

**ANA PAULA SILVA CALDAS**

**EFEITO DE UMA DIETA HIPOCALÓRICA CONTENDO AMENDOIM  
CONVENCIONAL OU ALTO OLEICO SOBRE MARCADORES DE RISCO  
CARDIOMETABÓLICO, DO ESTADO INFLAMATÓRIO E OXIDATIVO EM  
HOMENS 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 obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016**

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

T

C145e  
2016

Caldas, Ana Paula Silva, 1991-

Efeito de uma dieta hipocalórica contendo amendoim convencional ou alto oleico sobre marcadores de risco cardiometabólico, do estado inflamatório e oxidativo em homens com excesso de peso / Ana Paula Silva Caldas. – Viçosa, MG, 2016.

x, 96f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Josefina Bressan.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Nutrição. 2. Homens - Alimentos - consumo. 3. Homens - Composição corporal. 4. Amendoim - Consumo. 5. Inflamação. 6. Stresse oxidativo. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciência da Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 616.39

**ANA PAULA SILVA CALDAS**

**EFEITO DE UMA DIETA HIPOCALÓRICA CONTENDO AMENDOIM  
CONVENCIONAL OU ALTO OLEICO SOBRE MARCADORES DE RISCO  
CARDIOMETABÓLICO, DO ESTADO INFLAMATÓRIO E OXIDATIVO EM  
HOMENS 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 obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**APROVADA: 18 de Julho de 2016.**

---

Helen Hermana Miranda Hermsdorf  
(Coorientadora)

---

Raquel Duarte Moreira Alves  
(Coorientadora)

---

Júlia Cristina Cardoso Carraro

---

Josefina Bressan  
(Orientadora)

*Dedico aos familiares e amigos que me ajudaram a construir esse trabalho...*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar sempre as melhores oportunidades de crescimento e tornar possível todos os meus anseios.

Aos meus pais, por todo o apoio e amor, pelas palavras de carinho, e pelas horas ao telefone que amenizavam minha saudade e por tudo que sempre fizeram em prol do meu crescimento pessoal e profissional, amo vocês.

Aos meus irmãos, especialmente minhas irmãs, que sempre me fazem sorrir.

Ao meu namorado Wesley, pela nobreza do seu amor, pelo carinho, por seus conselhos sensatos e por estar sempre disposto a me ouvir e me ajudar. Além disso, não posso deixar de agradecer-lo pela assistência técnica 24hrs, o que seria do meu computador sem você. Muito obrigada, te amo.

Às minhas “roommates”, especialmente Olivia (Gut), pela amizade, por ser minha bolsista voluntária e pelas conversas diárias.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao departamento de nutrição, por ter me acolhido tão bem e por me proporcionar parte da minha formação acadêmica.

A todos os envolvidos na execução do projeto amendoim, as doutorandas Raquel Duarte Moreira Alves e Ana Paula Boroni, a mestranda Viviane Macedo e as bolsistas Fernanda Fonseca Rocha e Laís Emilia da Silva, pela dedicação e esforços para a realização de um trabalho de qualidade.

À minha orientadora, Josefina Bressan, pelas oportunidades que me proporcionou, pelo incentivo e pela ajuda constante em todos os momentos. O bom senso com que me orientou serviu como exemplo e fez com que tudo ocorresse bem, obrigada. Agradeço pelo carinho e pela confiança.

Às minhas coorientadoras, Helen Hermana Hermsdorff e Raquel Duarte Moreira Alves, pelas discussões, sugestões e ideias que me permitiram aprimorar o meu trabalho.

Aos professores coordenadores dos laboratórios utilizados para realização dos meus experimentos, Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Mariella Bontempo Duca de Freitas, minha orientadora Josefina Bressan, e em especial ao professor Leandro Licursi de Oliveira pela participação ativa nas análises de citocinas.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV pela disponibilização do espaço físico e equipamentos necessários às análises de citocinas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos e financiamento da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES) e ao Peanut Institute pelo apoio financeiro.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo apoio financeiro.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em especial ao Profº José Ignácio Godoy, e a CAP Agroindustrial, pela doação dos amendoins.

