

MIRIAN APARECIDA DE CAMPOS COSTA

**RESPOSTA AGUDA AO CONSUMO DE UM *MIX* DE CASTANHAS SOBRE A
PERCEPÇÃO DE FOME E SACIEDADE, HOMEOSTASE METABÓLICA E
ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa
como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação
em Ciência da Nutrição para a obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C837r
2019
Costa, Mirian Aparecida de Campos, 1993-
Resposta aguda ao consumo de um *mix* de castanhas sobre a
percepção de fome e saciedade, homeostase metabólica e
estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso / Mirian
Aparecida de Campos Costa. – Viçosa, MG, 2019.
xii,70 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Texto em português e inglês.

Inclui anexos.

Orientador: Josefina Bressan.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Obesidade. 2. Castanha-de-caju. 3. Castanha-do-brasil.
4. Saciedade. 5. Homeostase. 6. Estresse oxidativo.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e
Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição.
II. Título.

CDD 22. ed. 613.25

MIRIAN APARECIDA DE CAMPOS COSTA

**RESPOSTA AGUDA AO CONSUMO DE UM *MIX* DE CASTANHAS SOBRE A
PERCEPÇÃO DE FOME E SACIEDADE, HOMEOSTASE METABÓLICA E
ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa
como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação
em Ciência da Nutrição para a obtenção do título de
Magister Scientiae.

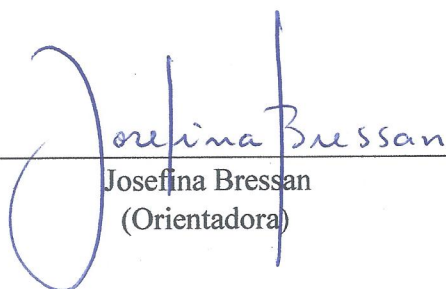
APROVADA: 26 de fevereiro de 2019.



Helen Hermana Miranda Hermsdorff
(Coorientadora)



Leandro Licursi de Oliveira



Josefina Bressan
Josefina Bressan
(Orientadora)

*À minha mãe,
por não medir esforços para me ver feliz e por fazer dos meus sonhos, os seus.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, toda honra e toda glória. Obrigada, Senhor, por guiar meus passos e me permitir chegar até aqui.

À minha mãe, pelo amor imensurável, pelo incentivo e por ser o porto seguro a quem posso sempre recorrer.

Ao meu pai, que lá de cima olha por mim. Posso imaginar o quão orgulhoso ele está!

Aos meus irmãos e à toda a minha família pelas orações e torcida.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Josefina Bressan, pela oportunidade de realizar esse trabalho, pela disponibilidade em me receber sempre que precisei e pelo exemplo de competência e profissionalismo. Muito obrigada por ter aberto as portas do Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC) e do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) para mim!

À minha coorientadora, Prof^ª. Dr^ª. Helen Hermana Miranda Hermsdorff, que muito contribuiu durante todo o projeto. Toda a minha admiração pela grande professora e pesquisadora que és.

Ao Prof. Dr. Leandro Licursi de Oliveira, por prontamente aceitar fazer parte da banca de dissertação e pelas valiosas contribuições para esse trabalho.

À Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Gouveia Peluzio, que gentilmente permitiu que eu usasse o Laboratório de Bioquímica Nutricional (LABIN) para realização das análises.

Aos voluntários do projeto, cuja participação foi imprescindível para que essa pesquisa acontecesse.

Aos amigos do LAMECC pela acolhida e pelos momentos de descontração. Agradeço especialmente à Ana Paula Caldas, Daniela Mayumi e Larissa Oliveira pela ajuda na coleta de dados e à Alessandra Silva, Sônia Lopes e LÍlian Lelis pelo auxílio nas análises.

Às técnicas de laboratório Natália Liberto (LAMECC) e Solange Bigonha (LAC) por terem sido sempre tão solícitas.

À equipe da Divisão de Saúde da UFV pela cordialidade com que sempre me trataram e por gentilmente nos auxiliar nas coletas de sangue.

À empresa Química Básica/Bioclin pela doação de kits utilizados na pesquisa.

Aos meus amigos pelo apoio e pela parceria de todas as horas. É muito bom saber que tenho tantas pessoas maravilhosas ao meu lado com quem posso contar! Um agradecimento especial à Stéphanie, a quem considero minha irmã. Obrigada por acreditar em mim e por estar comigo “para o que der e vier”.

Ao Fábio por todo amor, carinho, compreensão e palavras de incentivo.

Aos professores do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV por todos os ensinamentos desde a graduação.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e à FAPEMIG pelo financiamento da pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Obesidade	3
2.2 Composição nutricional das <i>nuts</i>	4
2.3 Efeito das <i>nuts</i> na saciedade e no controle do peso	6
2.4 Efeito das <i>nuts</i> na saúde cardiovascular	7
2.5 Capacidade antioxidante das <i>nuts</i>	9
Referências	12
3. OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo Geral	16
3.2 Objetivos Específicos	16
4. RESULTADOS	17
4.1. CAPÍTULO 1: Resposta aguda ao consumo de <i>nuts</i> sobre a percepção de fome e saciedade	17
Abstract	18
Introduction	19
Subjects and Methods	19
Subjects	19
Study design	20
Nutrient profile and composition of the shakes	23
Appetite assessment	23
Anthropometric assessment	24
Statistical analyses	24
Results	25
Discussion	30
References	32
4.2. CAPÍTULO 2: Resposta aguda ao consumo de <i>nuts</i> sobre a homeostase metabólica, perfil lipídico e estresse oxidativo	35
Abstract	36

Introduction.....	37
Methodology	37
Participants	37
Study design	38
Nutrient profile and composition of the shakes	41
Anthropometric and body composition measurements	41
Samples collection and analyses	41
Oxidative stress markers analyses	42
Plasma lipid profile	43
Lipid profile, total phenolic content and antioxidant capacity of the nuts	43
Statistical analyses.....	44
Results.....	44
Discussion	48
References.....	50
5. CONCLUSÕES GERAIS	54
6. ANEXOS	55

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

INTRODUÇÃO

Quadro 1: Composição nutricional das <i>nuts</i> (porção de 100 gramas)	5
---	---

CAPÍTULO 1

Figure 1: Flowchart of study participants.....	21
Figure 2: Experimental protocol.....	22
Table 1: Nutrient profile and composition of the control and test shakes.....	23
Table 2: Anthropometric characteristics of the subjects at baseline.....	25
Table 3: iAUC for subjective appetite sensations and desire for specific foods.....	26
Figure 3: Subjective scores for appetite sensations and desire to eat specific types of food.....	27
Table 4: Mean daily nutrient intake from food recalls, on control and test days.....	29
Figure 4: Palatability of the control and test shakes.....	29

CAPÍTULO 2

Figure 1: Flowchart of study participants.....	39
Figure 2: Experimental protocol.....	40
Table 1: Anthropometric characteristics of the subjects at baseline.....	44
Table 2: Serum biochemistry responses to the control and test shakes in overweight and obese subjects.....	46
Table 3: Plasma oxidative stress responses to the control and test shakes in overweight and obese subjects.....	46
Table 4: Area under the curve (AUC) for plasma lipid metabolism after control and test shake intake up to 4 hours.....	47
Figure 3: Correlations between serum complement C3 concentration and area under the curve (AUC) for stearic acid.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
AUC	Área abaixo da curva
CHO	Carboidrato
DCV	Doença cardiovascular
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
FDA	<i>United States Food and Drug Administration</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
iAUC	Área abaixo da curva incremental
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LIP	Lipídio
MDA	Malondialdeído
MUFA	Ácido graxo monoinsaturado
OMS	Organização Mundial de Saúde
ON	Óxido nítrico
PTN	Proteína
PUFA	Ácido graxo poli-insaturado
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SFA	Ácido graxo saturado
SOD	Superóxido dismutase
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
VAS	Escala visual analógica

RESUMO

COSTA, Mirian Aparecida de Campos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Resposta aguda ao consumo de um *mix* de castanhas sobre a percepção de fome e saciedade, homeostase metabólica e estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso.** Orientadora: Josefina Bressan. Coorientadora: Helen Hermana Miranda Hermsdorff.

A obesidade é considerada, atualmente, um dos maiores problemas de saúde pública do mundo e está associada ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas, tais como diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares (DCV) e alguns tipos de câncer. A alimentação, associada a fatores genéticos e ambientais, desempenha papel significativo no controle do peso, de modo que a inclusão de alimentos específicos na dieta pode ser uma estratégia útil no controle da obesidade. *Nuts*, grupo no qual estão inseridas a castanha-de-caju e a castanha-do-pará, são frutos secos, com elevado teor de gorduras insaturadas, fibras, vitaminas, minerais e compostos antioxidantes. Dentre as *nuts*, a castanha-do-pará destaca-se pelo alto conteúdo de selênio, micronutriente com elevada capacidade antioxidante, enquanto a castanha-de-caju contém elevado teor de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), que, além de propriedades anti-inflamatórias, estão associados ao aumento do HDL-colesterol e redução do risco cardiovascular. O elevado teor de proteínas, fibras e gorduras insaturadas presente em ambas as castanhas contribui para maior saciedade e, conseqüentemente, para diminuição da ingestão alimentar proveniente de outros alimentos. Devido à sua composição nutricional, diversos estudos têm demonstrado benefícios associados à ingestão regular de *nuts* à saúde, dentre eles, menor risco de desenvolver DCV e DM2, redução do colesterol sérico e melhora no estresse oxidativo e inflamação. Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos do consumo agudo pós-prandial de *nuts* no organismo. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da ingestão aguda de um *shake* contendo castanha-de-caju (*Anacardium occidentale*) e castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*) sobre a percepção de fome e saciedade, homeostase metabólica e estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso. Tratou-se de um estudo clínico, randomizado, cruzado, simples-cego e controlado com 15 indivíduos entre 18 e 59 anos. Eles foram avaliados quanto à ingestão alimentar, incluindo percepção de fome e saciedade, glicemia, perfil lipídico e estresse oxidativo. Amostras de sangue foram coletadas em jejum e 60, 120 e 240 minutos após a ingestão dos *shakes*. A percepção de fome e saciedade foi avaliada por meio de escalas visuais analógicas (VAS) em jejum e 60, 120, 180 e 240 minutos após a ingestão dos *shakes*. O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para verificar a normalidade das

variáveis contínuas. A análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas seguida do *post hoc* de Tukey, foi aplicada para testar o efeito do tempo, intervenção (*shakes*) e interação dos dois fatores (intervenção x tempo) nas escalas de saciedade. O método trapezoidal foi utilizado para calcular a área abaixo da curva (AUC) e a área abaixo da curva incremental (iAUC) da escala de saciedade e do perfil lipídico plasmático, utilizando o software GraphPad Prism (Versão 6; GraphPad software Inc). O teste t pareado foi utilizado para comparar as diferenças da iAUC da saciedade, o consumo calórico e a palatabilidade (análise sensorial), bem como o perfil lipídico plasmático pós-prandial entre os *shakes* teste e controle. A correção de Greenhouse-Geisser foi aplicada quando a esfericidade não foi assumida. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SPSS 20 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA), adotando o critério de significância estatística (α) de 0,05 para todas as análises. Como resultados, as sensações de fome e saciedade não diferiram significativamente entre os grupos teste e controle. As concentrações de glicose, insulina, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicerídeos não diferiram entre os grupos, nem quando analisada a interação tempo x dieta. No grupo teste, foi observado aumento na concentração pós-prandial do complemento C3, assim como maior AUC para ácido esteárico. Quanto aos marcadores de estresse oxidativo, houve redução das concentrações pós-prandiais de malondialdeído (MDA) e superóxido dismutase (SOD) no grupo teste em relação ao grupo controle. Tais resultados parecem ter sido influenciados, principalmente, pelo curto intervalo de tempo do estudo, indicando que o consumo agudo de *nuts* não exerce efeitos na saciedade e no metabolismo glicídico e lipídico. Além disso, o aumento da concentração pós-prandial do complemento C3 concomitantemente a maior valor de AUC para ácido esteárico no grupo teste, indica uma resposta pró-inflamatória induzida pela gordura saturada e modulada pelo complemento C3. Por fim, o *mix* de castanhas foi capaz de reduzir o estresse oxidativo, conforme mensurado pelo MDA, mas não foi observado melhora na capacidade antioxidante, conforme mensurado pela SOD. Mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos relacionados ao consumo agudo de *nuts*.

ABSTRACT

COSTA, Mirian Aparecida de Campos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Acute mixed nuts consumption on appetite response, metabolic homeostasis and oxidative stress in overweight adults.** Advisor: Josefina Bressan. Co-adviser: Helen Hermana Miranda Hermsdorff.

Currently, obesity is one of the biggest public health problems in the world and is associated with the development of several chronic diseases such as type 2 diabetes mellitus (T2D), cardiovascular disease (CVD), and some types of cancer. Diet, in conjunction with genetic and environmental factors, plays a significant role in weight control; therefore, consumption of specific foods may be a useful strategy in the management of obesity. Nuts, group in which cashew and Brazil nuts are included, are defined as dried fruits, rich in unsaturated fats, fiber, vitamins, minerals and antioxidant compounds. Among nuts, Brazil nut is notable for its high selenium content, a micronutrient with high antioxidant capacity, while the cashew nut contains high monounsaturated fatty acids (MUFA) content, which, in addition to its anti-inflammatory properties, is associated with higher HDL cholesterol concentrations and decreases risk for cardiovascular disease. The high protein, fiber and unsaturated fat content in both nuts increases satiety and, consequently, decreases food intake. Due to its nutritional composition, several studies have demonstrated the benefits associated with regular consumption of nuts to improved health, such as lower risk of developing CVD and T2D, reduction of serum cholesterol level, and ameliorating of oxidative stress and inflammation. However, there is little information about the effects of acute nut consumption on health. This study aims to evaluate the effects of acute intake of a shake containing cashew nut (*Anacardium occidentale*) and Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) on metabolic homeostasis, oxidative stress, and food intake in overweight subjects. This was a clinical, randomized, controlled, single-blind, cross-over trial with 15 individuals aged 18-59 years. They were evaluated for perceived hunger and satiety, food intake, blood glucose, lipid profile, and oxidative stress. Blood samples were collected fasting, 60, 120, and 240 minutes after shake consumption. Subjective appetite sensations were analyzed through visual analogue scales (VAS) fasting, 60, 120, and 240 minutes after shake consumption. The Shapiro-Wilk test was performed to verify the normality of the continuous variables. The analysis of variance (ANOVA) of repeated measures followed by post hoc Tukey was applied to evaluate the effect of time, shakes consumption, and interaction of these two factors on the satiety scales. The trapezoidal method was used to calculate the area under the

curve (AUC) and incremental area under the curve (iAUC) of satiety sensations and plasma lipid profile by using GraphPad Prism software (Version 6; GraphPad software Inc). The paired t test was performed to compare total energy intake and macronutrient content, palatability of the shakes, iAUC for subjective appetite sensations and AUC for postprandial lipid profile between control and test groups. Greenhouse-Geisser correction was performed when the assumption of sphericity was violated. It was used statistical significance criterion (α) of 0.05 for all analyses. As results, appetite sensations did not differ significantly between control and test groups. Glucose, insulin, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, and triglycerides concentrations did not vary statistically over the time or between groups. Complement C3 concentrations as well as the AUC for stearic acid were higher in the test group. Regarding oxidative stress markers, postprandial levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were significantly lower in the test group in comparison with the control group. Our findings suggest that significant changes in metabolic measures are not likely to occur within a short time period. In addition, a positive association between AUC for stearic acid and complement C3 concentrations suggests a pro-inflammatory response induced by complement C3 and modulated by saturated fatty acid. Finally, the acute consumption of mixed nuts showed decreased oxidative stress, as measured by MDA, but did not increase antioxidant status, measured by SOD. Further studies are necessary to elucidate the effects of acute consumption of Brazil and cashew nuts on metabolic responses.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, a obesidade está associada ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas, dentre elas, diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares (DCV) e alguns tipos de câncer (MELO, 2017). Sua prevalência quase triplicou entre 1975 e 2016, alcançando proporções epidêmicas (WHO, 2017). Dessa forma, a busca por soluções efetivas para reduzir o número de casos da doença tem sido prioridade de saúde pública em todo o mundo (MCCRORY et al., 2010).

Segundo estimativa da OMS, em 2016, mais de 1,9 bilhões de adultos estavam com sobrepeso e 650 milhões, obesos (WHO, 2017). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, uma a cada cinco pessoas está acima do peso. A prevalência da obesidade no país, que em 2006 era de 11,8%, subiu para 18,9% em 2016 (BRASIL, 2017).

Sabe-se que a alimentação, associada a fatores genéticos e ambientais, desempenha um papel significativo no controle do peso (COUTINHO, 2017), de forma que a inclusão de alimentos específicos na dieta pode ser uma estratégia útil no controle da obesidade (BRESSAN & HERMSDORFF, 2008; HERMSDORFF et al., 2011).

Nesse contexto, destacam-se as *nuts*, que, por definição, são frutos secos envolvidos por um epicarpo que se torna rígido quando maduro (ROS, 2010; CARDOSO et al., 2017). Fazem parte desse grupo a amêndoa, pistache, avelã, noz, castanha-de-caju, castanha-do-pará, macadâmia, dentre outras, (CARDOSO et al., 2017), as quais contêm elevado teor de gorduras insaturadas, fibras, vitaminas, minerais e compostos antioxidantes (TEY et al., 2011; CARDOSO et al., 2017).

Nos países ocidentais, as *nuts* são mais comumente utilizadas como lanches ou sobremesas, consumidas inteiras, em pastas ou como ingredientes de outros produtos (ROS, 2010). Apesar de não contribuírem com quantidade significativa de calorias na alimentação diária da maioria da população, seu consumo tem aumentado graças às recomendações propostas por diversos guias alimentares (ROS, 2010; CARDOSO et al., 2017).

Devido à sua composição nutricional, vários estudos têm demonstrado benefícios associados à ingestão de *nuts*, dentre eles, menor risco de DCV e DM2, redução do colesterol sérico e melhora no estresse oxidativo e na inflamação (CARDOSO et al., 2017, DEL GOBBO, 2015).

Ainda, o consumo regular de *nuts* parece não ter associação ou até mesmo ter associação inversa com o aumento do Índice de Massa Corporal (IMC) e da adiposidade (TEY et al., 2011; MARANHÃO et al., 2011). Isso porque, apesar de energeticamente densas, a composição nutricional das *nuts*, ricas em proteínas, gorduras insaturadas e fibras, contribui para aumento da saciedade e diminuição da ingestão alimentar (TEY et al., 2011; DEL GOBBO, 2015; MORI et al., 2011).

