.; DEHNAD, A. Inverse association of long-term nut consumption with weight gain and risk of overweight/obesity: a systematic review. **Nutrition Research**, v. 68, p. 1–8, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2019.04.001>

FLINT, A.; RABEN, A.; BLUNDELL, J.; ASTRUP, A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. **International Journal of Obesity**, v. 24, n. 1, p. 38–48, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801083>

GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS*. High body-mass index - Level 2 risk. **The Lancet**, v. 396, p. 2019–2020, 2020. Disponível em: <https://www.thelancet.com/pb-assets/Lancet/gbd/summaries/risks/high-body-mass-index.pdf>

GBD 2019 RISK FACTORS COLLABORATORS. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **Lancet (London, England)**, v. 396, n. 10258, p. 1223–1249, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30752-2)

GODWIN, N.; ROBERTS, T.; HOOSHMAND, S.; KERN, M.; HONG, M. Y. Mixed nuts may promote satiety while maintaining stable blood glucose and insulin in healthy,

obese, and overweight adults in a two-arm randomized controlled trial. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 4, p. 427–432, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0127>

HUGUENIN, G. V. B.; MOREIRA, A. S. B.; SIANT'PIERRE, T. D.; GONÇALVES, R. A.; ROSA, G.; OLIVEIRA, G. M. M.; LUIZ, R. R.; TIBIRIÇÁ, E. Effects of Dietary Supplementation with Brazil Nuts on Microvascular Endothelial Function in Hypertensive and Dyslipidemic Patients: A Randomized Crossover Placebo-Controlled Trial. **Microcirculation**, v. 22, n. 8, p. 687–699, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/micc.12225>

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA; COORDENAÇÃO DE TRABALHO E RENDIMENTO. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: 2008-2009. Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil.** [S. l.: s. n.]. E-book. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50063.pdf>

ISLAMI, F.; GODING SAUER, A.; GAPSTUR, S. M.; JEMAL, A. Proportion of Cancer Cases Attributable to Excess Body Weight by US State, 2011-2015. **JAMA Oncology**, v. 5, n. 3, p. 384–392, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.5639>

JENSEN, M. D. *et al.* 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. **Circulation**, v. 129, n. 25 Suppl 2, p. S102-38, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000437739.71477.ee>

KHAN, S. S.; NING, H.; WILKINS, J. T.; ALLEN, N.; CARNETHON, M.; BERRY, J. D.; SWEIS, R. N.; LLOYD-JONES, D. M. Association of body mass index with lifetime risk of cardiovascular disease and compression of morbidity. **JAMA Cardiology**, v. 3, n. 4, p. 280–287, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2018.0022>

KIM, D. D.; BASU, A. Estimating the Medical Care Costs of Obesity in the United States: Systematic Review, Meta-Analysis, and Empirical Analysis. **Value in Health**, v. 19, n. 5, p. 602–613, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jval.2016.02.008>

KIM, J.; LEE, I.; LIM, S. Overweight or obesity in children aged 0 to 6 and the risk of adult metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Nursing**, v. 26, n. 23–24, p. 3869–3880, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jocn.13802>

KIM, S. J.; NIAN, C.; MCINTOSH, C. H. S. Resistin is a key mediator of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) stimulation of lipoprotein lipase (LPL) activity in adipocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 47, p. 34139–34147, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M704896200>

KRISHNAN, S.; COOPER, J. A. Effect of dietary fatty acid composition on substrate

utilization and body weight maintenance in humans. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 691–710, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0638-z>

LI, H.; LI, X.; YUAN, S.; JIN, Y.; LU, J. Nut consumption and risk of metabolic syndrome and overweight/obesity: A meta-analysis of prospective cohort studies and randomized trials. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 46, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0282-y>

LIN, L.; LEE, J. H.; BONGMBA, O. Y. N.; MA, X.; ZHU, X.; SHEIKH-HAMAD, D.; SUN, Y. The suppression of ghrelin signaling mitigates age-associated thermogenic impairment. **Aging**, v. 6, n. 12, p. 1019–1032, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.18632/aging.100706>

LIN, L.; SAHA, P. K.; MA, X.; HENSHAW, I. O.; SHAO, L.; CHANG, B. H. J.; BURAS, E. D.; TONG, Q.; CHAN, L.; MCGUINNESS, O. P.; SUN, Y. Ablation of ghrelin receptor reduces adiposity and improves insulin sensitivity during aging by regulating fat metabolism in white and brown adipose tissues. **Aging Cell**, v. 10, n. 6, p. 996–1010, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00740.x>

LIU, X.; LI, Y.; GUASCH-FERRÉ, M.; WILLETT, W. C.; DROUIN-CHARTIER, J.-P.; BHUPATHIRAJU, S. N.; TOBIAS, D. K. Changes in nut consumption influence long-term weight change in US men and women. **BMJ Nutrition, Prevention & Health**, v. 2, n. 2, p. 90–99, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmjnp-2019-000034>

MAH, E.; SCHULZ, J. A.; KADEN, V. N.; LAWLESS, A. L.; ROTOR, J.; MANTILLA, L. B. Cashew consumption reduces total and LDL cholesterol: a. p. 1070–1078, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.150037.2>

MAKRIS, A.; FOSTER, G. D. Dietary approaches to the treatment of obesity. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 34, n. 4, p. 813–827, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psc.2011.08.004>

MARANHÃO, P. A.; KRAEMER-AGUIAR, L. G.; DE OLIVEIRA, C. L.; KUSCHNIR, M. C.; VIEIRA, Y. R.; SOUZA, M. G.; KOURY, J. C.; BOUSKELA, E. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. **Nutrition & Metabolism**, v. 8, n. 1, p. 32, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-32>

MARTENS, I. B. G.; CARDOSO, B. R.; HARE, D. J.; NIEDZWIECKI, M. M.; LAJOLO, F. M.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Selenium status in preschool children receiving a Brazil nut-enriched diet. **Nutrition**, v. 31, n. 11–12, p. 1339–1343, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.05.005>

MENDOZA, J. A.; DREWNOWSKI, A.; CHRISTAKIS, D. A. Dietary Energy Density Is Associated With Obesity and the Metabolic Syndrome in U.S. Adults. **Diabetes Care**, v. 30, n. 4, p. 974–979, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc06-2188>

MERA, R.; THOMPSON, H.; PRASAD, C. How to Calculate Sample Size for an Experiment: A Case-Based Description. **Nutritional Neuroscience**, v. 1, n. 1, p. 87–91, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1028415X.1998.11747217>

MOHAN, V. *et al.* Cashew nut consumption increases HDL cholesterol and reduces systolic blood pressure in Asian Indians with type 2 diabetes: A 12-week randomized controlled trial. **Journal of Nutrition**, v. 148, n. 1, p. 63–69, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/nxx001>

MUKUDDER-PETERSEN, J.; STONEHOUSE OOSTHUIZEN, W.; JERLING, J. C.; HANEKOM, S. M.; WHITE, Z. Effects of a high walnut and high cashew nut diet on selected markers of the metabolic syndrome: a controlled feeding trial. **The British journal of nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1144–1153, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114507682944>

MURPHY, C. F.; LE ROUX, C. W. The neurobiological impact of ghrelin suppression after oesophagectomy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, p. 35, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms18010035>

NAJT, C. P. *et al.* Lipid Droplet-Derived Monounsaturated Fatty Acids Traffic via PLIN5 to Allosterically Activate SIRT1. **Molecular Cell**, v. 77, n. 4, p. 810–824.e8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.12.003>

NÄSLUND, E.; GUTNIAK, M.; SKOGAR, S.; RÖSSNER, S.; HELLSTRÖM, P. M. Glucagon-like peptide 1 increases the period of postprandial satiety and slows gastric emptying in obese men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 525–530, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/68.3.525>

NATACCI, L. C.; FERREIRA JÚNIOR, M. The three factor eating questionnaire - R21: tradução para o português e aplicação em mulheres brasileiras. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 3, p. 383–394, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732011000300002>

PANIAGUA, J. A. *et al.* A MUFA-Rich Diet Improves Posprandial Glucose, Lipid and GLP-1 Responses in Insulin-Resistant Subjects. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 434–444, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07315724.2007.10719633>

PÉREZ-ESCAMILLA, R.; OBBAGY, J. E.; ALTMAN, J. M.; ESSERY, E. V.; MCGRANE, M. M.; WONG, Y. P.; SPAHN, J. M.; WILLIAMS, C. L. Dietary Energy Density and Body Weight in Adults and Children: A Systematic Review. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 5, p. 671–684, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jand.2012.01.020>

PLOURDE, G.; PRUD'HOMME, D. Managing obesity in adults in primary care. **CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne**, v. 184, n. 9, p. 1039–44, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1503/cmaj.111640>

ROCK, C. L.; FLATT, S. W.; BARKAI, H.-S.; PAKIZ, B.; HEATH, D. D. A walnut-containing meal had similar effects on early satiety, CCK, and PYY, but attenuated the postprandial GLP-1 and insulin response compared to a nut-free control meal. **Appetite**, England, v. 117, p. 51–57, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.06.008>

ROS, E. Health benefits of nut consumption. **Nutrients**, v. 2, n. 7, p. 652–682, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu2070652>

SCHWINGSHACKL, L.; SCHWEDHELM, C.; HOFFMANN, G.; KNÜPPEL, S.; IQBAL, K.; ANDRIOLO, V.; BECHTHOLD, A.; SCHLESINGER, S.; BOEING, H. Food groups and risk of hypertension: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 793–803, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/an.117.017178>

STEFAN, N.; BIRKENFELD, A. L.; SCHULZE, M. B. Global pandemics interconnected — obesity, impaired metabolic health and COVID-19. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 17, n. 3, p. 135–149, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41574-020-00462-1>

STEVENSON, J. L.; CLEVENGER, H. C.; COOPER, J. A. Hunger and satiety responses to high-fat meals of varying fatty acid composition in women with obesity. **Obesity**, v. 23, n. 10, p. 1980–1986, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/oby.21202>

SUN, L.; GOH, H. J.; GOVINDHARAJULU, P.; LEOW, M. K. S.; HENRY, C. J. Differential effects of monounsaturated and polyunsaturated fats on satiety and gut hormone responses in healthy subjects. **Foods**, v. 8, n. 12, p. 634, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods8120634>

TAKEUCHI, H.; MATSUO, T.; TOKUYAMA, K.; SHIMOMURA, Y.; SUZUKI, M. Diet-induced thermogenesis is lower in rats fed a lard diet than in those fed a high oleic acid safflower oil diet, a safflower oil diet or a linseed oil diet. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 4, p. 920–925, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/125.4.920>

THOLIN, S.; RASMUSSEN, F.; TYNELIUS, P.; KARLSSON, J. Genetic and environmental influences on eating behavior: The Swedish Young Male Twins Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 3, p. 564–569, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.3.564>

THOMSEN, C.; RASMUSSEN, O.; LOUSEN, T.; HOLST, J. J.; FENSELAU, S.; SCHREZENMEIR, J.; HERMANSEN, K. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. **The American journal of clinical nutrition**, v. 69, n. 6, p. 1135–43, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.6.1135>

THOMSON, C. D.; CHISHOLM, A.; MCLACHLAN, S. K.; CAMPBELL, J. M. Brazil nuts: An effective way to improve selenium status. **American Journal of Clinical Nutrition**,

United States, v. 87, n. 2, p. 379–384, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.2.379>

TRUMBO, P.; SCHLICKER, S.; YATES, A. A.; POOS, M. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621–1630, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(02\)90346-9](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90346-9). Acesso em: 13 abr. 2014.

VARELA, L.; VÁZQUEZ, M. J.; CORDIDO, F.; NOGUEIRAS, R.; VIDAL-PUIG, A.; DIÉGUEZ, C.; LÓPEZ, M. Ghrelin and lipid metabolism: Key partners in energy balance. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 46, n. 2, p. 43–63, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1677/JME-10-0068>

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal polynomials. [S. l.: s. n.]. v. 44*E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal polynomials. [S. l.: s. n.]. v. 44*E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fact Sheet Obesity and overweight**. [s. l.], 2011. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. **World Health Organization**, v. 1, n. 1, p. 55, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/publications/world-health-statistics>

WORLD MEDICAL ASSOCIATION; REVIEW, C.; COMMUNICATION, S.; PRINCIPLES, G. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 310, n. 20, p. 2191–4, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1573–1580, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.019>

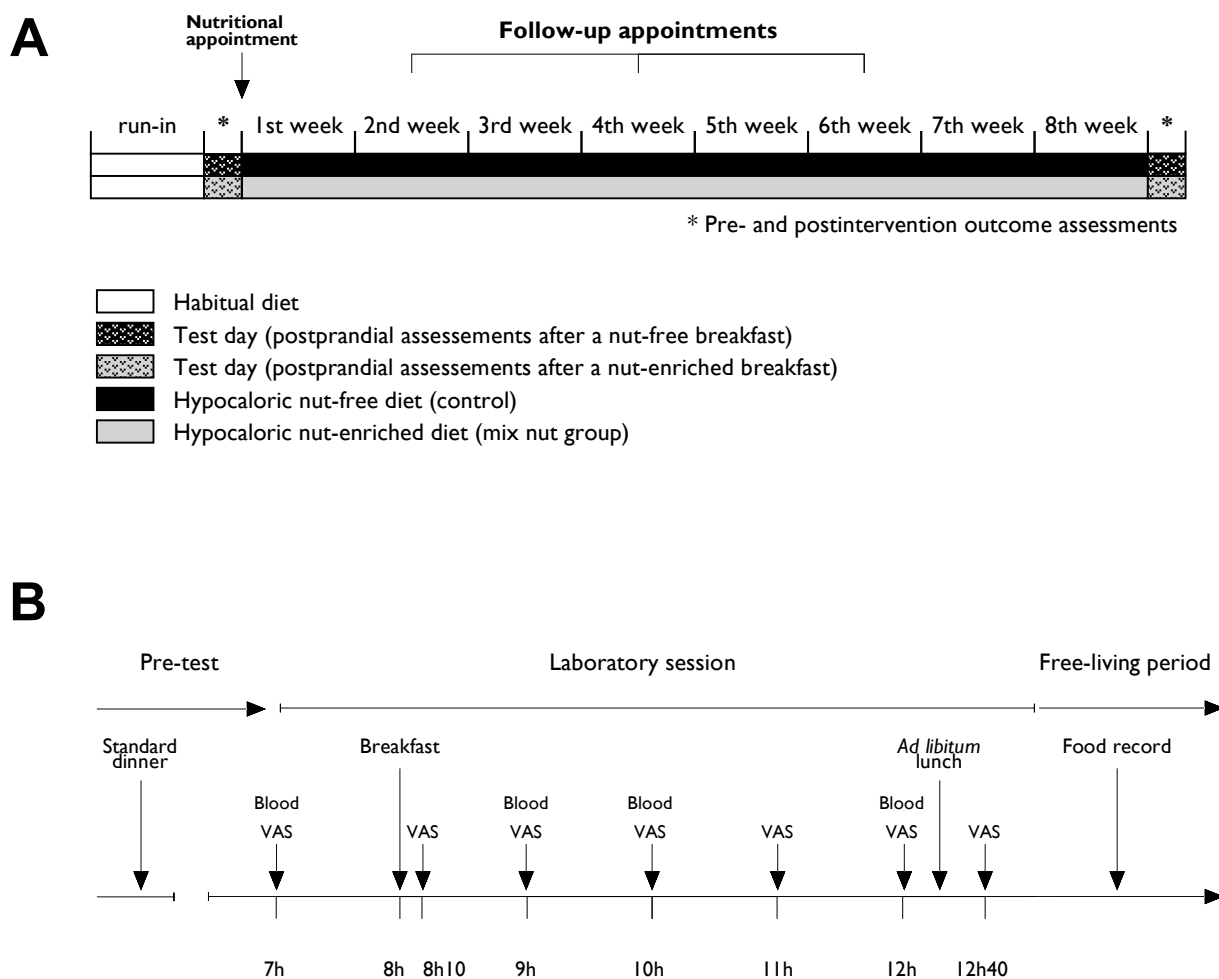


Figure 1. (A) Flow diagram of the study, with **(B)** laboratory sessions of postprandial assessment at test days, performed at baseline and at the end of the study.

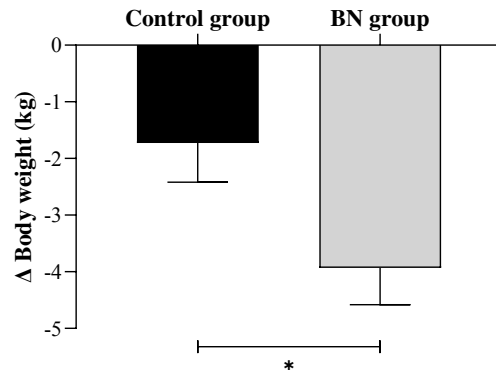
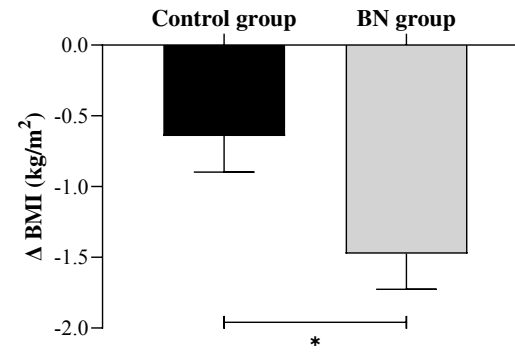
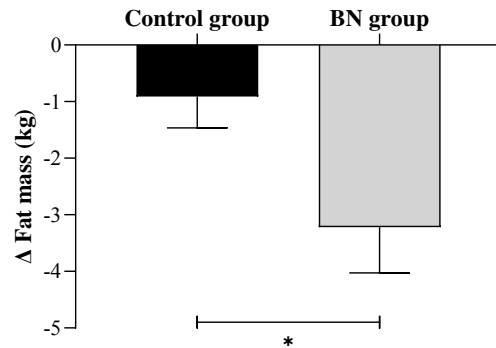
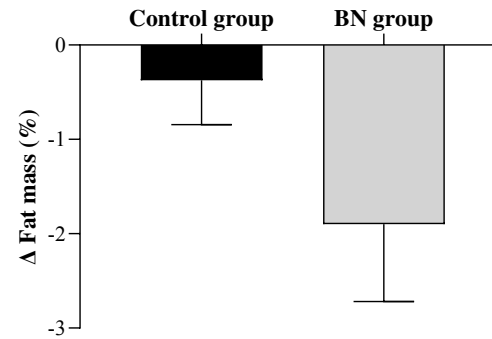
A**B****C****D**

Figure 2. (A) Body weight (kg), (B) BMI (kg/m²), (C) fat mass in kg and (D) % body fat mass changes in energy restriction compliance participants (n= 11 in control, and n= 12 in BN group), after 8-week intervention.

Data are expressed as means $\pm$ SEM. *P*-values refer to t-tests for differences between independent continuous variables. **p*= 0.03

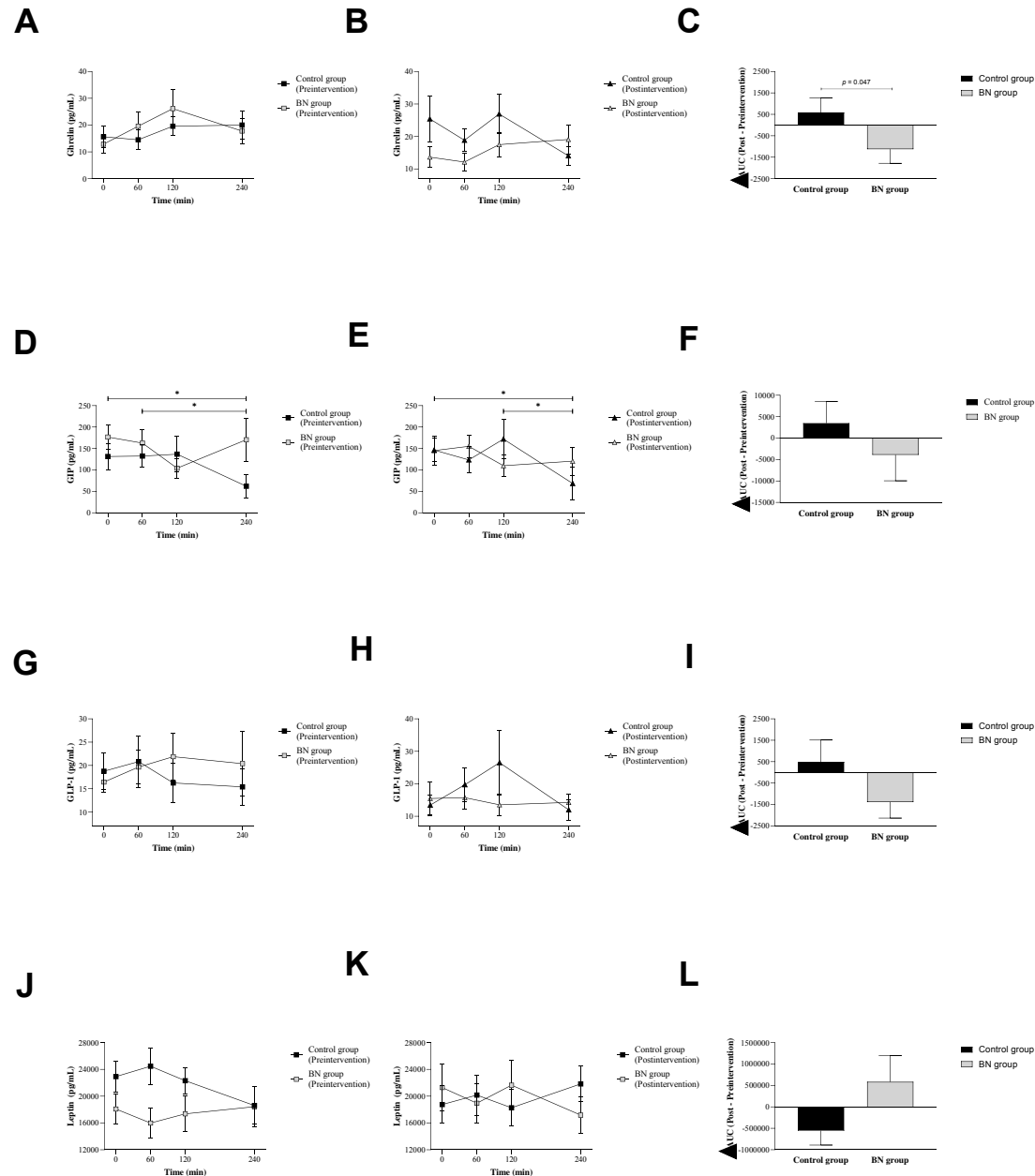


Figure 3. Curve response of postprandial peptide hormone concentrations in control (n= 14) and BN groups (n= 14) on test days at baseline (preintervention), and at the end of the study (postintervention).

Data are expressed as means $\pm$ SEM. GIP: Glucose-dependent insulintropic polypeptide. GLP-1: Glucagon-like peptide-1. P -values refer to t-tests for differences between independent continuous variables. $p < 0.05$, for paired t test for control group.

Table 1. Baseline characteristics of participants.

	Control group (n=14)	BN group (n=14)	p-value
Variables			
Gender (F/M)	14/0	14/0	
Age (years)	32.2 ± 2.2	31.3 ± 2.7	0.79
Body weight (kg)	89.3 ± 4.0	90.5 ± 3.8	0.82
BMI (kg/m ²)	33.4 ± 1.0	33.9 ± 1.2	0.78
Body fat (kg)	39.8 ± 2.4	41.4 ± 2.9	0.67
Body fat (%)	44.5 ± 1.4	45.2 ± 1.4	0.75
WC (cm)	108.9 ± 3.0	107.8 ± 2.9	0.80
Fasting glucose (mg/dL)	97.9 ± 2.7	94.0 ± 2.5	0.30
Fasting triglycerides (mg/dL)	102.8 ± 8.1	109.3 ± 14.4	0.70
SBP (mmHg)	114.4 ± 2.3	116.8 ± 2.6	0.48
DBP (mmHg)	76.9 ± 1.5	77.0 ± 1.7	0.95
Three Eating Factor Questionnaire			
Cognitive restraint	2.3 ± 0.1	2.4 ± 0.1	0.72
Uncontrolled eating	2.3 ± 0.1	2.4 ± 0.2	0.44
Emotional eating	2.5 ± 0.1	2.6 ± 0.2	0.71

BMI: body mass index. WC: waist circumference. SBP: systolic blood pressure. DBP: diastolic blood pressure. *P*-values refer to t-tests for differences between independent continuous variables.

Table 2. Nutritional composition of food consumption at baseline, and during the 8-week intervention for each treatment group.

Nutritional composition		Dietary prescription	Postintervention	<i>p</i> -value (Dietary prescription vs Postintervention)
Energy (kcal/day)	Control group (n=14)	1712.4 (1594.5 - 18740.6)	1390.8 (1279.8 - 1708.5)	0.02
	BN group (n=14)	1692.9 (1619.2 - 1932.6)	1541.4 (1301.1 - 1688.6)	0.01
	<i>p</i> -value	0.84	0.95	-
Carbohydrate (g/day)	Control group (n=14)	202.4 (185.7 - 219.9)	170.4 (157.6 - 207.2)	0.08
	BN group (n=14)	193.2 (181.7 - 226.4)	155.7 (137.5 - 191.9)	0.02
	<i>p</i> -value	0.80	0.16	-
Fats (g/day)	Control group (n=14)	59.1 (57.1 - 62.9)	53.5 (43.9 - 67.4)	0.22
	BN group (n=14)	60.3 (59.5 - 67.0)	67.2 (54.8 - 68.6)	0.64
	<i>p</i> -value	0.09	0.23	-
SFA (% of energy)	Control group (n=14)	8.9 ± 0.1	9.3 ± 0.6	0.56
	BN group (n=14)	9.2 ± 0.1	11.3 ± 0.5	0.002

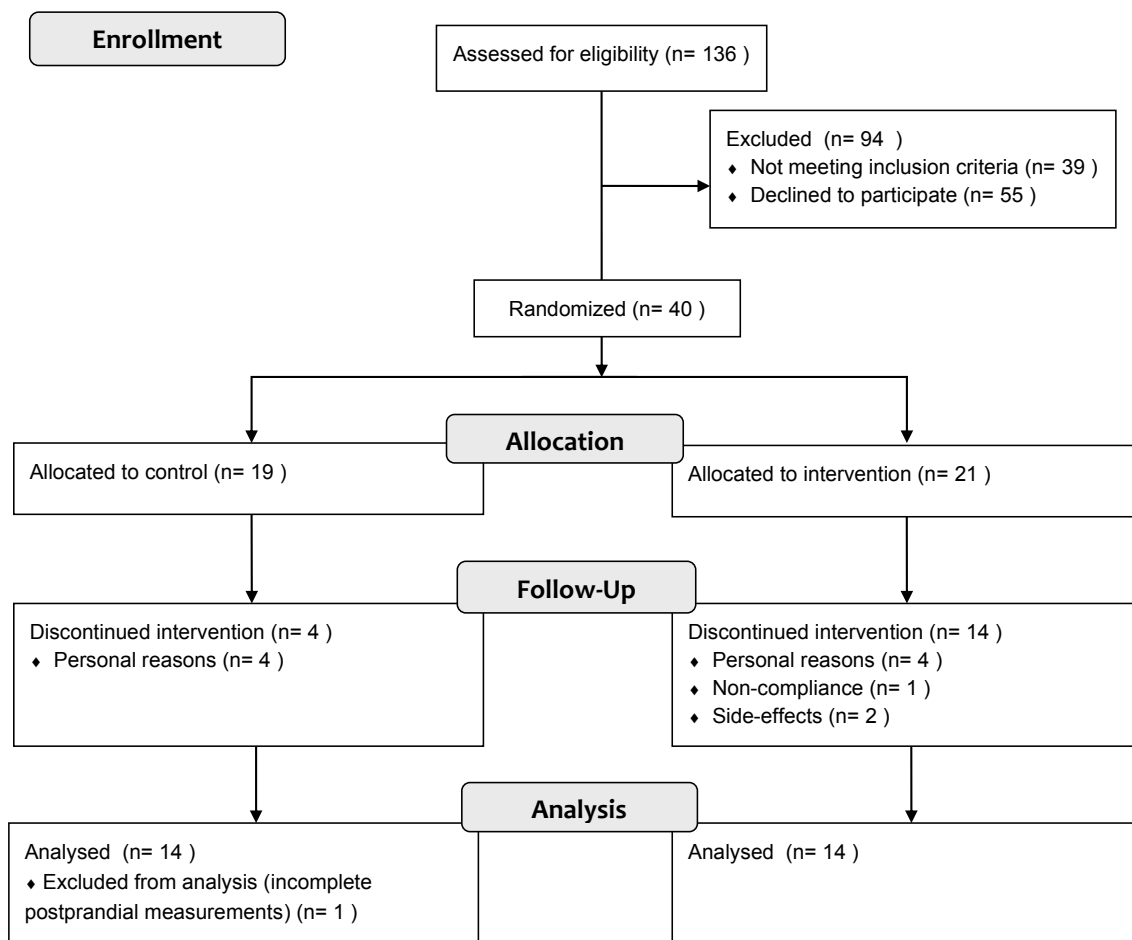
Nutritional composition		Dietary prescription	Postintervention	<i>p</i> -value (Dietary prescription vs Postintervention)
	<i>p</i> -value	0.13	0.01	-
MUFA (% of energy)	Control group (n=14)	8.1 (8.0 - 8.3)	9.9 (8.6 - 11.4)	0.04
	BN group (n=14)	11.6 (11.0 - 12.0)	15.1 (14.4 - 16.1)	0.001
	<i>p</i> -value	< 0.001	< 0.001	-
PUFA (% of energy)	Control group (n=14)	10.2 (9.9 - 10.8)	9.7 (9.2 - 11.1)	0.64
	BN group (n=14)	8.0 (7.7 - 8.3)	7.0 (6.4 - 8.2)	0.02
	<i>p</i> -value	< 0.001	< 0.001	-
Proteins (g/day)	Control group (n=14)	90.0 (81.6 - 96.0)	65.5 (60.6 - 81.9)	0.002
	BN group (n=14)	94.4 (89.0 - 106.1)	71.8 (60.9 - 89.9)	0.01
	<i>p</i> -value	0.19	0.73	-
Fiber (g/day)	Control group (n=14)	28.3 (26.7 - 31.8)	20.9 (16.9 - 26.5)	0.01
	BN group (n=14)	29.3 (29.1 - 35.2)	19.4 (14.5 - 21.8)	0.001
	<i>p</i> -value	0.09	0.31	-

Data are expressed as means $\pm$ SEM or median (95% CI). SFA: saturated fatty acids. MUFA: monounsaturated fatty acids. PUFA: polyunsaturated fatty acids. *P*-values refer to t-tests or Mann-Whitney for differences between independent continuous variables, and paired t test or Wilcoxon signed-rank test, for differences between dependent variables.