À Fundação Ezequiel Dias, em especial à Marize Oliveira e equipe do Lab. De Micotoxinas pela análise da qualidade dos amendoins quanto à presença de aflatoxinas.

Aos voluntários, pela participação. Sem eles esse projeto não seria possível.

À doutoranda Jerusa de Oliveira pela ajuda indispensável às análises dos marcadores de estresse oxidativo.

À mestranda Daniela Mayumi pela amizade, pela parceria nos trabalhos acadêmicos, pela ajuda nas análises de citocinas e pela disponibilidade em ajudar-me sempre.

Às amigas que trouxe comigo de São Luís, às que fiz aqui e os amigos do LAMECC pelos momentos de descontração e ajuda mútua sempre que necessário.

Por fim, obrigada a todos que contribuíram e que torceram para que esse momento fosse possível, nesse momento sou toda GRATIDÃO.

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS .....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVOS .....	5
2.1 Geral .....	5
2.1 Objetivos específicos .....	5
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
3.1 Obesidade, inflamação e estresse oxidativo .....	6
3.2 Fatores de risco cardiometabólicos.....	10
3.3 Citocinas Th1/th2/th17 na obesidade.....	12
3.3.1 Citocinas .....	13
3.4 Amendoim .....	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1 Delineamento experimental.....	31
4.2.1 Voluntários .....	32
4.2.2 Intervenção Nutricional .....	33
4.2.3 Alimentos e refeição teste.....	34
4.2.4 Avaliação da ingestão alimentar .....	36
4.2.5. Avaliação antropométrica .....	37
4.2.6 Avaliação bioquímica .....	37
4.3 Análises realizadas a partir do BIOBANCO.....	39
4.3.1 Marcadores inflamatórios:.....	39
4.3.2 Marcadores de estresse oxidativo .....	39
4.4 Análises estatísticas .....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	43
5.1 ARTIGO 01: O consumo de amendoim alto oleico pode incrementar o impacto da perda de peso sobre marcadores inflamatórios em homens com excesso de peso .....	43
5.2 ARTIGO 02: Impacto do consumo diário de amendoim sobre o risco cardiometabólico e estresse oxidativo em homens com excesso de peso .....	66
CONCLUSÕES GERAIS.....	85
ANEXOS .....	86

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

	Página
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	
Tabela 1. Percentual de ácidos graxos em relação ao total de ácidos graxos em amendoim convencional e amendoim alto oleico.	20
<b>METODOLOGIA GERAL</b>	
Figura 1: Delineamento experimental do estudo.	32
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	
<b>Artigo original 01: O consumo de amendoim alto oleico pode incrementar o impacto da perda de peso sobre marcadores inflamatórios em homens com excesso de peso</b>	
Figura 1 Desenho do estudo. AAO, amendoim alto oleico; ACO, amendoim convencional.	48
Figura 2. Fluxograma dos participantes inseridos no estudo.	50
Tabela 1. Características basais dos participantes de acordo com o grupo experimental.	51
Tabela 2. Mudança nos marcadores metabólicos após o período de intervenção.	52
Figura 3. Resposta das citocinas após o período de intervenção.	53
Figura 4. Percentual de mudança em parâmetros da composição corporal	54
Tabela 3. Mudança na ingestão de macronutrientes e fibras após 4 semanas de intervenção.	55
<b>Artigo original 2: Impacto do consumo diário de amendoim sobre o risco cardiometabólico e estresse oxidativo em homens com excesso de peso e obesidade</b>	
Figura 1. Fluxograma dos participantes inseridos no estudo.	72
Tabela 1. Características basais dos participantes de acordo com o grupo experimental.	73
Tabela 2. Mudança nos marcadores de risco cardiometabólico após o período de intervenção.	74
Figura 2. Marcadores de estresse oxidativo.	75