Há evidências que o consumo regular de *nuts* (aproximadamente 42 gramas/dia), quando parte de uma alimentação com baixo teor de gordura saturada e colesterol, reduz o risco de DCV. Entretanto, o teor de gordura saturada proveniente das *nuts* não deve ultrapassar 4 gramas por cada 50 gramas do alimento (FDA, 2018).

A castanha-de-caju, um dos principais produtos do cajueiro, é nativa do norte e nordeste do Brasil (GAZZOLA et al., 2006). É excelente fonte de cobre e magnésio (RAATZ, 2016) e rica em ácidos graxos insaturados, em especial os monoinsaturados (MUFA), cujo consumo está associado ao aumento do HDL-colesterol e, conseqüentemente, à redução do risco de DCV (MOHAN et al. 2018). Além do alto teor de MUFA, que exerce propriedade anti-inflamatória (MOHAN et al., 2018; BULLÓ et al., 2011), a castanha-de-caju contém outros compostos antioxidantes: compostos fenólicos, flavonoides, tocoferóis e, especialmente, alquilfenol (ALASALVAR & BOLLING, 2015; BULLÓ et al., 2011; BOLLING et al., 2011).

A castanha-do-pará – também conhecida como castanha-do-Brasil – é proveniente da região Amazônica (RAATZ, 2016) e é uma das principais fontes alimentares de selênio, micronutriente com importante capacidade antioxidante (RAATZ, 2016; CARDOSO et al., 2017). Assim como a castanha-de-caju, a castanha-do-pará contém elevado teor de magnésio, cobre e zinco quando comparada a outras *nuts*, além de elevado teor de gorduras mono e poli-insaturadas. Os compostos fenólicos, especialmente os polifenóis, são os principais compostos bioativos da castanha-do-pará e também apresentam, juntamente com o selênio, elevada capacidade antioxidante (CARDOSO et al., 2017).

Apesar de haver fortes evidências que o consumo regular de *nuts* seja benéfico à saúde, pouco se sabe sobre o impacto do consumo da castanha-de-caju e da castanha-do-pará no organismo, principalmente no que diz respeito ao consumo agudo. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da ingestão aguda de um *shake* contendo castanha-de-caju (*Anacardium occidentale*) e castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*) sobre a homeostase metabólica, o estresse oxidativo e a percepção de fome e saciedade em indivíduos com excesso de peso.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade

A obesidade é definida como acúmulo excessivo de tecido adiposo que diminui a qualidade de vida e pode trazer danos à saúde (WHO, 2018a; WHO, 2018c; PI-SUNYER & MOORE, 2012). Embora ainda controverso, ela é considerada pela *World Obesity Federation* uma doença crônica, recorrente e progressiva (BRAY et al., 2017). Em 2013, a *American Medical Association* (AMA) reconheceu oficialmente a obesidade como doença crônica, como forma de chamar a atenção para a gravidade do problema (POLLACK, 2013).

A prevalência global de adultos obesos quase triplicou entre 1975 e 2016 (WHO, 2018c). Esse aumento exponencial faz com que a obesidade seja considerada, atualmente, um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, atingindo indivíduos de todas as idades e condições socioeconômicas (WHO, 2018a). Estimativas da OMS apontam que, em 2016, 39% da população adulta mundial estava com sobrepeso e 13% era obesa (WHO, 2018c). No Brasil, uma a cada cinco pessoas está acima do peso. A prevalência da obesidade no país, que em 2006 era 11,8%, subiu para 18,9% em 2016 (BRASIL, 2017).

A previsão é de que, se nada for feito, 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões serão obesos em 2025 (ABESO, 2018). Assim, a OMS desenvolveu o “Plano de ação global para prevenção e controle das doenças crônicas não-transmissíveis”, cujas metas inclui impedir o crescimento da obesidade até 2025 (WHO, 2013).

A etiologia da obesidade é multifatorial; envolve fatores genéticos, ambientais e comportamentais (WHO, 2017; COUTINHO, 2017). O acúmulo de gordura corporal acontece quando há um desequilíbrio entre o total de calorias consumidas e o total de calorias gastas. Dessa forma, a má alimentação, o sedentarismo e a privação do sono têm sido apontados como causas primárias para o excesso de peso (WHO, 2017).

Uma vez que o excesso de peso causa desregulação na pressão arterial, no perfil lipídico e na resistência à insulina, a obesidade é um dos principais fatores de risco para diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (WHO, 2018c). Estima-se que ao menos 2,8 milhões de mortes/ano no mundo são decorrentes das complicações causadas pelo excesso de peso (WHO, 2018b).

Apesar de complexa e multifatorial, a obesidade pode ser prevenida. Dentre as estratégias, a alimentação saudável desempenha um importante papel no controle do peso. O

consumo de frutas, hortaliças, grãos integrais e, inclusive *nuts*, em detrimento de alimentos processados, contribui para uma ingestão calórica adequada (WHO, 2018c). Dessa forma, tem-se investigado a inclusão de alimentos específicos que possam auxiliar no controle da obesidade (BRESSAN & HERMSDORFF, 2008; HERMSDORFF et al., 2011), dentre eles, as *nuts* (BRENNAN et al., 2010; MARANHÃO et al., 2011).

2.2 Composição nutricional das *nuts*

Nuts são definidas como frutos secos envolvidos por um epicarpo que se torna rígido quando maduro (ROS, 2010; CARDOSO et al., 2017). Dentre as mais populares, destacam-se a amêndoa, pistache, avelã, noz, castanha-de-caju, castanha-do-pará, macadâmia, dentre outras (CARDOSO et al., 2017).

A castanha-de-caju, assim como as demais *nuts*, possui alto teor de cálcio, magnésio e potássio e baixo teor de sódio. Esses micronutrientes têm sido apontados como fatores de proteção para a hipertensão arterial, resistência à insulina e risco cardiovascular (ROS, 2010).

A castanha-do-pará, considerada a principal fonte alimentar de selênio (CARDOSO et al., 2017), possui uma matriz complexa, composta de substâncias bioativas como α e γ tocoferol, compostos fenólicos, folato, magnésio, potássio e cálcio (MARANHÃO et al., 2011).

Em geral, *nuts* são alimentos com alta densidade calórica, que fornecem aproximadamente 500 a 700 kcal por 100 gramas (quadro 1) (ROS, 2010). Essa alta densidade calórica é conferida, principalmente, pelo alto teor de ácidos graxos, que varia entre 46% na castanha-de-caju e no pistache a 76% na macadâmia (CARDOSO et al., 2017; ROS, 2010). Também são excelentes fontes de proteína – que correspondem a aproximadamente 25% da energia total – e de fibras (ROS, 2010).

Apesar do alto teor de ácidos graxos, a composição nutricional das *nuts* é benéfica devido à distribuição desses macronutrientes: possuem baixo teor de gorduras saturadas e alto teor de gorduras mono e poli-insaturadas (ROS, 2010; MARANHÃO et al., 2011; CARDOSO et al., 2017; FREISLING et al., 2017).

Dentre as *nuts*, a castanha-de-caju contém o menor teor de gorduras totais (~46%), sendo que a maior parte é proveniente de ácido graxos monoinsaturados (MUFA) (USDA, 2018a), especialmente ácido oleico (GAZZOLA et al., 2006). A castanha-do-pará, por sua vez, contém o maior teor de gordura saturada dentre as *nuts* (~15%); apesar disso, a maior parte do teor de lipídios advém de ácidos graxos mono e poli-insaturados (~44%) (USDA, 2018a).

Quadro 1: Composição nutricional das *nuts* (porção de 100 gramas).

<i>Nuts</i>	Calorias (kcal)	AG totais (g)	AG saturados (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	n-6 (g)	n-3 (g)	Proteínas (g)	Carboidratos (g)	Fibras (g)	Ca (mg)	Mg (mg)	Na (mg)	K (mg)
Amêndoa	579	49,9	3,8	31,5	12,2	12,2	0,00	21,2	21,5	12,5	269	270	1	733
Amendoim	567	49,2	6,3	24,4	15,6	15,6	0,00	25,8	16,1	8,5	92	168	18	705
Avelã	633	60,0	5,0	45,7	7,9	7,8	0,09	13,3	16,7	10,0	114	163	0	680
Castanha-de- caju	553	46,4	9,2	27,3	7,8	7,7	0,15	18,2	30,2	5,9	37	292	12	660
Castanha-do- para	667	66,7	15,0	23,3	20,6	20,5	0,05	13,3	13,3	6,7	133	376	0	659
Macadâmia	718	75,8	12,1	58,9	1,5	1,3	0,21	7,9	13,8	6,0	85	130	5	368
Noz	646	64,3	5,4	8,9	47,2	38,1	9,08	14,3	14,3	7,1	71	158	0	441
Noz-pecã	691	72,0	6,2	40,8	21,6	20,6	1,00	9,2	13,9	9,6	70	121	0	410
Pistache	560	45,3	5,9	23,3	13,5	13,2	0,25	20,2	27,2	10,6	105	121	1	1025

Abreviaturas: AG: ácidos graxos; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados; n-6: ácido linoleico; n-3: ácido α -linolênico; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Na: sódio; K: potássio. Adaptado do *United States Department of Agriculture Food Composition Databases* (USDA, 2018a).

Em relação ao teor de proteínas, a castanha-de-caju contém quantidade significativa desse macronutriente, destacando-se pela composição bem balanceada de aminoácidos essenciais (LIU et al., 2018). Em especial, contém elevado teor de arginina, aminoácido precursor do óxido nítrico, que por sua vez, age como vasodilatador (MOHAN et al., 2018; ROS 2010). Em contrapartida, a castanha-do-pará, apesar de ser um alimento fonte de proteínas, apresenta menor teor desse macronutriente em comparação com outras *nuts*, como amêndoas, castanha-de-caju e pistache (CARDOSO et al., 2017).

2.3 Efeito das *nuts* na saciedade e no controle do peso

Apesar de sua alta densidade calórica, estudos clínicos e epidemiológicos não têm encontrado associação entre o consumo regular de *nuts* e a obesidade, aumento do IMC ou com a adiposidade corporal (ROS, 2010; TEY et al., 2011; DEL GOBBO, 2015; MARANHÃO et al., 2011; MOHAN et al., 2018). Ao contrário, a inclusão de *nuts* na alimentação tem sido apontada como responsável pela perda de peso mais significativa e melhoria dos fatores de risco cardiovascular quando comparada a dietas hipolipídicas ou dietas isocalóricas sem adição de *nuts* (TEY et al., 2011).

Em estudo recente, realizado com mais de 373 mil voluntários em 10 países europeus (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition – EPIC*), os pesquisadores concluíram que, em um intervalo de cinco anos, aqueles participantes que consumiam mais de 1 porção de *nuts* por semana ganharam menos peso do que aqueles que não consumiam. Além disso, aqueles participantes cujo consumo de *nuts* era mais elevado, apresentavam 5% menos risco de desenvolverem sobrepeso ou obesidade do que aqueles que não as consumiam (FREISLING et al., 2017).

Em uma revisão sistemática e meta-análise, foram incluídos 33 estudos clínicos randomizados que avaliavam a relação entre o consumo de *nuts* e a adiposidade. Em relação ao controle, dietas que incluíam *nuts* não estiveram associadas ao aumento do peso, do IMC ou do perímetro da cintura. Dessa forma, os autores concluem que há uma associação inversa entre a frequência do consumo de *nuts* e valores de IMC, bem como com o risco de obesidade (FLORES-MATEO et al., 2013). De forma semelhante, em um estudo clínico randomizado controlado, o consumo de 30 gramas/dia de castanha-de-caju sem sal, embora tenha aumentado significativamente o valor calórico diário total, não contribuiu para aumento do peso, IMC ou perímetro da cintura dos participantes (MOHAN et al., 2018). Outros autores também não

observaram associação positiva entre a ingestão de *nuts* e aumento do IMC em indivíduos com síndrome metabólica e obesidade (BRENNAN et al., 2010; MARANHÃO et al., 2011).

A razão de não haver relação positiva entre o consumo de *nuts* e a adiposidade ainda não está bem esclarecida. Entretanto, alguns mecanismos relacionados ao efeito das *nuts* no metabolismo energético já são conhecidos. Devido à sua composição nutricional, com alto teor de gorduras insaturadas, proteínas e fibras e baixo índice glicêmico, as *nuts* promovem maior saciedade e, assim, diminuem a ingestão calórica proveniente de outros alimentos (TEY et al., 2011; MARANHÃO et al., 2011). Além disso, alguns estudos têm demonstrado que parte dos lipídios presentes nas *nuts* são excretados nas fezes, diminuindo a oferta calórica. Dessa forma, a incorporação de *nuts* na alimentação pode ser uma estratégia útil para perda e controle de peso (TEY et al., 2011).

Outra hipótese estaria relacionada à biodisponibilidade energética da *nuts*. Pesquisadores coletaram fezes e urina de voluntários para determinar a quantidade de macronutrientes absorvida após dieta controlada com *nuts* e descobriram que o organismo absorve menos calorias do que se pensava. Pistaches, por exemplo, contêm 23,7 calorias por grama, porém, dessas, apenas 22,6 calorias são biodisponíveis – 5% a menos do que se acreditava. Da mesma forma, nozes e amêndoas contêm, respectivamente, 21 e 39% menos calorias disponíveis do que se foi anteriormente determinado, levando em consideração o tradicional sistema de Atwater (USDA, 2018b).

O tipo de processamento ao qual as *nuts* são submetidas também interfere na quantidade de calorias biodisponível para o organismo. Comparando amêndoas cruas inteiras, amêndoas torradas inteiras, amêndoas torradas quebradas e manteiga de amêndoa, por exemplo, pesquisadores descobriram que o valor calórico das três primeiras foi superestimado em 25%, 19% e 17% respectivamente, provavelmente devido à diferença no processo de mastigação causado pelo tipo de processamento (USDA, 2018b).

2.4 Efeito das *nuts* na saúde cardiovascular

O primeiro estudo a sugerir associação entre o consumo de *nuts* e menor risco de doença coronariana foi publicado em 1992 (FRASER et al., 1992). Desde então, outros pesquisadores têm buscado comprovar essa associação (ROS, 2010; MARANHÃO et al., 2011; IBARROLA-JURADO et al., 2013; DEL GOBBO et al., 2015).

É provável que o efeito cardioprotetor das *nuts* esteja relacionado à sua composição nutricional: são fontes de gorduras insaturadas e proteínas, e possuem alto teor de compostos bioativos e de micronutrientes como magnésio, cálcio e potássio, que comprovadamente exercem papel protetor para o risco cardiovascular. Além disso, elas possuem alto teor de L-arginina, que por sua vez é precursora do óxido nítrico – vasodilatador que pode melhorar a reatividade vascular (ROS, 2010).

Um estudo prospectivo (*The PREDIMED Study*), analisou a frequência do consumo de *nuts*, dentre elas, castanha-de-caju, e a prevalência de fatores de risco cardiometabólico. Participaram do estudo mais de 7 mil indivíduos adultos com alto risco cardiovascular. Foi observado que um consumo superior a 3 porções de *nuts*/semana teve associação negativa com a obesidade abdominal, comparado aos participantes que consumiam menos que 1 porção de *nuts*/semana. Uma vez que a obesidade abdominal é fator de risco para doença cardiovascular, é provável que o consumo de *nuts* está inversamente associado a doença coronariana fatal e não-fatal (IBARROLA-JURADO et al., 2013).

Estudos epidemiológicos e experimentais também têm evidenciado o efeito cardioprotetor das *nuts* devido, principalmente, à melhora do perfil lipídico e de outros marcadores de risco cardiovascular, como hipertensão arterial. Assim, o consumo regular desses alimentos estaria associado à menor incidência de doenças cardiovasculares em homens e mulheres (ROS, 2010).

Estudos clínicos também têm sugerido que o consumo regular de *nuts* possui efeito benéfico na lipemia, com redução do LDL-colesterol e do risco cardiovascular (ROS, 2010; TEY et al., 2011; MOHAN et al., 2018).

Em estudo mais recente, no qual foi avaliado o consumo de *nuts* em uma amostra de 210 mil pessoas, os autores concluíram que aquelas que consumiam *nuts* regularmente apresentavam menor risco de desenvolver doenças cardiovasculares (13-19% menor) e coronarianas (15-23% menor) do que aquelas pessoas que nunca ou raramente consumiam *nuts*, independentemente do estilo de vida, alimentação e da presença de outros fatores de risco cardiovascular (GASCH-FERRÉ et al., 2017).

Em um estudo clínico randomizado, realizado com 17 adolescentes obesas, testou-se o efeito da ingestão de 15 a 25 gramas (3 a 5 unidades/dia) de castanha-do-pará por 16 semanas. Nesse estudo, observou-se melhora do perfil lipídico (colesterol total, LDL-colesterol, LDL-oxidado e triglicerídeos) e da função microvascular no grupo teste (MARANHÃO, 2011).

Em estudo clínico randomizado, controlado e paralelo realizado com adultos diabéticos na Índia, a suplementação de 30 gramas/dia de castanha-de-caju sem sal por 12 semanas foi capaz de aumentar o HDL-colesterol sérico e reduzir a pressão arterial sistólica (MOHAN et al., 2018).

Baseando-se em evidências científicas, a *United States Food and Drug Administration* recomenda o consumo regular de *nuts* (aproximadamente 42 gramas/dia) como forma de prevenção de doenças coronarianas (FDA, 2018). Desde então, diversos países têm incluído essa recomendação em seus guias alimentares (CARDOSO et al., 2017).

A *American Heart Association* (AHA) também estimula a inclusão de *nuts* na alimentação; uma de suas metas é que a população norte-americana consuma, até 2020, pelo menos 4 porções do alimento por semana visando a melhora da saúde cardiovascular (LLOYD-JONES et al., 2010).

2.5 Capacidade antioxidante das *nuts*

O estresse oxidativo está associado à etiologia de diversas condições crônicas, como hipertensão arterial, resistência à insulina, síndrome metabólica e doença cardiovascular (BULLÓ et al., 2011). *Nuts*, por sua vez, contêm nutrientes e compostos bioativos que possuem capacidade antioxidante e provavelmente ajudam a modular a inflamação (CARDOSO et al., 2017; NEALE et al., 2017), tais como ácido α -linolênico, L-arginina, fibras e polifenóis (NEALE et al., 2017).

Outros compostos bioativos encontrados nas *nuts*, como tocoferóis, fitoesteróis, folato, selênio e magnésio, possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Os tocoferóis e compostos fenólicos, em especial, têm capacidade de reduzir a peroxidação lipídica ou dano oxidativo ao DNA (ROS, 2010).

O consumo regular de castanha-do-pará tem sido associado à atividade anti-inflamatória e antioxidante no organismo, reduzindo o risco de doenças crônicas (CARDOSO et al., 2017). Parte desse papel modulador deve-se aos compostos fenólicos, principais compostos bioativos presentes na castanha-do-pará (BOLLING et al., 2011; CARDOSO et al., 2017). Em conjunto com a amêndoa, a castanha-do-pará contém o maior teor de polifenóis dentre as *nuts* (CARDOSO et al., 2017).