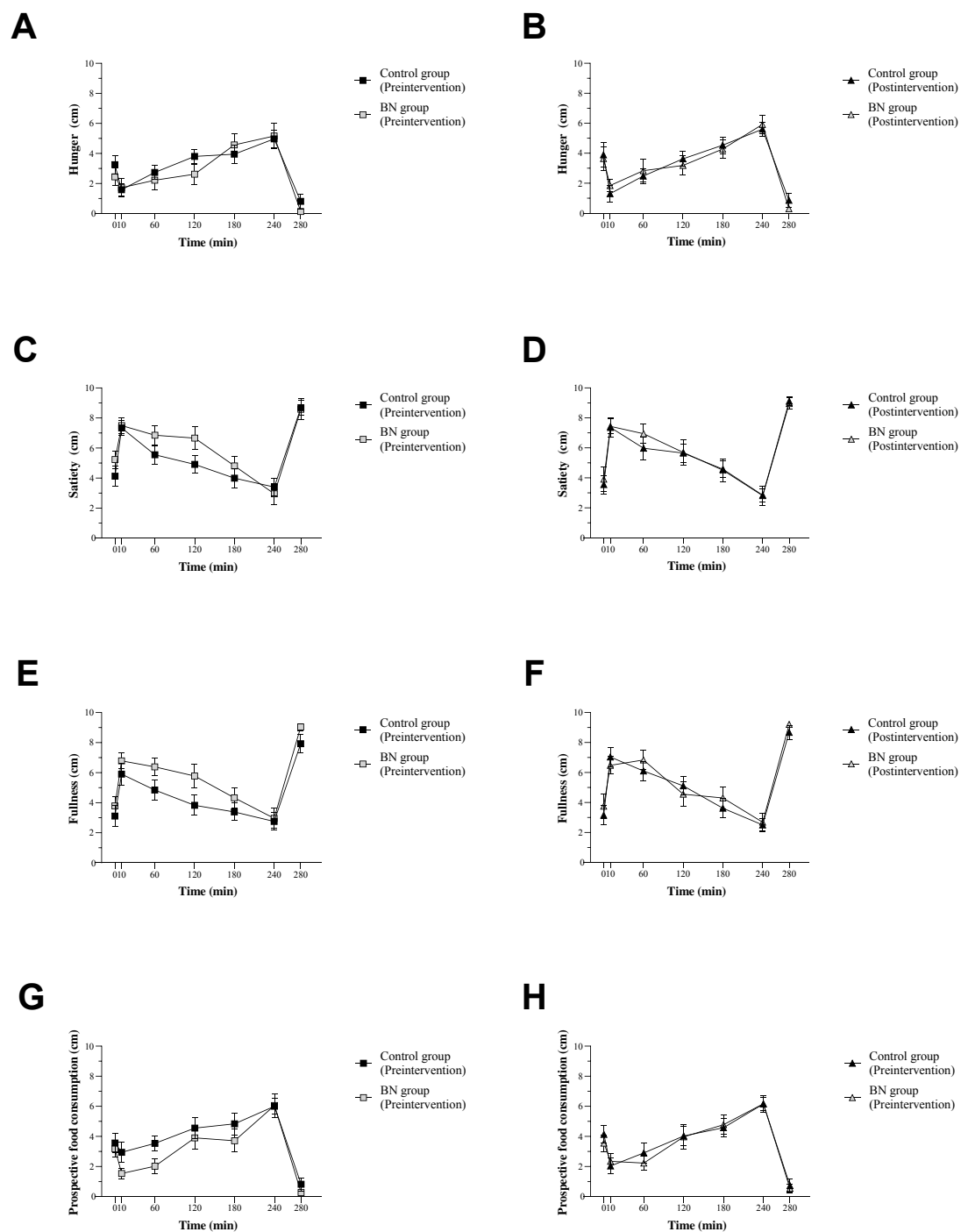
Table 3. Postprandial energy intake.

Energy intake (kcal)	Control group (n= 14)	BN group (n= 14)	<i>p</i> -value
<i>Ad libitum</i> lunch			
Preintervention	722.1 (582.9 - 801.9)	705.9 (618.0 - 902.4)	0.77
Postintervention	780.4 (603.1 - 932.9)	699.2 (90.4 - 855.6)	0.45
<i>p</i> -value	0.11	0.78	-
Total daily intake			
Preintervention (n= 7)*	1093.5 ± 116.6	1366.1 ± 1167.7	0.23
Postintervention (n= 9)*	1092.0 ± 245.4	1193.9 ± 122.3	0.70
<i>p</i> -value	0.99	0.45	-

Data are expressed as means ± SEM or median (95% CI). *P*-values refer to t-tests or Mann-Whitney for differences between independent continuous variables, and paired t test or Wilcoxon signed-rank test, for differences between dependent variables. *Data for participants that provide the daily intake record.

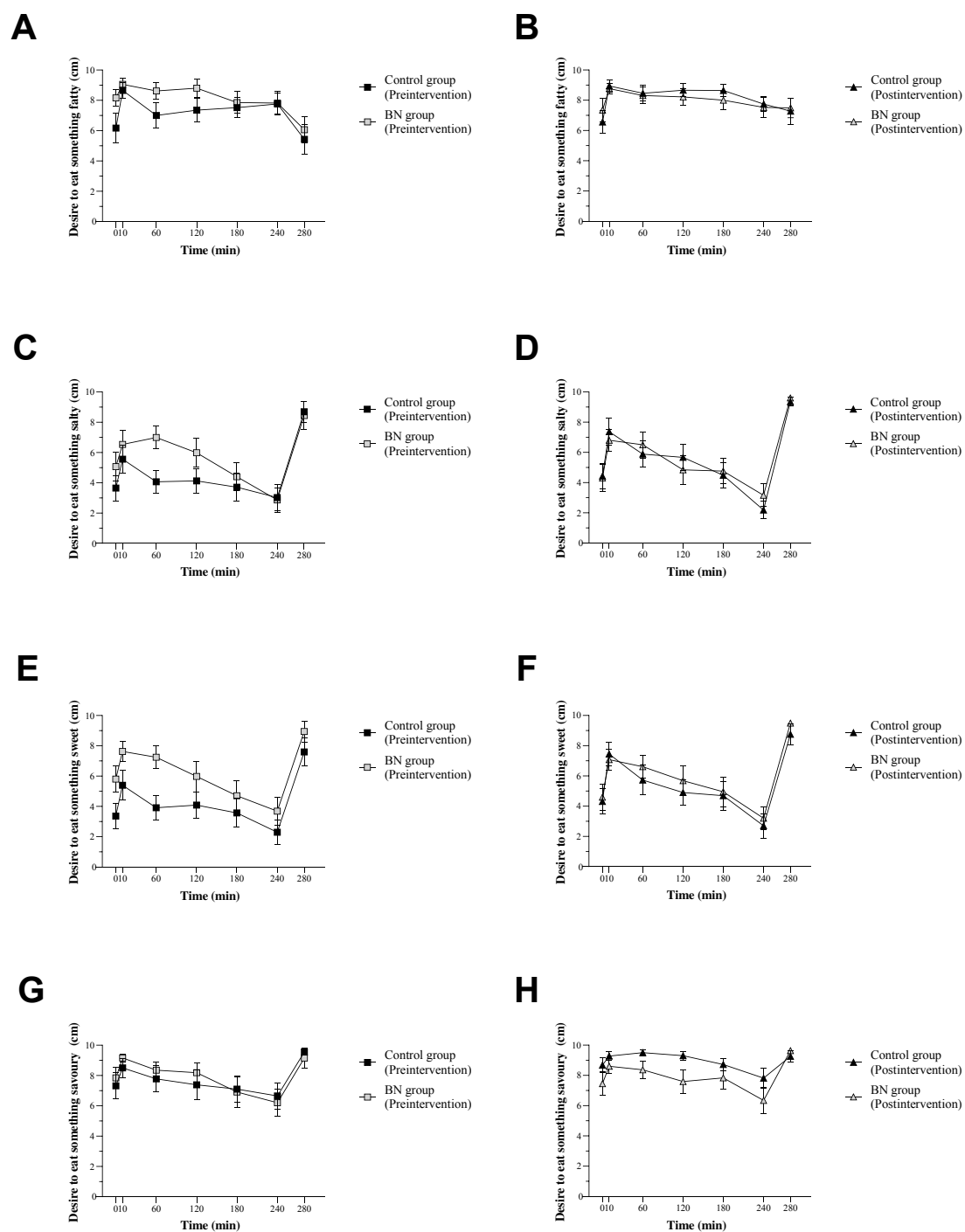


Supplementary Figure 1. CONSORT flow diagram of the process through the phases of intervention.



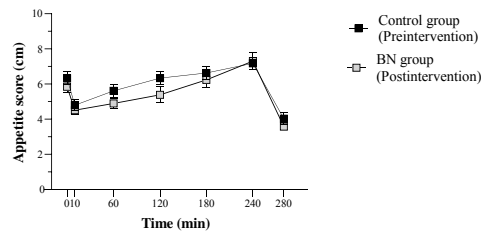
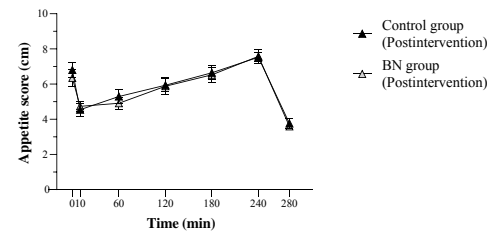
Supplementary Figure 2. Postprandial appetite ratings in control (n= 14) and BN groups (n= 14) on test days, at baseline (preintervention), and at the end of the study (postintervention).

Data are expressed as means $\pm$ SEM. Higher scores indicate higher appetite feelings for hunger and prospective food consumption questions, while higher scores indicate greater suppression of appetite for satiety and fullness questions.



Supplementary Figure 3. Postprandial desire for specific food type in the control (n= 14) and BN groups (n= 14) on test days, at baseline (preintervention), and at the end of the study (postintervention).

Data are expressed as means $\pm$ SEM. Higher scores indicate lower desire for specific food type consumption.

A**B**

Supplementary Figure 4. Postprandial Appetite Scores in control (n= 14) and BN groups (n= 14) on test days, **(a)** at baseline (preintervention), and **(b)** at the end of the study (postintervention).

Data are expressed as means $\pm$ SEM. Lower AS is associated with greater suppression of appetite.

Supplementary Table 1. Nutritional composition of control and test drinks of postprandial test.

Drink	Ingredients	Quantity (g)	Energy (kcal)	PTN (g)	LIP (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHO (g)	Fiber (g)	Available CHO (g)
Nut-free drink (control)	Water	300.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Skim powder milk	40.00	143.73	13.88	0.37	0.24	0.08	-	21.22	-	21.22
	Soybean oil	22.70	204.30	-	22.70	3.45	5.28	13.62	-	-	-
	Sugar	10.00	39.97	0.03	-	-	-	-	9.96	-	9.96
	Whey protein concentrate	7.00	27.53	4.20	0.47	0.30	0.07	-	1.63	-	1.63
	Corn starch	6.00	21.49	0.04	0.05	-	-	-	5.23	0.04	5.18
	Synthetic hazelnut essence	4.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Food coloring (drops)	4.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Drink	Ingredients	Quantity (g)	Energy (kcal)	PTN (g)	LIP (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHO (g)	Fiber (g)	Available CHO (g)
	TOTAL	385.70	437.03	18.14	23.59	3.99	5.43	13.62	38.04	0.04	37.99
Nut- enriched drink (test)	Water	300.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cashew nut	30.00	182.13	5.55	13.88	2.74	8.19	2.35	8.74	1.10	7.64
	Skim powdered milk	30.00	107.80	10.41	0.28	0.18	0.06	-	15.91	-	15.91
	Brazil nut	15.00	103.44	2.18	9.52	2.29	4.11	3.15	2.26	1.19	1.07
	Sugar	11.00	43.97	0.04	-	-	-	-	10.96	-	10.96
	TOTAL	386.00	437.34	18.18	23.68	5.21	12.36	5.50	37.87	2.29	35.58

PTN: protein. LIP: lipids. CHO: carbohydrate. SFA: saturated fatty acid. MUFA monounsaturated fatty acid. PUFA: polyunsaturated fatty acid.

Supplementary Table 2. Eating behavior characteristics, at baseline (preintervention), and at the end of study (postintervention).

Three Factor Questionnaire Domains	Eating Group	Preintervention n	Postintervention	<i>p</i> -value
Cognitive restraint	Control group (n=14)	2.3 ± 0.1	2.9 ± 0.2	0.01
	BN group (n=14)	2.4 ± 0.1	2.9 ± 0.1	0.004
	<i>p</i> -value	0.72	0.88	-
Uncontrolled eating	Control group (n=14)	2.3 ± 0.1	1.9 ± 0.1	0.01
	BN group (n=14)	2.4 ± 0.2	2.2 ± 0.1	0.04
	<i>p</i> -value	0.44	0.23	-
Emotional eating	Control group (n=14)	2.5 ± 0.1	2.3 ± 0.2	0.66
	BN group (n=14)	2.6 ± 0.2	2.5 ± 0.2	0.15
	<i>p</i> -value	0.71	0.49	-

Data are expressed as means ± SEM. *P*-values refer to t-tests or paired t test, for differences between independent and dependent continuous variables, respectively.

Supplementary Table 3. Fasting peptide hormone concentrations at baseline (preintervention), and at the end of study (postintervention).

	Group	Preintervention	Postintervention	<i>p</i> -value
Fasting Ghrelin (pg/mL)	Control group (n=14)	15.6 ± 3.9	25.4 ± 7.0	0.22
	BN group (n=14)	12.9 ± 3.3	13.7 ± 3.2	0.82
	<i>p</i> -value	0.60	0.14	
Fasting GIP (pg/mL)	Control group (n=14)	131.4 ± 30.5	146.5 ± 27.6	0.67
	BN group (n=14)	176.8 ± 28.9	145.0 ± 33.2	0.54
	<i>p</i> -value	0.29	0.97	
Fasting GLP-1 (pg/mL)	Control group (n=14)	18.8 ± 3.8	13.4 ± 3.2	0.04
	BN group (n=14)	16.5 ± 2.2	15.5 ± 5.0	0.85
	<i>p</i> -value	0.61	0.73	
Fasting Leptin (pg/mL)	Control group (n=14)	22930 ± 2359	18755 ± 2781	0.16
	BN group (n=14)	18089 ± 2216	21287 ± 3453	0.38
	<i>p</i> -value	0.15	0.57	

Data are expressed as means ± SEM. AUC: area under the curve. GIP: Glucose-dependent insulintropic polypeptide. GLP-1: Glucagon-like peptide-1. *P*-values refer to t-tests or paired t test, for differences between independent and dependent continuous variables, respectively.

Supplementary Table 4. Area under the curve of postprandial subjective appetite ratings on test days, at baseline (preintervention), and at the end of study (postintervention).

	Group	Preintervention	Postintervention	p-value	Δ (Postintervention - Preintervention)
AUC Hunger (cm*min)	Control group (n=14)	945.3 $\pm$ 100.3	982.3 $\pm$ 107.4	0.629	37.1 $\pm$ 74.9
	BN group (n=14)	878.8 $\pm$ 130.4	979.6 $\pm$ 133.6	0.271	100.9 $\pm$ 87.8
	p-value	0.69	0.99	-	0.59
AUC Satiety (cm*min)	Control group (n=14)	1424.8 $\pm$ 140.7	1505.9 $\pm$ 136.3	0.461	81.1 $\pm$ 106.8
	BN group (n=14)	1636.2 $\pm$ 159.5	1557.0 $\pm$ 160.2	0.193	-79.3 $\pm$ 57.7
	p-value	0.33	0.81	-	0.20
AUC Fullness (cm*min)	Control group (n=14)	1188.0 $\pm$ 139.0	1385.3 $\pm$ 138.2	0.063	197.3 $\pm$ 97.3
	BN group (n=14)	1509.4 $\pm$ 156.3	1439.2 $\pm$ 150.9	0.280	-70.2 $\pm$ 62.2
	p-value	0.14	0.79	-	0.03
AUC Prospective food consumption (cm*min)	Control group (n=14)	1180.7 $\pm$ 149.0	1080.2 $\pm$ 129.5	0.397	-100.5 $\pm$ 114.8
	BN group (n=14)	938.4 $\pm$ 140.2	1055.2 $\pm$ 124.7	0.186	116.8 $\pm$ 83.7
	p-value	0.25	0.89	-	0.14
AUC Desire to eat something fatty (cm*min)	Control group (n=14)	2065.2 $\pm$ 183.9	2338.0 $\pm$ 111.5	0.071	272.8 $\pm$ 138.7
	BN group (n=14)	2290.0 $\pm$ 136.4	2257.4 $\pm$ 146.6	0.792	-41.6 $\pm$ 154.6
	p-value	0.32	0.67	-	0.14

AUC Desire to eat something salty (cm*min)	Control group (n=14)	1205.1 ± 180.0	1473.1 ± 154.1	0.056	268.0 ± 127.9
	BN group (n=14)	1542.4 ± 201.4	1510.5 ± 188.5	0.816	-31.9 ± 134.3
	<i>p</i> -value	0.22	0.88	-	0.12
AUC Desire to eat something sweet (cm*min)	Control group (n=14)	1120.0 ± 202.5	1446.2 ± 178.0	0.014	42.4 ± 61.6
	BN group (n=14)	1660.3 ± 214.9	1587.7 ± 204.9	0.589	-104.2 ± 128.3
	<i>p</i> -value	0.08	0.61	-	0.03
AUC Desire to eat something savoury (cm*min)	Control group (n=14)	2112.9 ± 195.5	2502.9 ± 77.4	0.047	-53.6 ± 64.6
	BN group (n=14)	2173.5 ± 163.5	2191.5 ± 161.0	0.856	-38.2 ± 84.0
	<i>p</i> -value	0.81	0.09	-	0.08
AUC Appetite Score (cm*min)	Control group (n=14)	1701.8 ± 82.6	1668.9 ± 83.1	0.597	-32.9 ± 60.8
	BN group (n=14)	1568.8 ± 90.0	1639.7 ± 93.4	0.130	70.9 ± 43.8
	<i>p</i> -value	0.29	0.82	-	0.18

Data are expressed as means ± SEM. AUC: area under the curve. Delta (Δ) values were calculated as change after 8-week intervention (Postintervention – Preintervention difference). Higher AUC for hunger and prospective food consumption indicate higher appetite feelings, while higher AUC for satiety and fullness questions indicate greater suppression of appetite. Higher AUC for desire for specific food type indicate lower desire for consumption. Lower AUC for AS is associated with greater suppression of appetite. *P*-values refer to t-tests or paired t test, for differences between independent and dependent continuous variables, respectively.

6.3 ARTIGO 2: Long-term consumption of Brazilian nuts did not affect glucose homeostasis in overweight non-diabetic woman (Brazil Nut Study): a randomized controlled trial

Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha ^a,

Ana Paula Silva Caldas ^a,

Brenda Kelly Souza Silveira ^a,

Josefina Bressan ^a,

Helen Hermana Miranda Hermsdorff ^a

^a **Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 369570-900, MG, Brazil**

Email addresses: mayumi.dani@gmail.com (DMUPR), paulacaldas06@hotmail.com (APSC), jbrm@ufv.br (JB), helenhermana@ufv.br (HHMH)

ABSTRACT

Objective: To investigate the short- and long-term effect of 45 g of Brazilian nuts (BN: 15 g of Brazil nuts and 30 g of cashew nuts) consumption on postprandial glycemia and insulin responses in non-diabetic overweight subjects.

Methods: In this open-label controlled randomized clinical trial, glycemic and insulinemic responses of overnight-fasted of overweight women without diabetes were measured at 0, 60, 120, and 240 min after consuming a nut-free (control) or nut-enriched (BN group, with 45 g of Brazilian nuts) breakfast drink, at baseline and after 8-wk. To evaluate the long-term effect, the BN group received an energy-restricted meal plan (-500 kcal/day), containing 45 g of BN; and the control group an energy-restricted nut-free meal plan (- 500 kcal/day). Fasting HOMA-IR and triglyceride-glucose index (TyG) were also calculated. (ReBEC: RBR-3ntxrm).

Results: Twenty-nine overweight women (mean $\pm$ SEM: 31.5 $\pm$ 1.7 years; BMI: 33.4 $\pm$ 0.8 kg/m²; body fat mass: 44.6 $\pm$ 1.0%; fasting glucose: 95.9 $\pm$ 1.8 mg/dL) participated in the Brazilian Nut Study. The nut-enriched drink containing 45 g of BN did not change postprandial glucose or insulin response in non-diabetic overweight subjects at baseline and after 8-wk dietary intervention. Fasting glucose, insulin, HOMA-IR, or TyG did not change after 8-wk energy-restricted diet with BN supplementation in this sample.

Conclusions: We developed palatable nut-enriched drinks containing 45 g of Brazilian nuts. Overall, in association with an energy-restricted diet, the short- and long-term consumption of 45 g of Brazilian nuts, did not change fasting or postprandial responses related to glycemic control in non-diabetic overweight women. However, more studies are needed to evaluate BN consumption in diabetic or impaired glucose subjects.

Keywords: *Anacardium occidentale*; *Bertholletia excelsa*; blood glucose; insulin; obesity.

1. Introduction

Postprandial hyperglycemia (and related hyperinsulinemia) has been implicated in the etiology of chronic metabolic diseases such as type 2 diabetes mellitus (T2DM) and cardiovascular disease (CVD), suggesting that early intervention to normalize postprandial glucose concentrations could be a strategy for reducing the cardiometabolic risk (BAO *et al.*, 2011; BLAAK *et al.*, 2012). The postprandial state comprises most of the time we spend a day (AUGUSTIN *et al.*, 2015). Thus, optimal postprandial blood glucose management is essential in people with and without T2DM (AUGUSTIN *et al.*, 2015), since high glucose concentrations promote oxidative stress, inflammation and lead to chronic diabetic complications (DOMINGUETI *et al.*, 2016), as it induces a state of glucotoxicity, with progressive reduction of beta-cell secretion, or the progressive loss of the glycostatic function of the pancreas, leading to a vicious cycle with progressive worsening of the hyperglycemic state (GELONEZE; LAMOUNIER; COELHO, 2006).

In turn, obesity is characterized by abnormal or excessive fat accumulation that produces and secrete various metabolic, hormonal, and inflammatory products that can progressively cause and/or exacerbate other comorbidities, such as dyslipidemia, hypertension, hyperinsulinemia, and T2DM (KYROU *et al.*, 2000). In fact, obesity is one of the strongest predictors of T2DM, believed to be responsible for at least seven times higher risk of T2DM (ABDULLAH *et al.*, 2010; BELLOU *et al.*, 2018). The exact mechanism is not fully understood, but it is suggested that excess visceral adiposity responsible for the chronic low-grade inflammation involved in the pathogenesis of obesity, may disrupt the function of insulin-responsive cells and their ability to respond to insulin, and therefore result in reduced insulin sensitivity (ESSER *et al.*, 2014; MCARDLE *et al.*, 2013; NEELAND *et al.*, 2012). Therefore, from an epidemiological model, obesity is a chronic progressive relapsing disease where food is the principal environmental agent (Bray *et al.*, 2017). Besides, reduction of body weight and healthy diet patterns could reduce T2DM risk (BELLOU *et al.*, 2018; GRAMS; GARVEY, 2015).

In this sense, nuts are high-calorie and dense foods, good sources of fatty acids (mainly unsaturated), fiber, vegetable proteins, and minerals, and contain bioactive compounds, such as polyphenols, tocopherols, phytosterols, and phenolics (ROS, 2010). Their consumption has been associated with positive effects on cardiovascular outcomes, hypertension, and lower mortality risk (BECERRA-TOMÁS *et al.*, 2019; DE SOUZA *et al.*, 2020; SCHWINGSHACKL *et al.*, 2017). Moreover, epidemiological studies indicate that nut consumption could be an important strategy for the prevention of T2DM. However, these findings in the systematic review and meta-analysis studies are controversial (AFSHIN *et al.*, 2014; AUNE *et al.*, 2016; LUO *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2014), indicating clinical studies are still needed.

Among Brazilian native species of nuts, Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) have recognized antioxidant properties, due to their selenium content, and effect on human health (CARDOSO *et al.*, 2017; MARTENS *et al.*, 2015; THOMSON *et al.*, 2008; YANG, 2009), while cashew nuts (*Anacardium occidentale*) can improve lipid profile and blood pressure (DE BRITO; DE OLIVEIRA SILVA; RODRIGUES, 2018; MAH *et al.*, 2017; MOHAN *et al.*, 2018a). However, these Brazilian nuts have been poorly studied. Therefore, we aimed to investigate cashew and Brazil nut's short- and long-term effect on glucose homeostasis in non-diabetic overweight subjects, following an energy-restricted diet.

2. Methodology

2.1 Participants

Twenty-nine women (mean $\pm$ SEM: 31.5 $\pm$ 1.7 years; BMI: 33.4 $\pm$ 0.8 kg/m²; body fat mass: 44.6 $\pm$ 1.0%; fasting glucose: 95.9 $\pm$ 1.8 mg/dL) participated in this open-label controlled randomized clinical trial. The participants were not taking any medications for glucose control nor diagnosing diabetes.

All participants provided informed written consent. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (WORLD MEDICAL ASSOCIATION *et al.*, 2013) and was approved

by the local ethics committee. The clinical trial is registered at the Brazilian Registry of Clinical Trials – ReBEC (ID: RBR-3ntxrm).

2.2 Study protocol

Participants received a standard dinner (576 kcal; 53% from carbohydrate, 25% from lipids, and 22% from protein), consisting of a chicken sandwich with 200 mL of grape juice, to consume the night before they were asked to attend the laboratory at ~7 a.m. after an overnight fast. In the laboratory, participants received a 437 kcal nut-free (control) or nut-enriched (BN group) breakfast drink, containing 15 g of Brazil nuts and 30 g of cashew nuts. Both meals consisted of a 400 mL of skimmed milk drink, to consume within ~10 min. The drinks were isocaloric, with a similar amount of macronutrients, and masked in color and flavor (for more details of nutritional composition see COSTA *et al.*, 2021). During laboratory sessions, participants consumed nothing but water (limited at 300 mL) and kept their physical activity minimum.

2.3 Blood collection

Blood collection occurred during laboratory sessions, in a fasting state (0 min), subsequently at 60, 120, and 240 min after consuming a nut-free (control) or nut-enriched (BN group) breakfast. Blood samples were centrifugated (1500 g, 15 min, 4°C), aliquoted, and stored at -80°C until analysis. Fasting serum triglycerides and plasma glucose concentrations were analyzed in an autoanalyzer (BS-200 Mindray® Chemistry Analyzer, Nanshan, China) following the methodology of the Bioclin® commercial kits (Quibasa - Química Básica Ltda). Serum insulin concentration was performed using electrochemiluminescence immunoassay (Beckman Coulter DXI, Inc. USA). Insulin resistance was evaluated using the HOMA-IR index, calculated using the following equation: $\text{HOMA-IR} = \text{fasting glucose (mg/dL)} \times \text{insulin (}\mu\text{IU/mL)} / 405$ (MATTHEWS *et al.*, 1985). Furthermore, the TyG index was calculated using the formula $\text{Ln} [\text{fasting triglycerides (mg/dL)} \times \text{fasting glucose (mg/dL)} / 2]$ (SIMENTAL-MENDÍA; RODRÍGUEZ-MORÁN; GUERRERO-ROMERO, 2008).