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAO	Amendoim alto oleico
ACO	Amendoim convencional
AGMI	Ácido graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poli-insaturados
AGS	Ácidos graxo saturados
AKT	Proteína quinase <i>B</i>
ANOVA	Análise de variância
AO	Grupo amendoim alto oleico
AUC	Área abaixo da curva
CAT	Catalase
CT	Grupo controle
DAS	Diâmetro abdominal sagital
DCV	Doença cardiovascular
DEXA	<i>Dual-energy X-ray Absortimetry</i> - Absorciometria de dupla energia de raio-X
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
ERO	Especies reativas de oxigênio
FAF	Fator de atividade física
GER	Gasto energético de repouso
GPx	Glutaciona peroxidase
GSH	Glutaciona
GST	Glutaciona S-transferase
HDL-c	<i>High Density Lipoprotein- cholesterol</i> – lipoproteína de alta densidade
HOMA <sub>IR</sub>	<i>Homeostasis Model Assessment</i>
IFN- $\gamma$	Interferon $\gamma$
IL-10	Interleucina 10
IL-10R	Receptor de interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-13	Interleucina 13
IL-17A	Interleucina 17A
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
IL-2	Interleucina 2
IL-21	Interleucina 21
IL-22	Interleucina 22
IL-24	Interleucina 24
IL-25	Interleucina 25
IL-26	Interleucina 26
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-9	Interleucina 9

IMC	Índice de massa corporal
LDL-c	<i>Low Density Lipoprotein-cholesterol</i>
MDA	Malondialdeído
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear kappa B
NOS	<i>Nitric oxide synthase</i> - óxido nítrico sintase
ON	Óxido Nítrico
PCRus	Proteína C reativa ultrasensível
RI	Resistencia à insulina
SOD	Superóxido dismutase
TA	Tecido adiposo
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TCD8	Linfócitos T citotóxicas
TCLE	Termo de consentimento livre esclarecido
T <sub>H</sub> 1/2/17	Células T helper
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TNF- $\beta$	<i>Tumor necrosis factor-beta</i>
Treg	Células T reguladoras
VLDL-c	<i>Very Low Density Lipoprotein-cholesterol</i> – lipoproteína de muito baixa densidade

## RESUMO

CALDAS, Ana Paula Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2016. **Efeito de uma dieta hipocalórica contendo amendoim convencional ou alto oleico sobre marcadores de risco cardiometabólico, do estado inflamatório e oxidativo em homens com excesso de peso.** Orientadora: Josefina Bressan. Coorientadores: Helen Hermans Miranda Hermsdorff e Raquel Duarte Moreira Alves.

**Objetivos:** Avaliar os efeitos de uma dieta hipocalórica que contenha amendoim convencional ou amendoim alto oleico sobre marcadores do estado inflamatório, cardiometabólicos e do estresse oxidativo em homens com sobrepeso e obesidade.

**Metodologia:** Trata-se de um estudo clínico, randomizado e controlado, com 4 semanas de duração, no qual homens sobrepesos/obesos foram distribuídos em três grupos: amendoim alto oleico (AO,  $n=21$ ), amendoim convencional (AC,  $n=21$ ) e controle (CT,  $n=22$ ), e seguiam uma dieta hipocalórica com ou sem 56 g de amendoim de amendoim alto oleico ou amendoim convencional. Foi avaliado o impacto do consumo de amendoim sobre citocinas produzidas por células  $T_H1$ ,  $T_H2$  e  $T_H17$ , marcadores bioquímicos associados ao risco cardiometabólico, bem como marcadores do estresse oxidativo.