Encontrados na forma livre ou esterificada, os principais compostos fenólicos identificados na castanha-do-pará são o ácido gálico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido protocatecuico e catequinas (CARDOSO et al., 2017).

Além de compostos fenólicos, a castanha-do-pará é excelente fonte de selênio (ALASALVAR et al., 2015). Esse micronutriente é conhecido pelo seu papel antioxidante ao estimular a síntese de selenoproteínas, que, por sua vez, inibem reações de radicais livres no organismo (CARDOSO et al., 2017). O aumento da ingestão de selênio por meio do consumo regular de castanha-do-pará também parece estar relacionado ao aumento da atividade da glutathione peroxidase no plasma (CARDOSO et al., 2017).

Na castanha-de-caju, os principais compostos antioxidantes encontrados são compostos fenólicos, flavonoides, tocoferóis e, especialmente, alquilfenol (ALASALVAR & BOLLING, 2015; BULLÓ et al., 2011; BOLLING et al., 2011).

O elevado teor de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) presente na castanha-de-caju – que equivale a aproximadamente 60% do teor de lipídios total – também parece desempenhar importante papel no estresse oxidativo (MOHAN et al., 2018; BULLÓ et al., 2011; ROS, 2010), uma vez que a MUFA tem, sabidamente, propriedade anti-inflamatória (MOHAN et al., 2018; BULLÓ et al., 2011). Tal hipótese foi discutida no estudo “*The PREDIMED Study*”, onde o consumo diário de 30 gramas de um *mix* de *nuts* por 12 semanas foi associado à menores níveis de LDL-colesterol oxidado em indivíduos com alto risco cardiovascular quando comparado ao grupo placebo (isento de *nuts*) (IBARROLA-JURADO et al., 2013).

Estudos têm demonstrado que compostos fenólicos apresentam capacidade antioxidante muito mais elevada do que outros nutrientes antioxidantes (ALASALVAR et al., 2015) e muitos deles teriam potencial atividade antiaterosclerótica, anti-inflamatória, antimutagênica, antitumoral e antiviral (BOLLING et al., 2011).

Acredita-se, ainda, que a capacidade antioxidante e anti-inflamatória das *nuts* esteja diretamente relacionada aos compostos fenólicos e ao ácido α -linolênico e que, quanto maior o teor desses dois compostos, maior seria sua capacidade anti-inflamatória (ROS, 2010). Entretanto, é necessário que mais estudos sejam publicados para que de fato o potencial anti-inflamatório e antioxidante das *nuts* seja confirmado (ROS, 2010; CARDOSO et al., 2017).

Há evidências que o consumo de castanha-de-caju e castanha-do-pará traga benefícios à saúde. Devido à composição nutricional de ambas as *nuts*, ricas em gorduras insaturadas, proteínas, fibras e compostos antioxidantes, é provável que haja impacto positivo no perfil

lipídico, estresse oxidativo e aumento da saciedade. Nesse sentido, a ingestão de um *mix* de castanhas torna-se interessante devido a composição nutricional única de cada uma, atendendo então, às recomendações atuais.

Entretanto, apesar de evidências, ainda são necessários estudos que comprovem o efeito das *nuts* no organismo, sobretudo, no que diz respeito ao consumo agudo.

Referências

- ALASALVAR, C.; BOLLING, B. W. Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *British Journal of Nutrition*, v. 113, n. (supl. 2), p. S68-S78, 2015.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). *Mapa da obesidade*. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade>>. Acesso em: 14 Dezembro 2018.
- BOLLING, B. W. et al. Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutrition Research Reviews*, v. 24, n. 2, p. 244-275, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Obesidade cresce 60% em dez anos no Brasil*. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/editoria/saude/2017/04/obesidade-cresce-60-em-dez-anos-no-brasil>>. Atualizado em 23 dezembro 2017. Acesso em 15 agosto 2018.
- BRAY, G. et al. Obesity: a chronic relapsing preogressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obesity Reviews*, n. 18, p. 715-723, 2017.
- BRENNAN, A. M. et al. Walnut consumption increases satiation but has no effect on insulin resistance or the metabolic profile over a 4 day period. *Obesity*, v. 18, n. 6, p. 1176-1182, 2010.
- BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. H. M. A epidemia da obesidade: a causa, o tratamento e o ambiente. In: *Atenção nutricional: abordagem dietoterápica em adulto*. [s.l.] Guanabara Koogan, 2008.
- BULLÓ, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; SALAS-SALVADÓ, J. Mediterranean Diet and Oxidation: Nuts and Olive Oil as Important Sources of Fat and Antioxidants. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v. 11, n. 14, p. 1797-1810, 2011.
- 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.
- CASTELLI, W. P. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study. *The Canadian journal of cardiology*, v. 4 Suppl A, p. 5A-10A, 1988.
- CARDOSO, B. R. et al. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. *Food Research International*, p. 1-10, 2017.
- COUTINHO, W. Etiologia da obesidade. *Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO)*. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/18/552fea46a6bb6.pdf>>. Acesso em: 10 setembro 2017.

DEL GOBBO, L. C. et al. Effects of tree nuts on blood lipids, apolipoproteins, and blood pressure: systematic review, meta-analysis, and dose-response of 61 controlled intervention trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 102, p. 137-1356, 2015.

FLORES-MATEO, G. et al. Nut intake and adiposity: meta-analysis of clinical trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 97, n. 6, p. 1346-1355, 2013.

FRASER, G. E. et al. A Possible Protective Effect of Nut Consumption on Risk of Coronary Heart Disease: The Adventist Health Study. *Archives of Internal Medicine*, v.152, n. 7, p. 1416-1424, 1992.

FREISLING, H. et al. Nut intake and 5-year changes in body weight and obesity risk in adults: results from the EPIC-PANACEA study. *European Journal of Nutrition*, p. 1-10, 2017. 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.

GAZZOLA, J. et al. A amêndoa da castanha-de-caju: Composição e importância dos ácidos graxos – produção e comércio mundiais. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural – SOBER, 44, 2006, Fortaleza, CE. Fortaleza: SOBER, 2006. 14 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18939/1/A-amendoeira-da-castanha-de-caju.pdf>>. Acesso em: 17 Agosto 2018.

GUASCH-FERRÉ, M. et al. Nut Consumption and Risk of Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 70, n. 20, p. 2519-2532, 2017.

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 & Metabolism*, v. 8, n. 1, p. 59, 2011.

IBARROLA-JURADO, N. et al. Cross-Sectional Assessment of Nut Consumption and Obesity, Metabolic Syndrome and Other Cardiometabolic Risk Factors: The PREDIMED Study. *Plos One*, v. 8, n. 2, 2013.

LIU, C. et al. Molecular and Functional Properties of Protein Fractions and Isolate from Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L.). *Molecules*, v. 23, n. 2, p. 1-15, 2018.

LLOYD-JONES, D. M. Defining and Setting National Goal for Cardiovascular Health Promotion and Disease Reduction: The American Heart Association's Strategic Impact Goal Through 2020 and Beyond. *Circulation*, v. 121, p. 586-613, 2010.

MARANHÃO, P. A. et al. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Nutrition and Metabolism*, v. 8, p. 1-8, 2011.

MCCRORY, M. A. et al. Pulse consumption, satiety, and weight management. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 1, p. 17-30, 2010.

MELO, M. E. Doenças desencadeadas ou agravadas pela obesidade. *Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO)*. Disponível em:

<<http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/28/5521afaf13cb9.pdf>>. Acesso em: 10 setembro 2017.

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. *The Journal of Nutrition*, v. 148, n. 1, p. 63-69, 2018.

MORI, A. M., CONSIDINE, R. V., MATTES, R. D. Acute and second-meal effects of almond form in impaired glucose tolerant adults: a randomized crossover trial. *Nutrition and Metabolism*, v. 8, n. 6, p. 1-8, 2011.

NEALE, E. et al. The effect of nut consumption on markers of inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *The British Medical Journal*, v. 7, n. 11, p. 1-15, 2017.

PI-SUNYER, X; MOORE, B. J. Epidemiology, etiology, and consequences of obesity. In: AKABAS, S. R.; LEDERMAN, S. A.; MOORE, B. J (Org.). *Textbook of Obesity: Biological, Psychological and Cultural Influences*. United Kingdom: Wiley-Blackwell, 2012. p. 5-41.

POLLACK, A. A.M.A. Recognizes Obesity as a Disease. *New York Times*. Disponível em: <<https://www.nytimes.com/2013/06/19/business/ama-recognizes-obesity-as-a-disease.html>>. Atualizado em: 20 Junho 2013. Acesso em: 14 Dezembro 2018.

RAATZ, S. Go Nuts! *United States Department of Agriculture (USDA)*. Disponível em: <<https://www.ars.usda.gov/plains-area/gfnd/gfhnc/docs/news-2013/go-nuts/>>. Atualizado em: 13 Agosto 2016. Acesso em: 04 Setembro 2018.

ROS, E. Health Benefits of Nut Consumption. *Nutrients*, n. 2, p. 652-682, 2010.

TEY, S. L. et al. Nuts Improve Diet Quality Compared to Other Energy-Dense Snacks While Maintaining Body Weight. *Journal of Nutrition and Metabolism*, p. 1-11, 2011.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). *Food composition databases*. Disponível em: <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>>. Acesso em: 12 abril 2018. (a)

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Going Nuts Over Calories. *Agricultural Research Magazine*, v. 66, n.3, 2018. (b)

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). *Qualified Claims About Cardiovascular Disease Risk*. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Food/LabelingNutrition/ucm073992.htm#cardio>>. Atualizado em: 15 fevereiro 2018. Acesso em 12 Abril 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *10 facts on obesity*. Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/obesity/en/>>. Atualizado em: Outubro 2017. Acesso em: 15 agosto 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Adolescent obesity and related behaviours: trends and inequalities in the WHO European Region, 2002-2014*. Disponível em: <http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0019/339211/WHO_ObesityReport_2017_v3.pdf>. Atualizado em: 2017. Acesso em: 14 Dezembro 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Controlling the global obesity epidemic*. Disponível em: < <https://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/>>. Acesso em: 14 Dezembro 2018. (a)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global Action Plan for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases 2013-2020*. Disponível em: <http://africahealthforum.afro.who.int/IMG/pdf/global_action_plan_for_the_prevention_and_control_of_ncds_2013-2020.pdf>. Atualizado em: 2013. Acesso em: 14 Dezembro 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global Health Observatory (GHO) data - Obesity*. Disponível em: <https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/>. Acesso em: 14 Dezembro 2018. (b)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Obesity and overweight*. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Atualizado em: 16 Fevereiro 2018. Acesso em: 14 Dezembro 2018. (c).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da ingestão aguda de um *mix* de *nuts* contendo castanha-de-caju e castanha-do-pará sobre a percepção de fome e saciedade, homeostase metabólica e estresse oxidativo em indivíduos com excesso de peso.

3.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver um *shake* contendo castanha-de-caju e castanha-do-pará;
- Realizar análise sensorial (palatabilidade) do *shake* desenvolvido;
- Avaliar a resposta aguda do *shake* sobre:
 - Percepção de fome e saciedade;
 - Glicose e insulina;
 - Perfil lipídico;
 - Estresse oxidativo.

4. RESULTADOS

4.1. CAPÍTULO 1: Resposta aguda ao consumo de *nuts* sobre a percepção de fome e saciedade

*Acute effect of a shake containing cashew and Brazil nuts on satiety in overweight subjects: a randomized, cross-over study**

Mirian Aparecida de Campos Costa¹, Helen Hermana Miranda Hermsdorff¹, Ana Paula Silva Caldas¹, Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha¹, Leandro Licursi de Oliveira², Josefina Bressan¹

¹Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brazil.

²Department of General Biology, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brazil.

Corresponding author: Josefina Bressan. Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa. Avenida PH Rolfs, s/n. Viçosa – MG, Brasil. 36570-900. E-mail: jbrm@ufv.br

*Artigo a ser submetido à revista *Appetite*

Classificação Qualis Nutrição: A1

Abstract

Aims: To evaluate the effect of acute intake of a shake containing cashew nuts (*Anacardium occidentale*) and Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) compared with a shake absent of nuts (control) on appetite responses in overweight subjects.

Methods: This was a clinical, randomized, controlled, single-blind, cross-over study. On two test days, 15 subjects received either a test or a control shake. Appetite responses were evaluated by subjective and objective satiety measurements. This study was registered on the Brazilian Registers of Clinical Trials – REBEC (protocol: U1111-1203-9891).

Results: It was observed a higher desire to eat sweet food at fasting as well as savory food 120 minutes after control shake intake; however, no difference was observed for subjective appetite sensations between groups. There was no significant difference in subsequent energy intake as well as macronutrient content over the day between groups.

Conclusions: These findings suggest that the mechanism by which nuts enhance satiety may not occurs over a short time period. Further studies are warranted to elucidate that.

Keywords: Brazil nuts, cashew nuts, appetite, satiety.

Introduction

Obesity has reached epidemic proportions, becoming one of the main public health problems worldwide (WHO, 2018a). According to the World Health Organization, the prevalence of obesity was almost three times greater between 1975 and 2016 (WHO, 2018b). Overweight is a major risk factor for cardiovascular disease, type 2 diabetes, dyslipidemia, and some forms of cancer (BRAY et al., 2017; WHO, 2018b), which leads to at least 2.8 million deaths each year (WHO, 2018c).

Diet, in conjunction with genetic and environmental factors, plays a significant role in weight control (BRESSAN et al., 2013). Several studies have demonstrated the benefits associated with regular consumption of nuts on health (JAMSHED et al., 2015; GUASCH-FERRÉ et al., 2017; IBARROLA-JURADO et al., 2013; ROS, 2010; MORI et al., 2011) and its inverse association with weight gain, despite their high fat and energy content (FREISLING et al., 2017; MOHAN et al., 2018; TAN & MATTES, 2013; TEY et al., 2011; FLORES-MATEO et al., 2013).

Due to its high protein, fiber and unsaturated fat content (CARDOSO et al., 2017; SOUZA et al., 2017), several studies have reported the satiating properties of nuts (HULL et al., 2015; REIS et al., 2013). However, there is little information about the effect of acute nut consumption on satiety.

Therefore, we aimed to evaluate the effects of acute intake of a shake containing cashew nuts (*Anacardium occidentale*) and Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) compared with a shake absent of nuts (control) on appetite responses in overweight and obese subjects. This study was registered on the Brazilian Registers of Clinical Trials – REBEC (protocol: U1111-1203-9891).

Subjects and Methods

Subjects

Subjects were recruited by advertisements in the local community and social media. After answering an online questionnaire, those who met inclusion criteria were invited to a screening at the laboratory, which included anthropometric measurements and questions about their nutritional, medical e familiar history (*Anexo 1*). We included 18 healthy subjects, aged between 18 and 59 years, non-smokers, with a body mass index (BMI) between 26 and 39.9

kg/m², body fat >25% for men and >33% for women and waist circumference >88 cm for women and >102 cm for men. We did not include individuals with a known allergy to cashew or Brazil nuts; on regular medication that might affect appetite and/or energetic, lipid or glucose metabolism; those who presented infectious or allergic episodes 30 days prior to the study; persons under weight-loss diets; who did not presented stable weight (± 3 kg) during the previous 90 days and those drinking more than 168 grams of alcohol a week. The flowchart of the study subjects is presented in Figure 1.

This study was approved by the human research ethics committee of the Universidade Federal de Viçosa (protocol: 2.205.393) and was conducted according to the Declaration of Helsinki. All participants signed a written consent term (*Anexo 6*).

Study design

This was a clinical, randomized, controlled, single-blind, cross-over study. Once completed screening, subjects were invited to attend two-morning tests at the Laboratory of Energy Metabolism and Body Composition, situated in the Department of Nutrition and Health, UFV.

On the night prior to the study, participants were instructed to consume a standard dinner, which included a chicken sandwich and 200 mL of grape juice (total calories: 670 kcal; carbohydrate: 75 g; protein: 44 g; total lipid: 17 g; fiber: 4.3 g). They were required to avoid non-habitual physical exercise 24 hours prior to the test as well as alcohol, caffeine, dried fruits, nuts, thermogenic foods, vitamin, and mineral supplements on the prior 48 hours (*Anexo 2*).

After overnight fasting, subjects were instructed to consume within 15 minutes a control (absent of nuts) or test shake (with nuts). The order of shakes was previously randomized by a computer-generated list. After a washout period, from 7 to 14 days, subjects switched to the other group.

Following shake consumption, participants remained for the next 4 hours at the laboratory. Fasting and postprandial blood samples were collected during this period. Once completed the study protocol, subjects were invited to consume a standard lunch, which included pasta and 200 mL of grape juice (Figure 2).

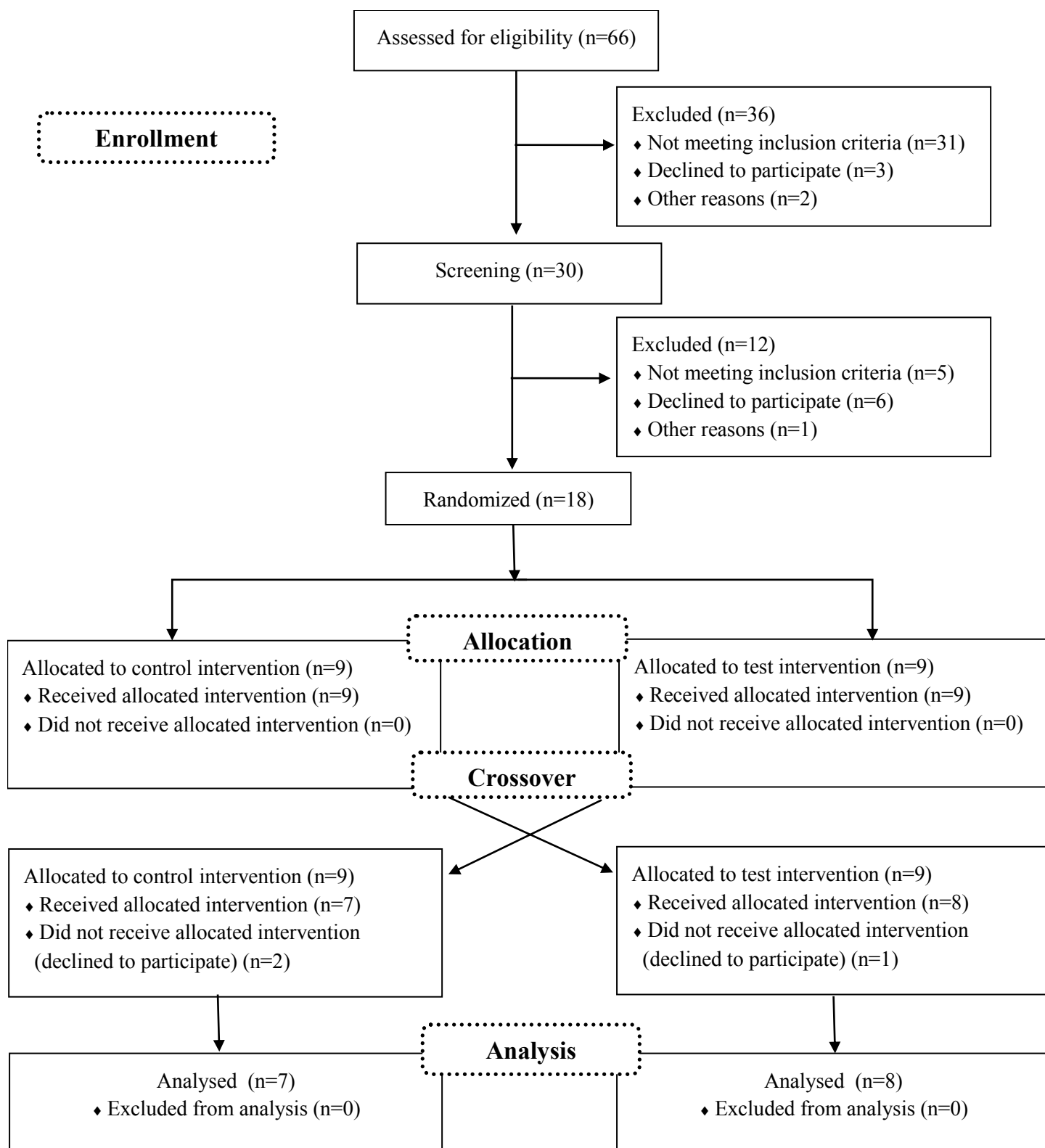


Figure 1: Flowchart of study participants.