2.4 Palatability measurements

Participants also completed a visual analogue scale (VAS) questionnaire on the palatability of the nut-free (control) or nut-enriched (BN group) drinks provided (FLINT *et al.*, 2000). This included ratings on perceived visual appeal, taste, smell, aftertaste, and overall palatability. For each VAS question, a numerical score of between 0 and 10 cm was obtained. To integrate palatability sensations into one index, we calculate the palatability score (PS) (JOANNA; CRAIG, 2013). A higher composite PS represents that the meal is more palatable. We also applied a questionnaire VAS on consumer purchase intentions; the higher values indicate an intention to purchase.

2.5 Anthropometric measurements and body composition

Fasting body weight and body composition were assessed in light clothing without shoes, using a bioelectrical impedance analysis device (Inbody 230, Biospace Corp., Seoul, Korea). Height was measured on a stadiometer (Seca, model 206, Hamburg, Germany) at baseline. We calculated BMI by weight (kg)/height (m²). Waist circumference (WC) was measured to the nearest 0.1 cm at the end of normal expiration at the umbilical waist (horizontal at the umbilicus) using a non-stretchable tape measure with participants in standing position.

2.6 Long-term assessments

Some subjects participated in the second stage of the study, which was designed to promote weight loss. The Brazilian nut (BN) group received an energy-restricted meal plan (-500 kcal/day), containing 15 g of Brazil nuts and 30 g of cashew nuts; and the control group received an energy-restricted nut-free meal plan (- 500 kcal/day). Energy-restricted meal plans were prescribed according to the Acceptable Macronutrient Distribution Range (AMDR) (TRUMBO *et al.*, 2002), under the supervision of a dietitian. All subjects were asked to maintain their physical activity and lifestyle during the study. After 8 weeks, the participants performed the analysis over again.

2.7 Statistical analysis

Data are reported as means $\pm$ SEMs. Multilevel Multiple Imputation of missing data

was performed for repeated analyses of glucose and insulin concentrations, using the mice package in R (BUUREN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, 2011, 2021). The area under the curve (AUC) for glucose and insulin concentrations was calculated using the trapezoid rule in GraphPad Prism version 8.4.3 (GraphPad Software, La Jolla California USA). We tested data normality using the Shapiro-Wilk test and differences between groups by Student's t-test or Mann-Whitney test. Paired t-test or Wilcoxon signed-rank test were used to assess within-group differences. Glucose and insulin postprandial concentrations were tested with two-way mixed ANOVA. This analysis investigated the effects of the time (within-subjects effect), and the interaction of time and intervention treatment (time x group). The Greenhouse-Geisser correction was performed if the sphericity assumption was violated. Post-hoc Bonferroni multiple comparisons or t-test explored significant interaction effects if they were present. A three-way mixed analysis of variance ($2 \times 2 \times 4$), with glucose or insulin concentration as the dependent variable, group (control vs. BN group) as the between-subject factor, and pre-post measurements (pre- vs. postintervention) and time (postprandial time measurement: 0, 60, 120, and 240 min) as within-subject factors were applied to assess the effect of group, pre-post measurements, and time on glucose or insulin responses, during the postprandial response. Pairwise comparisons were performed if there were statistically if there were significant main effects. The analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc. version 26.0). The significance level was set for all statistical analyzes at $\alpha = 5\%$.

3. Results

Twenty-nine subjects completed the 8-wk energy-restricted Brazilian Nut Study intervention. Both control ($n = 15$) and BN ($n = 14$) groups showed significant reductions of body weight (mean $\pm$ SEM in kg: -1.8 ± 0.7 and -3.5 ± 0.6), BMI (mean $\pm$ SEM in kg/m^2 : -0.7 ± 0.2 and -1.3 ± 0.2), and waist circumference (mean $\pm$ SEM in cm: -2.9 ± 0.7 and -5.5 ± 1.2), respectively.

After the 8-wk intervention, we did not find differences in fasting glucose, insulin, HOMA-IR, and TyG index values in the BN group (**Table 1**). There were no significant main effects, two-way effects interactions, neither in three-way interaction between

group, time, and pre-post measures for blood glucose (**Figure 1 A**), and insulin concentrations only time showed a significant effect ($p < 0.001$) (**Figure 1 C**).

There was no significant difference between nut-based or control drinks (nut-free) in the palatability ratings and PS (**Figure 2**). Additionally, participants showed a high intention to purchase both drinks, showing great acceptability (mean and SEM: 7.5 ± 0.4 vs 6.8 ± 0.8 for the nut-enriched drink and the control, respectively; $p=0.43$).

Table 1. Effect of Brazilian nut consumption on body weight and markers of glucose and insulin homeostasis.

	Baseline			8-weeks		
	Control group (n= 15)	BN group (n= 14)	<i>p</i>	Control group (n= 15)	BN group (n= 14)	<i>p</i>
Age (years)	31.6 ± 2.1	31.3 ± 2.7	0.93	-	-	-
Male/Female (n)	0/15	0/14	-	0/15	0/14	-
Body weight (kg)	88.0 ± 4.0	90.5 ± 3.8	0.64	86.1 ± 4.0	87.0 ± 3.7	0.87
BMI (kg/m²)	33.0 ± 1.0	33.9 ± 1.2	0.60	32.3 ± 1.1	32.5 ± 1.2	0.90
Waist circumference (cm)	107.8 ± 3.0	107.8 ± 1.8	1.00	104.9 ± 3.0	102.2 ± 3.0	0.50
Fasting glucose (mg/dL)	97.7 ± 2.5	94.0 ± 2.5	0.30	98.0 ± 2.2	94.4 ± 2.4	0.27
Fasting insulin (µIU/mL)	11.4 ± 1.3	14.4 ± 2.9	0.85	10.7 ± 1.1	14.2 ± 2.7	0.81
Fasting triglycerides (mg/dL)	128.5 ± 26.8	109.3 ± 14.4	0.62	132.7 ± 31.6	104.6 ± 13.1	0.68
TyG index	8.6 ± 0.1	8.4 ± 0.1	0.44	8.6 ± 0.1	8.4 ± 0.1	0.39
HOMA-IR index	2.7 ± 0.3	3.4 ± 0.7	0.91	2.6 ± 0.3	3.4 ± 0.7	1.00

BN: Brazilian nuts; BMI: body mass index; TyG: triglyceride-glucose.

Data expressed as mean ± SEM. P-values for Student's t-test or Mann-Whitney test, when appropriate.

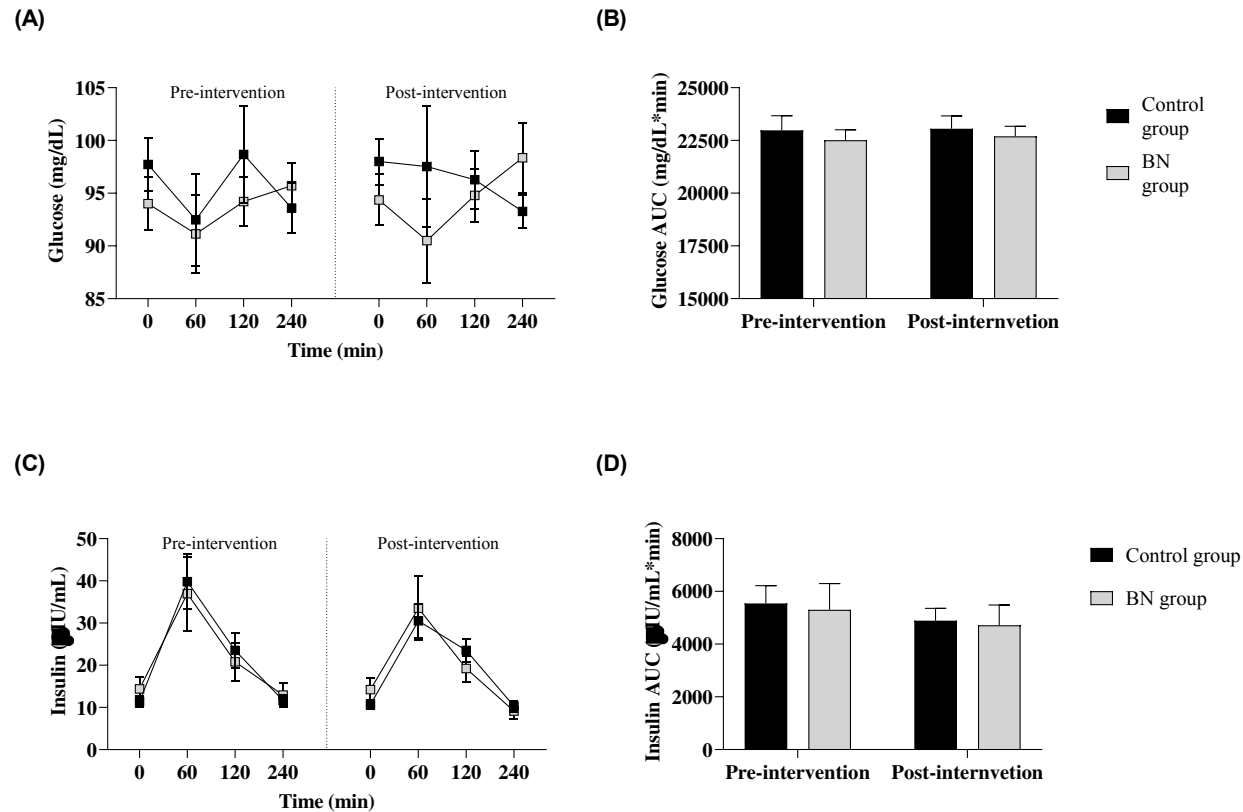


Figure 1. Changes in *blood* glucose concentrations **(A)**, and area under the glucose response curve (AUC) **(B)** after consumption of nut-free (control; $n = 15$) or nut-enriched (BN group; $n = 14$) at pre- and post-intervention. Three-way *mixed* ANOVA ($p > 0.05$ for all main and interaction effects), and Wilcoxon signed-rank test ($p > 0.05$). Changes in *insulin* concentrations **(C)**, and area under the glucose response curve (AUC) **(D)** after consumption of nut-free (control; $n = 15$) or nut-enriched (BN group; $n = 14$). Three-way *mixed* ANOVA (p time < 0.001 , and $p > 0.05$ for all interactions effects), and Wilcoxon signed-rank test ($p > 0.05$). Data expressed as mean $\pm$ SEM.

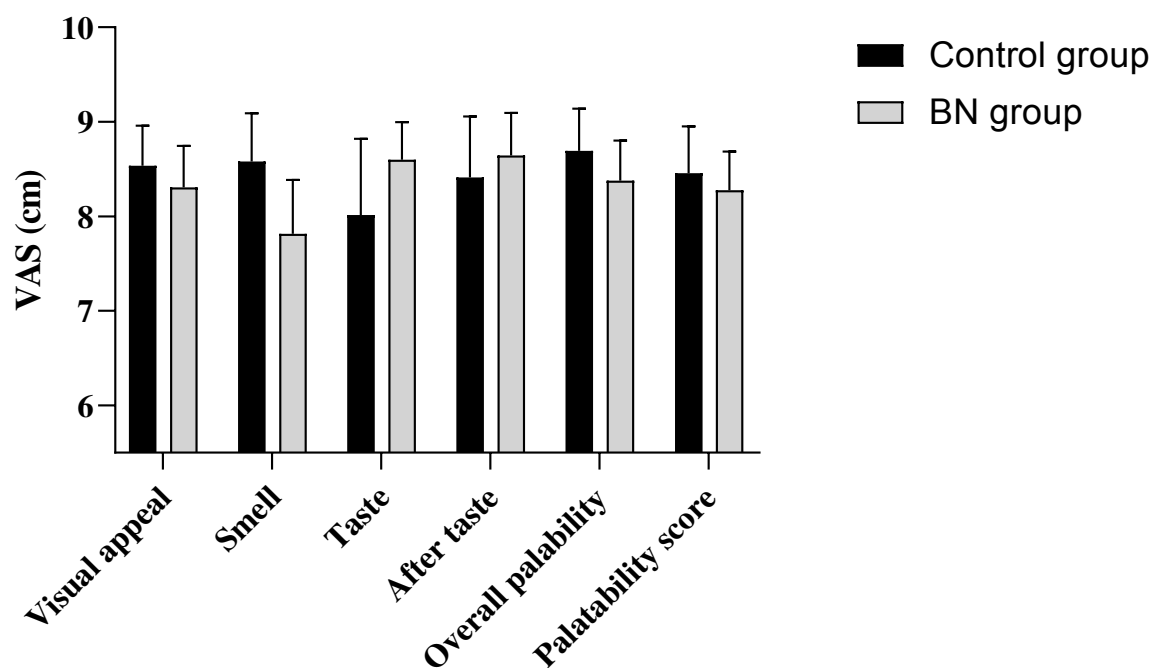


Figure 2. Comparison between palatability visual analogue score (VAS) ratings for control (black) and nut-enriched drinks (grey).

Data presented as means $\pm$ SEMs. Differences between groups were tested with the Mann-Whitney test ($p > 0.05$ for all).

4. Discussion

In the present study, the consumption of 45 g of Brazilian nuts (15 g of Brazil nuts and 30 g of cashew nuts) did not affect postprandial glucose and insulin responses in non-diabetic overweight subjects. Fasting glucose, insulin, HOMA-IR, and neither TyG were affected after 8-week energy-restricted intervention.

A study by Kendall *et al.* 2011 showed that acute consumption of a mix of nuts (30, 60, and 90 g) significantly reduced the postprandial glycemic response in both normoglycemic and diabetic subjects. The impact was modest, but interestingly nuts progressively reduce the glycemic response in a dose-dependent manner when followed by a glucose load (white bread) (KENDALL *et al.*, 2011). On the other hand, 30 g of cashew nuts supplementation during 12-weeks did not change fasting glucose, insulin, and glycated hemoglobin (HbA1c) in T2DM subjects (MOHAN *et al.*, 2018b). But the consumption of cashew nuts (63 to 108 g/d) for 3-weeks increased significantly glucose concentration in metabolic syndrome subjects, compared to the control group (MUKUDDER-PETERSEN *et al.*, 2007). The consumption of 20 g of Brazil nuts in healthy subjects did not change postprandial glucose and insulin responses (ROSENSTOCK *et al.*, 2020). Besides, Brazil nut regular consumption (≈ 5 g) during 2 months did not affect fasting glucose, insulin, and HOMA-IR in metabolic syndrome or obese subjects (REIS *et al.*, 2019). However, supplementation with one Brazil nut a day (≈ 5 g) for 8 weeks decreased fasting glucose concentrations in healthy adults (DONADIO *et al.*, 2018).

In this sense, the effect of nut consumption on glycemic homeostasis is a controversial issue in the literature. To verify the relationship between the effect of nuts on markers of glycemic control, some review studies and meta-analyses were conducted. The most recent study of randomized controlled clinical trials showed that nut consumption did not change fasting glucose or HbA1c, but significantly decreased HOMA-IR and fasting insulin (TINDALL *et al.*, 2019). However, in subjects with T2DM, nuts improved glycemic control, with effects on fasting glucose and HbA1c, while the reduction in fasting insulin and HOMA-IR did not reach significance (VIGUILLIOUK *et al.*, 2014).

Similarly, another meta-analysis demonstrated the beneficial effects of pistachio consumption on glycemic control in individuals with pre-diabetes (NTZOUVANI; ANTONOPOULOU; NOMIKOS, 2019). Study data with Brazilian nuts evaluating these effects are scarce in these study reviews and restricted to just a few studies with cashew. Furthermore, meta-analysis studies indicate that more well-conducted clinical trials with longer duration, are needed to assess the impact of nuts on glycemic control markers.

In our study, the breakfast drinks served were isocaloric and matched in macronutrient distribution. The difference between them was highlighted by Brazilian nuts, in the BN group, responsible for the high-monounsaturated fatty acid (MUFA) content in the nut-enriched breakfast drink. However, in the control group, the nut-free drink had a high amount of polyunsaturated fatty acid (PUFA). The consumption of unsaturated fats in place of either carbohydrates or saturated fats improves glucose-insulin homeostasis. According to Imamura *et al* (2016), the most consistent favorable effects were with PUFA intake, substituting carbohydrate, saturated fat or MUFA. However, in T2DM patients, a beneficial effect on fasting plasma glucose was observed for high-MUFA compared with high-PUFA diets (QIAN *et al.*, 2016). In addition to the type of fat, its source has also been shown to be important. In fact, the relationship between fatty acids and those markers of T2DM risk could depend on the dietary source of fatty acids. All fatty acids from meat, when stratified by source, were adversely associated with markers of insulin resistance and secretion (WANDERS *et al.*, 2017). Thus, the lack of effect found in our study could be related to the similar performance of unsaturated fatty acids both of vegetable origin, in both the glycemic and insulin response.

Besides nuts being high-energy, nutrient-dense foods, their regular consumption is unlikely to contribute to obesity and may even help in weight loss when consuming an energy-restricted diet (AKHLAGHI *et al.*, 2020). Also, weight loss of ~ 10 % can help in the prevention of future diabetes in patients with prediabetes or metabolic syndrome (GRAMS; GARVEY, 2015). Therefore, the modest weight loss presented here, and similar between groups, may have been another factor responsible for the no change

in blood glucose and insulin resistance markers. Furthermore, both energy-restricted interventions presented nutritional quality and were healthy, with good saturated fatty acid content (~ 10% energy intake), which may have contributed to the result.

Our study has some strengths that are worth mentioning. We conducted a randomized controlled feeding trial design, with a real-world energy-restricted intervention, balanced with between BN and control group, in terms of age, anthropometric, body composition, and metabolic markers. Also, we evaluated both short and long-term the effect of consumption of 45 g of BN on postprandial glycemic and insulinemic responses in overweight non-diabetic subjects. In addition, changes in fasting glucose, insulin, HOMA-IR, or TyG were evaluated in long-term consumption. However, both groups used test drinks with unsaturated fatty acids (MUFA and PUFA, respectively), which may have had similar effects on the evaluated markers. A more pronounced effect could have been observed when comparing with a saturated fatty acid, for example. Also, the results found here may be specific to this population, and may not translate into effects, for example, in individuals with diabetes or impaired glucose responses.

5. Conclusions

We develop palatable nut-enriched drinks containing 45 g of BN (15 g of Brazil nuts and 30 g of cashew nuts), whose consumption in the short term did not affect the postprandial glucose or insulin response in overweight non-diabetic subjects. Furthermore, the long-term effect of 45 g of BN daily consumption in association with an energy-restricted diet for eight weeks promotes weight loss but did not affect glucose or insulin responses. More studies are needed to evaluate the long-term effect of BN in diabetic or impaired glucose subjects.

Acknowledgments

We thank all investigators, coordinators, and participants who took part in this study. Embrapa Agroindustria Tropical - Fortaleza – Ceará and Inovam Brasil® provided the feedstock to carry out the study (cashew nuts and Brazil nuts, respectively). Bioclin (Quibasa - Química Básica Ltda), through the project Projeto Brasil Escola, provides supplies for the biochemical

dosages necessary to characterize the biochemical profile of the study participants.

Funding statement

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq), and Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – Brasil (FAPEMIG). ACSS, JB, and HHMH are CNPq fellowship in Research Productivity.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- ABDULLAH, A.; PEETERS, A.; DE COURTEN, M.; STOELWINDER, J. The magnitude of association between overweight and obesity and the risk of diabetes: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 89, n. 3, p. 309–319, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2010.04.012>
- AFSHIN, A.; MICHA, R.; KHATIBZADEH, S.; MOZAFFARIAN, D. Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 278–288, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.076901>
- AKHLAGHI, M.; GHOBADI, S.; ZARE, M.; FOSHATI, S. Effect of nuts on energy intake, hunger, and fullness, a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 84–93, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1514486>
- AUGUSTIN, L. S. A.; KENDALL, C. W. C.; JENKINS, D. J. A.; WILLETT, W. C.; ASTRUP, A. Nutrition , Metabolism & Cardiovascular Diseases Glycemic index , glycemic load and glycemic response : An International Scientific Consensus Summit from the International Carbohydrate Quality Consortium (ICQC) *. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 25, n. 9, p. 795–815, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2015.05.005>
- AUNE, D.; KEUM, N. N.; GIOVANNUCCI, E.; FADNES, L. T.; BOFFETTA, P.; GREENWOOD, D. C.; TONSTAD, S.; VATTEN, L. J.; RIBOLI, E.; NORAT, T. Nut consumption and risk of cardiovascular disease, total cancer, all-cause and cause-specific mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **BMC Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1–14, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0730-3>
- BAO, J.; ATKINSON, F.; PETOCZ, P.; WILLETT, W. C.; BRAND-MILLER, J. C. Prediction of postprandial glycemia and insulinemia in lean, young, healthy adults: Glycemic load compared with carbohydrate content alone. **American Journal of**

Clinical Nutrition, v. 93, n. 5, p. 984–996, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.005033>

BECERRA-TOMÁS, N.; PAZ-GRANIEL, I.; KENDALL, C.; KAHLEOVA, H.; RAHELIC, D.; SIEVENPIPER, J. L.; SALAS-SALVADÓ, J. Nut consumption and incidence of cardiovascular diseases and cardiovascular disease mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Nutrition Reviews**, v. 77, n. 10, p. 691–709, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz042>

BELLOU, V.; BELBASIS, L.; TZOULAKI, I.; EVANGELOU, E. Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. **PLoS ONE**, v. 13, n. 3, p. 1–27, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194127>

BLAAK, E. E. *et al.* Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 10, p. 923–984, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01011.x>

BUUREN, S. van; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. **Journal of Statistical Software**, v. 45, n. 3, p. 1–67, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.18637/jss.v045.i03>

BUUREN, S. van; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. **Package ‘mice’**. [S. l.]: CRAN, 2021. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/mice/mice.pdf>

CARDOSO, B. R.; DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; COZZOLINO, S. M. F. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**, v. 100, n. March, p. 9–18, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.036>

COSTA, M. A. de C.; HERMSDORFF, H. H. M.; CALDAS, A. P. S.; ROCHA, D. M. U. P.; DA SILVA, A.; DE OLIVEIRA, L. L.; BRESSAN, J. Acute consumption of a shake containing cashew and Brazil nuts did not affect appetite in overweight subjects: a randomized, cross-over study. **European Journal of Nutrition**, n. 0123456789, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02560-w>

DE BRITO, E. S.; DE OLIVEIRA SILVA, E.; RODRIGUES, S. Caju— Anacardium

occidentale. In: **Exotic Fruits**. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 85–89. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803138-4.00012-5>

DE SOUZA, R. J. *et al.* Association of nut intake with risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 16 countries from 5 continents: Analysis from the Prospective Urban and Rural Epidemiology (PURE) study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 112, n. 1, p. 208–219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa108>

DOMINGUETI, C. P.; DUSSE, L. M. S. A.; CARVALHO, M. D. G.; DE SOUSA, L. P.; GOMES, K. B.; FERNANDES, A. P. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 30, n. 4, p. 738–745, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2015.12.018>

DONADIO, J. L. S.; ROGERO, M. M.; GUERRA-SHINOHARA, E. M.; DESMARCHELIER, C.; BOREL, P.; COZZOLINO, S. M. F. SEPP1 polymorphisms modulate serum glucose and lipid response to Brazil nut supplementation. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 5, p. 1873–1882, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1470-7>

ESSER, N.; LEGRAND-POELS, S.; PIETTE, J.; SCHEEN, A. J.; PAQUOT, N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 105, n. 2, p. 141–150, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.04.006>

FLINT, A.; RABEN, A.; BLUNDELL, J.; ASTRUP, A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. **International Journal of Obesity**, v. 24, n. 1, p. 38–48, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801083>

GELONEZE, B.; LAMOUNIER, R. N.; COELHO, O. R. Postprandial hyperglycemia: Treating its atherogenic potential. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 5, p. 660–670, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2006001800018>

GRAMS, J.; GARVEY, W. T. Weight Loss and the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes Using Lifestyle Therapy, Pharmacotherapy, and Bariatric Surgery: Mechanisms of Action. **Current Obesity Reports**, v. 4, n. 2, p. 287–302, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13679-015-0155-x>

IMAMURA, F.; MICHA, R.; WU, J. H. Y.; DE OLIVEIRA OTTO, M. C.; OTITE, F. O.; ABIOYE, A. I.; MOZAFFARIAN, D. Effects of Saturated Fat, Polyunsaturated Fat, Monounsaturated Fat, and Carbohydrate on Glucose-Insulin Homeostasis: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomised Controlled Feeding Trials. **PLoS Medicine**, v. 13, n. 7, p. 1–18, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002087>

JOANNA, M. W.; CRAIG, L. B. Glycaemic index of meals affects appetite sensation but not energy balance in active males. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0529-3>

KENDALL, C. W. C.; ESFAHANI, A.; JOSSE, A. R.; AUGUSTIN, L. S. A.; VIDGEN, E.; JENKINS, D. J. A. The glycemic effect of nut-enriched meals in healthy and diabetic subjects. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. SUPPL. 1, p. S34–S39, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.03.013>

KYROU, I.; RANDEVA, H. S.; TSIGOS, C.; KALTSAS, G.; WEICKERT, M. O. **Clinical Problems Caused by Obesity**. [S. l.: s. n.]. E-book. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25905207>

LUO, C.; ZHANG, Y.; DING, Y.; SHAN, Z.; CHEN, S.; YU, M.; HU, F. B.; LIU, L. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 256–269, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.076109>

MAH, E.; SCHULZ, J. A.; KADEN, V. N.; LAWLESS, A. L.; ROTOR, J.; MANTILLA, L. B. Cashew consumption reduces total and LDL cholesterol: a. p. 1070–1078, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.150037.2>

MARTENS, I. B. G.; CARDOSO, B. R.; HARE, D. J.; NIEDZWIECKI, M. M.; LAJOLO, F. M.; MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Selenium status in preschool children receiving a Brazil nut-enriched diet. **Nutrition**, v. 31, n. 11–12, p. 1339–1343, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.05.005>

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S.; NAYLOR, B. A.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00280883>

MCARDLE, M. A.; FINUCANE, O. M.; CONNAUGHTON, R. M.; MCMORROW, A. M.; ROCHE, H. M. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: Insights into the emerging role of nutritional strategies. **Frontiers in Endocrinology**, v. 4, n. MAY, p. 1–23, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00052>

MOHAN, V. *et al.* Cashew nut consumption increases HDL cholesterol and reduces systolic blood pressure in Asian Indians with type 2 diabetes: A 12-week randomized controlled trial. **Journal of Nutrition**, v. 148, n. 1, p. 63–69, 2018 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/nxx001>

MOHAN, V. *et al.* Cashew Nut Consumption Increases HDL Cholesterol and Reduces Systolic Blood Pressure in Asian Indians with Type 2 Diabetes: A 12-Week Randomized Controlled Trial. p. 63–69, 2018 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/nxx001>

MUKUDDER-PETERSEN, J.; STONEHOUSE OOSTHUIZEN, W.; JERLING, J. C.; HANEKOM, S. M.; WHITE, Z. Effects of a high walnut and high cashew nut diet on selected markers of the metabolic syndrome: A controlled feeding trial. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1144–1153, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114507682944>

NEELAND, I. J.; TURER, A. T.; AYERS, C. R.; POWELL-WILEY, T. M.; VEGA, G. L.; FARZANEH-FAR, R.; GRUNDY, S. M.; KHERA, A.; MCGUIRE, D. K.; DE LEMOS, J. A. Dysfunctional adiposity and the risk of prediabetes and type 2 diabetes in obese adults. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 308, n. 11, p.

1150–1159, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/2012.jama.11132>

QIAN, F.; KORAT, A. A.; MALIK, V.; HU, F. B. Metabolic effects of monounsaturated fatty acid-enriched diets compared with carbohydrate or polyunsaturated fatty acid-enriched diets in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Diabetes Care**, v. 39, n. 8, p. 1448–1457, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc16-0513>

REIS, B. Z.; DUARTE, G. B. S.; VARGAS-MENDEZ, E.; FERREIRA, L. R. P.; BARBOSA, F.; CERCATO, C.; ROGERO, M. M.; COZZOLINO, S. M. F. Brazil nut intake increases circulating miR-454-3p and miR-584-5p in obese women. **Nutrition Research**, v. 67, p. 40–52, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2019.05.004>

ROS, E. Health benefits of nut consumption. **Nutrients**, v. 2, n. 7, p. 652–682, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu2070652>

ROSENSTOCK, A.; CONNOLLY, M.; WELLER, R.; HONG, M. Y. Brazil nut consumption promotes satiety without increasing blood glucose and insulin responses in healthy adults. **Nutrire**, v. 45, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s41110-019-0108-3>

SCHWINGSHACKL, L.; SCHWEDHELM, C.; HOFFMANN, G.; KNÜPPEL, S.; IQBAL, K.; ANDRIOLO, V.; BECHTHOLD, A.; SCHLESINGER, S.; BOEING, H. Food groups and risk of hypertension: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 793–803, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/an.117.017178>

SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; RODRÍGUEZ-MORÁN, M.; GUERRERO-ROMERO, F. The product of fasting glucose and triglycerides as surrogate for identifying insulin resistance in apparently healthy subjects. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 6, n. 4, p. 299–304, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/met.2008.0034>

THOMSON, C. D.; CHISHOLM, A.; MCLACHLAN, S. K.; CAMPBELL, J. M. Brazil nuts:

An effective way to improve selenium status. **American Journal of Clinical Nutrition**, United States, v. 87, n. 2, p. 379–384, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.2.379>

TINDALL, A. M.; JOHNSTON, E. A.; KRIS-ETHERTON, P. M.; PETERSEN, K. S. The effect of nuts on markers of glycemic control: A systematic review and meta-Analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 109, n. 2, p. 297–314, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy236>

TRUMBO, P.; SCHLICKER, S.; YATES, A. A.; POOS, M. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621–1630, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(02\)90346-9](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90346-9). Acesso em: 13 abr. 2014.