**Resultados:** A ingestão diária de amendoim alto oleico promoveu redução na resposta pós-prandial das citocinas TNF e IL-4, enquanto a resposta pós-prandial da IL-17A apresentou aumento significativo no grupo CT. O consumo de amendoim convencional não interferiu no comportamento de nenhuma das citocinas avaliadas. Os marcadores de risco cardiometabólico não apresentaram diferenças entre os grupos, porém, em relação a avaliação inicial, peso, IMC, perímetro da cintura, relação cintura estatura e diâmetro sagital apresentaram redução significativa em todos os grupos. Por sua vez, a concentração de triacilglicerol reduziu apenas nos grupos que consumiram amendoim. Embora não significativo, insulina,  $HOMA_{IR}$  e  $PCR_{us}$  também apresentaram modesta redução apenas nos grupos contendo amendoim. Em relação ao estado antioxidante, o consumo de amendoim, tanto alto oleico quanto convencional, não promoveu alteração significativa sobre nenhum dos marcadores avaliados. **Conclusão:** O consumo de amendoim alto oleico paralelo a uma dieta hipocalórica sugere efeito benéfico sobre os marcadores inflamatórios avaliados. Além disso, o consumo de amendoim também promoveu benefícios cardiometabólicos adicionais em relação ao grupo controle. Quanto ao estresse oxidativo, os grupos que consumiram amendoim não apresentaram alteração significativa em nenhum dos marcadores avaliados.

## ABSTRACT

CALDAS, Ana Paula Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2016. **Effect of hypocaloric diet containing conventional peanut or high oleic peanuts on cardiometabolic risk markers, inflammatory status, and oxidative stress in overweight men.** Advisor: Josefina Bressan. Co-advisors: Helen Hermana Miranda Hermsdorff and Raquel Duarte Moreira Alves.

**Objective:** To evaluate the effects of hypocaloric diet containing high-oleic or conventional peanuts on inflammatory status, cardiometabolic risk markers and oxidative stress markers in overweight/obese men. **Methods:** In a 4-week randomized clinical trial, overweight and obese men were assigned to the groups: control (CT, n=22), conventional peanuts (CP, n=21) or high-oleic peanuts (HO, n=21). They followed a hypocaloric diet with or without 56 g/day of conventional or high-oleic peanuts. Was evaluated the impact of peanut intake on cytokines produced by cells  $T_{H1}$ ,  $T_{H2}$  and  $T_{H17}$ , biochemical markers associated with cardiometabolic risk and oxidative stress markers. **Results:** Daily intake of high oleic peanuts promoted reduction in postprandial response of TNF and IL-4, while the postprandial response of IL-17A increased in CT group. Conventional peanut intake not altered the action of the evaluated cytokines. Cardiometabolic risk markers did not differ between the groups, however, at baseline weight, BMI, waist circumference, waist-to-height ratio and sagittal diameter decreased significantly in all groups. However, within groups triacylglycerol levels were reduced in CP and HO groups. Although not significant, insulin,  $HOMA_{IR}$  and hs-CRP also showed modest reduction only in the test groups. In relation to the antioxidant status, consumption of conventional or high-oleic peanuts did not promote significant change on any of the markers assessed. **Conclusion:** Intake of high-oleic peanut together with a hypocaloric diet suggests a beneficial effect on the inflammatory markers evaluated. Moreover, the peanut intake also promoted additional benefits cardiometabolic in relation to the control group. About the oxidative stress, none of the evaluated markers were significantly changed in the peanuts consumption groups.

## 1 INTRODUÇÃO

Anormalidades imunológicas associadas à obesidade são vistas como um estado inflamatório crônico subclínico e consideradas cruciais no desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e aterosclerose (GREGOR; HOTAMISLIGIL, 2011; VAN DER WEERD et al., 2012). Indivíduos obesos apresentam alterações na produção de citocinas pró-inflamatórias local e sistemicamente, as quais estão envolvidas na origem do desenvolvimento das desordens metabólicas características da obesidade, bem como no aumento do risco de doença cardiovascular (DCV) (PETERSEN et al., 2014). O excesso de gordura corporal causa disfunções múltiplas e inter-relacionadas no organismo, tais como resistência à insulina e inflamação, que impactam negativamente na saúde vascular e representam componentes chave do risco cardiometabólico (ARONNE; ISOLDI, 2007).