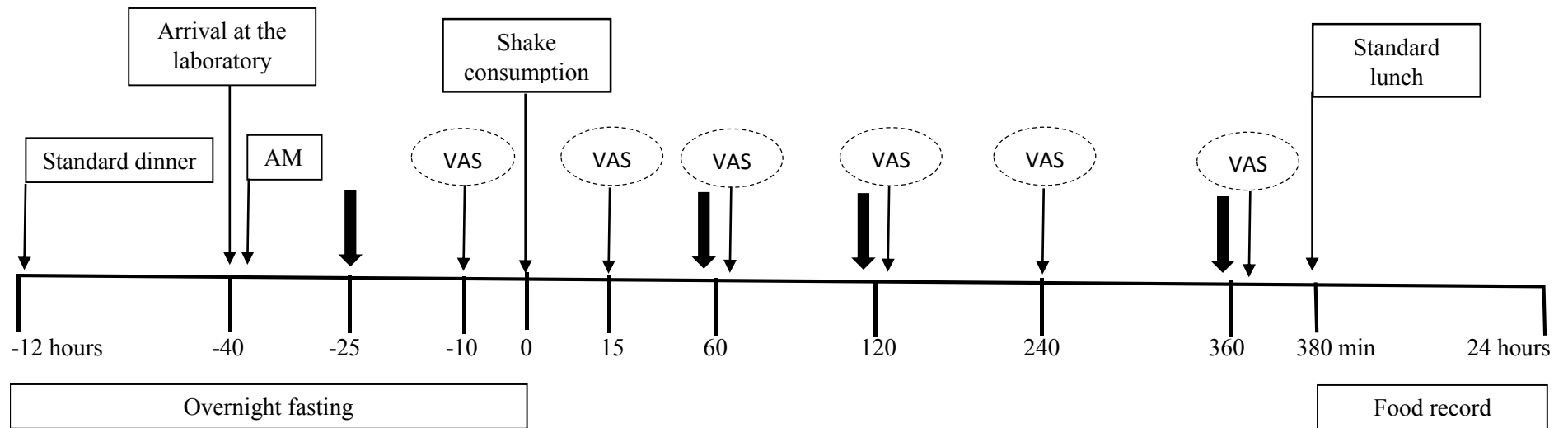


Figure 2: Experimental protocol. AM: Anthropometric measurements; VAS: Visual Analogue Scale. Filled arrows: blood collection.

Nutrient profile and composition of the shakes

The control and test shakes were very similar in macronutrient content. The main difference was test shake included 15g Brazil nuts and 30g cashew nuts while control shake was absent of nuts. It was added three drops hazelnut essence and two drops caramel color to the control shake in order to turn its visual aspect similar to the test shake.

The mixes of nuts were previously weighted and stored at -20°C until test day. Ingredients of control and test shake were mixed with 250 mL water and 150 mL ice in a blender. The nutrient profile of the shakes is presented in Table 1.

In addition, control and test shakes were evaluated by visual analogue scales (VAS), which included questions about their visual appeal, taste, after taste, smell and palatability. Answers varied from “good” to “bad” at each extreme of a 100 mm scale, and participants were instructed to mark a line at the point that reflected their opinion about each characteristic (*Anexo 3*).

Table 1: Nutrient profile and composition of the control and test shakes¹.

Ingredients	Total (g)	Energy (kcal)	CHO (g)	PTN (g)	LIP (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	Fiber (g)
Control (500 mL)									
Skim Milk Powder	40.0	143.7	21.2	13.8	0.3	0.24	0.08	0	0
Soybean Oil	22.7	204.3	0	0	22.7	3.45	5.28	13.62	0
Sugar	10.0	39.9	9.9	0	0	0	0	0	0
Whey protein	7.0	27.5	1.6	4.2	0.4	0.30	0.07	0	0
Corn Starch	6.0	21.0	5.2	0	0	0	0	0	0
Total	85.7	436.4	37.9	18.0	23.4	3.99	5.43	13.62	0
Test (500 mL)									
Cashew Nuts	30.0	182.1	8.7	5.5	13.8	2.74	8.19	2.35	1.0
Brazil Nuts	15.0	103.4	2.2	2.1	9.5	2.29	4.11	3.15	1.1
Skim Milk Powder	30.0	107.8	15.9	10.4	0.3	0.18	0.06	0	0
Sugar	11.0	43.9	10.9	0	0	0	0	0	0
Total	86.0	437.2	37.7	18.0	23.6	5.21	12.36	5.5	2.1

¹Adapted from Brazilian food composition databases and United States Department of Agriculture. CHO: Carbohydrates; PTN: Protein; LIP: Total Lipid; SFA: Saturated Fatty Acids; MUFA: Monounsaturated Fatty Acids; PUFA: Polyunsaturated Fatty Acids.

Appetite assessment

Subjective appetite sensations were analyzed through visual analogue scales (VAS), which are 100 mm lines with opposite feelings at each end. Questions evaluated hunger, satiety, fullness, desire to eat something salty, sweet, fatty or savory, prospective of food consumption,

and palatability of the shakes (FLINT et al., 2000) (*Anexo 5*). Therefore, subjects were instructed to mark a line at the point that corresponded to their feeling at that moment. Quantification of each scale was done by measuring the distance from the left end to the marked point. VAS were recorded at fasting, immediately after shake consumption, and hourly for the subsequent 4 hours.

Satiety was also evaluated by measuring the quantity of food consumed at the standard lunch. After completing the study, it was served an ad libitum meal, which included approximately 1000 grams of pasta with Bolognese sauce and 200 mL of grape juice. Consumption was measured by calculating the difference between the leftover food and served food, using a digital scale (Exact Basic®, model BS-3000A).

Finally, satiety was assessed by measuring food consumption over the day. On the test days, subjects were asked to fill out a food record from the time they left the laboratory until the end of the day (*Anexo 4*). They were previously instructed by a dietitian how to register their food consumption adequately. All food records were analyzed using a computer software (Avanutri 2.0.0, Avanutri, Equipamentos de Avaliação Ltda), based on Brazilian food composition databases. Results were analyzed by investigating if total energy intake, and also macronutrient and fiber content differed in response to control and test shakes.

Anthropometric assessment

Anthropometric measurements were collected at the screening and on the two test days in order to detect any variation that might occurred in weight and/or body composition. Anthropometric assessments and body composition were measured while subjects were barefoot, wearing only light clothes. Body weight and body composition were measured by a tetrapolar bioelectrical impedance analysis device (InBody®, model 230, BiospaceCo). Height was measured using a fixed stadiometer (SECA model 206, Hamburg, Germany). Waist and hip circumferences were measured by a flexible and inelastic tape. Body, height, waist, and hip circumference were assessed according to standardized protocols (WHO, 2008; CDC, 2007).

Statistical analyses

Statistical analyses were performed by SPSS 20 software for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Data were expressed as mean $\pm$ SEM. The Shapiro-Wilk test was performed

to verify the normality of the continuous variables. The analysis of variance (ANOVA) of repeated measures followed by post hoc Tukey was applied to evaluate the effect of time, shakes consumption, and interaction of both factors on the satiety scales. The trapezoidal method was used to calculate the incremental area under the curve (iAUC) of subjective satiety sensations by using GraphPad Prism software (Version 6; GraphPad software Inc). The paired t test was performed to compare total energy intake and macronutrient content, palatability of the shakes and iAUC for subjective appetite sensations between control and test groups. Greenhouse-Geisser correction was performed when the assumption of sphericity was violated. It was used a statistical significance criterion (α) of 0.05 for all analyses.

Results

A total of 15 participants (10 women and 5 men) completed the study. Baseline characteristics of subjects are presented in Table 2.

Table 2: Anthropometric characteristics of the subjects at baseline.

Anthropometric measurements	Mean $\pm$ SEM
Age (y)	29.0 $\pm$ 1.9
BMI (kg/m ²)	30.9 $\pm$ 0.9
Body Fat (%)	39.2 $\pm$ 1.4
Waist Circumference (cm)	100.7 $\pm$ 3.1
Waist-hip ratio	0.92 $\pm$ 0.01
SBP (mmHg)	124.8 $\pm$ 3.0
DBP (mmHg)	81.1 $\pm$ 2.2

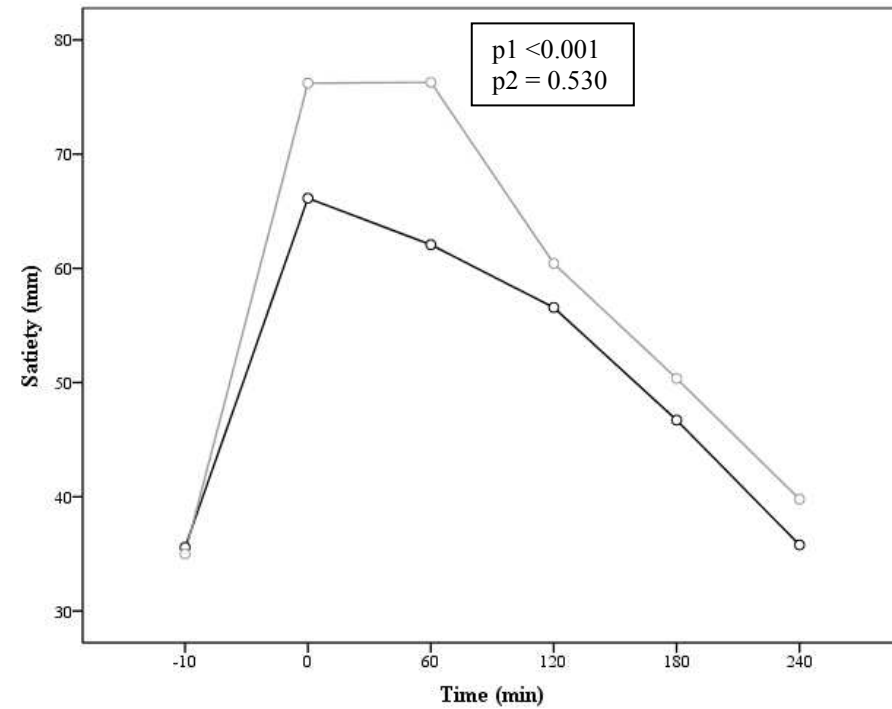
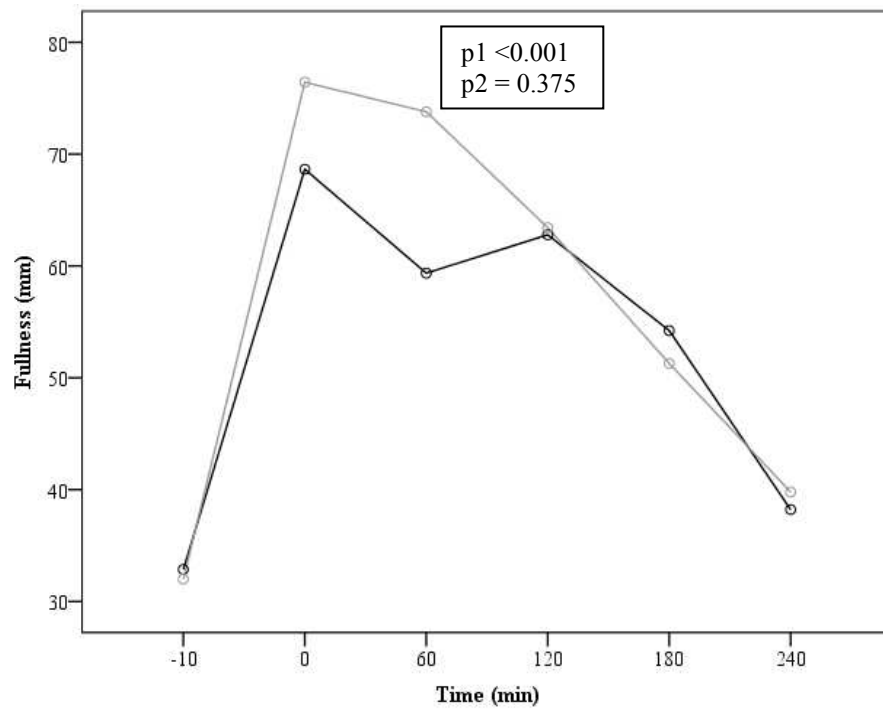
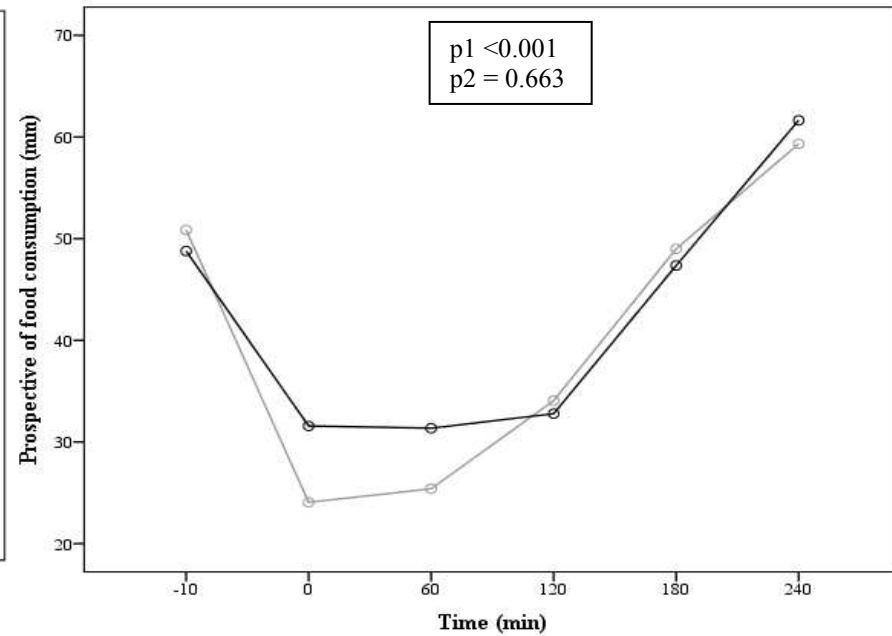
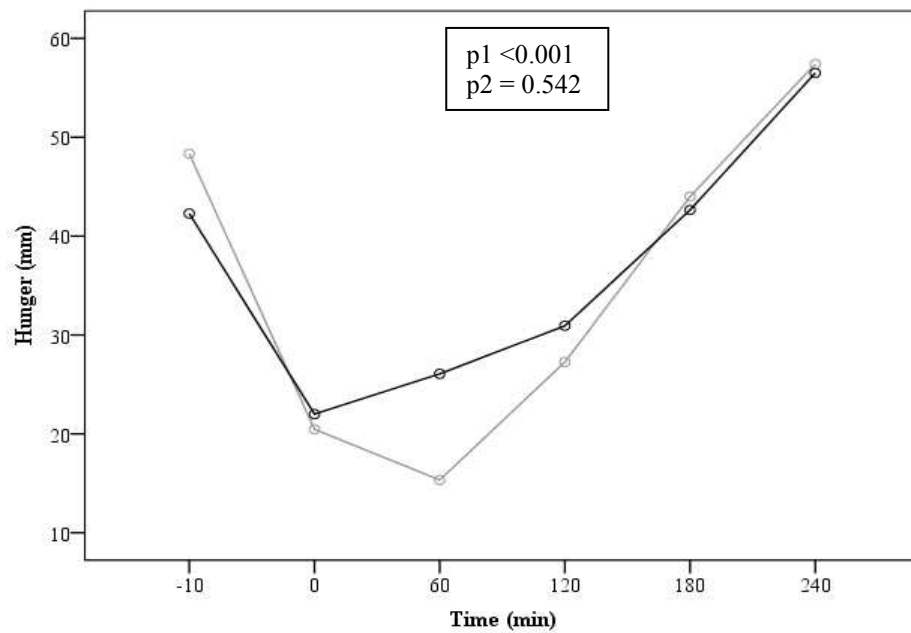
Total n = 15 (female = 10; male = 5). BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

It was observed a higher desire to eat sweet food at fasting as well as savory food 120 minutes after shake consumption on the control group; however, there was no significant difference between groups for appetite sensations (Figure 3). When iAUC was performed for the same scores, the control and test groups did not differ significantly from each other (Table 3). Moreover, the consumption of standard lunch did not differ significantly between groups (data not shown).

Table 3: iAUC values for subjective appetite sensations and desire for specific foods¹.

iAUC (cm.h)	Control shake	Test shake	p-value
Salty Food	10.84 ± 2.36	8.34 ± 1.87	0.341
Sweet Food	10.94 ± 2.32	7.36 ± 2.23	0.076
Savoury Food	11.69 ± 2.68	9.94 ± 1.80	0.462
Fatty Food	5.67 ± 2.34	4.35 ± 1.55	0.486
Satiety	11.56 ± 1.61	12.68 ± 1.51	0.610
Hunger	8.51 ± 1.43	11.09 ± 1.28	0.157
Fullness	13.49 ± 1.74	15.15 ± 1.58	0.472
Prospective of Food Consumption	8.71 ± 1.27	9.01 ± 1.34	0.881

¹Values are means ± SEM. n = 15. p-values according to paired t test.