VIGUILIOUK, E. *et al.* Effect of tree nuts on glycemic control in diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled dietary trials. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e103376, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103376>. Acesso em: 3 dez. 2014.

WANDERS, A. J.; ALSSEMA, M.; DE KONING, E. J. P.; LE CESSIE, S.; DE VRIES, J. H.; ZOCK, P. L.; ROSENDAAL, F. R.; DEN HEIJER, M.; DE MUTSERT, R. Fatty acid intake and its dietary sources in relation with markers of type 2 diabetes risk: The NEO study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 2, p. 245–251, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.204>

WORLD MEDICAL ASSOCIATION; REVIEW, C.; COMMUNICATION, S.; PRINCIPLES, G. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 310, n. 20, p. 2191–4, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1573–1580, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.019>

ZHOU, D.; YU, H.; HE, F.; REILLY, K. H.; ZHANG, J.; LI, S.; ZHANG, T.; WANG, B.; DING, Y.; XI, B. Nut consumption in relation to cardiovascular disease risk and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 270–277, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.079152>

6.4 ARTIGO 3: Inflammatory response by a nut-enriched energy-restricted diet in overweight women (Brazil Nut Study): a randomized controlled trial

Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha ^a,

Ana Paula Silva Caldas ^a,

Brenda Kelly Souza Silveira ^a,

Leandro Licursi de Oliveira ^b,

Ana Cristina Simões e Silva ^c,

Josefina Bressan ^a,

Helen Hermana Miranda Hermsdorff ^a

^a **Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 369570-900, MG, Brazil**

^b **Department of General Biology, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 369570-900, MG, Brazil**

^c **Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 30130-100, MG, Brazil**

Email addresses: mayumi.dani@gmail.com (DMUPR), paulacaldas06@hotmail.com (APSC), leandro.licursi@ufv.br (LLO), acssilva@hotmail.com (ACSS), jbrm@ufv.br (JB), helenhermana@ufv.br (HHMH)

ABSTRACT

Obesity is an important public health problem worldwide, while low-grade systemic inflammation is a recognized link between excess adiposity and other cardiometabolic disorders. Weight loss and specific dietary patterns have been associated with improvement of inflammatory profile, but the consumption of nuts has been currently poorly studied in this context. Thus, we conducted an open-label controlled randomized clinical trial, the Brazilian Nuts Study, to investigate the effect on inflammatory markers related to consumption of 45g of Brazilian nuts (BN: 15g of Brazil nuts + 30g of cashew nuts) associated with an energy-restricted diet (-500kcal/day) in overweight women, for 8 weeks. We assessed weight loss, and the inflammatory markers (at fasting, and 240 min postprandial) at the beginning and at the end of the study. As a result, the postprandial IL-6 plasma concentrations at baseline were higher in the control group than in the BN group. After 8 weeks, postprandial IL-6 increased postprandially in the control group, but not in the BN group. In addition, fasting cortisol in the control group increased in relation to the BN group. We conclude that the control group showed a postprandial increase in the proinflammatory cytokine IL-6, and possibly, as a compensation mechanism, it stimulated the increase in the anti-inflammatory hormone cortisol. The consumption of BN, in turn, modestly prevented the postprandial increase of IL-6 concentrations. More studies are needed to investigate the mechanisms involved. (Brazilian Registry of Clinical Trials – ReBEC: RBR-3ntxrm).

Keywords: dietary restriction; *Anacardium occidentale*; *Bertholletia excelsa*; inflammation; obesity; weight reduction programs.

Introduction

Obesity is the accumulation of abnormal or excessive fat that has been associated with chronic, sterile, low-grade (subclinical) inflammation or meta-inflammation, characterized by a modest increase of pro-inflammatory markers and absence of clinical signs of inflammation (MRAZ; HALUZIK, 2014). The origin of this inflammatory process in obesity is uncertain, but adipocyte dysfunction and the accumulation of macrophages in the adipose tissue contribute to changes in the production of several bioactive substances, known as adipocytokines or adipokines, with an imbalance between anti- and pro-inflammatory markers, and consequent increase in circulating pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF and MCP-1) (CARRARO et al., 2015; CHOE et al., 2016; GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011; JUNG; CHOI, 2014). In addition, this chronic subclinical inflammation associated with obesity has been linked with metabolic disturbances, including insulin resistance, lipotoxicity, and harmful effects to other metabolic organs such as the liver, muscle and pancreas (CHOE et al., 2016).

Diet, particularly dietary pattern or food components play an important role on inflammation and oxidative stress, either directly or indirectly (HERMSDORFF et al., 2011a; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ et al., 2015; ROCHA et al., 2016; ROCHA; BRESSAN; HERMSDORFF, 2017a; SAGHAFI-ASL et al., 2021). On the other hand, weight loss associated with caloric restriction can reduce the concentrations of TNF, IL-6, leptin, ICAM-I adhesion molecules, in addition to C-reactive protein (CRP) (HERMSDORFF et al., 2009a, 2009b, 2011b).

Moreover, recent PREDIMED (PREvencion with Dieta MEDiterranea) studies have reported an anti-inflammatory effect of regular nut consumption on markers related to atherosclerosis, such as PC-R, IL-6, TNF, MCP-1, in up to five years of intervention (SACANELLA et al., 2016). However, meta-analysis studies suggest that nut consumption has no significant effects on inflammatory biomarkers (MAZIDI et al., 2016; NEALE et al., 2017b). Besides, the effect of Brazilian nuts consumption is currently poorly studied, and there are not studies that evaluated their effects associated with a calorie-restricted diet.

Therefore, we aimed to investigate the consumption of Brazilian nuts, included in an energy-restrict diet, on body weight loss and inflammatory markers in overweight women at cardiometabolic risk. Furthermore, considering the postprandial state of a complex interplay between nutrients (MEESSEN et al., 2019), we also aimed to assess the postprandial inflammatory response related to the consumption of these nuts. Thus, we hypothesize that the consumption of Brazilian nuts can promote effective weight loss and improve the inflammatory response, in overweight subjects.

Methods

The Brazilian Nuts Study is an open-label controlled randomized clinical trial focused on evaluation of the impact of daily consumption of 45 g of Brazilian nuts (15 g of Brazil nuts + 30 g of cashew nuts: BN group) in a weight loss program, with 8-week duration.

2.1. Study participants

We recruited women with overweight (BMI ≥ 27 kg/m²), high waist circumference (≥ 80 cm), and high body fat percentage ($\geq 32\%$) associated with at least one other component of metabolic syndrome: triglycerides ≥ 150 mg/dL, high blood pressure arterial ($\geq 130/85$ mmHg) or high fasting glucose (≥ 100 mg/dL); or women with obesity (BMI ≥ 30 kg/m²), regardless of the presence of metabolic complications. The exclusion criteria included pregnancy, nursing mothers, or women in menopause; athletes; vegans; smokers; with a history of HIV, illness or digestive, liver, kidney, cardiovascular, thyroid, cancer, inflammatory diseases, and eating disorders; drug/alcohol abuse; aversion or allergy to nuts; infectious episode in the last month; use of anti-inflammatory drugs, corticosteroids, antibiotics and others that may affect energy appetite and metabolism; weight instability (5% of usual weight) in the last 3 months; usual consumption of nuts ≥ 30 g/day; alcohol consumption ≥ 21 units (168 g) per week; dental problems that interfere with chewing; consumption of vitamin, mineral, and omega 3 supplements. Between June 2019 and March 2020, the study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (WORLD MEDICAL ASSOCIATION et al., 2013) and was approved by the local ethics committee. The

clinical trial was registered at the Brazilian Registry of Clinical Trials – ReBEC (Identifier: RBR-3ntxrm).

2.2. Randomization

Randomization occurred after a one-week run-in period, when participants were instructed to maintain their usual activities and eating habits, but with restrictions to consume nuts, oleaginous seeds, dried fruit, cocoa, cinnamon, olive oil, and alcoholic beverages. The minimization method (ABRAMSON, 2011) stratified based on age, BMI, and body fat percentage, with three levels per factor, was performed to ensure a balanced distribution of potential factors that could interfere in the outcome variables, using the WinPepi software, version 11.65 (Copyright J.H. Abransom, Aug 23, 2016), by researches.

2.3 Dietary intervention and postprandial assessments

The participants were allocated to 1) Brazilian nut (BN) group, that received an energy-restricted meal plan (-500 kcal/day), containing 15 g of Brazil nuts and 30 g of cashew nuts; or to the 2) control group that received an energy-restricted nut-free meal plan (-500 kcal/day). The energy-restricted meal plans were prescribed according to the Acceptable Macronutrient Distribution Range (AMDR) (TRUMBO et al., 2002), under the supervision of a dietitian. Furthermore, participants of the control group received salad dressing based on soy oil and lemon (2:1 ratio, respectively) to consume two spoons twice a day (lunch and dinner) during the study, taught to substitute the high-monounsaturated fatty acid (MUFA) calories from nuts of BN group, with equivalent calories mainly from polyunsaturated fatty acid (PUFA) in their meals. Control participants were also advised not to consume any type of salad dressing or nuts. In the portions indicated for each group, the daily consumption of nuts or salad dressing did not provide additional calories because they were included within the -500 kcal/day energy-restricted diets.

To access the acute postprandial effect of BN consumption, the participants attend the laboratory at ~7 a.m. after an overnight fast. At the laboratory, participants received a

437-kcal nut-free (control) or nut-enriched (BN group) breakfast, consisting of a 400 mL of skimmed milk drink, to consume within ~10 min. The drinks were isocaloric, with similar content of macronutrients, and masked in color and flavor (**Supplementary Table 1**). Thus, the major difference between the drinks lies in the presence of BN. This made BN breakfast had a high content of MUFA, while the control showed a high content of PUFA due to the vegetable oil used to balance the energetic content of fats.

2.4 Data collection

2.4.1 Anthropometric measurements and body composition

Fasting body weight and body composition were assessed in light clothing without shoes, using a bioelectrical impedance analysis device (Inbody 230, Biospace Corp., Seoul, Korea). Height was measured on a stadiometer (Seca, model 206, Hamburg, Germany) at baseline. BMI was calculated by weight (kg)/height (m²). Waist circumference was measured to the nearest 0.1 cm at the end of normal expiration at the umbilical waist (horizontal at the umbilicus) using a non-stretchable tape measure with participants in a standing position.

2.4.2 Blood pressure

Systolic and diastolic blood pressure was measured on the right and left arm using an automatic arm monitor (Omron Healthcare, Inc., model HEM 7200, USA), with an accuracy of 03 mmHg, following the protocol proposed by the manufacturer. The means of the two values were used to calculate the blood pressure.

2.4.3 Blood sampling and analysis

Blood collection occurred in a fasting state (T0) and 240 min (T4) after consuming a nut-free (control) or nut-enriched (BN group) breakfast, consisting of 400 mL of skimmed milk drink, to consume within ~10 min. The blood samples were centrifugated (1500 g, 15 min, 4°C), aliquoted, and stored at -80°C until analysis.

Fasting serum triglycerides and plasma glucose concentrations were analyzed in an autoanalyzer (BS-200 Mindray® Chemistry Analyzer, Nanshan, China) following the

methodology of the Bioclin® commercial kits (Quibasa - Química Básica Ltda). Plasma concentrations of adiponectin, resistin, and PAI-1 were determined using a customized xMAP based multiplex assay (Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1, cat. no. HADK1MAG-61K, Millipore), according to information from the manufacturer. The assay was run on the MAGPIX® instrument (Luminex Corporation, Texas, USA). Results were analyzed using the Milliplex Analyst program (MilliporeSigma) and represented in pg/mL. The plasma concentrations of the cytokines interleukins (IL): IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, and tumor necrosis factor (TNF) were measured using Cytometric Bead Array (CBA) (BD Biosciences, EUA) according to the manufacturer's instructions. Flow cytometry analysis was performed using a BD FACSVerse™ flow cytometer (BD Biosciences, EUA). The data were analyzed using FCAP Array Software v3.0 (BD Biosciences, EUA) and reported in pg/mL. High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) was determined with an Olympus AU5200 analyzer (Olympus Diagnostic Systems, Tokyo, Japan) by turbidimetry. Serum cortisol concentration was performed using electrochemiluminescence immunoassay (Beckman Coulter DXI, Inc. USA).

2.5 Statistical analyses and Sample calculation

Data are reported as means $\pm$ SEMs or median (95% CI). Multilevel Multiple Imputation of missing data was performed for repeated analyses of adiponectin, resistin, PAI-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, and tumor necrosis factor (TNF), using the mice package in R (BUUREN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, 2011, 2021). Student's t-test or Mann-Whitney test was performed to test differences between groups over absolute values or delta (Δ) values, calculated as change of values after 8-week intervention (Postintervention – Preintervention difference). Paired t-test or Wilcoxon signed-rank test were used to assess within-group differences. A three-way mixed analysis of variance (2 x 2 x 2), with inflammatory markers as the dependent variable, group (control vs. BN group) as the between-subject factor, and postprandial time measurement (T0 vs. T4), and time (pre- vs. postintervention) as within-subject factors was applied to assess the effect of group, postprandial response, and time (pre-post measurements) on the inflammatory response. For all statistical analyses, the

significance level was set at $\alpha = 5\%$ and were conducted using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc. version 26.0).

We calculated the sample size required to detect a mean difference of body weight (primary outcome) of 4 kg between two groups with α set at 0.05 and β set at 0.15 (power at 95%). Calculating a 30% drop-out rate, a minimum of eleven women for each group were required (MERA; THOMPSON; PRASAD, 1998).

Results

From the 40 women randomized to control and BN group (1:1), eleven did not continue with the trial due to personal reasons ($n = 4$), reported unintended side effects ($n = 2$), and non-compliance ($n = 1$). Therefore, there were 15 participants in the control group, and 14 in the BN group (**Figure 1**). The main characteristics of study participants are shown in **Table 1**, and no significant between-group differences in baseline characteristics, biochemical and clinical characteristics were detected ($p > 0.05$).

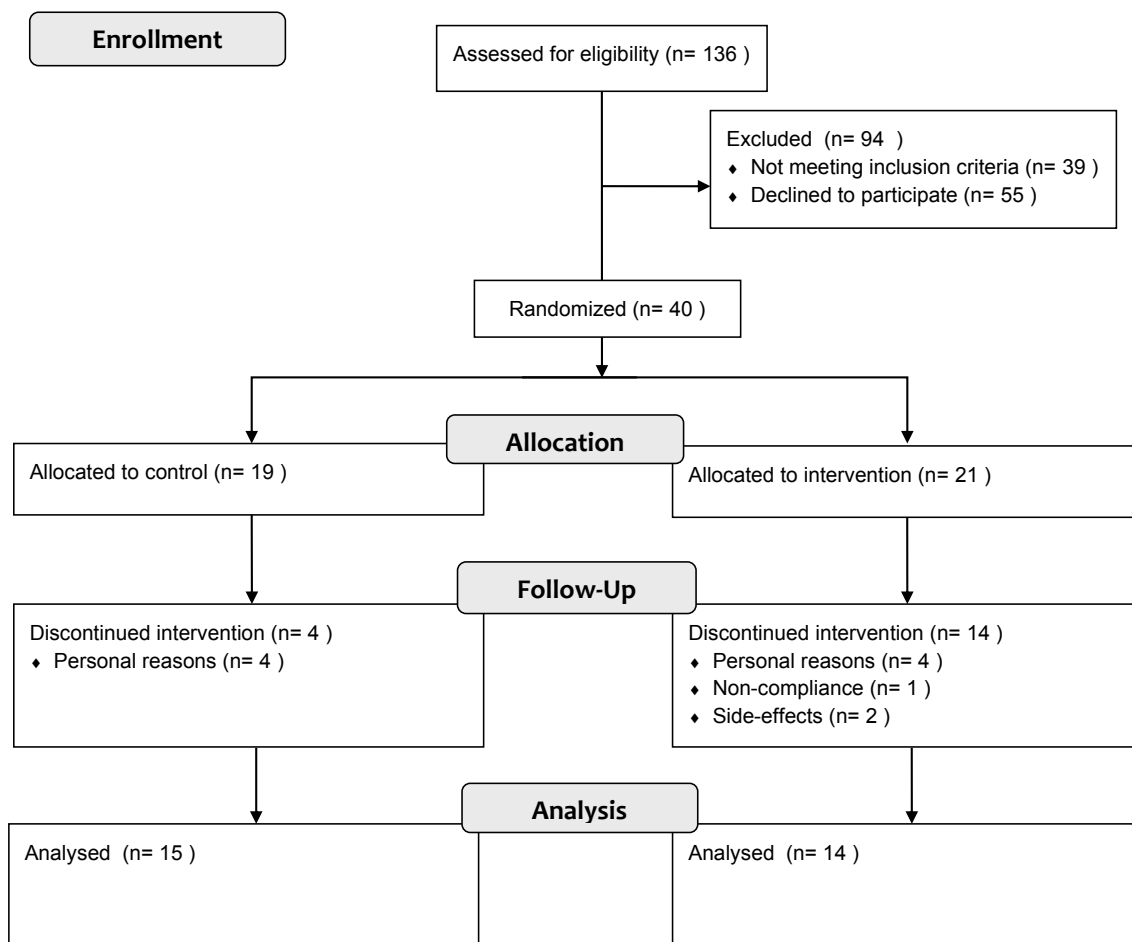


Figure 1. CONSORT flow diagram of the process through the phases of intervention.

Table 1. Baseline characteristics of participants.

Characteristics	Participants (n = 28)	Control group (n= 15)	BN group (n= 14)	<i>p</i>
Age (years)	31.5 ± 1.7	31.6 ± 2.1	31.3 ± 2.7	0.72
Male/Female (n)	0/28	0/15	0/14	-
Body weight (kg)	89.2 ± 2.7	88.0 ± 4.0	90.5 ± 3.8	0.68
BMI (kg/m ²)	33.4 ± 0.8	33.0 ± 1.0	33.9 ± 1.2	0.81
Waist circumference (cm)	107.8 ± 2.0	107.8 ± 3.0	107.8 ± 1.8	0.80
Body fat (%)	44.6 ± 1.0	44.1 ± 1.4	45.2 ± 1.4	0.59
Triglycerides (mg/dL)	119.2 ± 15.4	128.5 ± 26.8	109.3 ± 14.4	0.62
Fasting blood glucose (mg/dL)	95.9 ± 1.8	97.7 ± 2.5	94.0 ± 2.5	0.48
SBP (mmHg)	115.9 ± 1.7	114.9 ± 2.2	117.2 ± 2.6	0.50
DBP (mmHg)	77.8 ± 1.2	78.2 ± 1.6	77.3 ± 1.9	0.73

Data expressed as frequency (n) or mean ± SEM. P-value for differences between groups, tested with Student's t-test.

SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

After 8-week intervention, both BN and control groups showed significant body weight loss (mean ± SEM in kg: -3.5 ± 0.6 and -1.8 ± 0.7, respectively), but without difference between BN and control group.

There were no significant changes in fasting concentrations among all groups regarding inflammatory markers, except cortisol. Cortisol increased after 8-week intervention in the control group, and the change from baseline was significantly greater than in BN group (**Table 2**).

IL-6 showed postprandial time*group interaction ($p = 0.03$) and postprandial time ($p = 0.03$) effect. Post hoc testing was conducted to compare differences in postprandial time measurements for each group, separately by pre- and postintervention. The post hoc analysis demonstrated that postprandial IL-6 at 240 min was greater in the control group than in the BN group. Also, there was a postprandial increase of IL-6

concentrations from 0 to 240 min in the control group, after 8-week intervention (**Figure 2**).

Table 2. Baseline values (preintervention), postintervention, and change (Δ) after 8-weeks of outcome fasting inflammatory measures in control and BN groups.

	Variables	Preintervention	Postintervention	p	Δ (Postintervention - Preintervention)
Control group (n= 15)	IL-1 β (pg/mL)	5.55 $\pm$ 0.68	5.83 $\pm$ 0.80	0.78	0.28 $\pm$ 1.00
BN group (n = 14)		7.55 $\pm$ 1.97	5.51 $\pm$ 0.52	0.97	-2.04 $\pm$ 2.06
p-values		0.81	0.91	-	0.95
Control group (n= 15)	IL-6 (pg/mL)	9.76 $\pm$ 2.26	6.18 $\pm$ 1.17	0.08	-3.57 $\pm$ 2.40
BN group (n = 14)		7.97 $\pm$ 2.21	5.98 $\pm$ 1.31	0.64	-1.99 $\pm$ 2.86
p-values		0.45	0.91	-	0.59
Control group (n= 15)	IL-8 (pg/mL)	17.78 $\pm$ 2.22	18.87 $\pm$ 3.40	0.69	1.09 $\pm$ 4.90
BN group (n = 14)		18.05 $\pm$ 2.10	15.97 $\pm$ 2.35	0.31	-2.08 $\pm$ 2.39
p		0.91	0.68	-	0.88
Control group (n= 15)	IL-10 (pg/mL)	0.83 $\pm$ 0.17	2.01 $\pm$ 0.63	0.06	1.18 $\pm$ 0.65
BN group (n = 14)		1.30 $\pm$ 0.49	1.07 $\pm$ 0.27	0.64	-0.23 $\pm$ 0.40
p-values		0.51	0.16	-	0.09
Control group (n= 15)	IL-17A (pg/mL)	7.16 $\pm$ 1.57	9.78 $\pm$ 1.73	0.31	2.63 $\pm$ 2.67
BN group (n = 14)		7.38 $\pm$ 0.99	8.23 $\pm$ 1.59	0.97	0.85 $\pm$ 1.73
p-values		0.65	0.51	-	0.38
Control group (n= 15)	TNF (pg/mL)	4.73 $\pm$ 1.42	3.56 $\pm$ 1.64	0.40	-1.17 $\pm$ 1.23
BN group (n = 14)		7.30 $\pm$ 2.43	2.87 $\pm$ 0.91	0.05	-4.43 $\pm$ 2.40
p-values		0.29	0.40	-	0.27
Control group (n= 15)	Adiponectin (pg/mL)	1721591 $\pm$ 1002896	902798 $\pm$ 421315	0.19	-818793 $\pm$ 630427
BN group (n = 14)		629635 $\pm$ 23272	371119 $\pm$ 168829	0.60	-258516 $\pm$ 171990
p-values		0.75	0.81	-	0.35

	Variables	Preintervention	Postintervention	p	Δ (Postintervention - Preintervention)
Control group (n= 15)	Resistin (pg/mL)	7023.4 $\pm$ 767.22	8100 $\pm$ 1139	0.23	1077 $\pm$ 796
BN group (n = 14)		8047 $\pm$ 880	7214 $\pm$ 891	0.68	-833 $\pm$ 897
p-values		0.19	1.00	-	0.27
Control group (n= 15)	PAI-1 (pg/mL)	5830 $\pm$ 613	5747 $\pm$ 724	0.95	-82.97 $\pm$ 632.42
BN group (n = 14)		5429 $\pm$ 400	5502 $\pm$ 517	0.88	73.21 $\pm$ 428.38
p-values		0.91	0.88	-	0.91
Control group (n= 15)	Cortisol (μ g/dL)	10.97 $\pm$ 0.98	13.22 $\pm$ 1.48	0.04	2.25 $\pm$ 1.05
BN group (n = 14)		12.76 $\pm$ 1.40	11.23 $\pm$ 1.24	0.08	-1.52 $\pm$ 0.78
p-values		0.38	0.53	-	0.01
Control group (n= 15)	hs-CRP (mg/L)	5.1 $\pm$ 0.9	5.23 $\pm$ 0.9	0.90	0.1 $\pm$ 0.8
BN group (n = 14)		4.5 $\pm$ 0.8	3.4 $\pm$ 0.4	0.22	-0.6 $\pm$ 0.5
p-values		0.59	0.06	-	0.45

BN: Brazilian nut; PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1;CRP: C-reactive protein ;TNF: tumor necrosis factor.

Data expressed as mean $\pm$ SEM. P-value for differences between independent continuous variables, tested with Student's t-test, and paired t test, for differences between dependent variables.

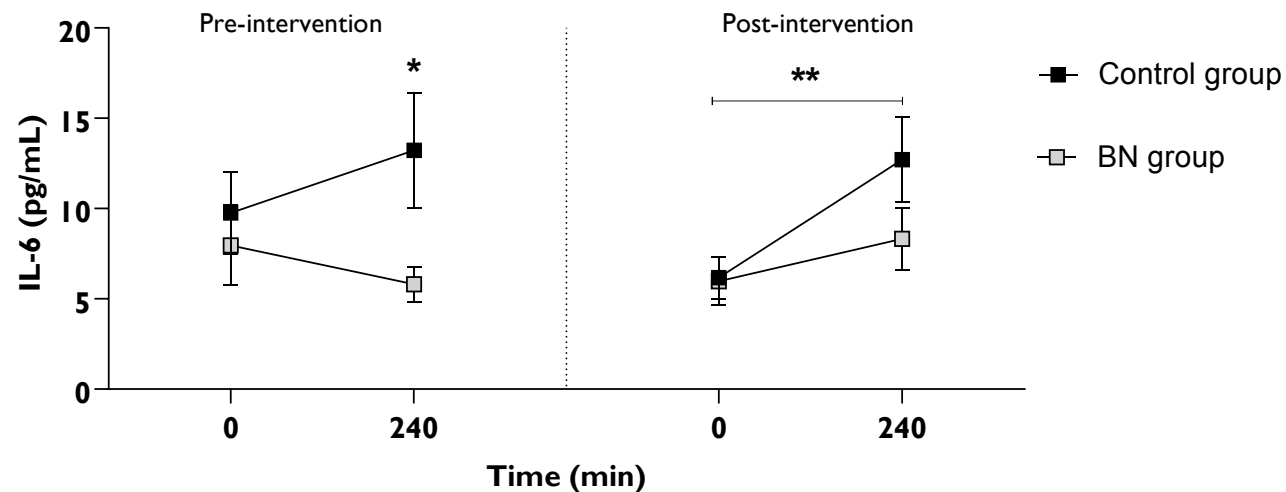


Figure 2. Postprandial inflammatory response for IL-6 in pg/mL, for control (n= 14) and BN groups (n= 14), at baseline (preintervention), and after 8-weeks (postintervention).

Data are expressed as means $\pm$ SEM. p (post-prandial time * group) = 0.03 and p (post-prandial time) = 0.03 for the three-way mixed analysis of variance test. $p < 0.05$ for the pos hoc t-tests for differences between BN and control group at 240 min (*), and for paired t test between 0 and 240 min, for control group only (**).

Discussion

In this study, BN consumption only showed a modest effect on inflammatory markers. At baseline, IL-6 postprandial concentrations (at 240 min) were higher in the control group than in the BN group, but with no difference at fasting concentrations. However, after 8-week of weight loss program, we observed that the postprandial inflammatory response was modified. The postprandial IL-6 plasma concentrations increased in control group, but not in BN group. This result suggest that regular BN consumption positively effects on inflammatory response, preventing its postprandial increase.

Findings of previous studies indicated that the high fat meal led to the increased IL-6 concentrations, with a peak generally between 2 and 4 hours (ERRIDGE et al., 2007; PAYETTE et al., 2009; ROCHA et al., 2017). It's known that postprandial inflammation is linked to a complex and multifactorial (neuro)endocrine and metabolic response, that can be influenced by different nutrients (MEESSEN et al., 2019). But the effect of the type of dietary fat on postprandial inflammation is not yet clearly defined. While the consumption of high-fat diet (HFD), mainly from saturated fatty acids (SFA), upregulated the expression of inflammatory receptors and drive postprandial inflammatory signaling, increasing plasma lipopolysaccharides (LPS), IL-6, and TNF concentrations (MEESSEN et al., 2019; ROCHA et al., 2016). The consumption of MUFA and PUFA could lead to a less inflammatory response. However, regarding MUFA and PUFA, is not so clear whether any of them has superior anti-inflammatory effect (CÂNDIDO et al., 2018; COELHO et al., 2017; MONFORT-PIRES et al., 2018; ROCHA; BRESSAN; HERMSDORFF, 2017b).