Diante disso, novas estratégias para o tratamento da obesidade vêm sendo estudadas com o objetivo de avaliar o efeito da ingestão de alimentos específicos no controle metabólico, inflamatório, do peso corporal e comorbidades associadas (BRESSAN; HERMSDORFF, 2008; HERMSDORFF et al., 2011). Nesse contexto, evidências sugerem que dietas que incluem sementes oleaginosas, dentre elas o amendoim, poderiam modificar o estado inflamatório além de contribuir para a melhoria do perfil lipídico e de antioxidantes da dieta (GRIEL et al., 2004; MAGUIRE et al., 2004; KORNSTEINER; WAGNER; ELMADFA, 2006; VASSILIOU et al., 2009).

Apesar de o amendoim ser uma leguminosa, ele possui propriedades nutricionais similares às oleaginosas ou *nuts* e representa uma excelente fonte de gordura monoinsaturada (AGMI), proteínas e fibra, com potenciais benéficos na saciedade e controle de peso (ALVES et al., 2014a; BARBOUR et al., 2014, 2015). Outros nutrientes bioativos do amendoim incluem vitamina E, potássio, cálcio, magnésio, tocoferóis e os fitoquímicos fitoesteróis, compostos fenólicos e arginina, com efeito sobre a regulação da glicose, inflamação, estresse oxidativo e fatores de risco cardiovascular (KRIS-ETHERTON et al., 1999, 2008; SINGH; DEVARAJ; JIALAL, 2005; KENDALL et al., 2010; BARBOUR et al., 2015). Por sua vez, os amendoins do cultivar alto oleico demonstraram capacidade de reduzir lipídios sanguíneos, proteína-C reativa, IL-6 e fibrinogênio (ALVES et al., 2014b). Além disso, são fontes de fitoesteróis e AGMI, o qual representa mais de 80% do perfil de ácidos graxos em sua composição (DERBYSHIRE, 2014).

O aumento da ingestão de ácido graxo oleico presente no amendoim, contribui para a melhoria do quadro inflamatório, por reduzir os efeitos inflamatórios dos AGS e diminuir a suscetibilidade da LDL-c ser oxidada (AGUILERA et al., 2002; HARVEY et al., 2010; VASSILIOU et al., 2009). Além disso, o alto conteúdo de compostos antioxidantes do amendoim também parece contribuir para a redução de marcadores inflamatórios e para o aumento da capacidade antioxidante total (JIANG, 2005; PÉREZ-JIMÉNEZ; LÓPEZ-MIRANDA; MATA, 2002).

Estudos com amendoim, especialmente do cultivar alto-oleico, mostram melhora das concentrações pós-prandiais de glicose, insulina, e TNF- $\alpha$  em indivíduos com sobrepeso/obesidade (ALVES et al., 2014b). O consumo de amendoim alto oleico, também aumenta a termogênese induzida pela dieta, reduz o apetite, não compromete a perda de peso quando administrado em conjunto com uma dieta hipocalórica, e ainda contribui para uma maior oxidação de gordura e melhora da composição corporal (ALVES et al., 2014b; ALVES et al., 2014c).

Diante disso, nós hipotetizamos que o consumo do amendoim alto oleico associado a uma dieta hipocalórica, pode modular a resposta das citocinas Th1, Th2 e Th17 e, além disso promover melhoras sobre os fatores de risco cardiometabólicos e estado antioxidante de indivíduos com excesso de peso.

## Referências Bibliográficas

AGUILERA, C. M. et al. Sunflower, virgin-olive and fish oils differentially affect the progression of aortic lesions in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, v. 162, n. 2, p. 335–344, 2002.