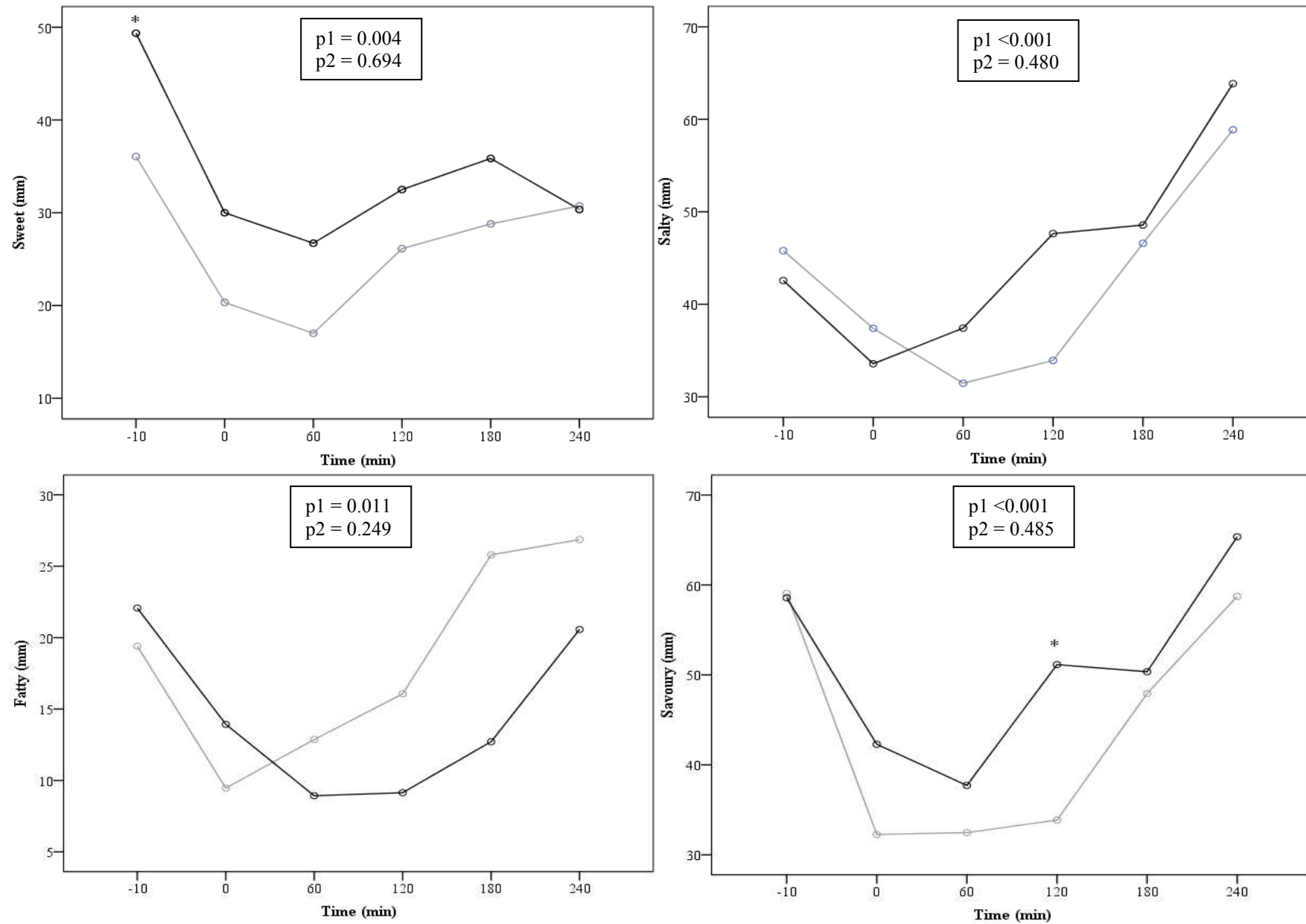


Figure 3: Subjective scores for appetite sensations and desire to eat specific types of food after an overnight fast (time -10), immediately after shake consumption (time 0) and on the following 4 hours. n=15. Dark lines: control shake; light lines: test shake. Values are means. p1: p value in relation to time; p2: p value in relation to time vs. diet; both according to ANOVA of repeated measures followed by post hoc Tukey. * indicate significant difference between groups in relation to time, according to paired t test ($p < 0.05$).

Daily mean intake of the two test days, analyzed through food records, is presented in Table 4. As shown, total energy intake, as well as macronutrient and fiber content, did not differ between groups.

Table 4: Mean daily nutrient intake from food recalls, on control and test days¹.

	Control day (n=15)	Test day (n=15)	p-value
Energy (kcal)	1012 $\pm$ 133	1160 $\pm$ 161	0.355
Carbohydrate (g)	137.5 $\pm$ 19.4	160.3 $\pm$ 21.1	0.222
Protein (g)	27.0 $\pm$ 3.5	46.5 $\pm$ 7.9	0.056
Total lipid (g)	36.4 $\pm$ 7.2	45.8 $\pm$ 5.6	0.177
Fiber (g)	7.1 $\pm$ 0.7	7.9 $\pm$ 1.3	0.596

¹Values are means $\pm$ SEM. p-values according to t test.

Regarding the palatability of the shakes, there was no significant difference on visual appeal, taste, after taste, smell and palatability between the groups (Figure 4).

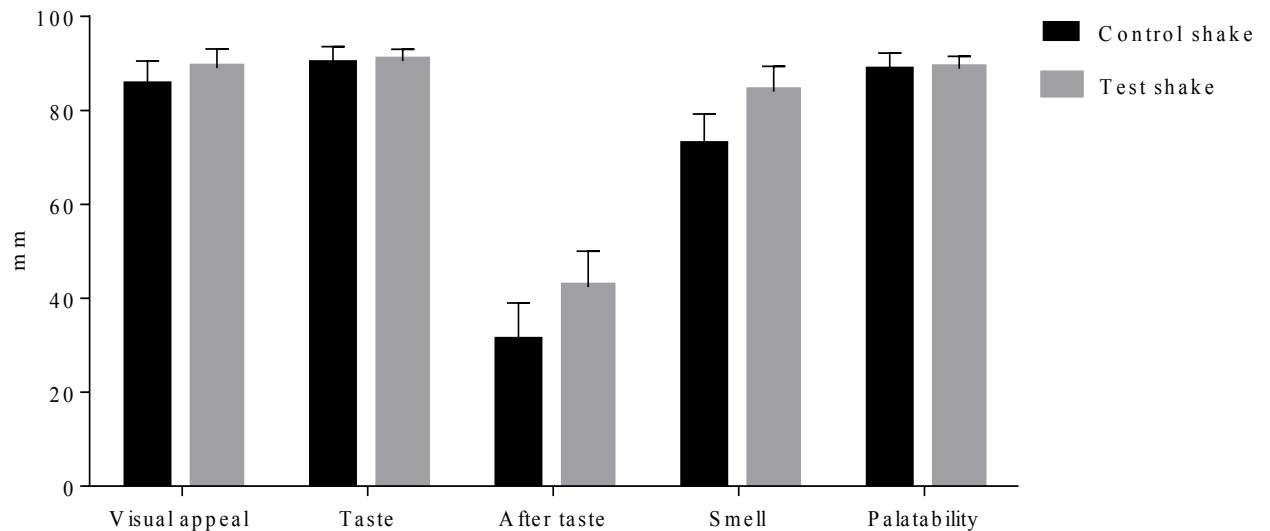


Figure 4: Palatability of the control and test shakes. Values are means $\pm$ SEM and did not differ between groups according to paired t test ($p > 0.05$).

Discussion

To our knowledge, this is the first study that investigated the acute effect of Brazil and cashew nuts on appetite responses. Several studies have reported satiating properties of nuts, mainly due to their nutritional content that is high in protein, fiber, and fat (FARR et al., 2018; HULL et al., 2015; TAN & MATTES, 2013). The results of this study, however, are not consistent with our hypothesis; we expected a greater satiation response in the test group (shake with nuts) when compared with the control group (absent of nuts). Even subjective or objective appetite measurements, assessed by VAS and consumption of a standard lunch, respectively, did not indicate a significant difference on satiety between control and test groups.

Although not expected, the fact of the control and test shakes were isocaloric may explain these findings. Other studies that compared nuts with isocaloric meals found no difference on postprandial appetite responses (CASAS-AGUSTENCH et al., 2009; TEY et al., 2011; SAYER et al., 2017; BARBOUR et al., 2014), which supports the hypothesis that energy content is the primary determinant of satiety (ALPER & MATTES, 2002; KIRKMEYER & MATTES, 2000).

Macronutrient distribution is also an important determinant of satiety, especially protein (HALTON & HU, 2004; BOWEN et al., 2006; LEIDY et al., 2015) and fiber content (SLAVIN & GREEN, 2007; WANDERS et al., 2011; CLARK & SLAVIN, 2013). Control and test shakes matched in macronutrients, except for fiber content, which was greater in the test shake. Even though, this difference was not capable of influencing satiety response.

In this sense, we believe that the fiber dose contained on test shake was insufficient to cause a significant impact on satiety. However, it cannot be confirmed because, regardless of fiber type, the fiber dose involved on appetite response is still not established (CLARK & SLAVIN, 2013).

It should also be highlighted that mastication plays a crucial role on satiety, mainly because of its consequences on neural and endocrine mechanisms (MCARTHUR et al., 2018; FARR et al., 2018). Indeed, the oral effort and time required during mastication of whole nuts have been associated with important effects on satiety, meal fat availability, and stimulation of postprandial hormones such as insulin, ghrelin, cholecystokinin, PYY and GLP-1 (MCARTHUR et al., 2018; CASSADY et al., 2009). However, since our study is a randomized clinical trial, and control and test shakes were standardized as liquid meals, we expected no influence of mastication by eliminating the bias of food form. Although the isolated effect of

mastication on satiety is still unclear (MCARTHUR et al., 2018), it is likely that skipping this step has affected the significance of our results. Similar theory is supported by Brennan et al. (2010).

Regarding the period of the study, some authors have noted no benefit on satiation after acute nut consumption (DEVITT et al., 2011; BARBOUR et al., 2014; JOHNSTON et al., 2013). In a randomized, double-blind, cross-over study, walnut consumption improved participants satiation only after the third day (BRENNAN et al., 2010). These findings suggest that the mechanism by which nuts enhance satiety may not occur over a short time period (BRENNAN et al., 2010; MCARTHUR et al., 2018), which corroborates our results.

Our study has some strengths. First, the cross-over design reduced individual variability when evaluating the same subjects. Control and test groups were matched in energy and macronutrient content, as well as portion size. Moreover, since control and test were standardized as liquid meals, there was no bias of mastication, which could have influenced our results by affecting the particle size of the food. All these factors are key determinants of satiety (ALPER & MATTES, 2002; KIRKMEYER & MATTES, 2000; BARBOUR et al., 2014). Finally, it must be highlighted that we evaluated appetite response subjectively and objectively, through three different methods. As the main limitation, we did not measure satiety hormones, which could better indicate changes on appetite response.

In conclusion, in our study, the acute intake of a shake containing Brazil and cashew nuts did not differ from a shake absent of nuts on subjective and objective satiety responses, neither on subsequent energy intake over the day. Further studies are warranted to elucidate the mechanisms involved in the satiating properties of nuts, especially regarding a short time period.

References

- ALPER, C. M.; MATTES, R. D. Effects of chronic peanut consumption on energy balance and hedonics. *International Journal of Obesity*, v. 26, p. 1129-1137, 2002.
- BARBOUR, J. A. et al. Lower energy intake following consumption of Hi-oleic and regular peanuts compared with iso-energetic consumption of potato crisps. *Appetite*, n. 82, p. 124-130, 2014.
- BOWEN, J.; NOAKES, M.; CLIFTON, P. M. Appetite Regulatory Hormone Responses to Various Dietary Protein Differ by Body Mass Index Status Despite Similar Reductions in *ad Libitum* Energy Intake. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 91, n. 8, p. 2913-2919, 2006.
- BRAY, G. A.; KIM, K. K.; WILDING, J. P. H. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obesity Reviews*, n. 18, p. 715-723, 2017.
- BRENNAN, A. M. et al. Walnut Consumption Increases Satiation but Has No Effect on Insulin Resistance or the Metabolic Profile Over a 4-day Period. *Obesity*, v. 18, n. 6, p. 1176-1182, 2010.
- BRESSAN, J.; VIDIGAL, F. C.; HERMSDORFF, H. H. M. Social Components of the Obesity Epidemic. *Current Obesity Reports*, v. 2, p. 32-41, 2013.
- CARDOSO, B. R. et al. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. *Food Research International*, p. 1-10, 2017.
- 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, p. 39-45, 2009.
- CASSADY, B. A. et al. Mastication of almonds: effects of lipid bioaccessibility, appetite, and hormone response. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 89, p. 794-800, 2009.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) – Anthropometry Procedures Manual. January 2007. <https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/manual_an.pdf>.
- CLARK, M. J.; SLAVIN, J. L. The Effect of Fiber on Satiety and Food Intake: A Systematic Review. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 32, n. 3, p. 200-211, 2013.
- DEVITT, A. A. et al. Appetitive and Dietary Effects of Consuming an Energy-Dense Food (Peanuts) with or between Meals by Snackers and Nonsnackers. *Journal of Nutrition and Metabolism*, v. 2011, p. 1-9, 2011.
- FARR, O. M. et al. Walnut consumption increases activation of the insula to highly desirable food cues: A randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over fMRI study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, v. 20, n. 1, p. 173-177, 2018.

- 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, p. 38–48, 2000.
- FLORES-MATEO, G. et al. Nut intake and adiposity: meta-analysis of clinical trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 97, n. 6, p. 1346-1355, 2013.
- FREISLING, H. et al. Nut intake and 5-year changes in body weight and obesity risk in adults: results from the EPIC-PANACEA study. *European Journal of Nutrition*, p. 1-10, 2017.
- GUASCH-FERRÉ, M. et al. Nut Consumption and Risk of Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 70, n. 20, p. 2519-2532, 2017.
- HALTON, T. L.; HU, F. B. The Effects of High Protein Diets on Thermogenesis, Satiety and Weight Loss: A Critical Review. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 23, n.5, p. 373-385, 2004.
- HULL, S. et al. A mid-morning snack of almonds generates satiety and appropriate adjustment of subsequent food intake in health men. *European Journal of Nutrition*, v. 54, p. 803-810, 2015.
- IBARROLA-JURADO, N. et al. Cross-Sectional Assessment of Nut Consumption and Obesity, Metabolic Syndrome and Other Cardiometabolic Risk Factors: The PREDIMED Study. *Plos One*, v. 8, n. 2, 2013.
- JAMSHED, H. et al. Dietary Almonds Increase Serum HDL Cholesterol in Coronary Artery Disease Patients on a Randomized Controlled Trial. *The Journal of Nutrition*, p. 1-6, 2015.
- JOHNSTON, C. S.; TRIER, C. M.; FLEMING, K. R. The effect of peanut and grain bar preloads on postmeal satiety, glycemia, and weight loss on healthy individuals: an acute and chronic randomized intervention trial. *Nutrition Journal*, v. 12, p. 1-10, 2013.
- KIRKMEYER, S. V.; MATTES, R. D. Effects of food attributes on hunger and food intake. *International Journal of Obesity*, v. 24, p. 1167-1175, 2000.
- LEIDY, H. J. et al. The role of protein in weight loss and maintenance. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 101, n. (suppl. 1), p. 1320S-1329S, 2015.
- MCARTHUR, B. M.; CONSIDINE, R. V.; MATTES, R. D. Mastication of Nuts under Realistic Eating Conditions: Implications for Energy Balance. *Nutrients*, v. 10, p. 1-18, 2018.
- 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. *The Journal of Nutrition*, v. 148, n. 1, p. 63-69, 2018.
- MORI, A. M., CONSIDINE, R. V., MATTES, R. D. Acute and second-meal effects of almond form in impaired glucose tolerant adults: a randomized crossover trial. *Nutrition and Metabolism*, v. 8, n. 6, p. 1-8, 2011.
- 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, p. 2015-2023, 2013.

- ROS, E. Health Benefits of Nut Consumption. *Nutrients*, n. 2, p. 652-682, 2010.
- SLAVIN, J.; GREEN, H. Dietary fibre and satiety. *Nutrition Bulletin*, v. 32, n. (suppl. I), p. 32-42, 2007.
- SAYER, R. D. et al. Consuming Almonds vs. Isoenergetic Baked Food Does Not Differentially Influence Postprandial Appetite or Neural Reward Responses to Visual Food Stimuli. *Nutrients*, v. 9, p. 1-11, 2017.
- SOUZA, R. G. M. et al. Nuts and Human Health Outcomes: A Systematic Review. *Nutrients*, v. 9, p. 1-23, 2017.
- TAN, S. Y.; MATTES, R. D. Appetitive, dietary and health effects of almonds consumed with meals or as snacks: a randomized, controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 67, p. 1205-1214, 2013.
- TEY, S. L. et al. Nuts Improve Diet Quality Compared to Other Energy-Dense Snacks While Maintaining Body Weight. *Journal of Nutrition and Metabolism*, p. 1-11, 2011.
- WANDERS, A. J. et al. Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy intake and body weight: a systematic review of randomized controlled trial. *Obesity Reviews*, v. 12, p. 724-739, 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Controlling the global obesity epidemic*. <<https://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/>>. (a)
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention of Cardiovascular Disease - Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk, 2007. <https://www.who.int/cardiovascular_diseases/guidelines/Full%20text.pdf>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Obesity and overweight*. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. (b)
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Obesity – situation and trends*. <https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/>. (c)
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation. Geneva, 8-11 December 2008. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44583/9789241501491_eng.pdf;jsessionid=ED8E8AF1C2D4E10061FF4082673D70DB?sequence=1>.

4.2. CAPÍTULO 2: Resposta aguda ao consumo de *nuts* sobre a homeostase metabólica, perfil lipídico e estresse oxidativo

*Postprandial effect of cashew and Brazil nuts on metabolic response and oxidative stress in overweight subjects: a randomized, cross-over study**

Mirian Aparecida de Campos Costa¹, Helen Hermana Miranda Hermsdorff¹, Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha¹, Ana Paula Silva Caldas¹, Leandro Licursi de Oliveira², Josefina Bressan¹

¹Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brazil.

²Department of General Biology, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brazil.

Corresponding author: Josefina Bressan. Department of Nutrition and Health, Universidade Federal de Viçosa. Avenida PH Rolfs, s/n. Viçosa – MG, Brasil. 36570-900. E-mail: jbrm@ufv.br

*Artigo a ser submetido à revista *European Journal of Nutrition*

Classificação Qualis Nutrição: A1

Abstract

Aims: To evaluate the acute effect of a shake containing cashew nuts (*Anacardium occidentale*) and Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) compared with a shake absent of nuts (control) on metabolic responses and oxidative stress in overweight and obese subjects.