The anti-inflammatory and antioxidant properties attributed to nuts, reported in vitro and in vivo studies, are related to their MUFA content. The mechanisms of MUFA anti-inflammatory effects seems to be related to inhibition of the transcription factor nuclear factor- κ B (NF- κ B) and NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrine domain containing 3) activation through binding to Gprotein coupled receptor 120 (GPR120) or PPARs (peroxysome proliferator-activated receptors), and AMPK (AMP-activated protein kinase) phospoliration (RAVAUT et al., 2021). Besides, MUFA inhibits arachidonic acid

peroxidation, and LDL oxidation (SILVEIRA et al., 2020). Also, nuts are source of tocopherols and phenolic compounds that could modulate inflammatory and oxidative pathways (GERVASI et al., 2021). However, the results are still controversial, mainly due to the difference between the nut type, dose, and population characteristics.

In our study, to contrast with the control, the nut-enriched drink (BN group) served has a high-MUFA content, while the nut-free drink (control) has a high-PUFA content. Thus, the modest effect found may be related to the similar anti-inflammatory effect of both fats. Besides, it has been suggested that weight loss could reduce postprandial inflammatory responses (CHIU et al., 2013; PLAT et al., 2007). Nevertheless, the consumption of 45 g of BN, for 8 weeks, promoted a significant weight loss (~ 4%), but similar between control group ($p > 0.05$). Thus, despite the moderate weight loss (~ 5%) had improvements in metabolic function in many tissues, including fat, liver, and muscle, larger weight losses (> 10%) appears to be required to promote important benefits in circulating inflammatory markers in obese subjects (CHRISTIANSEN et al., 2010; FORSYTHE; WALLACE; LIVINGSTONE, 2008; MAGKOS et al., 2016). This could explain the lack of more pronounced effects on other inflammatory markers.

In this sense, a meta-analysis focusing on nut consumption on inflammatory markers suggests no significant effects on inflammatory biomarkers CRP, TNF, IL-6, ICAM-1, VCAM-1 or the anti-inflammatory biomarker adiponectin (NEALE et al., 2017b). However, the authors suggest that the lack of effect found may be due to the lack of consistency observed between studies. Thus, there is a need to improve randomized controlled clinical trials that incorporate the consumption of nuts into the calories consumed in the diet; transparency in the registration of study protocols; and adequate control groups for comparison to minimize the effects of confounding factors.

Regarding the consumption of Brazilian nuts, few clinical trials have evaluated the effect on inflammation. For eight weeks, one Brazil nut supplementation in obese women resulted in increased gene expression of proteins involved with proinflammatory pathways without promoting significant changes in plasma concentrations of inflammatory biomarkers (DUARTE et al., 2019). On the other hand,

in hemodialysis patients, supplementation of one Brazil nut per day, during 3 months, effectively decreased pro-inflammatory plasma markers such as IL-6 and TNF (STOCKLER-PINTO et al., 2014b). In healthy subjects, the acute consumption of Brazil nuts (20 or 50g) has already been shown to reduce pro-inflammatory markers (IL-1, IL-6, TNF, and IFN- γ) and increase the anti-inflammatory cytokine IL-10, in long-term (COLPO et al., 2014).

Also, the present study showed that BN consumption in association with a weight loss program, reduced serum cortisol concentration in comparison to control group. Cortisol is a glucocorticoid synthesized in the adrenal cortex, known as a stress hormone, involved in the response to physical and/or emotional stress. Cortisol participates in homeostatic maintenance of immune system and has anti-inflammatory properties (KATSU; IGUCHI, 2016), related to NF- κ B signaling and phosphorylation of mitogen-activated protein kinases (MAPK) suppression, which in turn could result in the attenuated pro-inflammatory responses of cytokines, such as TNF, IL-1 β , IL-6, and IL-8 (CASTRO et al., 2011; DONG et al., 2018). The transient increase in IL-6 concentrations, on the other hand, induces an anti-inflammatory rather than a pro-inflammatory response, enhancing IL-10 concentrations and stimulating cortisol release (STOCKLER-PINTO et al., 2015). Thus, we believe that the transient increase in postprandial IL-6 could explain increased cortisol in the control group.

Our study has several strengths and limitations that should be mentioned. First, we conducted a randomized controlled feeding trial design, with a real-world energy-restricted intervention and an appropriate control group, which was balanced with the test group in terms of age, anthropometric, body composition, metabolic markers, and eating behaviors. Limitations, on the other hand, regard the study population that was conducted with women at cardiometabolic risk; therefore, it may present results that cannot be applied to other populations. Also, the study was not blinded and showed high percentage of follow-up loss.

Conclusion

After an 8-week intervention with an energy-restricted diet, we observed that IL-6 post-prandial concentrations and fasting cortisol increased, in control group but no change was observed in BN group. These results indicate that BN consumption associated with an energy-restricted diet could modestly modulate the inflammatory response, preventing the increased of pro-inflammatory response of IL-6, in overweight women at cardiometabolic risk. However, more studies are needed to investigate the mechanisms involved.

Acknowledgments

We thank all investigators, coordinators, and participants who took part in this study. Embrapa Agroindustria Tropical - Fortaleza – Ceará, and Inovam Brasil® provided the feedstock to carry out the study (cashew nuts and Brazil nuts, respectively). Bioclin (Quibasa - Química Básica Ltda), through the project Projeto Brasil Escola, provide supplies for the biochemical dosages necessary to characterize the biochemical profile of the study participants.

Funding statement

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq), and Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – Brasil (FAPEMIG). LLO, JB, and HHMH are CNPq fellowship in Research Productivity.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Supplementary Table 1. Nutritional composition of control and test drinks of the postprandial test.

Drink	Ingredients	Quantity (g)	Energy (kcal)	PTN (g)	LIP (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	CHO (g)	Fiber (g)	Available CHO (g)
Nut-free drink (control)	Water	300.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Skim powder milk	40.00	143.73	13.88	0.37	0.24	0.08	-	21.22	-	21.22
	Soybean oil	22.70	204.30	-	22.70	3.45	5.28	13.62	-	-	-
	Sugar	10.00	39.97	0.03	-	-	-	-	9.96	-	9.96
	Whey protein concentrate	7.00	27.53	4.20	0.47	0.30	0.07	-	1.63	-	1.63
	Corn starch	6.00	21.49	0.04	0.05	-	-	-	5.23	0.04	5.18
	Synthetic hazelnut essence (drops)	4.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Food coloring (drops)	4.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL		385.70	437.03	18.14	23.59	3.99	5.43	13.62	38.04	0.04	37.99
Nut- enriched drink (test)	Water	300.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cashew nut	30.00	182.13	5.55	13.88	2.74	8.19	2.35	8.74	1.10	7.64
	Skim powdered milk	30.00	107.80	10.41	0.28	0.18	0.06	-	15.91	-	15.91
	Brazil nut	15.00	103.44	2.18	9.52	2.29	4.11	3.15	2.26	1.19	1.07
	Sugar	11.00	43.97	0.04	-	-	-	-	10.96	-	10.96
TOTAL		386.00	437.34	18.18	23.68	5.21	12.36	5.50	37.87	2.29	35.58

PTN: protein. LIP: lipids. CHO: carbohydrate. SFA: saturated fatty acid. MUFA monounsaturated fatty acid. PUFA: polyunsaturated fatty acid.

References

ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. **ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica**, 2016.

ABRAMSON, J. H. WINPEPI updated: Computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. **Epidemiologic Perspectives and Innovations**, v. 8, n. 1, p. 1, 2011.

AFSHIN, A. et al. Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 278–288, 2014.

AGGARWAL, B. B. Nuclear factor- κ B. **Cancer Cell**, v. 6, n. 3, p. 203–208, set. 2004.

AKHLAGHI, M. et al. Effect of nuts on energy intake, hunger, and fullness, a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 84–93, 2020.

ALHABEED, H. et al. Gut hormones in health and obesity: The upcoming role of short chain fatty acids. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 1–20, 2021.

APOVIAN, C. M. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. **The American journal of managed care**, v. 22, n. 7, p. s176–s185, 2016.

ARNOLD, M. et al. Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: A population-based study. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 1, p. 36–46, jan. 2015.

AUGUSTIN, L. S. A. et al. Nutrition , Metabolism & Cardiovascular Diseases Glycemic index , glycemic load and glycemic response : An International Scientific Consensus Summit from the International Carbohydrate Quality Consortium (ICQC) *. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 25, n. 9, p. 795–815, 2015.

AUNE, D. et al. Nut consumption and risk of cardiovascular disease, total cancer, all-

cause and cause-specific mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **BMC Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1–14, 2016.

AUSTIN, J.; MARKS, D. Hormonal Regulators of Appetite. **International Journal of Pediatric Endocrinology**, v. 2009, p. 1–9, 2009.

BAER, D. J.; NOVOTNY, J. A. Consumption of cashew nuts does not influence blood lipids or other markers of cardiovascular disease in humans: A randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 109, n. 2, p. 269–275, 2019.

BAO, J. et al. Prediction of postprandial glycemia and insulinemia in lean, young, healthy adults: Glycemic load compared with carbohydrate content alone. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, n. 5, p. 984–996, 2011.

BARUFALDI, L. A. et al. Programa para registro de recordatório alimentar de 24 horas: Aplicação no Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 2, p. 464–468, jun. 2016.

BECERRA-TOMÁS, N. et al. Nut consumption and incidence of cardiovascular diseases and cardiovascular disease mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Nutrition Reviews**, v. 77, n. 10, p. 691–709, 2019.

BELL, J. A.; KIVIMAKI, M.; HAMER, M. Metabolically healthy obesity and risk of incident type 2 diabetes: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Obesity Reviews**, v. 15, n. 6, p. 504–515, 2014.

BHUPATHIRAJU, S. N.; HU, F. B. Epidemiology of obesity and diabetes and their cardiovascular complications. **Circulation Research**, v. 118, n. 11, p. 1723–1735, 2016.

BLAAK, E. E. et al. Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 10, p. 923–984, 2012.

BOWEN, K. J. et al. Oleic acid-derived oleoylethanolamide: A nutritional science perspective. **Progress in Lipid Research**, v. 67, p. 1–15, 2017.

BRAND-MILLER, J. C. et al. Glycemic index and obesity 1 – 4. v. 76, p. 281–285, 2006.

BRASIL. Vigitel Brasil 2006: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa**, p. 92, 2007.

BRASIL. Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 12 de dezembro de 2012. **Diário Oficial da União**, v. 12, n. 1, p. 59, 2012.

BRASIL. Vigitel Brasil 2019 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados. 2020.

BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M. A epidemia da obesidade: a causa, o tratamento e o ambiente. In: MOREIRA, E. A. M.; CHIARELLO, P. G. (Eds.). . **Atenção Nutricional: abordagem dietoterápica em adulto**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 75–97.

BUUREN, S. VAN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. mice : Multivariate Imputation by Chained Equations in R. **Journal of Statistical Software**, v. 45, n. 3, p. 1–67, 2011.

BUUREN, S. VAN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. **Package ‘mice’**CRAN, , 2021.

CÂNDIDO, F. G. et al. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 125–143, fev. 2018.

CAPPELLERI, J. C. et al. Psychometric analysis of the Three-Factor Eating Questionnaire-R21: results from a large diverse sample of obese and non-obese participants. **International Journal of Obesity**, v. 33, n. 6, p. 611–620, jun. 2009.

CARDOSO, B. R. et al. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**, v. 100, n. March, p. 9–18, 2017.

CARRARO, J. C. C. et al. Interleukin-6 is a better metabolic biomarker than interleukin-18 in young healthy adults. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 71, n. 3, p. 527–535, 2015.

CASAS-AGUSTENCH, P. et al. Acute effects of three high-fat meals with different fat saturations on energy expenditure, substrate oxidation and satiety. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 1, p. 39–45, 2009.

CASAS-AGUSTENCH, P.; BULLÓ, M.; SALAS-SALVADÓ, J. Nuts, inflammation and insulin resistance. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 124–130, 2010.

CASAS, R. et al. Long-term immunomodulatory effects of a mediterranean diet in adults at high risk of cardiovascular disease in the prevención con dieta mediterránea (predimed) randomized controlled trial. **Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1684–1693, 2016.

CASTRO, R. et al. Cortisol modulates the induction of inflammatory gene expression in a rainbow trout macrophage cell line. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 30, n. 1, p. 215–223, 2011.

CDC. CDC National Health Report : Leading Causes of Morbidity and Mortality and Associated Behavioral Risk and Protective Factors — United States , 2005 – 2013. v. 63, n. 4, p. 2005–2013, 2014.

CHAPUT, J. P. et al. Comparison of 150-mm versus 100-mm visual analogue scales in free living adult subjects. **Appetite**, v. 54, n. 3, p. 583–586, 2010.

CHIU, C. et al. THE POTENTIAL WAYS FOR PREVENTING POSTPRANDIAL INFLAMMATION – A REVIEW Pro-inflammatory. **CURRENT TOPICS IN NUTRACEUTICAL RESEARCH**, v. 11, n. 4, p. 129–136, 2013.

CHOE, S. S. et al. Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders. **Frontiers in Endocrinology**, v. 7, n. APR, p. 1–16, 2016.

CHRISTIANSEN, T. et al. Exercise training versus diet-induced weight-loss on

metabolic risk factors and inflammatory markers in obese subjects: A 12-week randomized intervention study. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 298, n. 4, p. 824–831, 2010.

CISNEROS, L. C. V. et al. Effect of the fatty acid composition of meals on postprandial energy expenditure: A systematic review. **Revista da Associacao Medica Brasileira**, v. 68, n. 7, p. 1022–1031, jul. 2019.

COELHO, O. G. L. et al. Polyunsaturated fatty acids and type 2 diabetes: Impact on the glycemic control mechanism. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 17, p. 3614–3619, 2017.

COLPO, E. et al. Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. **Nutrition**, v. 30, n. 4, p. 459–465, 2014.

CORLATTI, L.; FATTORINI, L.; NELLI, L. The use of block counts, mark-resight and distance sampling to estimate population size of a mountain-dwelling ungulate. **Population Ecology**, v. 57, n. 2, p. 409–419, dez. 2015.

DA SILVA, A. et al. High-saturated fatty meals with orange juice intake have subjective appetite sensations suppressed: Acute, postprandial study. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 92, n. 2, p. 1–10, 2020.

DAMAVANDI, R. D. et al. Effects of daily consumption of cashews on oxidative stress and atherogenic indices in patients with type 2 diabetes: A randomized, controlled-feeding trial. **International Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 17, n. 1, p. e70744, jan. 2019.

DE ALMEIDA, A. P. et al. Personalized Nutrition Using PROCARDIO to Reduce Cardiometabolic Risk in the Academic Community: A Study Protocol with Preliminary Results. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 39, n. 7, p. 591–600, 2020.

DE PAIVA, J. R.; DE BARROS, L. M.; CAVALCANTI, J. J. V. Cashew (*Anacardium occidentale* L.) breeding: A global perspective. **Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species**, p. 287–324, 2009.

DE SOUZA, R. J. et al. Association of nut intake with risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 16 countries from 5 continents: Analysis from the Prospective Urban and Rural Epidemiology (PURE) study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 112, n. 1, p. 208–219, 2020.

DEMARCO, V. G.; AROOR, A. R.; SOWERS, J. R. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, n. 6, p. 364–376, 2014.

DENDENA, B.; CORSI, S. Cashew, from seed to market: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 4, p. 753–772, 2014.

DI ANGELANTONIO, E. et al. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. **The Lancet**, v. 388, n. 10046, p. 776–786, ago. 2016.

DIETZ, W. H. et al. Management of obesity: Improvement of health-care training and systems for prevention and care. **The Lancet**, v. 385, n. 9986, p. 2521–2533, 2015.

DOMINGUETI, C. P. et al. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 30, n. 4, p. 738–745, 2016.

DONADIO, J. L. S. et al. SEPP1 polymorphisms modulate serum glucose and lipid response to Brazil nut supplementation. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 5, p. 1873–1882, 2018.

DONG, J. et al. Cortisol modulates inflammatory responses in LPS-stimulated RAW264.7 cells via the NF-KB and MAPK pathways. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2018.

DREWNOWSKI, A. Energy Density, Palatability, and Satiety: Implications for Weight Control. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 12, p. 347–353, 2009.

DU, H. et al. Dietary energy density in relation to subsequent changes of weight and waist circumference in European men and women. **PLoS ONE**, v. 4, n. 4, p. e5339,

abr. 2009.

DU, Y. et al. Association of body mass index (BMI) with critical COVID-19 and in-hospital mortality: A dose-response meta-analysis. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 117, p. 154373, 2021.

DUARTE, G. B. S. et al. Consumption of Brazil nuts with high selenium levels increased inflammation biomarkers in obese women: A randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 63–64, p. 162–168, 2019.

ECKEL, N. et al. Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 23, n. 9, p. 956–966, 2015.

ENGIN, A. Endothelial Dysfunction in Obesity. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 960, p. 345–379, 2017.

ERRIDGE, C. et al. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: Evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, n. 5, p. 1286–1292, 2007.

ESLAMI, O.; SHIDFAR, F.; DEHNAD, A. Inverse association of long-term nut consumption with weight gain and risk of overweight/obesity: a systematic review. **Nutrition Research**, v. 68, p. 1–8, 2019.

FAO. **FAOSTAT**.

FDA. Guidance for Industry: Evidence-Based Review System for the Scientific Evaluation of Health Claims. **Biotechnology Law Report**, v. 28, n. 2, p. 241–258, abr. 2009.

FLINT, A. et al. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. **International Journal of Obesity**, v. 24, n. 1, p. 38–48, jan. 2000.

FORSYTHE, L. K.; WALLACE, J. M. W.; LIVINGSTONE, M. B. E. Obesity and

inflammation: The effects of weight loss. **Nutrition Research Reviews**, v. 21, n. 2, p. 117–133, 2008.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, 1972.

GARAULET, M.; GÓMEZ-ABELLÁN, P. Timing of food intake and obesity: A novel association. **Physiology and Behavior**, v. 134, n. C, p. 44–50, 2014.

GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS*. High body-mass index - Level 2 risk. **The Lancet**, v. 396, p. 2019–2020, 2020.

GBD 2019 RISK FACTORS COLLABORATORS. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **Lancet (London, England)**, v. 396, n. 10258, p. 1223–1249, out. 2020.

GELONEZE, B.; LAMOUNIER, R. N.; COELHO, O. R. Postprandial hyperglycemia: Treating its atherogenic potential. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 5, p. 660–670, 2006.

GERVASI, T. et al. Health benefits related to tree nut consumption and their bioactive compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, 2021.

GODWIN, N. et al. Mixed nuts may promote satiety while maintaining stable blood glucose and insulin in healthy, obese, and overweight adults in a two-arm randomized controlled trial. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 4, p. 427–432, 2019.

GOMES DOMINGOS, A. L.; HERMSDORFF, H. H. M.; BRESSAN, J. Melatonin intake and potential chronobiological effects on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8398, n. August, p. 1–8, 2017.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. **Annual Review of Immunology**, v. 29, n. 1, p. 415–445, abr. 2011.

GUERRERO-ROMERO, F. et al. The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 95, n. 7, p. 3347–3351, jul. 2010.

HERMSDORFF, H. H. et al. Impact of caloric restriction and Mediterranean food-based diets on inflammation accompanying obesity and metabolic syndrome features. **Obesity and Metabolism**, v. 5, p. 69–77, 2009a.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. Discriminated benefits of a Mediterranean dietary pattern within a hypocaloric diet program on plasma RBP4 concentrations and other inflammatory markers in obese subjects. **Endocrine**, 2009b.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. Association of retinol-binding protein-4 with dietary selenium intake and other lifestyle features in young healthy women. **Nutrition**, v. 25, n. 4, p. 392–399, 2009c.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. Dietary total antioxidant capacity is inversely related to central adiposity as well as to metabolic and oxidative stress markers in healthy young adults. **Nutrition and Metabolism**, v. 8, n. 1, p. 59, 2011a.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. A legume-based hypocaloric diet reduces proinflammatory status and improves metabolic features in overweight/obese subjects. **European Journal of Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 61–69, fev. 2011b.

HILLEBRAND, J. J. G.; DE WIED, D.; ADAN, R. A. H. Neuropeptides, food intake and body weight regulation: A hypothalamic focus. **Peptides**, v. 23, n. 12, p. 2283–2306, 2002.

HRUBY, A.; HU, F. B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. **PharmacoEconomics**, v. 33, n. 7, p. 673–689, 2015.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA; COORDENAÇÃO DE TRABALHO E RENDIMENTO. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: 2008-2009. Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil**. [s.l.:

s.n.].

ISLAMI, F. et al. Proportion of Cancer Cases Attributable to Excess Body Weight by US State, 2011-2015. **JAMA Oncology**, v. 5, n. 3, p. 384–392, mar. 2019.

JACKSON, C. L.; HU, F. B. Long-term associations of nut consumption with body weight. v. 100, p. 408–411, 2014.

JOSEPH, J. Selenium and cardiometabolic health: Inconclusive yet intriguing evidence. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 346, n. 3, p. 216–220, 2013.

JUNG, U.; CHOI, M.-S. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 4, p. 6184–6223, 2014.

KATSU, Y.; IGUCHI, T. Cortisol. In: **Handbook of Hormones**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 533-e95D-2.

KENDALL, C. W. C. et al. Acute effects of pistachio consumption on glucose and insulin, satiety hormones and endothelial function in the metabolic syndrome. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 370–375, 2014.

KHAN, S. S. et al. Association of body mass index with lifetime risk of cardiovascular disease and compression of morbidity. **JAMA Cardiology**, v. 3, n. 4, p. 280–287, abr. 2018.

KIM, J.; LEE, I.; LIM, S. Overweight or obesity in children aged 0 to 6 and the risk of adult metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Nursing**, v. 26, n. 23–24, p. 3869–3880, 2017.

KIM, Y.; KEOGH, J. B.; CLIFTON, P. M. Benefits of nut consumption on insulin resistance and cardiovascular risk factors: Multiple potential mechanisms of actions. **Nutrients**, v. 9, n. 11, p. 1271, nov. 2017.

KRISHNAN, S.; COOPER, J. A. Effect of dietary fatty acid composition on substrate

utilization and body weight maintenance in humans. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 691–710, 2014.

KVIETYS, P. R.; GRANGER, D. N. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 3, p. 556–592, fev. 2012.

LEAN, M. E. J.; MALKOVA, D. Altered gut and adipose tissue hormones in overweight and obese individuals: cause or consequence? **International Journal of Obesity**, v. 40, n. 4, p. 622–632, 26 abr. 2016.

LEE, E. B.; MATTSON, M. P. The neuropathology of obesity: Insights from human disease. **Acta Neuropathologica**, v. 127, n. 1, p. 3–28, jan. 2014.

LI, H. et al. Nut consumption and risk of metabolic syndrome and overweight/obesity: A meta-analysis of prospective cohort studies and randomized trials. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 46, dez. 2018.

LIU, X. et al. Changes in nut consumption influence long-term weight change in US men and women. **BMJ Nutrition, Prevention & Health**, v. 2, n. 2, p. 90–99, dez. 2019.

LUO, C. et al. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 256–269, jul. 2014.

MAGKOS, F. et al. Effects of Moderate and Subsequent Progressive Weight Loss on Metabolic Function and Adipose Tissue Biology in Humans with Obesity. **Cell Metabolism**, v. 23, n. 4, p. 591–601, 2016.

MAH, E. et al. Cashew consumption reduces total and LDL cholesterol: a. p. 1070–1078, 2017.

MARIA, A. et al. occidentale , L .) industrializadas e processadas artesanalmente Study on the microbiological quality of industrialized and handmade cashew nuts (Anacardium occidentale L .). v. 71, n. 2, p. 415–419, 2012.

MARTENS, I. B. G. et al. Selenium status in preschool children receiving a Brazil nut-enriched diet. **Nutrition**, v. 31, n. 11–12, p. 1339–1343, nov. 2015.

MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A. et al. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. **Progress in Cardiovascular Diseases**, 2015.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, jul. 1985.

MAZIDI, M. et al. Impact of different types of tree nut, peanut, and soy nut consumption on serum C-reactive protein (CRP): A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. **Medicine (United States)**, v. 95, n. 44, p. e5165, 2016.

MEESSEN, E. C. E. et al. Human postprandial nutrient metabolism and low-grade inflammation: A narrative review. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 1–21, 2019.

MENDOZA, J. A.; DREWNOWSKI, A.; CHRISTAKIS, D. A. Dietary Energy Density Is Associated With Obesity and the Metabolic Syndrome in U.S. Adults. **Diabetes Care**, v. 30, n. 4, p. 974–979, abr. 2007.

MERA, R.; THOMPSON, H.; PRASAD, C. How to Calculate Sample Size for an Experiment: A Case-Based Description. **Nutritional Neuroscience**, v. 1, n. 1, p. 87–91, jan. 1998.

MOHAN, V. et al. Cashew nut consumption increases HDL cholesterol and reduces systolic blood pressure in Asian Indians with type 2 diabetes: A 12-week randomized controlled trial. **Journal of Nutrition**, v. 148, n. 1, p. 63–69, 2018.

MONFORT-PIRES, M. et al. Greater expression of postprandial inflammatory genes in humans after intervention with saturated when compared to unsaturated fatty acids. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 8, p. 2887–2895, 2018.

MONTEIRO, F. et al. Tracking cashew economically important diseases in the West African region using metagenomics. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. June, p. 1–6,

2015.

MRAZ, M.; HALUZIK, M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. **Journal of Endocrinology**, v. 222, n. 3, p. 113–127, 2014.

MUKUDDER-PETERSEN, J. et al. Effects of a high walnut and high cashew nut diet on selected markers of the metabolic syndrome: A controlled feeding trial. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1144–1153, jun. 2007.

NAJT, C. P. et al. Lipid Droplet-Derived Monounsaturated Fatty Acids Traffic via PLIN5 to Allosterically Activate SIRT1. **Molecular Cell**, v. 77, n. 4, p. 810- 824.e8, 2020.

NATACCI, L. C.; JÚNIOR, M. F. The three factor eating questionnaire - R21: Tradução para o português e aplicação em mulheres brasileiras. **Revista de Nutricao**, v. 24, n. 3, p. 383–394, 2011.

NEALE, E. P. et al. The effect of nut consumption on markers of inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ Open**, v. 7, n. 11, p. e016863, 2017a.

NEALE, E. P. et al. The effect of nut consumption on markers of inflammation and endothelial function: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ Open**, v. 7, n. 11, p. 1–14, 2017b.

NTZOUVANI, A.; ANTONOPOULOU, S.; NOMIKOS, T. Effects of nut and seed consumption on markers of glucose metabolism in adults with prediabetes: A systematic review of randomised controlled trials. **British Journal of Nutrition**, v. 122, n. 4, p. 361–375, 2019.

OLIVEIRA, V. H. Cajucultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 001–284, 2014.

OSTER, O.; PRELLWITZ, W. Selenium and cardiovascular disease. **Biological Trace Element Research**, v. 24, n. 2–3, p. 91–103, 1990.

PAYETTE, C. et al. Sex differences in postprandial plasma tumor necrosis factor – α ,

interleukin-6 , and C-reactive protein concentrations. **Metabolism**, v. 58, n. 11, p. 1593–1601, 2009.

PÉREZ-ESCAMILLA, R. et al. Dietary Energy Density and Body Weight in Adults and Children: A Systematic Review. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 5, p. 671–684, maio 2012.

PIETERS, M. et al. Clustering of haemostatic variables and the effect of high cashew and walnut diets on these variables in metabolic syndrome patients. **Blood Coagulation and Fibrinolysis**, v. 16, n. 6, p. 429–437, 2005.

PLAT, J. et al. Weight loss, but not fish oil consumption, improves fasting and postprandial serum lipids, markers of endothelial function, and inflammatory signatures in moderately obese men. **Journal of Nutrition**, v. 137, n. 12, p. 2635–2640, 2007.

PLOURDE, G.; PRUD'HOMME, D. Managing obesity in adults in primary care. **CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne**, v. 184, n. 9, p. 1039–44, jun. 2012.

POIRIER, P. et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease. **Circulation**, v. 113, n. 6, p. 898–918, 2006.

PRASAD, S. Chronic Diseases Caused by Chronic Inflammation Require Chronic Treatment: Anti-inflammatory Role of Dietary Spices. **Journal of Clinical & Cellular Immunology**, v. 05, n. 04, 2014.

RAVAUT, G. et al. Monounsaturated fatty acids in obesity-related inflammation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 1–22, 2021.

RAYNOR, H. A.; CHAMPAGNE, C. M. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Interventions for the Treatment of Overweight and Obesity in Adults. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 116, n. 1, p. 129–147, jan. 2016.

REBELLO, C.; GREENWAY, F. L.; DHURANDHAR, N. V. Functional foods to promote weight loss and satiety. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**,

v. 17, n. 6, p. 596–604, nov. 2014.

REIS, B. Z. et al. Brazil nut intake increases circulating miR-454-3p and miR-584-5p in obese women. **Nutrition Research**, v. 67, p. 40–52, 2019.

REIS, C. E. G. et al. Acute and second-meal effects of peanuts on glycaemic response and appetite in obese women with high type 2 diabetes risk: A randomised cross-over clinical trial. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 11, p. 2015–2023, 2013.