ALVES, R. D. M. et al. Regular intake of high-oleic peanuts improves fat oxidation and body composition in overweight/obese men pursuing a energy-restricted diet. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, v. 22, n. 6, p. 1422–1429, 2014a.

ALVES, R. D. M. et al. High-oleic peanuts: new perspective to attenuate glucose homeostasis disruption and inflammation related obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, v. 22, n. 9, p. 1981–1988, 2014b.

ALVES, R. D. M. et al. High-oleic peanuts increase diet-induced thermogenesis in overweight and obese men. *Nutrición hospitalaria*, v. 29, n. 5, p. 1024–32, jan. 2014c.

ARONNE, L. J.; ISOLDI, K. K. Overweight and obesity: Key components of cardiometabolic risk. *Clinical Cornerstone*, v. 8, n. 3, p. 29–37, 2007.

- BARBOUR, J. et al. Effect of 12 Weeks High Oleic Peanut Consumption on Cardio-Metabolic Risk Factors and Body Composition. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7381–7398, 2015.
- 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**, v. 82, p. 124–130, 2014.
- BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H. A epidemia da obesidade: a causa o tratamento e ambiente. In: **Atenção nutricional :abordagem dietoterápica em adulto**. [s.l.] Guanabara koogan, 2008.
- DERBYSHIRE, E. J. A review of the nutritional composition, organoleptic characteristics and biological effects of the high oleic peanut. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 65, n. 7, p. 781–90, 2014.
- GREGOR, M. F.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammatory Mechanisms in Obesity. **Annual Review of Immunology**, v. 29, n. 1, p. 415–445, 2011.
- GRIEL, A. E. et al. Improved diet quality with peanut consumption. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 23, n. 6, p. 660–8, 2004.
- HARVEY, K. A et al. Oleic acid inhibits stearic acid-induced inhibition of cell growth and pro-inflammatory responses in human aortic endothelial cells. **Journal of lipid research**, v. 51, p. 3470–3480, 2010.
- 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.
- JIANG, R. Nut and Seed Consumption and Inflammatory Markers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **American Journal of Epidemiology**, v. 163, n. 3, p. 222–231, 2005.
- KENDALL, C. W. et al. Nuts, metabolic syndrome and diabetes. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 4, p. 465–473, 2010.
- KORNSTEINER, M.; WAGNER, K.-H.; ELMADFA, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. **Food Chemistry**, v. 98, n. 2, p. 381–387, 2006.
- KRIS-ETHERTON, P. M. et al. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1009–1015, 1999.
- KRIS-ETHERTON, P. M. et al. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 9, p. 1746S–1751S, 2008.
- MAGUIRE, L. S. et al. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 55, n. 3, p. 171–178, 2004.

PÉREZ-JIMÉNEZ, F.; LÓPEZ-MIRANDA, J.; MATA, P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: Beyond cholesterol. **Atherosclerosis**, v. 163, p. 385–398, 2002.

PETERSEN, P. S. et al. Dynamic and extensive metabolic state-dependent regulation of cytokine expression and circulating levels. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 307, n. 12, p. R1458–R1470, 15 dez. 2014.

SINGH, U.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Vitamin E, Oxidative Stress, and Inflammation. **Annual Review of Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 151–174, 2005.

VAN DER WEERD, K. et al. Morbidly Obese Human Subjects Have Increased Peripheral Blood CD4+ T Cells With Skewing Toward a Treg- and Th2-Dominated Phenotype. **Diabetes**, v. 61, n. 2, p. 401–408, 2012.

VASSILIOU, E. K. et al. Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin production of the inflammatory cytokine TNF-alpha both in vitro and in vivo systems. **Lipids in health and disease**, v. 8, p. 25, 2009.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar os efeitos de uma dieta hipocalórica que contenha amendoim convencional ou amendoim alto oleico sobre o estresse oxidativo, estado inflamatório e marcadores cardiometabólicos em homens com excesso de peso e obesidade.