Methods: This was a clinical, randomized, controlled, single-blind, cross-over study. On two test days, 15 subjects with overweight or obesity consumed either a test or a control shake. Serum glucose, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, and triglycerides were measured at fasting and 60, 120, and 240 minutes after shake consumption. Serum insulin and complement C3 were measured at fasting and 240 minutes after shake intake. Oxidative stress markers – nitric oxide, FRAP, malondialdehyde, and superoxide dismutase – were assessed in plasma samples at fasting and hourly on the 4 hours following shake intake. Plasma fatty acid profile was measured by gas chromatography at fasting and 60, 120, and 240 minutes after shake consumption. This study was registered on the Brazilian Registers of Clinical Trials – REBEC (protocol: U1111-1203-9891).

Results: Glucose, insulin, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, and triglycerides concentrations did not vary statistically over time or between groups. Postprandial concentration of complement C3 was significantly higher in the test group, in comparison with the control group. Superoxide dismutase and malondialdehyde levels were significantly lower in the test group at 120 and 240 minutes after shake consumption, respectively. Regarding postprandial lipid metabolism, the AUC for stearic acid was higher in the test group.

Conclusions: Our findings suggest that significant changes in metabolic measures are not likely to occur within a short time period. We also showed a positive association between stearic acid and complement C3 concentrations, suggesting that fatty acid type is a key determinant in the complement C3 response. Finally, the mixed nuts decreased oxidative stress but did not ameliorate oxidative status in subjects. Further studies are necessary to elucidate the effects of Brazil and cashew nuts on metabolic responses.

Keywords: Brazil nuts, cashew nuts, oxidative stress, fatty acids profile, lipid metabolism.

Introduction

Overweight and obesity have reached epidemic proportions and represent a major health public concern worldwide (CHAN & WOO, 2015; BRESSAN et al., 2013). Obesity is defined as a complex, multifactorial disorder and an independent risk factor for other chronic conditions (BRESSAN et al., 2013; AL-DOMI & AHMAD, 2017).

Adipose tissue, currently recognized as an endocrine organ, is responsible for synthesis and secretion of several hormones, including pro-inflammatory substances, such as tumor necrosis factor (TNF), C-reactive protein (CRP) and interleukins (IL) (COELHO et al., 2013; SMITKA & MARESOVA, 2015; AL-DOMI & AHMAD, 2017). Therefore, the excessive fat accumulation presented on overweight and obesity (WHO, 2018) promotes a state of chronic low-grade inflammation, and this increased production of free radicals leads to oxidative stress (AL-DOMI & AHMAD, 2017; PETELIN et al., 2017).

Nuts are good sources of unsaturated fatty acids, which are associated with a better lipid profile (ROS, 2010; TEY et al., 2011; MOHAN et al., 2018) and anti-inflammatory properties (MOHAN et al., 2018; BULLÓ et al., 2011). Among nuts, Brazil nuts are the richest source of selenium (STOCKLER-PINTO et al., 2014; CARDOSO et al., 2017; BULLÓ et al., 2011) and cashew nuts contain the highest total content of alkyl phenol (BULLÓ et al., 2017; ALASALVAR & BOLLING, 2015), both recognized for their antioxidant properties (BULLÓ et al., 2017; ALASALVAR & BOLLING, 2015; CARDOSO et al., 2017).

However, the effects of acute consumption of nuts on lipid profile and oxidative stress remain unclear. Thus, the aim of this study was to evaluate the acute intake of a shake containing cashew nuts (*Anacardium occidentale*) and Brazil nuts (*Bertholletia excelsa*) on metabolic response and oxidative stress in overweight and obese subjects. This study was registered on the Brazilian Registers of Clinical Trials – REBEC (protocol: U1111-1203-9891).

Methodology

Participants

Study subjects were recruited through advertisements in the local community and social media. Inclusion criteria were the following: age 18-50 years; body mass index (BMI) 26–39.9 kg/m²; body fat >25% for men and >33% for women; waist circumference >88 cm for women and >102 cm for men. Persons who presented at least one of the following conditions were not

included: a known allergy to cashew or Brazil nuts; on regular use of medications that might affect appetite and/or energetic, lipid or glucose metabolism; an infectious or allergic episode 30 days prior to the study; those who were under weight-loss diets; an unstable weight on the 90 days prior to the study (± 3 kg); those who ingest more than 168 grams of alcohol a week and smokers.

A total of 66 subjects answered an online questionnaire. After this initial screening, 30 persons were eligible and were invited to a screening at the laboratory, which included anthropometric measurements and questions about their nutritional, medical e familiar history (*Anexo 1*). Eighteen subjects were allocated to the control or test group, and 15 successfully completed the study (Figure 1).

This study was registered on the Brazilian Registers of Clinical Trials – REBEC (protocol: U1111-1203-9891) and was approved by the human research ethics committee of the Universidade Federal de Viçosa (protocol: 2.205.393). All volunteers signed a written term consent and the procedures are in accordance with the Declaration of Helsinki (*Anexo 6*).

Study design

This was a clinical, randomized, controlled, single-blind, cross-over study. The selected volunteers attended two-morning tests at the Laboratory of Energy Metabolism and Body Composition, situated in the Department of Nutrition and Health, UFV.

Two days prior to each test day, the volunteers were instructed to avoid alcohol, caffeine, dried fruits, nuts, thermogenic foods, vitamin and mineral supplements intake, as well as non-habitual physical activity on the prior 24 hours (*Anexo 2*).

The volunteers received a standard dinner to be consumed on the night prior to each test day, which included a chicken sandwich and 200 mL grape juice (total calories: 670 kcal; carbohydrate: 75 g; protein: 44 g; total lipid: 17 g; fiber: 4.3 g). After that, participants were not allowed to eat or drink anything, except water or medications, on the following 12 hours.

On the test days, subjects were instructed to consume, within 15 minutes, control or test shake. The order of shakes intake was previously randomized by a computer-generated list.

Subjects remained in the laboratory for the next 4 hours following shake consumption. Fasting and postprandial blood samples were collected (Figure 2). Participants completed the study after a washout period, between 7 and 14 days.

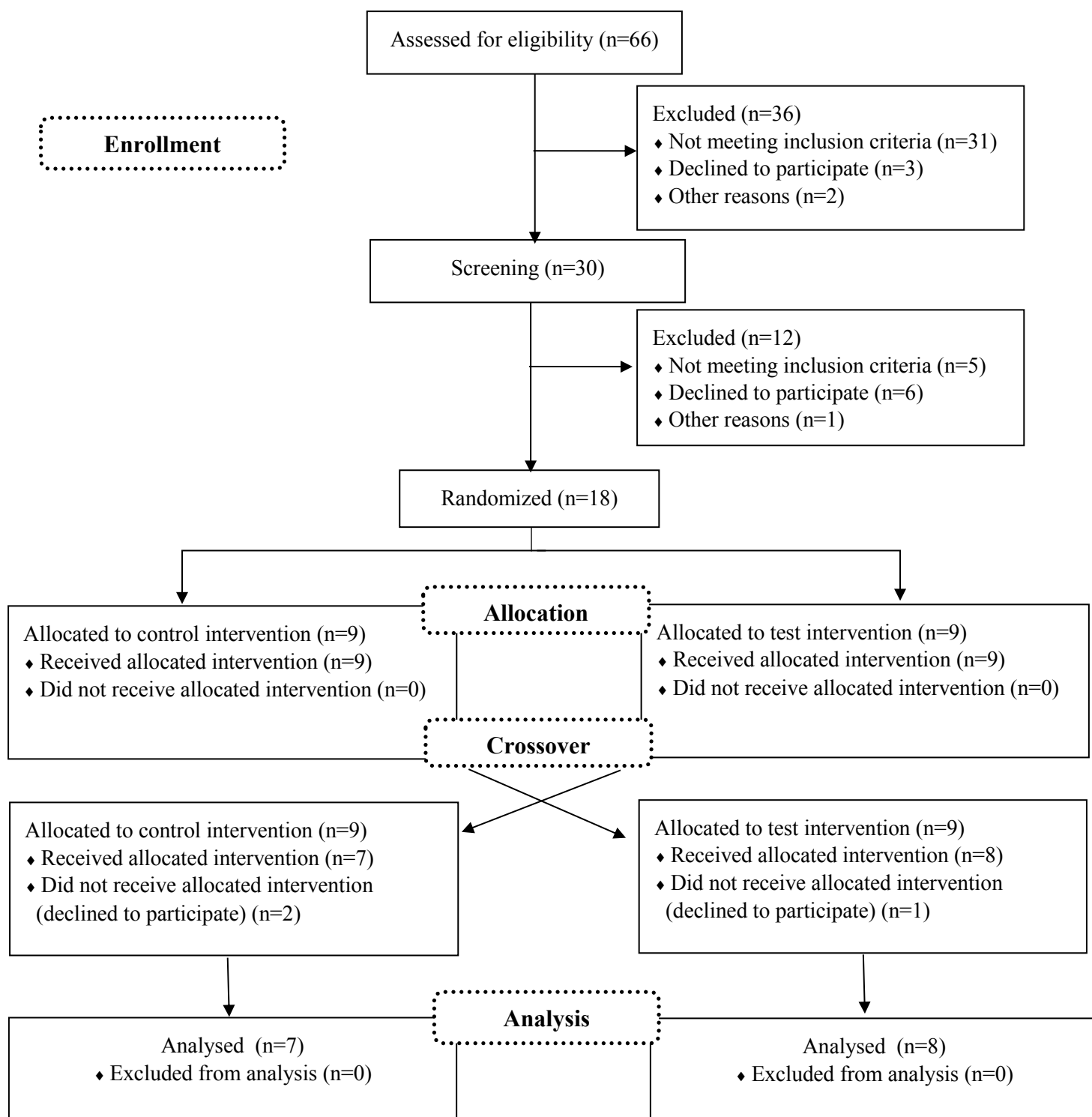


Figure 1: Flowchart of study participants.

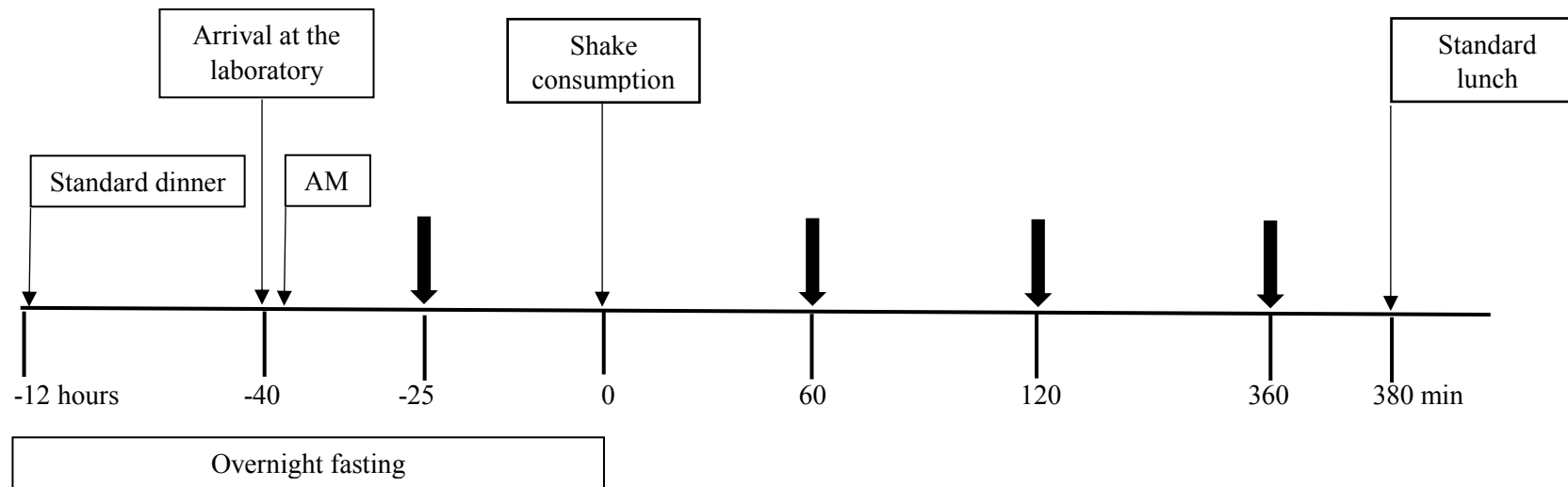


Figure 2: Experimental protocol. AM: Anthropometric measurements; Filled arrows: blood collection.

Nutrient profile and composition of the shakes

The control and test shakes matched in energy and macronutrient content. The main difference between them was test shake was prepared with 15g Brazil nuts and 30g cashew nuts while control shake was absent of nuts.

The control shake provided 37.9g carbohydrate, 18g protein, 23.4g total lipid, 0.04g fiber, and 436.4 kcal. The test shake provided 37.7g carbohydrate, 18g protein, 23.6g total lipid, 2.1g fiber, and 437.2 kcal.

The control shake was prepared with 22.7g soybean oil, 40g skim milk powder, 10g refined sugar, 7g whey protein, 6g corn starch, 3 drops hazelnut essence and 2 drops caramel color. The test shake was prepared using the following ingredients: 30g cashew nuts, 15g Brazil nuts, 30g skim milk powder, 11g refined sugar. Both shakes were mixed in a blender with 250 mL water and 150 mL ice and had a final volume of 500 mL.

Anthropometric and body composition measurements

Body weight and body composition were measured by a tetrapolar bioelectrical impedance analysis device (InBody®, model 230, BiospaceCo). Height was measured using a stadiometer (SECA model 206, Hamburg, Germany), fixed to the wall. Waist and hip circumferences were measured using a flexible and inelastic tape. BMI was calculated using the following formula: $BMI = \text{weight (kg)} / \text{height (m)}^2$.

Body, height, waist, and hip circumference were assessed according to standardized protocols (WHO, 2008; CDC, 2007). Body composition was assessed following the manufacturer's instructions.

Samples collection and analyses

Blood samples were collected by a trained nurse technician at fasting and 60, 120, and 240 minutes after shake consumption. Following blood collection and centrifugation, samples were stored in microtubes at -80°C in an ultra-low freezer (Thermo Fisher Scientific/Forma 900 Series®) until analysis.

Serum glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, and triglycerides were measured by an enzymatic colorimetric method. Complement C3 was performed on serum samples by a

turbidimetric method. All samples were performed by an automated analyzer (Mindray/BS-200® Chemistry Analyzer) according to the manufacturer's instructions (Quibasa – Química Básica Ltda., Brazil).

Serum insulin was measured by an electrochemiluminescence immunoassay following manufacturer's instructions (Access Ultrasensitive Insulin, Beckman Coulter®, USA).

LDL-cholesterol was calculated according to the Friedewald formula: LDL-cholesterol = (total cholesterol) - (HDL-cholesterol) - (triacylglycerol/5) (FRIEDWALD et al., 1972).

Oxidative stress markers analyses

Superoxide dismutase (SOD) activity was evaluated in triplicate, using plasma samples. For determination of the enzymatic activity, 30 µl plasma was added to microplates, followed by addition of 95 µl phosphate buffer solution, 10 µl MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) and 15 µl pyrogallol (1,2,3-benzenetriol). The microplate was incubated for 5 minutes in a laboratory oven at 37°C. After the incubation period, the reaction was interrupted by the addition of 150 µL DMSO (dimethyl sulfoxide). The wide wavelength was measured in a microplate spectrophotometer (Multiskan™ FC Microplate Photometer) at 570 nm and the results were expressed as unit per milliliter of plasma (DIETERISH et al., 2000).

Malondialdehyde (MDA) measurement was performed in duplicate using plasma samples. The method is based on the dosage of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), which leads to the formation of MDA as a breakdown product, according to the method described by Buege & Aust (1978) with modifications. TBARS solution was prepared using 15% trichloroacetic acid (TCA), 0.375% thiobarbituric acid (TBA), and 0.25 M hydrochloric acid (HCl) diluted in an equal volume of distilled water. Then, 400 µl TBARS solution was added to 200 µl plasma sample, vortexed for approximately 10 seconds and remained in a water bath for 40 minutes at 90°C. After that, microtubes were chilled above an ice plate for 5 minutes. It was added 600 µL N-butanol to the microtubes and then, they were vortexed for ± 1 minute. After that, microtubes were centrifuged for 5 minutes at 3000 RPM at room temperature. The clear supernatant was carefully added to microplates. The wide wavelength was measured in a microplate spectrophotometer (Multiskan™ FC Microplate Photometer) at 535 nm. MDA concentration was determined based on a standard curve using TMPO.

Oxide nitric (ON) dosage is based on the detection of nitrite, which is used as an indicator of ON synthesis by the Griess Reagent (standard solution) (GRISHAM et al., 1996). Therefore, 50 μ L plasma was added to microplates with 100 μ L standard solution, and then, incubated at room temperature for 10 minutes. Microplates were read by a microplate spectrophotometer (Multiskan™ FC Microplate Photometer) at 570 nm. All analyses were performed in duplicate.

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) was measured in duplicate. The method consisted of adding 10 μ L plasma samples to 300 μ L FRAP solution (25 mL acetate buffer, 2.5 mL ferric tripyridyl triazine solution and 2.5 mL iron trichloride solution). The microplate was incubated at 37°C for 4 minutes and then read by a microplate spectrophotometer (Multiskan™ FC Microplate Photometer) at 595 nm. Results were expressed as mmol per milliliter of plasma (BENZIE & STRAIN, 1996).

Plasma lipid profile

In order to assess the plasma lipid profile, it was performed a transesterification of fatty acids from plasma samples, based on the methodology developed by Masood et al. (2005).

Then, the samples were analyzed by gas chromatography (Shimadzu®, model CG Solution), which was equipped with a flame ionization detection (FID). For identification and quantification of the fatty acids, it was compared the retention times of the samples with a standard mixture of fatty acids (C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3). The results were expressed as percentages.

Lipid profile, total phenolic content and antioxidant capacity of the nuts

Lipid profile of the nuts used on test shakes was measured by gas chromatography. Identification and quantification of fatty acids presented in the nuts was done by comparing the retention times of the samples with a standard fatty acid mixture, which included C16:0 (palmitic acid), C18:0 (stearic acid), C18:1 (oleic acid), C18:2 (linoleic acid) and C18:3 (linolenic acid). Results were expressed as percentage.

Total phenolic content was determined according to the Bloor method (2001), by using the Folin-Ciocalteu reagent (SINGLETON et al., 1999). Results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) in milligrams per gram of sample.