REN, M. et al. An almond-based low carbohydrate diet improves depression and glycometabolism in patients with type 2 diabetes through modulating gut microbiota and glp-1: A randomized controlled trial. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 1–21, out. 2020.

RICO, R.; BULLÓ, M.; SALAS-SALVADÓ, J. Nutritional composition of raw fresh cashew (*Anacardium occidentale* L .) kernels from different origin. p. 329–338, 2015.

ROCHA, D. M. et al. Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. **Atherosclerosis**, v. 244, 2016.

ROCHA, D. M.; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. The role of dietary fatty acid intake in inflammatory gene expression: a critical review. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 135, n. 2, p. 157–168, 2017a.

ROCHA, D. M.; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. O papel da ingestão dos ácidos graxos da dieta na expressão de genes inflamatórios: Uma revisão crítica. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 135, n. 2, p. 157–168, 2017b.

ROCHA, D. M. U. P. et al. Efeito do consumo de castanhas brasileiras sobre o peso corporal em adultos: uma revisão sistemática e meta-análise de estudos clínicos randomizados e controlados. **BRASPEN Journal**, v. 36, n. 2, p. 91, 2021.

ROCHA, D. M. U. P. M. U. P. et al. Orange juice modulates proinflammatory cytokines after high-fat saturated meal consumption. **Food and Function**, v. 8, n. 12, p. 4396–4403, 2017.

ROGERS, P. J. Dietary fat, satiety and obesity. **Food Quality and Preference**, v. 2,

n. 2, p. 103–110, 1990.

ROS, E. Health benefits of nut consumption. **Nutrients**, v. 2, n. 7, p. 652–682, 2010.

ROSENSTOCK, A. et al. Brazil nut consumption promotes satiety without increasing blood glucose and insulin responses in healthy adults. **Nutrire**, v. 45, n. 1, 2020.

SAGHAFI-ASL, M. et al. The association of dietary patterns with dietary inflammatory index, systemic inflammation, and insulin resistance, in apparently healthy individuals with obesity. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2021.

SALAS-SALVADÓ, J. et al. Nuts in the prevention and treatment of metabolic syndrome. **The American journal of clinical nutrition**, v. 100, n. Cvd, p. 399- 407S, 2014.

SCHWINGSHACKL, L. et al. Food groups and risk of hypertension: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 793–803, 2017.

SEILER, W.; MÜLLER, H.; HIEMKE, C. Interleukin-6 in plasma collected with an indwelling cannula reflects local, not systemic, concentrations. **Clinical chemistry**, v. 40, n. 9, p. 1778–9, set. 1994.

SILVEIRA, B. K. S. et al. Effect of chronic consumption of nuts on oxidative stress: a systematic review of clinical trials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–12, out. 2020.

SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, G.; REYES-ROMERO, M. A. Obesity and Inflammation: Epidemiology, Risk Factors, and Markers of Inflammation. **International Journal of Endocrinology**, v. 2013, p. 1–11, 2013.

SMITH, K. B.; SMITH, M. S. Obesity Statistics. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 43, n. 1, p. 121–135, 2016.

SOCIOECON, A.; PIAGA, R. D. S. Castanha-do-Brasil: Aspectos Socioeconômicos nas Comunidades da RDS Piagaçu- -Purus, Município de Anori, AM. 2017.

ST-ONGE, M.-P.; CAMPBELL, A.; ROYCHOUDHURY, A. Almond consumption improves satiety and ectopic fat content relative to a high-carbohydrate food: A pilot RCT in minority adults. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 79, n. OCE2, p. 2021, 2020.

STEFAN, N.; BIRKENFELD, A. L.; SCHULZE, M. B. Global pandemics interconnected — obesity, impaired metabolic health and COVID-19. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 17, n. 3, p. 135–149, 2021.

STEVENS, G. A et al. National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. **Population health metrics**, v. 10, n. 1, p. 22, jan. 2012.

STOCKLER-PINTO, M. B. et al. Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) improves oxidative stress and inflammation biomarkers in hemodialysis patients. **Biological trace element research**, v. 158, n. 1, p. 105–112, 2014a.

STOCKLER-PINTO, M. B. et al. Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) improves oxidative stress and inflammation biomarkers in hemodialysis patients. **Biological Trace Element Research**, v. 158, n. 1, p. 105–112, 2014b.

STOCKLER-PINTO, M. B. et al. A Follow-up Study of the Chronic Kidney Disease Patients Treated with Brazil Nut: Focus on Inflammation and Oxidative Stress. **Biological Trace Element Research**, v. 163, n. 1–2, p. 67–72, 2015.

TAKEUCHI, H. et al. Diet-induced thermogenesis is lower in rats fed a lard diet than in those fed a high oleic acid safflower oil diet, a safflower oil diet or a linseed oil diet. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 4, p. 920–925, abr. 1995.

TAN, S. Y.; DHILLON, J.; MATTES, R. D. A review of the effects of nuts on appetite, food intake, metabolism, and body weight. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. SUPPL. 1, p. 412–422, 2014a.

TAN, S. Y.; DHILLON, J.; MATTES, R. D. A review of the effects of nuts on appetite , food intake , metabolism ,. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. May, p. 412–423, 2014b.

THOLIN, S. et al. Genetic and environmental influences on eating behavior: The Swedish Young Male Twins Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 3, p. 564–569, 2005.

THOMSON, C. D. et al. Brazil nuts: An effective way to improve selenium status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 379–384, fev. 2008.

TINDALL, A. M. et al. The effect of nuts on markers of glycemic control: A systematic review and meta-Analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 109, n. 2, p. 297–314, 2019.

TRAORET, C. J. et al. Peanut digestion and energy balance. **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 2, p. 322–328, 2008.

TREMMELE, M. et al. Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 4, p. 435, 2017.

TRUMBO, P. et al. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621–1630, nov. 2002.

VAN VLIET, S. et al. Obesity Is Associated With Increased Basal and Postprandial β -Cell Insulin Secretion Even in the Absence of Insulin Resistance. **Diabetes**, v. 69, n. 10, p. 2112–2119, 2020.

VAZ DE MELO RIBEIRO, P. et al. Effect of a Nutritional Intervention, Based on Transtheoretical Model, on Metabolic Markers and Food Consumption of Individuals Undergoing Hemodialysis. **Journal of Renal Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 430–439, set. 2020.

VIGUILIOUK, E. et al. Effect of tree nuts on glycemic control in diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled dietary trials. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e103376, jan. 2014.

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal

polynomials. [s.l: s.n.]. v. 44

VIRDIS, A. Endothelial Dysfunction in Obesity: Role of Inflammation. **High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention**, v. 23, n. 2, p. 83–85, 2016.

WHO. **BMI classification.**

WHO. **Obesity and overweight.**

WISHNOFSKY, M. Caloric Equivalents of Gained or Lost Weight. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 6, n. 5, p. 542–546, 1 set. 1958.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fact Sheet Obesity and overweight.**

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Report on Diabetes. **Isbn**, v. 978, p. 88, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. **World Health Organization**, v. 1, n. 1, p. 55, dez. 2020.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION et al. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 310, n. 20, p. 2191–4, nov. 2013.

WORMSER, D. et al. Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. **Lancet**, v. 377, n. 9771, p. 1085–95, 2011.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1573–1580, dez. 2009.

ZHOU, D. et al. Nut consumption in relation to cardiovascular disease risk and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 270–277, 2014.

ZULET, M. A. et al. Dietary selenium intake is negatively associated with serum sialic

acid and metabolic syndrome features in healthy young adults. **Nutrition research** (New York, N.Y.), v. 29, n. 1, p. 41–8, jan. 2009.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as dificuldades de condução do estudo, podemos ressaltar o recrutamento e taxa de retenção das participantes. Encontrar voluntárias para participar do estudo não foi tarefa fácil, pois além de atender ao perfil do estudo (critérios de seleção), as voluntárias deveriam estar dispostas a participar de muitas etapas que o estudo exigia, além de apresentar disponibilidade de tempo para tal. Os motivos de desistência das voluntárias do estudo foram em sua maioria de cunho pessoal, seja por dificuldade apresentada em seguir o plano alimentar ou a outros fatores que as impediram de dispor de seu tempo para as etapas do estudo.

Outro ponto importante foi a realização das análises de hormônios do apetite e inflamatórios, após a finalização do estudo. Com a pandemia em 2019, apresentamos um atraso de quase um ano na realização dessas medidas, por motivos de atraso na aquisição de materiais (que estavam em falta ou apresentaram demora exacerbada por conta da situação global). Depois, os laboratórios ficaram fechados, por motivos sanitários, e ainda havia equipamento que necessitava de calibração, mas em razão da pandemia, houve atraso na execução do serviço. Em face a tantas dificuldades, tais análises só foram possíveis porque houve quem se dispusesse a ajudar, desde técnicos, a alunos de pós-graduação e professores. Sem uma ajuda mútua e conjunta, de quem se arriscou a entrar em laboratório, e se expor, esse trabalho não teria sido possível.

Entre os pontos positivos do estudo, podemos mencionar que avaliamos o efeito do consumo de castanhas brasileiras na perda de peso, composição corporal, bem como no apetite e no consumo de alimentos por meio de diferentes métodos. Para avaliar as mudanças no consumo alimentar, aplicamos três registros alimentares, antes, e três recordatórios alimentares depois da intervenção, durante as consultas de acompanhamento. Além disso, refeições de teste foram conduzidas, durante as sessões de laboratório, para avaliar os efeitos de curto e longo prazo do consumo de castanhas brasileiras sobre o consumo alimentar e o apetite (subjetivamente, por meio de questionários EVA pós-prandiais; e, objetivamente, com ingestão calórica *ad*

libitum, concentração plasmática de hormônios pós-prandiais, e consumo subsequente em condições de vida livre). As respostas glicêmicas e insulinêmicas pós-prandiais foram avaliadas de forma aguda e crônica. Para avaliar a homeostase da glicemia e insulina, nós incluímos também a avaliação das mudanças das concentrações de jejum de glicemia, insulina, HOMA-IR e TyG, após 8 semanas de intervenção. Sobre o aspecto das análises da inflamação, conseguimos analisar uma quantidade razoável de marcadores envolvidos em processos subclínicos da inflamação associada à obesidade, tais como proteína de fase aguda, citocinas e adipocinas. Além disso, conduzimos um desenho de ensaio alimentar randomizado controlado, com uma intervenção de restrição calórica realística, com grupo controle apropriado, que foi balanceado com o grupo de teste em termos de idade, antropometria, composição corporal, marcadores metabólicos e comportamentos alimentares. Nesse último ponto, eu destaco aqui que a randomização pelo método de minimização, foi muito importante para que os grupos fosse equilibrados em relação a parâmetros de interesse (idade, IMC e percentual de gordura corporal) e consequentemente a outros relacionados, como os marcadores cardiometabólicos investigados no estudo.

As limitações, por outro lado, dizem respeito aos dados autorreferidos para avaliar alterações nutricionais que podem ser fonte de viés de informação. Além disso, após a intervenção para perda de peso, atenção especial deve ser dada para a possibilidade de reganho de peso; no entanto, essa questão não foi abordada no presente estudo. Além disso, o estudo foi realizado com mulheres com sobrepeso e risco cardiometabólico, portanto, pode apresentar resultados que não podem ser aplicados a outros tipos de populações. Ainda, ambos grupos apresentaram perda de peso modesta e semelhante; e o tipo de gordura insaturada e de fonte vegetal usada em ambos grupos (apesar de serem mono e poli-insaturadas, para o grupo CB e grupo controle, respectivamente), podem ter contribuído para a ausência ou presença de um efeito muito modesto sobre a resposta glicêmica e inflamatória, respectivamente. O estudo também não apresentou cegamento das participantes e apresentou uma alta taxa de desistência.

Sobre as perspectivas de continuidade, o projeto Estudo Castanhas Brasileiras foi elaborado para se articular e se desdobrar em outros (sub)projetos, como o aqui apresentado, para serem desenvolvidos de forma independentes no formato de TCC, dissertação, tese e artigos científicos. Dessa forma, há perspectivas de continuidade do estudo, na temática aqui abordada, como a avaliação de análises de expressão gênica, as quais foram inicialmente um dos objetivos do presente projeto de doutorado, mas, que não foram concluídas.

8. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, concluímos que:

1. O consumo agudo de castanhas brasileiras (15 g de castanhas-do-brasil e 30 g de castanhas de caju) não alterou o apetite, a resposta glicêmica e a inflamação, em mulheres adultas com excesso de peso em risco cardiometabólico.
2. O consumo crônico de castanhas brasileiras (15 g de castanhas-do-brasil e 30 g de castanhas de caju), incluídas em uma intervenção de restrição calórica, após oito semanas:
 - a. Entre as participantes aderentes ao protocolo de restrição calórica (82%), a perda de peso e de gordura corporal, foram significativamente maiores em comparação ao grupo controle.
 - b. Não alterou as sensações subjetivas do apetite, nem o consumo alimentar, apesar da concentração de grelina (Δ AUC) ter diminuído, em comparação com o grupo controle.
 - c. Não alterou a resposta glicêmica ou insulínica pós-prandiais, nem as concentrações de jejum de glicemia, insulina, HOMA-IR e TyG.
 - d. Teve um efeito modesto relacionado a inibição do aumento da IL-6 pós-prandial, sem alterar outros marcadores inflamatórios avaliados (adiponectina, resistina, PAI-1, IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17A, TNF e PCR-us).

Em suma, podemos concluir que o consumo de 45 g de CB (*Anacardium occidentale* e *Bertholetia excelsa*), como parte de um padrão alimentar saudável e associado a uma restrição calórica, apresentou efeitos benéficos na perda de peso e de gordura corporal, além de efeito modesto sobre a saciedade e inflamação, mas sem efeito sobre a homeostase glicêmica e insulinêmica, em mulheres com excesso de peso, em risco cardiometabólico. Mais estudos são necessários para compreender os mecanismos envolvidos nos resultados encontrados.

REFERÊNCIAS

ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. **ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica**, 2016.

ABRAMSON, J. H. WINPEPI updated: Computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. **Epidemiologic Perspectives and Innovations**, v. 8, n. 1, p. 1, 2011.

AFSHIN, A. et al. Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 278–288, 2014.

AGGARWAL, B. B. Nuclear factor- κ B. **Cancer Cell**, v. 6, n. 3, p. 203–208, set. 2004.

AKHLAGHI, M. et al. Effect of nuts on energy intake, hunger, and fullness, a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 84–93, 2020.

ALHABEEB, H. et al. Gut hormones in health and obesity: The upcoming role of short chain fatty acids. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 1–20, 2021.

APOVIAN, C. M. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. **The American journal of managed care**, v. 22, n. 7, p. s176–s185, 2016.

ARNOLD, M. et al. Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: A population-based study. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 1, p. 36–46, jan. 2015.

AUGUSTIN, L. S. A. et al. Nutrition , Metabolism & Cardiovascular Diseases Glycemic index , glycemic load and glycemic response : An International Scientific Consensus Summit from the International Carbohydrate Quality Consortium (ICQC) *. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 25, n. 9, p. 795–815, 2015.

AUNE, D. et al. Nut consumption and risk of cardiovascular disease, total cancer, all-cause and cause-specific mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **BMC Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1–14, 2016.

AUSTIN, J.; MARKS, D. Hormonal Regulators of Appetite. **International Journal of Pediatric Endocrinology**, v. 2009, p. 1–9, 2009.

BAER, D. J.; NOVOTNY, J. A. Consumption of cashew nuts does not influence blood lipids or other markers of cardiovascular disease in humans: A randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 109, n. 2, p. 269–275, 2019.

BAO, J. et al. Prediction of postprandial glycemia and insulinemia in lean, young, healthy adults: Glycemic load compared with carbohydrate content alone. **American**

Journal of Clinical Nutrition, v. 93, n. 5, p. 984–996, 2011.

BARUFALDI, L. A. et al. Programa para registro de recordatório alimentar de 24 horas: Aplicação no Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 2, p. 464–468, jun. 2016.

BECERRA-TOMÁS, N. et al. Nut consumption and incidence of cardiovascular diseases and cardiovascular disease mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Nutrition Reviews**, v. 77, n. 10, p. 691–709, 2019.

BELL, J. A.; KIVIMAKI, M.; HAMER, M. Metabolically healthy obesity and risk of incident type 2 diabetes: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Obesity Reviews**, v. 15, n. 6, p. 504–515, 2014.

BHUPATHIRAJU, S. N.; HU, F. B. Epidemiology of obesity and diabetes and their cardiovascular complications. **Circulation Research**, v. 118, n. 11, p. 1723–1735, 2016.

BLAAK, E. E. et al. Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 10, p. 923–984, 2012.

BOWEN, K. J. et al. Oleic acid-derived oleoylethanolamide: A nutritional science perspective. **Progress in Lipid Research**, v. 67, p. 1–15, 2017.

BRAND-MILLER, J. C. et al. Glycemic index and obesity 1 – 4. v. 76, p. 281–285, 2006.

BRASIL. Vigitel Brasil 2006: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa**, p. 92, 2007.

BRASIL. Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 12 de dezembro de 2012. **Diário Oficial da União**, v. 12, n. 1, p. 59, 2012.

BRASIL. Vigitel Brasil 2019 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados. 2020.

BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M. A epidemia da obesidade: a causa, o tratamento e o ambiente. In: MOREIRA, E. A. M.; CHIARELLO, P. G. (Eds.). **Atenção Nutricional: abordagem dietoterápica em adulto**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 75–97.

BUUREN, S. VAN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. mice : Multivariate Imputation by Chained Equations in R. **Journal of Statistical Software**, v. 45, n. 3, p. 1–67, 2011.

BUUREN, S. VAN; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. **Package ‘mice’**CRAN, , 2021.

CÂNDIDO, F. G. et al. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic

inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 125–143, fev. 2018.

CAPPELLERI, J. C. et al. Psychometric analysis of the Three-Factor Eating Questionnaire-R21: results from a large diverse sample of obese and non-obese participants. **International Journal of Obesity**, v. 33, n. 6, p. 611–620, jun. 2009.

CARDOSO, B. R. et al. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**, v. 100, n. March, p. 9–18, 2017.

CARRARO, J. C. C. et al. Interleukin-6 is a better metabolic biomarker than interleukin-18 in young healthy adults. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 71, n. 3, p. 527–535, 2015.

CASAS-AGUSTENCH, P. et al. Acute effects of three high-fat meals with different fat saturations on energy expenditure, substrate oxidation and satiety. **Clinical Nutrition**, v. 28, n. 1, p. 39–45, 2009.

CASAS-AGUSTENCH, P.; BULLÓ, M.; SALAS-SALVADÓ, J. Nuts, inflammation and insulin resistance. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 124–130, 2010.

CASAS, R. et al. Long-term immunomodulatory effects of a mediterranean diet in adults at high risk of cardiovascular disease in the prevención con dieta mediterránea (predimed) randomized controlled trial. **Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1684–1693, 2016.

CASTRO, R. et al. Cortisol modulates the induction of inflammatory gene expression in a rainbow trout macrophage cell line. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 30, n. 1, p. 215–223, 2011.

CDC. CDC National Health Report : Leading Causes of Morbidity and Mortality and Associated Behavioral Risk and Protective Factors — United States , 2005 – 2013. v. 63, n. 4, p. 2005–2013, 2014.

CHAPUT, J. P. et al. Comparison of 150-mm versus 100-mm visual analogue scales in free living adult subjects. **Appetite**, v. 54, n. 3, p. 583–586, 2010.

CHIU, C. et al. THE POTENTIAL WAYS FOR PREVENTING POSTPRANDIAL INFLAMMATION – A REVIEW Pro-inflammatory. **CURRENT TOPICS IN NUTRACEUTICAL RESEARCH**, v. 11, n. 4, p. 129–136, 2013.

CHOE, S. S. et al. Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders. **Frontiers in Endocrinology**, v. 7, n. APR, p. 1–16, 2016.

CHRISTIANSEN, T. et al. Exercise training versus diet-induced weight-loss on metabolic risk factors and inflammatory markers in obese subjects: A 12-week randomized intervention study. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 298, n. 4, p. 824–831, 2010.

CISNEROS, L. C. V. et al. Effect of the fatty acid composition of meals on postprandial energy expenditure: A systematic review. **Revista da Associacao Medica Brasileira**, v. 68, n. 7, p. 1022–1031, jul. 2019.

COELHO, O. G. L. et al. Polyunsaturated fatty acids and type 2 diabetes: Impact on the glycemic control mechanism. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 17, p. 3614–3619, 2017.

COLPO, E. et al. Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. **Nutrition**, v. 30, n. 4, p. 459–465, 2014.

CORLATTI, L.; FATTORINI, L.; NELLI, L. The use of block counts, mark-resight and distance sampling to estimate population size of a mountain-dwelling ungulate. **Population Ecology**, v. 57, n. 2, p. 409–419, dez. 2015.

DA SILVA, A. et al. High-saturated fatty meals with orange juice intake have subjective appetite sensations suppressed: Acute, postprandial study. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 92, n. 2, p. 1–10, 2020.

DAMAVANDI, R. D. et al. Effects of daily consumption of cashews on oxidative stress and atherogenic indices in patients with type 2 diabetes: A randomized, controlled-feeding trial. **International Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 17, n. 1, p. e70744, jan. 2019.

DE ALMEIDA, A. P. et al. Personalized Nutrition Using PROCARDIO to Reduce Cardiometabolic Risk in the Academic Community: A Study Protocol with Preliminary Results. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 39, n. 7, p. 591–600, 2020.

DE PAIVA, J. R.; DE BARROS, L. M.; CAVALCANTI, J. J. V. Cashew (*Anacardium occidentale* L.) breeding: A global perspective. **Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species**, p. 287–324, 2009.

DE SOUZA, R. J. et al. Association of nut intake with risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 16 countries from 5 continents: Analysis from the Prospective Urban and Rural Epidemiology (PURE) study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 112, n. 1, p. 208–219, 2020.

DEMARCO, V. G.; AROOR, A. R.; SOWERS, J. R. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, n. 6, p. 364–376, 2014.

DENDENA, B.; CORSI, S. Cashew, from seed to market: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 4, p. 753–772, 2014.

DI ANGELANTONIO, E. et al. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. **The Lancet**, v. 388, n. 10046, p. 776–786, ago. 2016.

DIETZ, W. H. et al. Management of obesity: Improvement of health-care training and systems for prevention and care. **The Lancet**, v. 385, n. 9986, p. 2521–2533, 2015.

DOMINGUETI, C. P. et al. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 30, n. 4, p. 738–745, 2016.

DONADIO, J. L. S. et al. SEPP1 polymorphisms modulate serum glucose and lipid response to Brazil nut supplementation. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 5, p. 1873–1882, 2018.

DONG, J. et al. Cortisol modulates inflammatory responses in LPS-stimulated RAW264.7 cells via the NF-KB and MAPK pathways. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2018.

DREWNOWSKI, A. Energy Density, Palatability, and Satiety: Implications for Weight Control. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 12, p. 347–353, 2009.

DU, H. et al. Dietary energy density in relation to subsequent changes of weight and waist circumference in European men and women. **PLoS ONE**, v. 4, n. 4, p. e5339, abr. 2009.

DU, Y. et al. Association of body mass index (BMI) with critical COVID-19 and in-hospital mortality: A dose-response meta-analysis. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 117, p. 154373, 2021.

DUARTE, G. B. S. et al. Consumption of Brazil nuts with high selenium levels increased inflammation biomarkers in obese women: A randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 63–64, p. 162–168, 2019.

ECKEL, N. et al. Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 23, n. 9, p. 956–966, 2015.

ENGIN, A. Endothelial Dysfunction in Obesity. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 960, p. 345–379, 2017.

ERRIDGE, C. et al. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: Evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, n. 5, p. 1286–1292, 2007.

ESLAMI, O.; SHIDFAR, F.; DEHNAD, A. Inverse association of long-term nut consumption with weight gain and risk of overweight/obesity: a systematic review. **Nutrition Research**, v. 68, p. 1–8, 2019.

FAO. **FAOSTAT**.

FDA. Guidance for Industry: Evidence-Based Review System for the Scientific Evaluation of Health Claims. **Biotechnology Law Report**, v. 28, n. 2, p. 241–258, abr. 2009.

FLINT, A. et al. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. **International Journal**

of Obesity, v. 24, n. 1, p. 38–48, jan. 2000.

FORSYTHE, L. K.; WALLACE, J. M. W.; LIVINGSTONE, M. B. E. Obesity and inflammation: The effects of weight loss. **Nutrition Research Reviews**, v. 21, n. 2, p. 117–133, 2008.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, 1972.

GARAULET, M.; GÓMEZ-ABELLÁN, P. Timing of food intake and obesity: A novel association. **Physiology and Behavior**, v. 134, n. C, p. 44–50, 2014.

GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS*. High body-mass index - Level 2 risk. **The Lancet**, v. 396, p. 2019–2020, 2020.

GBD 2019 RISK FACTORS COLLABORATORS. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **Lancet (London, England)**, v. 396, n. 10258, p. 1223–1249, out. 2020.

GELONEZE, B.; LAMOUNIER, R. N.; COELHO, O. R. Postprandial hyperglycemia: Treating its atherogenic potential. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 5, p. 660–670, 2006.

GERVASI, T. et al. Health benefits related to tree nut consumption and their bioactive compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, 2021.

GODWIN, N. et al. Mixed nuts may promote satiety while maintaining stable blood glucose and insulin in healthy, obese, and overweight adults in a two-arm randomized controlled trial. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 4, p. 427–432, 2019.

GOMES DOMINGOS, A. L.; HERMSDORFF, H. H. M.; BRESSAN, J. Melatonin intake and potential chronobiological effects on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8398, n. August, p. 1–8, 2017.

GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. **Annual Review of Immunology**, v. 29, n. 1, p. 415–445, abr. 2011.

GUERRERO-ROMERO, F. et al. The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 95, n. 7, p. 3347–3351, jul. 2010.

HERMSDORFF, H. H. et al. Impact of caloric restriction and Mediterranean food-based diets on inflammation accompanying obesity and metabolic syndrome features. **Obesity and Metabolism**, v. 5, p. 69–77, 2009a.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. Discriminated benefits of a Mediterranean dietary pattern within a hypocaloric diet program on plasma RBP4 concentrations and other

inflammatory markers in obese subjects. **Endocrine**, 2009b.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. Association of retinol-binding protein-4 with dietary selenium intake and other lifestyle features in young healthy women. **Nutrition**, v. 25, n. 4, p. 392–399, 2009c.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. Dietary total antioxidant capacity is inversely related to central adiposity as well as to metabolic and oxidative stress markers in healthy young adults. **Nutrition and Metabolism**, v. 8, n. 1, p. 59, 2011a.

HERMSDORFF, H. H. M. et al. A legume-based hypocaloric diet reduces proinflammatory status and improves metabolic features in overweight/obese subjects. **European Journal of Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 61–69, fev. 2011b.

HILLEBRAND, J. J. G.; DE WIED, D.; ADAN, R. A. H. Neuropeptides, food intake and body weight regulation: A hypothalamic focus. **Peptides**, v. 23, n. 12, p. 2283–2306, 2002.

HRUBY, A.; HU, F. B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. **PharmacoEconomics**, v. 33, n. 7, p. 673–689, 2015.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA; COORDENAÇÃO DE TRABALHO E RENDIMENTO. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: 2008-2009. Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil**. [s.l.: s.n.].

ISLAMI, F. et al. Proportion of Cancer Cases Attributable to Excess Body Weight by US State, 2011-2015. **JAMA Oncology**, v. 5, n. 3, p. 384–392, mar. 2019.

JACKSON, C. L.; HU, F. B. Long-term associations of nut consumption with body weight. v. 100, p. 408–411, 2014.

JOSEPH, J. Selenium and cardiometabolic health: Inconclusive yet intriguing evidence. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 346, n. 3, p. 216–220, 2013.

JUNG, U.; CHOI, M.-S. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 4, p. 6184–6223, 2014.

KATSU, Y.; IGUCHI, T. Cortisol. In: **Handbook of Hormones**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 533-e95D-2.

KENDALL, C. W. C. et al. Acute effects of pistachio consumption on glucose and insulin, satiety hormones and endothelial function in the metabolic syndrome. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 370–375, 2014.

KHAN, S. S. et al. Association of body mass index with lifetime risk of cardiovascular disease and compression of morbidity. **JAMA Cardiology**, v. 3, n. 4, p. 280–287, abr. 2018.

KIM, J.; LEE, I.; LIM, S. Overweight or obesity in children aged 0 to 6 and the risk of adult metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Nursing**, v. 26, n. 23–24, p. 3869–3880, 2017.

KIM, Y.; KEOGH, J. B.; CLIFTON, P. M. Benefits of nut consumption on insulin resistance and cardiovascular risk factors: Multiple potential mechanisms of actions. **Nutrients**, v. 9, n. 11, p. 1271, nov. 2017.

KRISHNAN, S.; COOPER, J. A. Effect of dietary fatty acid composition on substrate utilization and body weight maintenance in humans. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 3, p. 691–710, 2014.

KVIETYS, P. R.; GRANGER, D. N. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 3, p. 556–592, fev. 2012.

LEAN, M. E. J.; MALKOVA, D. Altered gut and adipose tissue hormones in overweight and obese individuals: cause or consequence? **International Journal of Obesity**, v. 40, n. 4, p. 622–632, 26 abr. 2016.