The antioxidant capacity was determined by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical-scavenging method (BLOIS, 1958). Results were expressed as mmol Trolox equivalents per gram of sample.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed by SPSS software for Windows (Version 20; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Data were expressed as mean $\pm$ SEM. The Shapiro-Wilk test was performed to verify the normality of the continuous variables. The analysis of variance (ANOVA) of repeated measures followed by post hoc Tukey was applied to evaluate the effect of time, shakes consumption, and interaction of both factors on metabolic and oxidative stress responses. The trapezoidal method was used to calculate the area under the curve (AUC) of the postprandial lipid profile by using GraphPad Prism software (Version 6; GraphPad Software Inc). The paired t-test was used to compare serum biochemistry, oxidative stress markers and AUC values between control and test groups. Greenhouse-Geisser correction was performed when the assumption of sphericity was violated. It was used a statistical significance criterion (α) of 0.05 for all analyses.

Results

Fifteen volunteers (10 women and 5 men) successfully completed the study. Their baseline characteristics are shown in Table 1.

Table 1: Anthropometric characteristics of the subjects at baseline¹.

Anthropometric measurements	Value
Age (years)	29.0 $\pm$ 1.9
BMI (kg/m ²)	30.9 $\pm$ 0.9
Body Fat (%)	39.2 $\pm$ 1.4
Waist Circumference (cm)	100.7 $\pm$ 3.1
Waist-hip ratio	0.92 $\pm$ 0.01
SBP (mmHg)	124.8 $\pm$ 3.0
DBP (mmHg)	81.1 $\pm$ 2.2

¹Values are means $\pm$ SEM. BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

Serum complement C3 concentrations increased after 240 minutes following test shake consumption when compared with the control shake at the same time (Table 2). Glucose, insulin, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, and triglycerides concentrations did not differ over time or between groups.

Regarding plasma oxidative stress markers, MDA concentration was significantly lower 240 minutes after test shake consumption compared with control shake at the same time. Similarly, SOD concentration was significantly lower at 120 minutes after test shake consumption, when compared with control shake at the same time. Nitric oxide and FRAP concentrations did not present any significant change over time, even when the interaction of time versus treatment was evaluated (Table 3).

The lipid profile of the nuts used in this study was expressed as percentage. Brazil nuts provided 30.1% oleic acid (C18:1), 42.34% linoleic acid (C18:2), 0.05% linolenic acid (C18:3), 16.35% palmitic acid (C16:0), and 11.16% stearic acid (C18:0). Cashew nuts provided 63.44% oleic acid, 16.97% linoleic acid, 0.08% linolenic acid, 10.54% palmitic acid, and 8.97% stearic acid.

Regarding the total phenolic content of nuts used in this study, Brazil nuts contained a mean of 0.27 mg GAE/g of sample and cashew nuts, 0.34 mg GAE/g of sample. The antioxidant capacity of Brazil nuts was 2.59 mmol Trolox/g of sample and cashew nuts, 3.40 mmol Trolox/g of sample.

Table 2: Serum biochemistry responses to the control and test shakes in overweight and obese subjects¹.

	Control shake				Test shake				p-value
	0 min	60 min	120 min	240 min	0 min	60 min	120 min	240 min	
Glucose (mg/dL)	85.9 ± 6.89	83.73 ± 4.38	77.8 ± 3.31	79.07 ± 6.24	87.0 ± 2.38	66.6 ± 7.45	78.5 ± 7.8	80.9 ± 2.59	0.377
Insulin (μUI/mL)	11.0 ± 1.5	NA	NA	9.7 ± 1.3	11.5 ± 1.3	NA	NA	9.9 ± 1.8	0.511
Total cholesterol (mg/dL)	164.5 ± 15.1	191.4 ± 10.5	165.7 ± 8.1	163.8 ± 13.7	170.4 ± 10.1	172.2 ± 19.1	155.4 ± 14.9	174.8 ± 8.3	0.481
LDL-cholesterol (mg/dL)	90.0 ± 10.5	107.3 ± 8.4	82.2 ± 7.8	84.3 ± 9.0	92.8 ± 7.8	86.7 ± 11.0	76.3 ± 8.6	88.2 ± 5.6	0.844
HDL-cholesterol (mg/dL)	44.6 ± 5.3	49.9 ± 4.4	47.4 ± 4.0	43.6 ± 4.6	49.0 ± 4.1	45.0 ± 5.8	45.9 ± 5.6	48.2 ± 4.3	0.910
Triglycerides (mg/dL)	149.0 ± 24.68	187.3 ± 16.12	180.5 ± 22.6	173 ± 23.7	142.7 ± 14.18	155.7 ± 19.86	165.8 ± 27.4	172.4 ± 20.7	0.923
Complement C3 (mg/dL)	120.9 ± 13.4	NA	NA	118.8 ± 15.9 ^a	148.9 ± 10.7	NA	NA	136.7 ± 18.0 ^b	0.197

¹Values are means ±SME; n = 15. p-values were performed by repeated measures ANOVA followed by post-hoc Tukey for multiple comparisons. Different letters indicate statistic difference between groups (p < 0.05) according to the paired t test. LDL: low- density lipoproteins; HDL: high-density lipoproteins; NA: data not available.

Table 3: Plasma oxidative stress responses to the control and test shakes in overweight and obese subjects¹.

	Control shake				Test shake				p-value
	0 min	60 min	120 min	240 min	0 min	60 min	120 min	240 min	
Nitric oxide (μM/mL)	204.8 ± 39.8	309.2 ± 94.7	362.2 ± 88.4	389.5 ± 73.1	193.6 ± 40.8	299.4 ± 72.9	391.3 ± 93.7	379.3 ± 68.6	0.732
FRAP (mmol/mL)	81.8 ± 63.4	88.8 ± 77.1	89.0 ± 65.3	88.7 ± 75.5	81.8 ± 72.0	75.2 ± 97.6	77.4 ± 95.1	82.2 ± 72.7	0.282
Malondialdehyde (μM/ mg)	4.1 ± 0.3	4.5 ± 0.3	4.7 ± 0.2	5.0 ± 0.2 ^a	4.4 ± 0.3	3.7 ± 0.4	3.7 ± 0.5	4.4 ± 0.3 ^b	0.193
Superoxide dismutase (U/mL)	86.9 ± 7.7	104.2 ± 14.2	117.7 ± 14.6 ^a	87.2 ± 9.3	93.6 ± 10.1	86.6 ± 8.3	82.1 ± 10.0 ^b	90.7 ± 14.4	0.572

¹Values are means ±SME; n = 15. p-values were performed by repeated measures ANOVA followed by post-hoc Tukey for multiple comparisons. Different letters indicate statistic difference between groups (p < 0.05) according to the paired t test. FRAP: Ferric reducing antioxidant power.

Postprandial lipid metabolism is shown in Table 4. At 4 hours postprandial, the AUC for stearic acid was higher in the test group. No other significant difference on postprandial lipid response was noted between groups.

Table 4: Area under the curve (AUC) for plasma lipid metabolism after control and test shake intake up to 4 hours¹.

AUC (cm.h)	Control shake	Test shake	p-value
Palmitic acid (C16:0)	5.223 ± 179	5.152 ± 153	0.767
Palmitoleic acid (C16:1)	5.748 ± 326	6.100 ± 235	0.321
Stearic acid (C18:0)	2.928 ± 151	3.320 ± 141	0.037*
Oleic acid (C18:1)	5.098 ± 338	4.954 ± 201	0.641
Linoleic acid (C18:2)	4.142 ± 197	3.975 ± 151	0.486

¹Values are means ± SEM; n = 15. *p < 0.05. p-values according to paired t test.

Finally, we observed a positive correlation between the postprandial rise of stearic acid and complement C3 concentration in the test group (Figure 3).

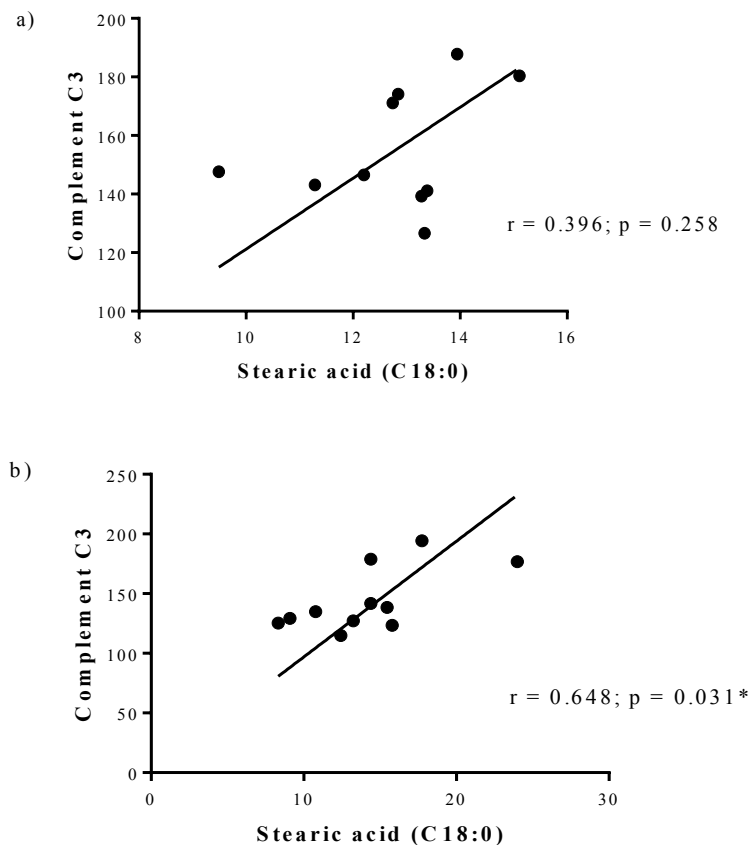


Figure 3: Correlations between serum complement C3 concentrations and area under the curve (AUC) for stearic acid. (a) Complement C3 and stearic acid in the control group; (b) Complement C3 and stearic acid in the test group. *p < 0.05. p values according to Pearson correlation.

Discussion

In the present study, we aimed to evaluate the acute intake of a shake containing cashew and Brazil nuts on metabolic response and oxidative stress in overweight and obese subjects. We expected an enhancement on lipid profile after nuts intake, as has been reported in several studies (MOHAN et al., 2018; MARANHÃO et al., 2011; JAMESHED et al., 2015). However, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride concentrations did not differ between groups. Similar results were reported in prior studies that evaluated acute nuts consumption (BRENAN et al., 2010; LIU et al., 2017), suggesting that significant changes on metabolic measures are not likely to occur within a short time period.

Complement C3 is involved in the synthesis and storage of triglycerides (LOPES et al., 2018) and its concentration is significantly higher after exposure to dietary lipids (RICKLIN et al., 2010). It also plays a critical role in the immunological and inflammatory process (RICKLIN et al., 2010) and has been considered a risk factor for obesity-associated cardiometabolic diseases (VAN GREEVENBROEK et al., 2013).

Surprisingly, complement C3 concentration was higher in the test group, as well as AUC for stearic acid. Furthermore, we noted a positive correlation between them, similar to a prior study (LOPES et al., 2018). Although stearic acid is a saturated fatty acid (SFA) and Brazil nuts have the highest SFA content among nuts (USDA, 2018), we did not expected this result since the unsaturated fatty acids, especially oleic acid, are their main lipid source, corresponding to almost 50% of their total lipid content (USDA, 2018). Once unsaturated fatty acids play an anti-inflammatory role (MOHAN et al., 2018; BULLÓ et al., 2011), we expected that it could attenuate complement C3 response. In addition, Brazil nuts are one of the main food sources of selenium, a micronutrient recognized by its high antioxidant capacity (ALASALVAR et al., 2015; CARDOSO et al., 2017), which has been inversely associated with complement C3 concentration (PUCHAU et al., 2009).

Oxidative stress is defined as an imbalance of oxidants and antioxidants, leading to excessive production of reactive oxygen species (ROS) (KHOSRAVI et al., 2019). Many factors influence the oxidative/anti-oxidative balance, especially the enzymes and antioxidant compounds (BONOMINI et al., 2008). Regarding the oxidative stress markers evaluated in this study, superoxide dismutase and malondialdehyde levels were significantly lower in the test group at 120 and 240 minutes after shake consumption, respectively.

Superoxide dismutase (SOD) is an antioxidant enzyme involved in the endogenous defense system (KHOSRAVI et al., 2019). The method is based on the ability of this enzyme to catalyze the superoxide reaction (O_2^-) to molecular oxygen (O_2) and hydrogen peroxide (H_2O_2), defending the cell against reactive oxygen species (MARKLUND & MARKLUND, 1974; PARI & LATHA, 2004). Malondialdehyde (MDA) is one of the final products of TBARS reaction (BUEGE & AUST, 1978; DEVASAGAYAM et al., 2003). Higher levels of MDA is a biomarker of lipid peroxidation, which is the primary mechanism of cell membrane damage (AJIBOYE et al., 2018). Hence, in our study, the acute consumption of mixed nuts showed decreased oxidative stress, as measured by MDA, but did not increase antioxidant status, as measured by SOD.

The antioxidant capacity of nuts has been linked to their high phytochemicals content (BOLLING et al., 2011). Phenolic compounds are the main class of bioactive compounds in Brazil nuts, which can be found freely or in esterified forms (BOLLING et al., 2011; CARDOSO et al., 2017). Furthermore, selenium stimulates the synthesis of selenoproteins, which leads to the neutralization of reactive oxidative species (CARDOSO et al., 2017). In cashew nuts, phenolic compounds, flavonoids, tocopherols and, mainly, alkyl phenol, are the main antioxidant compounds (ALASALVAR & BOLLING, 2015; BULLÓ et al., 2011; BOLLING et al., 2011). Our results are consistent with previous studies (BOLLING et al., 2011; CARDOSO et al., 2017), but data about phenolic content of nuts are still limited (CARDOSO et al., 2017).

Our study has some strengths. First, the cross-over design reduced inter-individual variability, by comparing the effects of nuts in the same subjects. Moreover, macronutrient-matched meals allowed us to compare bioactive compounds between groups and its effect on oxidative stress. As the main limitation, we did not measure other plasma inflammatory biomarkers such as interleukins or acute-phase proteins, which could better explain the oxidative stress in response to acute nuts consumption.

In summary, the acute consumption of cashew and Brazil nuts did not influence the metabolic response, suggesting that these changes are not likely to occur within a short time period. Our study also showed an increase in complement C3 and stearic acid levels after nuts intake, and a positive correlation between them. In this way, it is likely that fatty acid type is a key determinant in the complement C3 response. Finally, the mixed nuts decreased oxidative stress but did not increase oxidative status in overweight and obese subjects. Further studies are necessary to elucidate the effects of Brazil and cashew nuts on metabolic response.

References

- AJIBOYE, B. O.; OLOYEDE, H. O. B.; SALAWU, M. O. Antidiabetic Activity of *Triticum aestivum* Seed-Based Diet on Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal of Dietary Supplements*, v. 4, p. 1-17, 2018.
- ALASALVAR, C.; BOLLING, B. W. Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *British Journal of Nutrition*, v. 113, n. (supl. 2), p. S68-S78, 2015.
- AL-DOMI, H. A.; AHMAD, R. M. A. H. Association between complement component C3 body composition: a possible obesity inflammatory biomarker for insulin resistance. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, v. 26, n. 6, p. 1082-1087, 2017.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.
- BLOOR, S. J. Flavonoids and other polyphenols. *Methods in Enzymology*. Elsevier, v. 335, 2001, 448 p.
- BOLLING, B. W. et al. Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutrition Research Reviews*, v. 24, n. 2, p. 244-275, 2011.
- BRENNAN, A. M. et al. Walnut Consumption Increases Satiation but Has No Effect on Insulin Resistance or the Metabolic Profile Over a 4-day Period. *Obesity*, v. 18, n. 6, p. 1176-1182, 2010.
- BRESSAN, J.; VIDIGAL, F. C.; HERMSDORFF, H. H. M. Social Components of the Obesity Epidemic. *Current Obesity Reports*, v. 2, p. 32-41, 2013.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, v. 52, p. 302-310, 1978.
- BULLÓ, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; SALAS-SALVADÓ, J. Mediterranean Diet and Oxidation: Nuts and Olive Oil as Important Sources of Fat and Antioxidants. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v. 11, n. 14, p. 1797-1810, 2011.
- BUNOMINI, F. et al. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histology and Histopathology*, v. 23, n. 3, p. 381-390, 2008.
- CARDOSO, B. R. et al. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. *Food Research International*, p. 1-10, 2017.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) – Anthropometry Procedures Manual. January 2007. <https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/manual_an.pdf>.

CHAN, R. S. M.; WOO, J. Prevention of Overweight and Obesity: How Effective is the Current Public Health Approach. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 7, n. 3, p. 765-783, 2010.

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Archives of Medical Science*, v. 9, n. 2, p. 191-200, 2013.

DIETERICH, S. et al. Gene Expression of Antioxidative Enzymes in the Human Heart – Increased Expression of Catalase in the End-Stage Failing Heart. *Circulation*, v.101, p. 33-39, 2000.

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.

GRISHAM, M.B.; JOHNSON, G. G.; LANCASTER, J. R. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids. *Methods in Enzymology*, v. 268, p. 237-246, 1996.

JAMSHED, H. et al. Dietary Almonds Increase Serum HDL Cholesterol in Coronary Artery Disease Patients on a Randomized Controlled Trial. *The Journal of Nutrition*, p. 1-6, 2015.

KHOSRAVI, M. et al. The effects of oxidative stress on the development of atherosclerosis. *Biological Chemistry*, v. 400, n. 6, p. 711-732, 2019.

LIU, X. et al. Acute Peanut Consumption Alters Postprandial Lipids and Vascular Responses in Healthy Overweight or Obese Men. *The Journal of Nutrition*, v. 147, n. 5, p. 835-840, 2017.

LOPES, L. L. et al. Postprandial Lipid Response to High-Saturated and High-Monounsaturated Fat Meals in Normal-Weight or Overweight Women. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 37, n. 4, p. 308-315, 2018.

MARANHÃO, P. A. et al. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Nutrition and Metabolism*, v. 8, p. 1-8, 2011.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974.

MASOOD, A.; STARK, K. D.; SALEM JUNIOR, N. A simplified and efficient method for the analysis of fatty acid methyl esters suitable for large clinical studies. *Journal of Lipid Research*, v. 46, n. 10, p. 2299-2305, 2005.

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. *The Journal of Nutrition*, v. 148, n. 1, p. 63-69, 2018.