LEE, E. B.; MATTSON, M. P. The neuropathology of obesity: Insights from human disease. **Acta Neuropathologica**, v. 127, n. 1, p. 3–28, jan. 2014.

LI, H. et al. Nut consumption and risk of metabolic syndrome and overweight/obesity: A meta-analysis of prospective cohort studies and randomized trials. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 46, dez. 2018.

LIU, X. et al. Changes in nut consumption influence long-term weight change in US men and women. **BMJ Nutrition, Prevention & Health**, v. 2, n. 2, p. 90–99, dez. 2019.

LUO, C. et al. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 256–269, jul. 2014.

MAGKOS, F. et al. Effects of Moderate and Subsequent Progressive Weight Loss on Metabolic Function and Adipose Tissue Biology in Humans with Obesity. **Cell Metabolism**, v. 23, n. 4, p. 591–601, 2016.

MAH, E. et al. Cashew consumption reduces total and LDL cholesterol : a. p. 1070–1078, 2017.

MARIA, A. et al. occidentale , L .) industrializadas e processadas artesanalmente Study on the microbiological quality of industrialized and handmade cashew nuts (Anacardium occidentale L .). v. 71, n. 2, p. 415–419, 2012.

MARTENS, I. B. G. et al. Selenium status in preschool children receiving a Brazil nut-enriched diet. **Nutrition**, v. 31, n. 11–12, p. 1339–1343, nov. 2015.

MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A. et al. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. **Progress in Cardiovascular Diseases**, 2015.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, jul. 1985.

MAZIDI, M. et al. Impact of different types of tree nut, peanut, and soy nut consumption on serum C-reactive protein (CRP): A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. **Medicine (United States)**, v. 95, n. 44, p. e5165, 2016.

MEESEN, E. C. E. et al. Human postprandial nutrient metabolism and low-grade inflammation: A narrative review. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 1–21, 2019.

MENDOZA, J. A.; DREWNOWSKI, A.; CHRISTAKIS, D. A. Dietary Energy Density Is Associated With Obesity and the Metabolic Syndrome in U.S. Adults. **Diabetes Care**, v. 30, n. 4, p. 974–979, abr. 2007.

MERA, R.; THOMPSON, H.; PRASAD, C. How to Calculate Sample Size for an Experiment: A Case-Based Description. **Nutritional Neuroscience**, v. 1, n. 1, p. 87–91, jan. 1998.

MOHAN, V. et al. Cashew nut consumption increases HDL cholesterol and reduces systolic blood pressure in Asian Indians with type 2 diabetes: A 12-week randomized controlled trial. **Journal of Nutrition**, v. 148, n. 1, p. 63–69, 2018.

MONFORT-PIRES, M. et al. Greater expression of postprandial inflammatory genes in humans after intervention with saturated when compared to unsaturated fatty acids. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 8, p. 2887–2895, 2018.

MONTEIRO, F. et al. Tracking cashew economically important diseases in the West African region using metagenomics. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. June, p. 1–6, 2015.

MRAZ, M.; HALUZIK, M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. **Journal of Endocrinology**, v. 222, n. 3, p. 113–127, 2014.

MUKUDDER-PETERSEN, J. et al. Effects of a high walnut and high cashew nut diet on selected markers of the metabolic syndrome: A controlled feeding trial. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1144–1153, jun. 2007.

NAJT, C. P. et al. Lipid Droplet-Derived Monounsaturated Fatty Acids Traffic via PLIN5 to Allosterically Activate SIRT1. **Molecular Cell**, v. 77, n. 4, p. 810–824.e8, 2020.

NATACCI, L. C.; JÚNIOR, M. F. The three factor eating questionnaire - R21: Tradução para o português e aplicação em mulheres brasileiras. **Revista de Nutricao**, v. 24, n. 3, p. 383–394, 2011.

NEALE, E. P. et al. The effect of nut consumption on markers of inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ Open**, v. 7, n. 11, p. e016863, 2017a.

NEALE, E. P. et al. The effect of nut consumption on markers of inflammation and endothelial function: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ Open**, v. 7, n. 11, p. 1–14, 2017b.

NTZOUVANI, A.; ANTONOPOULOU, S.; NOMIKOS, T. Effects of nut and seed consumption on markers of glucose metabolism in adults with prediabetes: A systematic review of randomised controlled trials. **British Journal of Nutrition**, v. 122, n. 4, p. 361–375, 2019.

OLIVEIRA, V. H. Cajucultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 001–284, 2014.

OSTER, O.; PRELLWITZ, W. Selenium and cardiovascular disease. **Biological Trace Element Research**, v. 24, n. 2–3, p. 91–103, 1990.

PAYETTE, C. et al. Sex differences in postprandial plasma tumor necrosis factor – α , interleukin-6 , and C-reactive protein concentrations. **Metabolism**, v. 58, n. 11, p. 1593–1601, 2009.

PÉREZ-ESCAMILLA, R. et al. Dietary Energy Density and Body Weight in Adults and Children: A Systematic Review. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 5, p. 671–684, maio 2012.

PIETERS, M. et al. Clustering of haemostatic variables and the effect of high cashew and walnut diets on these variables in metabolic syndrome patients. **Blood Coagulation and Fibrinolysis**, v. 16, n. 6, p. 429–437, 2005.

PLAT, J. et al. Weight loss, but not fish oil consumption, improves fasting and postprandial serum lipids, markers of endothelial function, and inflammatory signatures in moderately obese men. **Journal of Nutrition**, v. 137, n. 12, p. 2635–2640, 2007.

PLOURDE, G.; PRUD'HOMME, D. Managing obesity in adults in primary care. **CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne**, v. 184, n. 9, p. 1039–44, jun. 2012.

POIRIER, P. et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease. **Circulation**, v. 113, n. 6, p. 898–918, 2006.

PRASAD, S. Chronic Diseases Caused by Chronic Inflammation Require Chronic Treatment: Anti-inflammatory Role of Dietary Spices. **Journal of Clinical & Cellular Immunology**, v. 05, n. 04, 2014.

RAVAUT, G. et al. Monounsaturated fatty acids in obesity-related inflammation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 1–22, 2021.

RAYNOR, H. A.; CHAMPAGNE, C. M. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Interventions for the Treatment of Overweight and Obesity in Adults. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 116, n. 1, p. 129–147, jan. 2016.

REBELLO, C.; GREENWAY, F. L.; DHURANDHAR, N. V. Functional foods to promote weight loss and satiety. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 17, n. 6, p. 596–604, nov. 2014.

REIS, B. Z. et al. Brazil nut intake increases circulating miR-454-3p and miR-584-5p in obese women. **Nutrition Research**, v. 67, p. 40–52, 2019.

REIS, C. E. G. et al. Acute and second-meal effects of peanuts on glycaemic response and appetite in obese women with high type 2 diabetes risk: A randomised cross-over clinical trial. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 11, p. 2015–2023, 2013.

REN, M. et al. An almond-based low carbohydrate diet improves depression and glycometabolism in patients with type 2 diabetes through modulating gut microbiota and glp-1: A randomized controlled trial. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 1–21, out. 2020.

RICO, R.; BULLÓ, M.; SALAS-SALVADÓ, J. Nutritional composition of raw fresh cashew (*Anacardium occidentale* L .) kernels from different origin. p. 329–338, 2015.

ROCHA, D. M. et al. Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. **Atherosclerosis**, v. 244, 2016.

ROCHA, D. M.; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. The role of dietary fatty acid intake in inflammatory gene expression: a critical review. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 135, n. 2, p. 157–168, 2017a.

ROCHA, D. M.; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. O papel da ingestão dos ácidos graxos da dieta na expressão de genes inflamatórios: Uma revisão crítica. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 135, n. 2, p. 157–168, 2017b.

ROCHA, D. M. U. P. et al. Efeito do consumo de castanhas brasileiras sobre o peso corporal em adultos: uma revisão sistemática e meta-análise de estudos clínicos randomizados e controlados. **BRASPEN Journal**, v. 36, n. 2, p. 91, 2021.

ROCHA, D. M. U. P. M. U. P. et al. Orange juice modulates proinflammatory cytokines after high-fat saturated meal consumption. **Food and Function**, v. 8, n. 12, p. 4396–4403, 2017.

ROGERS, P. J. Dietary fat, satiety and obesity. **Food Quality and Preference**, v. 2, n. 2, p. 103–110, 1990.

ROS, E. Health benefits of nut consumption. **Nutrients**, v. 2, n. 7, p. 652–682, 2010.

ROSENSTOCK, A. et al. Brazil nut consumption promotes satiety without increasing blood glucose and insulin responses in healthy adults. **Nutrire**, v. 45, n. 1, 2020.

SAGHAFI-ASL, M. et al. The association of dietary patterns with dietary inflammatory index, systemic inflammation, and insulin resistance, in apparently healthy individuals with obesity. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2021.

SALAS-SALVADÓ, J. et al. Nuts in the prevention and treatment of metabolic

syndrome. **The American journal of clinical nutrition**, v. 100, n. Cvd, p. 399- 407S, 2014.

SCHWINGSHACKL, L. et al. Food groups and risk of hypertension: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 793–803, 2017.

SEILER, W.; MÜLLER, H.; HIEMKE, C. Interleukin-6 in plasma collected with an indwelling cannula reflects local, not systemic, concentrations. **Clinical chemistry**, v. 40, n. 9, p. 1778–9, set. 1994.

SILVEIRA, B. K. S. et al. Effect of chronic consumption of nuts on oxidative stress: a systematic review of clinical trials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–12, out. 2020.

SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, G.; REYES-ROMERO, M. A. Obesity and Inflammation: Epidemiology, Risk Factors, and Markers of Inflammation. **International Journal of Endocrinology**, v. 2013, p. 1–11, 2013.

SMITH, K. B.; SMITH, M. S. Obesity Statistics. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 43, n. 1, p. 121–135, 2016.

SOCIOECON, A.; PIAGA, R. D. S. Castanha-do-Brasil: Aspectos Socioeconômicos nas Comunidades da RDS Piagaçu- -Purus, Município de Anori, AM. 2017.

ST-ONGE, M.-P.; CAMPBELL, A.; ROYCHOUDHURY, A. Almond consumption improves satiety and ectopic fat content relative to a high-carbohydrate food: A pilot RCT in minority adults. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 79, n. OCE2, p. 2021, 2020.

STEFAN, N.; BIRKENFELD, A. L.; SCHULZE, M. B. Global pandemics interconnected — obesity, impaired metabolic health and COVID-19. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 17, n. 3, p. 135–149, 2021.

STEVENS, G. A et al. National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. **Population health metrics**, v. 10, n. 1, p. 22, jan. 2012.

STOCKLER-PINTO, M. B. et al. Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) improves oxidative stress and inflammation biomarkers in hemodialysis patients. **Biological trace element research**, v. 158, n. 1, p. 105–112, 2014a.

STOCKLER-PINTO, M. B. et al. Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) improves oxidative stress and inflammation biomarkers in hemodialysis patients. **Biological Trace Element Research**, v. 158, n. 1, p. 105–112, 2014b.

STOCKLER-PINTO, M. B. et al. A Follow-up Study of the Chronic Kidney Disease Patients Treated with Brazil Nut: Focus on Inflammation and Oxidative Stress. **Biological Trace Element Research**, v. 163, n. 1–2, p. 67–72, 2015.

TAKEUCHI, H. et al. Diet-induced thermogenesis is lower in rats fed a lard diet than in

those fed a high oleic acid safflower oil diet, a safflower oil diet or a linseed oil diet. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 4, p. 920–925, abr. 1995.

TAN, S. Y.; DHILLON, J.; MATTES, R. D. A review of the effects of nuts on appetite, food intake, metabolism, and body weight. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. SUPPL. 1, p. 412–422, 2014a.

TAN, S. Y.; DHILLON, J.; MATTES, R. D. A review of the effects of nuts on appetite , food intake , metabolism ,. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. May, p. 412–423, 2014b.

THOLIN, S. et al. Genetic and environmental influences on eating behavior: The Swedish Young Male Twins Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 3, p. 564–569, 2005.

THOMSON, C. D. et al. Brazil nuts: An effective way to improve selenium status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 379–384, fev. 2008.

TINDALL, A. M. et al. The effect of nuts on markers of glycemic control: A systematic review and meta-Analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 109, n. 2, p. 297–314, 2019.

TRAORET, C. J. et al. Peanut digestion and energy balance. **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 2, p. 322–328, 2008.

TREMMELE, M. et al. Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 4, p. 435, 2017.

TRUMBO, P. et al. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621–1630, nov. 2002.

VAN VLIET, S. et al. Obesity Is Associated With Increased Basal and Postprandial β -Cell Insulin Secretion Even in the Absence of Insulin Resistance. **Diabetes**, v. 69, n. 10, p. 2112–2119, 2020.

VAZ DE MELO RIBEIRO, P. et al. Effect of a Nutritional Intervention, Based on Transtheoretical Model, on Metabolic Markers and Food Consumption of Individuals Undergoing Hemodialysis. **Journal of Renal Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 430–439, set. 2020.

VIGUILIOUK, E. et al. Effect of tree nuts on glycemic control in diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled dietary trials. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e103376, jan. 2014.

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal polynomials. [s.l: s.n.]. v. 44

VIRDIS, A. Endothelial Dysfunction in Obesity: Role of Inflammation. **High Blood**

Pressure & Cardiovascular Prevention, v. 23, n. 2, p. 83–85, 2016.

WHO. **BMI classification**.

WHO. **Obesity and overweight**.

WISHNOFSKY, M. Caloric Equivalents of Gained or Lost Weight. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 6, n. 5, p. 542–546, 1 set. 1958.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fact Sheet Obesity and overweight**.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Report on Diabetes. **Isbn**, v. 978, p. 88, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. **World Health Organization**, v. 1, n. 1, p. 55, dez. 2020.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION et al. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 310, n. 20, p. 2191–4, nov. 2013.

WORMSER, D. et al. Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. **Lancet**, v. 377, n. 9771, p. 1085–95, 2011.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1573–1580, dez. 2009.

ZHOU, D. et al. Nut consumption in relation to cardiovascular disease risk and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 270–277, 2014.

ZULET, M. A. et al. Dietary selenium intake is negatively associated with serum sialic acid and metabolic syndrome features in healthy young adults. **Nutrition research (New York, N.Y.)**, v. 29, n. 1, p. 41–8, jan. 2009.

APÊNDICE A: Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

ESTUDO castanhas brasileiras

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A Sra. está sendo convidada como voluntária a participar da pesquisa “Efeito do consumo diário de castanhas brasileiras sobre redução do peso e composição corporal, metabolismo energético, apetite, ingestão alimentar, reguladores metabólicos e marcadores genéticos”. Nesta pesquisa nós pretendemos avaliar o efeito de uma dieta reduzida em calorias associada ao consumo diário de amêndoas de castanhas brasileiras sobre a perda de peso e regulação metabólica em mulheres adultas com excesso de peso e risco cardiometabólico. O motivo que nos leva a estudar as amêndoas brasileiras é o grande valor nutricional desses alimentos e seus prováveis benefícios para a saúde.

Esse estudo terá duração de 8 semanas e a coleta dos dados será realizada ao início, durante e ao final do estudo. Ao longo desse período a Sra. seguirá uma dieta reduzida em calorias, a qual poderá ou não ser acompanhada da ingestão de castanhas brasileiras fornecidas quinzenalmente pelos pesquisadores. Além disso, enquanto participar do estudo a Sra. deverá manter o nível de atividade física habitual e evitar o consumo de bebida alcoólica.

Ao iniciar e ao finalizar sua participação no estudo, a Sra. deverá comparecer ao laboratório em duas ocasiões. Na primeira será realizado o teste de permeabilidade intestinal e na segunda as demais avaliações do estudo. Em ambos os dias será necessário a realização de jejum noturno de 10-12 horas. Nas noites anteriores à realização do jejum, a Sra. deverá consumir um jantar padrão (sanduíche e suco), fornecido pelos pesquisadores. No dia do teste de permeabilidade intestinal, a Sra. comparecerá ao laboratório em jejum, onde fará a ingestão de uma bebida contendo açúcares. Em seguida, deverá permanecer no laboratório por um período de 4 horas, durante o qual serão coletadas amostras de urina em um frasco apropriado. Ao final do teste, será fornecido um almoço e a Sra. será liberada para suas atividades habituais.

No segundo dia de testes, a Sra. também deverá comparecer ao laboratório após jejum (10-12 horas) e fará a ingestão de uma bebida contendo ou não amêndoas de castanhas brasileiras. Em seguida, permanecerá no laboratório por cerca de 6 horas, e após, também receberá um almoço fornecido pelos pesquisadores. Nesse dia será realizado a avaliação do peso, altura, gordura corporal, gasto de energia e coleta de amostras de urina durante o período de permanência no laboratório e de sangue (20 mL) em jejum e 1, 2 e 4 horas após o desjejum. Nessa ocasião, como parte dos procedimentos da pesquisa, a Sra. responderá a questionários estruturados contendo perguntas sobre sua história clínica e socioeconômica, hábitos alimentares, nível de atividade física, comportamento frente ao alimento e qualidade do sono, com tempo e aplicação previsto em 1 hora. Ademais, as amostras de fezes deverão ser entregues ao início e ao final do estudo, em um dia de sua escolha. A partir dos dados e amostras coletadas durante o estudo, serão realizadas análises sanguíneas completas, avaliação de micro-organismos intestinais e atividade de genes relacionados com inflamação, estresse oxidativo e metabolismo.

Todos procedimentos invasivos indispensáveis ao estudo serão realizados por profissionais treinadas, minimizando ao máximo eventuais riscos e desconfortos. A coleta de sangue será realizada por um técnico em enfermagem, utilizando apenas materiais descartáveis, sendo possível uma sensação incômoda ou dolorida na hora de inserir a agulha e formação de hematomas no local da entrada da agulha algumas horas após o teste. O técnico em enfermagem será orientado a ser o mais preciso possível para evitar estes incômodos. No caso de eventuais complicações no momento da punção venosa, serão prestados os primeiros socorros no local pelo técnico em enfermagem e, caso haja necessidade, a Sra. será encaminhado para a Divisão de Saúde para demais cuidados. O uso da bioimpedância elétrica para avaliação da gordura corporal é desaconselhada a pessoas que possuam marca-passo ou quaisquer aparelhos eletrônicos semelhantes, pinos, placas metálicas e gestantes. Na ausência dessas restrições, a realização do exame de bioimpedância elétrica não está associado a prejuízos à saúde. Durante a realização das sessões de calorimetria indireta (Deltatrac) para avaliação do gasto de energia, a Sra. deverá permanecer deitada em decúbito dorsal (de costas) em uma maca, por um período de 30 minutos/sessão, movendo-se o mínimo possível. Esse procedimento será realizado em uma sala fechada, com temperatura controlada, e será permitido assistir televisão, caso a Sra. deseje. Os alimentos fornecidos no estudo serão elaborados com matéria prima de boa procedência e qualidade, os quais serão bem acondicionados visando manutenção da qualidade nutricional e microbiológica.

Para evitar qualquer tipo de constrangimento no momento da aferição das medidas e preservar a sua privacidade a avaliação antropométrica será realizada em uma sala fechada, silenciosa, por um profissional treinado. Durante a aplicação dos questionários, a Sra. poderá deixar de responder a uma ou a um conjunto de perguntas caso sinta-se constrangida, sem que isso traga qualquer alteração na relação de tratamento por parte dos pesquisadores. Da mesma forma, as amostras biológicas de fezes e urina serão coletadas e entregues em frascos adequados, fornecidos pelos pesquisadores, e sem identificação nominal.

Quanto aos benefícios, a Sra. terá seu estado nutricional avaliado e receberá um plano alimentar individualizado, visando a redução de peso corporal. Além disso, tanto o consumo de castanhas quanto a dieta restrita em calorias estão associados a benefícios à saúde. Ainda, a Sra. terá acesso aos seus dados de avaliação antropométrica, composição corporal e exames bioquímicos. Ao final do estudo, a Sra. receberá um novo plano alimentar individualizado, visando a manutenção de hábitos alimentares saudáveis e a adequação dos marcadores bioquímicos que se apresentarem fora dos níveis de normalidade.

Para participar deste estudo a Sra. não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, diante de eventuais danos, identificados e comprovados, decorrentes da pesquisa, a Sra. tem assegurado o direito à indenização. A Sra. tem garantida plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem necessidade de comunicado prévio. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na

forma em que a Sra. é atendida pelos pesquisadores. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. A Sra. não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar. Seu nome ou o material que indique sua participação não serão liberados sem a sua permissão.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no “Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC - UFV)” e a outra será fornecida à Sra.

Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de “cinco anos” após o término da pesquisa. Depois desse tempo, os mesmos serão destruídos.

Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade, atendendo à legislação brasileira, em especial, à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, e utilizarão as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, contato _____, fui informada dos objetivos da pesquisa **“Efeito do consumo diário de castanhas brasileiras sobre redução do peso e composição corporal, metabolismo energético, apetite, ingestão alimentar, reguladores metabólicos e marcadores genéticos”** de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer minhas dúvidas.

Pesquisadores Responsáveis:

Dra. Josefina Bressan – 31 38992692
 Dra. Helen Hermana Miranda Hermsdorff – 31 38991269
 Ana Paula Silva Caldas – 31 38993388
 Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha - 31 38993388

Endereço: Av. P.H. Rolfs s/n. Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC), Departamento de Nutrição e Saúde, Centro de Ciências Biológicas II, sala 50, 6º andar. Campus Universitário. Viçosa/MG.

Telefone: (31) 3988-3388

E-mail: castanhasbrasilas@gmail.com

Em caso de discordância ou irregularidades sob o aspecto ético desta pesquisa, a Sra. poderá consultar:

CEP/UFV – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
 Universidade Federal de Viçosa
 Edifício Arthur Bernardes, piso inferior
 Av. PH Rolfs, s/n – Campus Universitário
 Cep: 36570-900 Viçosa/MG
 Telefone: (31)3899-2492
 Email: cep@ufv.br
 www.cep.ufv.br

Viçosa, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B: Questionário de triagem telefônica

ESTUDO castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO TRIAGEM TELEFÔNICA (Folha 1/2)

Preencher TODAS as perguntas independentemente da presença de um critério de exclusão.

"Bom dia/ Boa tarde, meu nome é _____ e faço parte do laboratório LAMECC do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV) no qual desenvolvemos projetos de pesquisa em nutrição. Atualmente nós estamos recrutando MULHERES com excesso de peso com interesse em participar de um estudo de acompanhamento nutricional para emagrecimento. Para saber se você preenche os critérios de inclusão do estudo, gostaríamos que você nos respondesse algumas perguntas. Isso levará aproximadamente 5 minutos."

Nome: _____ Data de aplicação: ____/____/____
Idade (anos): _____ () 20 a 55 anos () < 20 anos ou > 55 anos — exclusão
Peso (kg): _____ Altura (m): _____ IMC (kg/m²): _____
IMC ≥ 27 kg/m²: () SIM () NÃO — exclusão

(SE NÃO ATENDER AOS CRITÉRIOS, PERGUNTAR:)

"Agradecemos o seu contato, mas, infelizmente você/a sra não atende aos critérios para participação do estudo. Mas, gostaríamos de saber se você/a sra tem interesse em manter o contato para futuros projetos de pesquisa?":

() NÃO () SIM – Preencher informações abaixo, e anotar CONTATO

(SE ATENDER TODOS NOSSOS CRITÉRIOS, CONTINUAR:)

Você está fazendo dieta ou restrição calórica? () NÃO () SIM — exclusão
Você ganhou ou perdeu peso, nos últimos 3 meses? () NÃO
SIM: _____ kg () < 5% Peso usual () > 5% Peso usual — exclusão
Atleta, *crossfit* ou atividade intensa/vigorosa: () NÃO () SIM — exclusão
Hábito de fumar: () NÃO () SIM — exclusão
Usa medicamento (corticoide, outros): () NÃO () SIM, Qual (is)? _____
() uso momentâneo () uso contínuo — exclusão se afetar algum parâmetro das pesquisa
Faz uso de suplementos (vitaminas, minerais, ômega 3)? () NÃO () SIM — exclusão
Alguma doença ou alteração no TGI (vesícula, refluxo, má digestão): () NÃO () SIM — exclusão
Apresenta DMI ou utiliza insulina: () NÃO () SIM — exclusão
Uso de marcapasso: () NÃO () SIM — exclusão
Gestante ou amamentando ou menopausa : () NÃO () SIM — exclusão
Alergia, intolerância ou aversão à leite, castanhas: () NÃO () SIM — exclusão
Disponibilidade no período da manhã (3 dias não consecutivos): () NÃO — exclusão () SIM

(SE NÃO ATENDER TODOS CRITÉRIOS, PERGUNTAR:)

"Agradecemos o seu contato, mas, infelizmente você/ o (a) sr(a) não atende aos critérios para participação do estudo. Mas, gostaríamos de saber se você/ o (a) sr(a) tem interesse em manter o contato para futuros projetos de pesquisa?":

() NÃO () SIM – Preencher informações abaixo em CONTATO

(SE ATENDER A TODOS CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:)

"_____ (nome da voluntária), de acordo com as suas respostas eu observei que você/ a sra é uma possível voluntária para a nossa pesquisa. Eu gostaria de agendar uma entrevista para explicar detalhadamente a você/ a sra sobre o nosso projeto e confirmar a sua participação."

(Preencha o CONTATO, abaixo, e siga para "Orientações Telefônicas")

CONTATO:

Elegível para o estudo? () NÃO — exclusão () SIM

Telefone (operadora): _____ e-mail: _____

Melhor horário para entrar em contato: _____

OBS.: _____

ESTUDO castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO TRIAGEM TELEFÔNICA (Folha 2/2)

ORIENTAÇÕES TELEFÔNICAS:

“Eu gostaria de lembrá-la que para participar, você deverá ter disponibilidade de comparecer ao laboratório inicialmente, em 3 momentos, sendo necessária uma disponibilidade de 60 minutos no primeiro encontro e de 2 manhãs inteiras (de 7h às 13h) em dias não consecutivos nos outros dois encontros, os quais poderão ser agendados inclusive aos finais de semana.

No primeiro encontro será realizada uma avaliação antropométrica e a aplicação de questionários para verificar se você/ a sra se enquadra em todos os critérios desta pesquisa. Como informado, esse encontro terá uma duração média de 60 minutos, e preciso que você me informe os dias e horários disponíveis para agendá-lo.”

Verificar agenda (Google Agenda). Anotar:

Triagem: Nome do voluntário (telefone e operadora) – Caso tenha alguma observação, colocar OBS na frente do nome e descreva a mesma (ex. checar IMC limítrofe).

Exemplo: Triagem: Maria Aparecida (31 9999-9999 vivo)

“ _____ (nome do voluntário) a sua entrevista ficou agendada para o dia _____ às _____ horas no LAMECC (Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal) que fica na sala 50, no 6º andar do Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) no prédio Centro de Ciências Biológicas II (CCBII) - em frente ao AGROS.

É importante que você/ a sra siga algumas recomendações. Caso necessário, por favor, anote-as:

Você/ a sra deve estar com 3 a 4 horas de jejum, ou seja, nesse período somente pode beber água e tomar remédios.

Assim, recomendamos que sua última refeição seja às _____ horas.

Você não deve consumir bebidas alcoólicas e cafeína (café, chá, refrigerante, chocolate) 24h antes da avaliação.

Além disso, você/ a sra não deverá realizar atividade física ou esforços físicos 24h antes da avaliação.

Em caso de uso de medicamentos, favor trazer receituário ou as caixas dos remédios.

Ainda, nesse dia você/ a sra não podem estar no período menstrual.

Por favor, venha ou traga roupa leves (short/bermuda e camiseta).

Em caso de dúvidas entre em contato pelo telefone: 3899-3388 (com Ana Paula, Brenda, Daniela).

Caso você/ a sra não possa comparecer, por gentileza, nos avise para que possamos marcar outro voluntário no lugar e reagendar a sua entrevista.

As orientações passadas também serão enviadas por e-mail e/ou telefone.

Você/ a sra tem alguma dúvida?

Então, gostaria de agradecer a sua atenção e disponibilidade. Muito obrigada (o), e tenha bom dia/boa tarde.”

AO FINAL DA LIGAÇÃO,

REGISTRAR O CONTATO TELEFÔNICO (CADERNO DE RECRUTAMENTO).

Nome do pesquisador que aplicou a triagem: _____

APÊNDICE C: Questionário de triagem presencial

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: TRIAGEM PRESENCIAL (Folha 1/3)

I. IDENTIFICAÇÃO		
Data de aplicação: ____/____/____ Pesquisador responsável: _____		
Nome: _____		Data de nascimento: ____/____/____
Idade: _____ Se idade < 20 anos ou > 55 anos, exclusão		
E-mail: _____		Endereço: _____
Complemento: _____ CEP: _____ Fone: () _____ / () _____		
II. ANTROPOMETRIA E COMPOSIÇÃO CORPORAL		
Peso usual (kg): _____	Peso (kg): _____	Ganho/perda 5% peso (3 m): () NÃO () SIM - exclusão
Altura (m): _____	IMC (kg/m ²): _____	27 kg/m ² < IMC: () NÃO () SIM - exclusão
PC umbilical (cm): _____	PQ (cm): _____	PC < 80 cm: () NÃO () SIM - exclusão
PPescoço (cm): _____		
Gordura (%): _____	Gordura (kg): _____	GC < 32 %: () NÃO () SIM - exclusão
TMB (Kcal/dia): _____	MM (kg): _____	
Água (L): _____	Água (% peso): _____	
III. PRESSÃO ARTERIAL E EXAMES BIOQUÍMICOS		
PAS (mmHg): _____	PAD (mmHg): _____	>130 e/ou >85 mmHg ou medicação:
Medicamento para HAS: () NÃO () SIM		() NÃO () SIM - tem fator de risco
Glicemia (mg/dL): _____	Hipoglicemiante: () NÃO () SIM	>100 mg/dL ou hipoglicemiante ou DM2: () NÃO () SIM - tem fator de risco
	Insulina: () NÃO () SIM - exclusão	
DM: () NÃO () SIM, tipo 1 — exclusão () SIM, tipo 2		
Triglicerídeo (mg/dL): _____	Medicamento (sinvastatina): () NÃO () SIM	≥150 mg/dL ou medicamento: () NÃO () SIM - tem fator de risco
Apresenta excesso de peso mais um fator de risco adicional? () NÃO - EXCLUIR () CONFIRMAR, <u>solicitar exames</u> , e continuar triagem		
IV. HISTÓRIA CLÍNICA		
1.	Você / a sra. fuma ou já fumou?	
	() Não fumante	
	Ex Fumante há:	
	() mais de 1 ano () < 1 ano - exclusão	
	() Fumante - exclusão	
2.	Você é atleta, pratica crossfit ou faz atividade física intensa/vigorosa: () NÃO () SIM - exclusão	
3.	Você é gestante ou está amamentando ou está na menopausa: () NÃO () SIM - exclusão	
4.	Você planeja engravidar num futuro próximo (nos próximos 3 meses): () NÃO () SIM - exclusão	
5.	Você tem algum problema de dentição ou mastigação (próteses, aparelho): () NÃO () SIM - exclusão	
6.	Atualmente, você faz uso de algum medicamento (incluindo anticoncepcionais)? Qual (is)? Liste também os medicamentos utilizados no último mês.	

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: TRIAGEM PRESENCIAL (Folha 2/3)

14.	Atualmente, você faz uso de algum medicamento (incluindo anticoncepcionais)? Qual (is)? Liste também os medicamentos utilizados no último mês.			
	Medicamentos	Posologia		Tempo de uso
		Dosagem	Frequência	Razão para o uso

15.	Você / a sra. já apresentou ou têm alguma das seguintes doenças?		
	Doenças/Alterações	NÃO	SIM (exclusão)
	Alergia (ex. cutânea, respiratória, alimentar, outras)		
	Anorexia/Bulimia		
	Bronquite/Asma		
	Câncer		
	Doença cardiovascular (ex. ataque cardíaco, derrame, insuficiência coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, AVC, infarto agudo do miocárdio, etc)		
	Doença celíaca, doença intestinal crônica, alterações no TGI (ex. retirada de vesícula)		
	Doença renal		
	Doenças/ alterações neurológicas ou psiquiátricas (ex. esquizofrenia, transtorno de ansiedade, depressão)		
	Hipoglicemia		
	HIV/Aids		
	Tireoidopatias (ex. hipo ou hipertireoidismo)		
	Outras doenças crônicas (que afetem o estudo)		

V. HISTÓRIA DIETÉTICA			
16.	Você apresenta alergia, intolerância ou aversão a alimentos como, castanhas, leite e derivados, como creme de leite, macarrão e outros: () NÃO () SIM - exclusão		
17.	Você pratica algum tipo de restrição alimentar de cunho religioso (promessa): () NÃO () SIM - exclusão		
18.	Você consome castanhas: : () NÃO () SIM, esporadicamente () SIM, todos os dias (>30g) - exclusão		
19.	Você está seguindo alguma dieta, restrição ou faz acompanhamento nutricional: () NÃO () SIM - exclusão		
20.	Você faz uso de suplemento (vitaminas, minerais, ômega 3, proteína ou outros?): () NÃO () SIM - exclusão		
21.	Qual quantidade e frequência do consumo de bebidas alcóolicas?		
	Bebida	Unidade (s)	Frequência
			g álcool
	Cerveja		
	Cachaça/Caipirinha		
	Vinho		
	Whisky		
	Vodka		
	Outro? Qual?		
() Consumo de álcool < 23g/dia () Consumo de álcool >= 23g/dia - exclusão			

ESTUDO castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: TRIAGEM PRESENCIAL (3/3)

22.	Indique as horas do dia em que você consome refeições e lanches. Coloque a letra R para refeições e L para lanches.											
AM (manhã e início da tarde)												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
PM (dia e noite)												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	

II. DADOS SOCIOECONÔMICOS E DEMOGRÁFICOS

3. Escolaridade:

☐ **Analfabeto - exclusão**
☐ Fundamental Incompleto
☐ Médio Incompleto
☐ Superior Incompleto
☐ Pós-graduação Incompleto
☐ **Profissão:** _____

☐ Sabe ler e escrever
☐ Fundamental Completo
☐ Médio Completo ☐ Técnico
☐ Superior Completo
☐ Pós-graduação Completo

I Raça

☐ Branca
 ☐ Preta
 ☐ Parda
 ☐ Amarela
 ☐ Indígena
 ☐ Outro

2. Estado civil:

☐ Solteira
 ☐ Casada ou união estável
 ☐ Divorciada
 ☐ Viúva

4. Renda Familiar

☐ Até R\$ 937,00 (1 salário)
☐ R\$ 937,01 – 1.874,00 (1 a 2 salários)
☐ R\$ 1.874,01 – 2.811 (2 a 3 salários)

☐ R\$ 2.811,01 – 4.685,00 (3 a 5 salários)
☐ R\$ 4.685,01 – 9.370,00 (5 a 10 salários)
☐ R\$ 9.370,01 – 18.740,00 (10 a 20 salários)
☐ R\$ 18.740,01 ou mais (> 20 salários)

Quantas pessoas vivem na sua casa (incluindo o voluntário)? _____

APÊNDICE D: Cartilha de orientações – *run-in*

Quem pode participar do estudo?

Mulheres adultas (20 a 55 anos) com excesso de peso, que estão a procura de acompanhamento nutricional para emagrecimento, e que apresentem alteração na pressão arterial ($\geq 130/\geq 85$ mmHg ou antihipertensivo), na glicemia (≥ 100 mg/dL ou medicação hipoglicemiante) ou triglicerídeos (≥ 150 mg/dL ou medicação).



LEMBRETES:

- No dia da visita, lembre-se:
- Trazer a garrafa contendo a urina para o laboratório no dia da visita.
- Por favor, venha ou traga roupas leves (short/bermuda e camiseta).

ATENÇÃO: No dia da visita você não pode estar no período menstrual.

Não podem participar:

- Mulheres gestantes, lactantes ou na menopausa.
- Alérgicas ou intolerantes a leite, castanhas, nozes e amendoim.

Se conhecer que esteja interessado no estudo, nos ajude a divulgar: peça para entrar em contato conosco!

ESTUDO castanhas brasileiras

Av. P.H. Rolfs s/n.
Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC),
Departamento de Nutrição e Saúde, Centro de Ciências Biológicas II,
Sala 50, 6º andar
3899-3388

castanhasbrasilas@gmail.com
Facebook/LAMECCUFV

Equipe Coordenadora:

Dra. Josefina Bressan

Dra. Helen Hermana Miranda Hermsdorff

Orientações para iniciar sua participação no estudo

Antes de iniciar sua participação no estudo é muito importante que você siga algumas orientações:

✓ Mantenha a sua alimentação habitual

É importante lembrar, que não deverão ser realizadas restrições alimentares de cunho religioso (promessas).

✓ Mantenha a sua atividade física habitual

Mantenha o mesmo nível de atividade física habitual, incluindo atividades domésticas.

Não altere ou inicie uma atividade física regular.

Ainda, antes de iniciar sua participação no estudo, você **NÃO DEVE** consumir:

- Azeite de oliva
- Bebidas alcoólicas
- Castanhas, nozes e amendoim
- Suplementos vitamínicos e minerais ou ômega 3

Durante esse período, também, não fume.



Sabemos da importância, mas, nesse período não é aconselhável a doação de sangue.

Em caso de alteração na sua alimentação, atividade física e hábitos diários, por favor, nos avise. Também nos comunique em caso de surgimento de doenças, alergias e gripes, e mudanças na medicação.

Na sua **PRÓXIMA VISITA** ao laboratório...

No dia ____ / ____ / ____, você deverá:

- Comparecer no laboratório às 6:40 h em jejum. Sendo permitido nesse período o consumo apenas de água e remédios de rotina.
- A sua última refeição do dia deverá ser um sanduíche de frango com suco de uva, fornecido pela nossa equipe.
- Recomendamos que essa **refeição** seja consumida entre **20:00 - 22:00 horas**.

Nos **DOIS DIAS ANTERIORES (48h)** a visita, você não deve consumir:

- Açai
- Bebidas alcoólicas
- Cafeína (café, chás de todos os tipos, refrigerante, chocolate, achocolatado)
- Frutas secas (damasco, ameixa seca, uva passas, cranberry e outros), uva, laranja e suco de frutas natural
- Castanhas, nozes e amendoim
- Termogênicos (pimenta, canela)

Ainda, você não deverá realizar atividade física ou esforço físico intenso no dia anterior (24h antes da visita).

Retirada da refeição:

- Marque um horário com nossa equipe para retirada da sua refeição no dia anterior a visita.
- Nesse dia, você receberá o lanche e uma garrafa para coleta de urina.

Você deverá seguir os seguintes passos para coleta de urina:

1. Esvazie a bexiga, mesmo que não esteja com vontade, imediatamente após o consumo da refeição que nós fornecemos (sanduíche + suco). Essa urina deverá ser desprezada (não será coletada).
2. A partir daí, toda vez que for ao banheiro, coletar a urina em copo descartável e armazenar na garrafa fornecida. (Se você levantar a noite para ir ao banheiro, lembre-se que essa urina também deverá ser coletada).
3. No dia seguinte, continuar a coleta de urina, incluindo a primeira urina do dia e as subsequentes até a chegada ao laboratório.

IMPORTANTE: armazenar a garrafa contendo a urina na geladeira.

APÊNDICE E: Registro alimentar de 24 horas

ESTUDO
castanhas brasileiras

REGISTRO ALIMENTAR: ORIENTAÇÕES

I. IDENTIFICAÇÃO

Data de aplicação: ____/____/____ Pesquisador responsável: _____

Iniciais (nome): _____ Grupo: _____ Nº ID: _____

Preenchimento do Registro Alimentar

- Quando você relatar um alimento ou bebida seja o mais claro e preciso possível. Forneça o máximo de informações sobre os alimentos. Cite marcas em casos de produtos industrializados e tamanho das porções. No caso de receitas caseiras, cite os ingredientes utilizados, por exemplo, molhos e coberturas com leite, creme de leite, algum tipo de espessante (farinha de trigo, maisena).
- Anote também o tipo de alimento (integrais ou não, diet ou light, integral, desnatado ou semidesnatado).
- Relate se as bebidas como café e suco são adoçadas com açúcares (refinado, cristal, mascavo) ou adoçantes (marca) e indique a quantidade ou proporção.
- Cite a forma de preparo de carnes (assada, cozida, frita, grelhada, milanesa) e hortaliças (crua, cozida, frita, ensopada, refogada), e se foram consumidas com azeite, maionese, margarina, *ketchup*.
- Anote tudo no momento em que estiver comendo. Não deixe para anotar depois que tiver acabado de comer. Observe quanto foi servido de cada alimento ou bebida e se consumiu tudo que foi servido ou se sobrou aí anote a quantidade consumida.
- Anote todos os alimentos e bebidas que consumir o dia inteiro, incluindo até mesmo balas, doces, chicletes.
- Informe com precisão, sempre que possível, o peso dos alimentos e o volume dos líquidos ingeridos.
- Coloque o tamanho dos alimentos (pequeno, médio e grande) caso não saiba o peso. Ex: uma banana média; 1 fatia grande de bolo de chocolate sem cobertura e recheio.
- Descreva as quantidades em medidas caseiras, como colher era de sopa, chá, sobremesa, ou de servir, se estava rasa ou cheia ou outras formas de medida utilizando utensílios domésticos. O mesmo vale para conchas, escumadeiras, copos (duplo/ americano), pratos (fundo/raso) e xícaras.

Ex.: 4 colheres de sopa de arroz branco cozido
1 unidade de maçã pequena
1 xícara de café adoçado com 1 colher de chá de açúcar

Obrigado!

Qualquer dúvida entre em contato.

Laboratório LAMECC (3899-3388)

ESTUDO
castanhas brasileiras

REGISTRO ALIMENTAR

I. IDENTIFICAÇÃO

Data de aplicação: ____/____/____ Pesquisador responsável: _____

Iniciais (nome): _____ Grupo: _____ Nº ID: _____

Data: ____/____/____ () seg () ter () qua () qui () sex () sáb () dom

	ALIMENTOS	MEDIDA CASEIRA	QUANT (g)
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			

APÊNDICE F: Composição nutricional do jantar padrão

Tabela 2. Composição nutricional do jantar padrão (sanduíche de frango com suco de uva).

Alimentos	Qtde (g/mL)	Energia (kcal)	Proteína (g)	Lipídios (g)	Carboidratos (g)	Fibra Alimentar (g)
Requeijão	45,00	116,40	4,3	10,50	1,10	-
Frango cozido	100,00	119,00	21,5	3,00	-	-
Cenoura	24,00	8,16	0,31	0,04	1,84	0,76
Pão de forma	50,00	126,50	4,7	1,85	24,95	3,45
Milho verde	24,00	84,20	0,1	-	20,9	0,20
Molho de tomate	12,50	5,20	0,12	-	0,95	0,18
Óleo de soja	1,00	8,80	-	1,00	-	-
Cebola	10,00	3,90	0,17	0,01	0,89	0,22
Sal	0,50	-	-	-	-	-
Suco de uva	200,00	104,00	-	-	26,00	-
TOTAL	467,00	576,16	31,20	16,40	76,63	4,81

APÊNDICE G: Composição nutricional das bebidas testes e controle

Tabela 3. Composição nutricional das bebidas testes e controle para estudo pós-prandial.

Bebida	Alimentos	Quantidade (g/mL)	Energia (kcal)	Proteína (g)	Lipídios (g)	Carboidratos (g)	Fibra Alimentar (g)	Carboidrato disponível (g/mL)
Bebida sem castanhas (controle)	Água	300,00	-	-	-	-	-	-
	Leite em pó desnatado	40,00	143,73	13,88	0,37	21,22	-	21,22
	Óleo de soja	22,70	204,30	-	22,70	-	-	-
	Açúcar	10,00	39,97	0,03	-	9,96	-	9,96
	Whey Protein concentrado	7,00	27,53	4,20	0,47	1,63	-	1,63
	Amido de milho	6,00	21,49	0,04	0,05	5,23	0,04	5,18
	Essência de avelã (gotas)	4,00	-	-	-	-	-	-
	Corante marrom chocolate (gotas)	4,00	-	-	-	-	-	-
	TOTAL	385,70	437,03	18,14	23,59	38,04	0,04	37,99
Bebida com castanhas (teste)	Água	300,00	-	-	-	-	-	-
	Castanha de Caju	30,00	182,13	5,55	13,88	8,74	1,10	7,64
	Leite em Pó Desnatado	30,00	107,80	10,41	0,28	15,91	-	15,91
	Castanha-do-brasil	15,00	103,44	2,18	9,52	2,26	1,19	1,07
	Açúcar	11,00	43,97	0,04	-	10,96	-	10,96
	TOTAL	386,00	437,34	18,18	23,68	37,87	2,29	35,58

APÊNDICE H: Artigos científicos publicados e desenvolvidos no doutorado

1. FRAIZ, G. M.; DA CONCEIÇÃO, A. R.; DE SOUZA VILELA, D. L.; **ROCHA, D. M. U. P.**; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M. Can resveratrol modulate sirtuins in obesity and related diseases? A systematic review of randomized controlled trials. **European Journal of Nutrition**, v. 60, n. 6, p. 2961–2977, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02623->
2. COSTA, M. A. de C.; HERMSDORFF, H. H. M.; CALDAS, A. P. S.; **ROCHA, D.M.U.P.**; DA SILVA, A.; DE OLIVEIRA, L. L.; BRESSAN, J. Acute consumption of a shake containing cashew and Brazil nuts did not affect appetite in overweight subjects: a randomized, cross-over study. **European Journal of Nutrition**, n. 0123456789, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02560-w>
3. CALDAS, A. P. S.; **ROCHA, D. M. U. P.**; BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M. Dietary fatty acids as nutritional modulators of sirtuins: A systematic review. **Nutrition Reviews**, v. 79, n. 2, p. 235–246, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa007>
4. DA SILVA, A.; CALDAS, A. P. S.; **ROCHA, D. M. U. P.**; BRESSAN, J. Triglyceride-glucose index predicts independently type 2 diabetes mellitus risk: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Primary Care Diabetes**, v. 14, n. 6, p. 584–593, 2020 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pcd.2020.09.001>
5. DE ALMEIDA, A. P.; **ROCHA, D. M. U. P.**; MOREIRA, A. V. B.; MORAES E LIMA, H. C. F.; HERMSDORFF, H. H. M. Personalized Nutrition Using PROCARDIO to Reduce Cardiometabolic Risk in the Academic Community: A Study Protocol with Preliminary Results. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 39, n. 7, p. 591–600, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07315724.2019.1706663>
6. COELHO, O.; **ROCHA, D.M.U.P.**; SILVA, B. P. da; SILVA, A.; CALDAS, A. P.; ALMEIDA, A.; RIBEIRO, P.; ALFENAS, R. Effect of Chia (*Salvia hispanica* L.) Flour on Glycemic Response and Energy Intake in Healthy Adults (P06-099-19). **Current Developments in Nutrition**, v. 3, n. Supplement_1, p. 617, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cdn/nzz031.p06-099-19>

7. SILVEIRA, B. K. S.; NOVAES, J. F. de; VIEIRA, S. A.; **ROCHA, D. M. U. P.**; LEAL, A. C. G.; HERMSDORFF, H. H. M. Sociodemographic characteristics and dietary patterns in cardiometabolic risk subjects. **British Food Journal**, v. 121, n. 11, p. 2780–2790, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1108/BFJ-04-2019-0259>
8. **ROCHA, D. M. U. P.**; CALDAS, A. P. S.; DA SILVA, B. P.; HERMSDORFF, H. H. M.; ALFENAS, R. de C. G. Effects of blueberry and cranberry consumption on type 2 diabetes glycemic control: A systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, England, v. 59, n. 11, p. 1816–1828, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1430019>
9. CÂNDIDO, F. G.; VALENTE, F. X.; GRZEŚKOWIAK, Ł. M.; MOREIRA, A. P. B.; **ROCHA, D. M. U. P.**; ALFENAS, R. de C. G. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 125–143, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1343286>
10. **ROCHA, D. M. U. P.**; RIBEIRO, P. V. de M.; CALDAS, A. P. S.; DA SILVA, B. P.; DA SILVA, A.; DE ALMEIDA, A. P.; DA SILVA, N. B. M.; MACHADO, A. M.; ALFENAS, R. de C. G. Acute consumption of yacon shake did not affect glycemic response in euglycemic, normal weight, healthy adults. **Journal of Functional Foods**, v. 44, p. 58–64, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.029>

APÊNDICE I: Capítulos de livro publicados e desenvolvidos no doutorado

1. MOURÃO, D. M.; **ROCHA, D. M. U. P.**; CALDAS, A. P. S.; BRESSAN, J. Avaliação da Ingestão e do Comportamento Alimentar In: Tratado de Obesidade.3 ed.: Grupo GEN, 2020, p. 187-201.
2. SILVEIRA, B. K. S.; **ROCHA, D. M. U. P.**; RIBEIRO, P. V. M.; HERMSDORFF, H. H. M. Fisiopatologia e Dietoterapia na Doença Celíaca, nas Alergias e nas Intolerâncias Alimentares In: Fisiopatologia da Nutrição e Dietoterapia.1 ed.: RUBIO, 2020, p. 625-654.
3. CALDAS, A. P. S.; **ROCHA, D. M. U. P.**; HERMSDORFF, H. H. M.; BRESSAN, J. Inflamação e Estresse Oxidativo no Desenvolvimento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis In: Genômica Nutricional nas Doenças Crônicas Não Transmissíveis.1 ed.: RUBIO, 2019, p. 67-82.
4. HERMSDORFF, H. H. M.; **ROCHA, D. M. U. P.**; REIS, N. A.; OLIVEIRA, A. M. Genômica Nutricional e Fatores de Risco Cardiometabólico In: Nutrição em Cardioendocrinologia.1 ed.: RUBIO, 2018, p. 319-334.
5. **ROCHA, D. M. U. P.**; HERMSDORFF, H. H. M. Genética em Estudos Epidemiológicos In: Epidemiologia Nutricional.1 ed.: Fio Cruz (**no prelo**).

ANEXO A: Questionário sobre o comportamento alimentar

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: TFO-21 (Folha 1/2)

I. IDENTIFICAÇÃO

Data de aplicação: ____/____/____ Pesquisador responsável: _____

Iniciais (nome): _____ Grupo: _____ Nº ID: _____

Esta seção contém declarações e perguntas sobre hábitos alimentares e sensação de fome.

Leia cuidadosamente cada declaração e responda marcando a alternativa que melhor se aplica a você.

1. Eu deliberadamente consumo pequenas porções para controlar meu peso. **7.** Quando me sinto tenso ou estressado, frequentemente sinto que preciso comer.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

2. Eu começo a comer quando me sinto ansioso.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

8. Frequentemente sinto tanta fome que meu estômago parece um poço sem fundo.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

3. Às vezes, quando começo a comer, parece-me que não conseguirei parar.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

9. Eu sempre estou com tanta fome, que me é difícil parar de comer antes de terminar toda a comida que está no prato.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

4. Quando me sinto triste, frequentemente como demais.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

10. Quando me sinto solitário (a), me consolo comendo.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

5. Eu não como alguns alimentos porque eles me engordam.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

11. Eu conscientemente me controlo nas refeições para evitar ganhar peso.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

6. Estar com alguém que está comendo, me dá frequentemente vontade de comer também.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

12. Quando sinto o cheiro de um bife grelhado ou de um pedaço suculento de carne, acho muito difícil evitar de comer, mesmo que eu tenha terminado de comer há muito pouco tempo.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO:TFQ-21 (Folha 2/2)

I. IDENTIFICAÇÃO

Data de aplicação: ____/____/____ Pesquisador responsável: _____

Iniciais (nome): _____ Grupo: _____ Nº ID: _____

13. Estou sempre com fome o bastante para comer a qualquer hora.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

14. Se eu me sinto nervoso (a), tento me acalmar comendo.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

15. Quando vejo algo que me parece muito delicioso, eu frequentemente fico com tanta fome que tenho que comer imediatamente.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

16. Quando me sinto depressivo (a), eu quero comer.

- () Totalmente verdade
() Verdade, na maioria das vezes
() Falso, na maioria das vezes
() Totalmente falso

17. O quanto frequentemente você evita “estocar” (ou se aprovisionar de) comidas tentadoras?

- () Quase nunca
() Raramente
() Frequentemente
() Quase sempre

18. O quanto você estaria disposto (a) a fazer um esforço para comer menos do que deseja?

- () Não estou disposto (a)
() Estou um pouco disposto (a)
() Estou relativamente bem-disposto (a)
() Estou muito disposto (a)

19. Você comete excessos alimentares, mesmo quando não está com fome?

- () Nunca
() Raramente
() Às vezes
() Pelo menos 1 vez por semana

20. Com qual frequência você fica com fome?

- () Somente nos horários das refeições
() Às vezes entre as refeições
() Frequentemente entre as refeições
() Quase sempre

21. Em uma escala de 1 a 8, onde 1 significa nenhuma restrição alimentar, e 8 significa restrição total, qual número você daria para si mesmo?

	1	2	3	4	5	6	7	8	
Comer tudo o que quiser e sempre que quiser									Limitar constantemente a ingestão alimentar, nunca “cedendo”

ANEXO B: Questionário de Sintomas Gastrointestinais

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: SINTOMAS GASTROINTESTINAIS

I. IDENTIFICAÇÃO				
Iniciais (nome): _____ Grupo: _____ N° ID: _____ Data: ____/____/____				
1. Como está o seu estado geral de saúde hoje? () Muito bom () Bom () Razoável () Ruim				
2. Como está o seu estado geral de saúde comparado ao dia de ontem? () Melhor () O mesmo () Pior () Muito pior				
3. Por favor, registre quaisquer sintomas que você apresente apenas hoje . (marque cada sintoma experimentado).				
Ausente	Eu não tive esse sintoma			
Suave	Eu tive esse sintoma ocasionalmente, mas na verdade não me incomodou			
Moderado	Eu tive esse sintoma algumas vezes, isso me incomodou um pouco			
Grave	Eu tive esse sintoma muitas vezes, isso me incomodou muito			

Sintomas	Ausente	Suave	Moderado	Grave
Você sentiu náuseas (vontade de vomitar) hoje?				
Você chegou a vomitar hoje?				
Você teve azia (queimação) hoje?				
Você teve abdominal hoje?				
Você teve dor de cabeça hoje?				
Você esteve sem fôlego hoje?				
Você teve diarreia hoje?				

4. Se você experimentou os seguintes sintomas, como descreveria a intensidade? (Por favor)			
Intensidade	Suave	Moderado	Grave
Náusea			
Azia (queimação)			
Dor abdominal			

5. Se você experimentou os sintomas abaixo, como descreveria o inconveniente (incômodo)? (Por favor marque uma caixa para cada sintoma experimentado)			
Incômodo	Suave	Moderado	Grave
Náusea			
Azia (queimação)			
Dor abdominal			

6. Se ocorrerem, quanto tempo duraram os seguintes sintomas?	
Náusea	____ horas ____ min
Azia (queimação)	____ horas ____ min
Dor abdominal	____ horas ____ min

7. Se ocorrerem, especifique quantas vezes você experimentou os seguintes sintomas hoje?	
Náusea	____ vezes
Azia (queimação)	____ vezes
Dor abdominal	____ vezes

8. Quantas vezes você evacuou hoje? _____ vezes Isso é normal para você? () Não () Sim	
9. Você acredita que os seus sintomas provavelmente estão associados com o consumo do shake, se não, por favor, descreva por que. () Não, porque: _____ () Sim	

Adaptado de: Pereira D.I.A. et al.
BMC Gastroenterol 2014;14:1–8.
doi:10.1186/1471-230X-14-103.

ANEXO C: Escala visual analógica (EVA) para sensações subjetivas do apetite

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: VAS - APETITE (Folha 1/2)

	Iniciais (nome): _____ Data de aplicação: ____/____/____ Hora: _____ ID: _____ Grupo: () D1 () D2 () D3 Intervenção: () Inicial () Final Horário: () T0 () Pós shake () T1 () T2 () T3 () T4 () T5 Pesquisador: _____
1	Quanta fome você sente, agora? _____ Eu não estou com fome Eu nunca estive com tanta fome
2	Quão satisfeito você se sente? _____ Estou completamente vazio Totalmente cheio
3	Quão cheio você se sente? _____ Nem um pouco cheio Eu não consigo comer mais nada
4	Quanto você acha que poderia comer, agora? _____ Nada Muito

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: VAS - APETITE (Folha 2/2)

5	Você gostaria de comer alguma coisa doce, agora? _____ Sim, muito Não, nenhum pouco
6	Você gostaria de comer alguma coisa salgada, agora? _____ Sim, muito Não, nenhum pouco
7	Você gostaria de comer alguma coisa saborosa, agora? _____ Sim, muito Não, nenhum pouco
8	Você gostaria de comer alguma coisa gordurosa, agora? _____ Sim, muito Não, nenhum pouco

Adaptado de: Flint, A. et al. Int J Obes Relat Metab Disord 2000;24:38–48.
doi:10.1038/sj.ijo.0801083.

ANEXO D: Escala visual analógica (EVA) para palatabilidade

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: VAS - PALATABILIDADE (Folha 1/2)

	Iniciais (nome): _____ Data de aplicação: ____/____/____ Hora: _____ ID: _____ Grupo: () D1 () D2 () D3 Intervenção: () Inicial () Final Pesquisador: _____
A	Aspecto visual _____ Bom Ruim
B	Aspecto visual _____ Bom Ruim
C	Aspecto visual _____ Bom Ruim
D	Aspecto visual _____ Bom Ruim

ESTUDO
castanhas brasileiras

QUESTIONÁRIO: VAS - PALATABILIDADE (Folha 2/2)

E	Aspecto visual	
	Bom	Ruim

Adaptado de: Flint, A. et al. Int J Obes Relat Metab Disord 2000;24:38–48.
doi:10.1038/sj.ijo.0801083.