- PARI, L.; LATHA, M. Antidiabetic Effect of *Scoparia dulcis*: Effect on Lipid Peroxidation in Streptozotocin Diabetes. *General Physiology and Biophysics*, v. 24, n. 1, p. 13-26, 2005.
- PARI, L.; LATHA, M. Protective role of *Scoparia dulcis* plant extract on brain antioxidant status and lipid peroxidation in STZ diabetic male Wistar rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 4, n. 16, p 1-8, 2004.
- PETELIN, A. et al. Total Serum Antioxidant Capacity in Healthy Normal Weight and Asymptomatic Overweight Adults. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, v. 125, n. 7, p. 470-477, 2017.
- PUCHAU, B. et al. Selenium intake reduces serum C3, an early marker of metabolic syndrome manifestations, in healthy young adults. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 63, p. 858-864, 2009.
- RICKLIN, D. et al. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nature Immunology*, v. 11, n. 9, p. 785-797, 2010.
- ROS, E. Health Benefits of Nut Consumption. *Nutrients*, n. 2, p. 652-682, 2010.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SMITKA, K.; MARESOVA, D. Adipose Tissue as an Endocrine Organ: An Update on Pro-inflammatory and Antiinflammatory Microenvironment. *Prague Medical Report*, v. 116, n. 2, p. 87-111, 2015.
- 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, 2014.
- TEY, S. L. et al. Nuts Improve Diet Quality Compared to Other Energy-Dense Snacks While Maintaining Body Weight. *Journal of Nutrition and Metabolism*, p. 1-11, 2011.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). *Food composition databases*. Disponível em: <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>>. Acesso em 12 abril 2018.
- VAN GREEVENBROEK, M. et al. Complement C3 Is Inversely Associated with Habitual Intake of Provitamin A but Not with Dietary Fat, Fatty Acids, or Vitamin E in Middle-Aged to Older White Adults and Positively Associated with Intake of Retinol in Middle-Aged to Older White Women. *American Society for Nutrition*, v. 144, n. 1, p. 61-67, 2013.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention of Cardiovascular Disease - Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk, 2007. <https://www.who.int/cardiovascular_diseases/guidelines/Full%20text.pdf>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Obesity and overweight*. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation. Geneva, 8-11 December 2008. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44583/9789241501491_eng.pdf;jsessionid=ED8E8AF1C2D4E10061FF4082673D70DB?sequence=1>.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Considerando os resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que:

1. Não houve diferença nas sensações de fome e saciedade entre os grupos teste e controle, indicando que o valor calórico total da dieta e a distribuição de macronutrientes são os principais determinantes da saciedade;
2. As concentrações de glicose, insulina, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, e triglicerídeos não diferiram entre os grupos, nem quando analisada a interação tempo x dieta, indicando que o consumo agudo de castanha-de-caju e castanha-do-pará não está associado a mudanças no perfil bioquímico;
3. No grupo teste, foi observado aumento na concentração pós-prandial do complemento C3, assim como maior valor de AUC para ácido esteárico. A correlação positiva entre esses dois parâmetros sugere que o C3 é regulado pelo tipo de ácido graxo da dieta. Mais do que isso, esses resultados sugerem uma resposta pró-inflamatória induzida pela gordura saturada e modulada pelo complemento C3;
4. Após o consumo agudo da castanha-de-caju e da castanha-do-pará, houve redução no estresse oxidativo, indicado pela diminuição da concentração de malondialdeído no grupo teste. Entretanto, não foi observado melhora da capacidade antioxidante, uma vez que a concentração da enzima superóxido dismutase também foi menor no grupo teste.

Em resumo, os resultados encontrados parecem ter sido influenciados, principalmente, pelo curto intervalo de tempo desse estudo. Além disso, o número pequeno de participantes talvez tenha sido um fator limitante. Mesmo assim, os resultados encontrados são válidos e ajudam a enriquecer a literatura acerca do tema, que ainda é escassa. Mais estudos são necessários para esclarecer completamente os mecanismos relacionados ao consumo de *nuts* no metabolismo.

6. ANEXOS

Anexo 1 – Questionário de seleção de voluntários

QUESTIONÁRIO DE SELEÇÃO

Tabagismo:

() não fumante

() fumante Cigarros/dia: _____ Fuma desde: _____ (ano)

() ex-fumante Cigarros/dia (antes): _____ Parou: _____ (ano)

Você já apresentou ou apresenta algumas destas doenças?

Doenças Pré-existentes	Não	Sim	Especificar (se necessário)	Se sim, data do diagnóstico
Hipertensão arterial sistêmica				
Doença cardiovascular (ex. insuficiência coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, AVC, infarto agudo do miocárdio etc.)				
Dislipidemia				
Hipoglicemia				
Diabetes Mellitus				
Tireoidopatias				
Gota				
Alergia				
Anorexia/Bulimia				
Doenças psiquiátricas (ex. esquizofrenia, transtorno de ansiedade, depressão)				
Anemia				
Osteoporose				
Doença renal				
Doença celíaca				

Doença intestinal crônica				
Câncer				
Alterações no TGI (ex. retirada de vesícula)				
Outras doenças				

Histórico familiar (pais/irmãos)

Doença	Não	Sim
Hipertensão arterial sistêmica		
Doença cardiovascular (ex. insuficiência coronariana, insuficiência cardíaca congestiva, AVC, infarto agudo do miocárdio etc.)		
Dislipidemia		
Diabetes Mellitus		

Atualmente, você faz uso de algum medicamento?

Medicamentos	Posologia (dose e frequência)	Tempo de uso	Motivo

História dietética:

Alergia a algum alimento: () Não () Sim

Se sim, qual? _____

Alergia/aversão/intolerância à castanhas, leite, creme de leite, macarrão, suco industrializado?

() Não () Sim

Observações: _____

Você tem alguma aversão/intolerância ou alimentos que você apenas não gosta.

Consumo habitualmente castanhas? () Não () Sim

Se sim, qual tipo (s): _____ quantidade (s): _____

frequência: _____

Você consome bebida alcoólica? Se sim, qual tipo e com que frequência? () Não () Sim

Bebida	Quantidade	Frequência	g álcool
Cerveja			
Cachaça			
Caipirinha			
Run/Vodka			
Ice			
Vinho			
Whisky			
Catuaba			
Licor			

Você tem alguma aversão, intolerância ou alergia alimentar? Favor excluir da resposta alimentos que você apenas não gosta. () Não () Sim

Quais e sintomas:

Quais os alimentos que você não gosta ou não ingere por motivos religiosos/filosóficos?

Indique as horas do dia em que você consome refeições e lanches. Coloque a letra R para refeições e L para lanches sob cada hora do dia.

Manhã e início da tarde

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

— — — — — — — — — — — —

Tarde e noite

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

— — — — — — — — — — — —

Você perdeu ou ganhou mais do que 3Kg nos últimos 6 meses? () Não () Sim

() Perdeu ____Kg () Ganhou ____Kg

Você utiliza alguma forma de suplemento alimentar? (ex: vitaminas, minerais, proteínas etc.)

() Não () Sim. Se sim, liste abaixo:

Marca do produto	Tipo de suplemento	Dosagem	Frequência de uso

Dados Socioeconômicos e Demográficos

Escolaridade:

- () Analfabeto
- () Sabe ler e escrever
- () Fundamental – Incompleto
- () Fundamental – Completo
- () Médio – Incompleto
- () Médio – Completo
- () Técnico
- () Superior – Incompleto
- () Superior – Completo
- () Pós-graduação (Lato sensu) – Incompleto
- () Pós-graduação (Lato sensu) – Completo
- () Pós-graduação (Stricto sensu, nível mestrado) – Incompleto
- () Pós-graduação (Stricto sensu, nível mestrado) – Completo
- () Pós-graduação (Stricto sensu, nível doutor) – Incompleto
- () Pós-graduação (Stricto sensu, nível doutor) – Completo

Ocupação: _____

Quantas pessoas vivem na sua casa (incluindo o voluntário): _____

Renda familiar: _____

Estado civil:

() Solteiro (a)

() Divorciado (a)

() Casado (a) ou união estável

() Viúvo (a)

Antropometria		BIA	
Estatura (m)		Gordura (%)	
Peso (kg)		Gordura (kg)	
IMC		MM (kg)	
PC (ponto médio)		TMB (kcal/dia)	
PC (menor curva)		Água (% peso)	
PQ			
Perímetro do Pescoço			
Pressão Arterial			
Colesterol			
Triglicerídeo			
Glicose			

Anexo 2 – Orientações aos voluntários

ORIENTAÇÕES GERAIS PARA O ESTUDO

DIA DO TESTE: _____ **HORÁRIO:** _____

LOCAL: Comparecer ao Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC), localizado no 6º andar, sala 50, no Departamento de Nutrição e Saúde, UFV, às 06:30, em jejum de 10 a 12h.

Jejum 10-12 horas

- Você deverá comparecer ao laboratório em jejum de 10 a 12h.
- Nesse período será permitido consumir apenas água e/ou remédios.
- A sua última refeição do dia deverá ser o sanduíche de frango com suco de uva, fornecido pela nossa equipe.
- Recomendamos que sua **última refeição** seja consumida entre **20:00 - 22:00 horas**.

Restrições alimentares (48 horas antes)

Você **não** deve consumir nos dois dias anteriores (**48h**) ao teste:

- Açaí
- Bebidas alcoólicas
- Cafeína (café, chás de todos os tipos, refrigerante, chocolate, achocolatado)
- Frutas secas (damasco, ameixa seca, uva passa, cranberry e outros), uva, laranja e suco de frutas natural
- Castanhas (nozes, amêndoas, castanha-de-caju, amendoim e outros)
- Termogênicos (pimenta, canela)
- Suplementos vitamínicos e minerais

Atividade física (24 horas antes)

Você não deverá realizar atividade física ou esforço físico intenso no dia anterior (**24h antes** da avaliação).

Coleta de urina

Você deverá seguir os seguintes passos para coleta de urina:

1º) 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).

2º) 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).

3º) 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 urina na geladeira.

- Lembre-se de trazer a garrafa contendo a urina para o laboratório no dia do teste.
- Mulheres não podem estar em período menstrual.
- Por favor, venha ou traga roupas leves.

Anexo 3 – Avaliação sensorial dos *shakes*

Aspecto visual	
Boa	Ruim

Cheiro	
Boa	Ruim

Gosto	
Boa	Ruim

Gosto residual	
Muito	Nenhum

Palatabilidade	
Boa	Ruim

Anexo 4 – Registro alimentar

Orientações para realização 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. Só não é necessário anotar a ingestão de água.
- 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. Exemplo: 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. Exemplo: 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.
- Qualquer dúvida entre em contato.

Nome: _____

Data: ____/____/____ () seg () ter () qua () qui () sex () sáb () dom

Registro alimentar

	ALIMENTOS	MEDIDA CASEIRA	QUANT (g)
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			
Horário:			
Local:			

Anexo 5 – Escala Visual Analógica (VAS)

Quanta fome você sente?	
	
Eu não estou com fome	Eu nunca estive com tanta fome

Quão satisfeito você se sente?	
	
Estou completamente vazio	Eu não consigo comer mais nada

Quão cheio você se sente?	
	
Não estou completamente cheio	Totalmente cheio

Quanto você acha que pode comer?	
	
Nada	Muito

Você gostaria de comer alguma coisa doce?	
	
Não, nenhuma vontade	Sim, muito

Você gostaria de comer alguma coisa salgada?	
	
Não, nenhum	Sim, muito

Você gostaria de comer alguma coisa saborosa?	
	
Não. nenhuma vontade	Sim. muito

Você tem vontade de comer alguma coisa gordurosa?	
	
Não, nenhuma	Sim, muito

Anexo 6 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Nutrição e Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição

Nome: _____ Data: ____/____/____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Você está sendo convidada para participar do estudo **“Impacto do consumo agudo de um shake contendo nuts sobre o metabolismo energético, regulação metabólica, estresse oxidativo e ingestão alimentar em indivíduos com excesso de peso”**. Todas as informações necessárias sobre a pesquisa encontram-se descritas abaixo e caso existam dúvidas, favor esclarecê-las antes da assinatura do presente termo.

O consumo de *nuts* (castanhas) tem sido cada vez mais associado a diversos benefícios à saúde. Por esse motivo, o presente estudo tem por objetivo desenvolver uma bebida (*shake*) contendo esses alimentos e verificar se a ingestão de uma única dose da referida bebida está associada a mudanças favoráveis no gasto energético, estresse oxidativo e ingestão alimentar de indivíduos que se encontram acima do peso.

O estudo será conduzido no Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa. Caso aceite participar do estudo, você deverá permanecer no laboratório por seis horas nos dois dias de realização dos testes. Durante esse período você será submetido a avaliação de peso, gasto energético, altura e perímetros corporais, coletas de sangue em cinco momentos diferentes e coletas de urina. Além disso, será solicitado a você o preenchimento de questionários com perguntas relacionadas a ingestão alimentar e sensação de apetite e saciedade.

Reforçamos que nenhum dos procedimentos necessários ao estudo põem em risco a sua saúde. Os procedimentos invasivos serão realizados por pessoas treinadas, minimizando ao máximo eventuais 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 que desaparecerão espontaneamente após algumas horas. O técnico será devidamente orientado a ser o mais preciso possível para minimizar qualquer tipo de incômodo. 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, você será encaminhado para a Divisão de Saúde e receberá os cuidados necessários. Para a avaliação do gasto energético você precisará ficar em repouso na posição supina (deitado) utilizando um aparelho para contabilizar as trocas gasosas (oxigênio e gás carbônico) que ocorrem naturalmente durante a sua respiração. Esse procedimento não é invasivo e não provoca dor. Os demais procedimentos do estudo necessários para avaliação da composição corporal também não envolvem riscos para a saúde. A avaliação do peso, altura e perímetros corporais serão realizados por um profissional treinado, em uma sala fechada e silenciosa, com o intuito de preservar a sua privacidade, bem como para minimizar qualquer constrangimento no momento das aferições. Durante a resposta dos questionários, você poderá deixar de responder a uma ou a um conjunto de perguntas caso sinta-se constrangido sem que isso traga qualquer alteração na relação de tratamento por parte dos pesquisadores. Ademais, todos os alimentos fornecidos no estudo terão boa procedência e qualidade e serão bem acondicionados visando manutenção da qualidade nutricional e microbiológica.

Por se tratar de um estudo em que o alimento testado será consumido em apenas uma ocasião, os potenciais benefícios à saúde serão desfrutados de forma aguda. Contudo, você terá direito a acompanhamento nutricional individualizado por até 30 dias após finalizar sua participação no estudo.

Após o encerramento do estudo, os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos e depois desse tempo serão destruídos. Nós trataremos 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 utilizaremos as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

A equipe de trabalho não se responsabiliza por informações não prestadas por você, que possam interferir na sua saúde.

Destacamos que você terá direito à indenização caso ocorram danos não previstos na pesquisa.

A decisão de participar neste estudo é completamente voluntária. Você pode se recusar a participar ou sair do estudo, a qualquer momento, mesmo depois de dar o seu consentimento, e esta atitude não lhe trará prejuízos no futuro. Em qualquer momento você poderá fazer qualquer pergunta sobre o estudo ou esclarecer dúvidas. Para isso, poderá entrar em contato com Ana Paula Silva Caldas (31)973045384, Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha (31) 998284107 e/ou Larissa Oliveira Chaves (31)987791871.

Ao assinar este documento, confirmo que me foi explicado o objetivo deste estudo, os procedimentos a que serei submetido, os riscos e os benefícios potenciais que eu possa experimentar, e os possíveis destinos dos resultados que serão obtidos neste estudo. As perguntas que foram feitas foram satisfatoriamente respondidas, li e compreendi este termo de consentimento, ficando em meu poder uma cópia do mesmo. Portanto, assino e dou meu consentimento para participar deste estudo.

Viçosa, _____ de _____ de _____.

Ana Paula Silva Caldas
Doutoranda em Ciência da Nutrição

Daniela Mayumi Usuda Prado Rocha
Doutoranda em Ciência da Nutrição

Larissa Oliveira Chaves
Doutoranda em Ciência da Nutrição

Voluntário (a)

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do consumo de um mix de nuts associado ou não a uma dieta hipocalórica sobre risco cardiometabólico, metabolismo energético e expressão de genes relacionados a regulação metabólica, inflamação e estresse oxidativo em homens com excesso de peso

Pesquisador: Josefina Bressan

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 65559417.2.0000.5153

Instituição Proponente: Universidade Federal de Viçosa

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.205.393

Apresentação do Projeto:

Pesquisa da área de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição da UFV.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito da ingestão de castanhas associado ou não a uma dieta hipocalórica sobre fatores de risco cardiometabólico, inflamação, estresse oxidativo, composição corporal, metabolismo energético, e expressão de genes relacionados à regulação metabólica, inflamação e estresse oxidativo em homens com excesso de peso levemente dislipidêmicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Benefícios: Todos os voluntários incluídos ou não no estudo terão seu estado nutricional avaliado e receberão um plano alimentar individualizado, visando promoção da saúde. Além disso, os participantes do estudo terão acesso aos seus dados de avaliação antropométrica, composição corporal e bioquímicos. Destaca-se ainda que tanto o consumo de nozes quanto a dieta restrita em calorias estão associados a benefícios à saúde.

Riscos: Para evitar desconforto durante a coleta de sangue, esse procedimento será realizado por

Continuação do Parecer: 2.205.393

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.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Acredita-se que o consumo das castanhas associado a uma dieta hipocalórica terá efeito cardioprotetor, anti-inflamatório, antioxidante, sobre a composição corporal, metabolismo energético e expressão de genes relacionados à regulação metabólica, inflamação e estresse oxidativo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados conforme exigência da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Ao término da pesquisa é necessário apresentar, via notificação, o Relatório Final (modelo disponível no site www.cep.ufv.br). Após ser emitido o Parecer Consubstanciado de aprovação do Relatório Final, deve ser encaminhado, via notificação, o Comunicado de Término dos Estudos para encerramento de todo o protocolo na Plataforma Brasil.

Projeto aprovado autorizando o início da coleta de dados com os seres humanos a partir da data de emissão deste parecer.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_875365.pdf	18/07/2017 06:55:12		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Nuts_CEP_2017_modificado.docx	30/06/2017 14:40:30	Josefina Bressan	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificado_29_06_2017.docx	30/06/2017 14:39:06	Josefina Bressan	Aceito
Outros	Carta_Resposta.odt	16/05/2017 17:33:21	Josefina Bressan	Aceito

Continuação do Parecer: 2.205.393

Folha de Rosto	folha_de_rosto_final.pdf	10/03/2017 10:00:32	Josefina Bressan	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	03/03/2017 17:37:33	Josefina Bressan	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_LAMECC.jpg	03/03/2017 17:29:07	Josefina Bressan	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_LAC.jpg	03/03/2017 17:28:54	Josefina Bressan	Aceito
Cronograma	Cronograma_Fapemig_2017.docx	03/03/2017 17:24:57	Josefina Bressan	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Nuts_CEP_2017.docx	03/03/2017 17:23:51	Josefina Bressan	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VICOSA, 07 de Agosto de 2017

Assinado por:
HELEN HERMANA MIRANDA HERMSDORFF
(Coordenador)