### **2.1 Objetivos específicos**

Avaliar e comparar os efeitos do consumo diário de amendoim convencional ou de amendoim rico em ácido graxo oleico sobre a concentração de:

- Marcadores inflamatórios plasmáticos:
  - Interleucina-2 (IL-2) Interleucina- 4 (IL-4), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10), Interleucina-17A (IL-17A), Interferon (IFN), Fator de necrose tumoral (TNF) e proteína C-reativa ultrasensível (PCR);
- Marcadores do estresse oxidativo plasmáticos:
  - Superóxido dismutase (SOD), glutatona S-transferase (GST), malondialdeído (MDA) e óxido nítrico (ON);
- Marcadores de risco cardiometabólico:
  - Insulina, HOMRA<sub>IR</sub>, perímetro da cintura, IMC, relação cintura estatura, colesterol total, triacilglicerol, LDL-c, HDL-c, VLDL, colesterol não HDL, LDL-c:HDL-c e colesterol total:HDL-c

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Obesidade, inflamação e estresse oxidativo**

Evidências crescentes indicam que a obesidade está ligada a um estado inflamatório crônico subclínico, o que contribui para o desenvolvimento de comorbidades, em especial disfunções metabólicas (HOTAMISLIGIL, 2006; SHOELSON; LEE; GOLDFINE, 2006). Atualmente, está bem estabelecido que o tecido adiposo (TA) não só está envolvido no armazenamento de energia, mas também funciona como um órgão endócrino que secreta diversas substâncias (OUCHI et al., 2011; VÁZQUEZ-VELA; TORRES; TOVAR, 2008).

A expressão desregulada dos genes relacionados a essas substâncias, causada pelo excesso de adiposidade e disfunção dos adipócitos, tem sido associada à origem de diversas doenças por meio do estímulo a respostas imunes alteradas (OUCHI et al., 2011). Um aumento na inflamação decorrente do estresse oxidativo tem sido hipotetizado como o principal mecanismo envolvido na patogênese e progressão de distúrbios relacionados à obesidade (ELMARAQBY; SULLIVAN, 2012). Além disso, um aumento nas concentrações de citocinas inflamatórias pode conduzir a um novo aumento do estresse oxidativo, criando um ciclo (NUNN; BELL; GUY, 2009). A associação complexa entre aumento do estresse oxidativo e aumento da inflamação, não só na obesidade, mas também em distúrbios relacionados, tais como Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e doença cardiovascular (DCV), dificultam o estabelecimento de uma sequência temporal da relação entre ambos.

A obesidade promove a ativação de um processo inflamatório em sítios metabolicamente ativos, tais como TA, fígado e células imunológicas (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012). O próprio excesso de gordura leva a uma resposta de estresse caracterizada pelo aumento da concentração de glicocorticoide, um hormônio esteroide necessário para o desenvolvimento e diferenciação dos pré-adipócitos (WELLEN; HOTAMISLIGIL, 2005). Além disso, existe um aumento acentuado nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, adipocitocinas, e outros marcadores inflamatórios causado pelo excesso de adiposidade e disfunção dos adipócitos (KARALIS et al., 2009).

O excesso de nutrientes também pode provocar respostas de estresse em muitos tipos celulares, tais como hepatócitos, miócitos, adipócitos, células endoteliais e do

sistema imunológico, gerando disfunções metabólicas (HOTAMISLIGIL, 2006; LOWELL, 2005). Dessa forma, a inflamação parece ser o desfecho comum da obesidade humana (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012).

Tanto em homens quanto em animais, há um grande número de macrófagos infiltrados no TA ligados à inflamação sistêmica e resistência à insulina (SHU; BENOIST; MATHIS, 2012). Este acúmulo de macrófagos é proporcional ao grau de adiposidade, assim, a perda de peso está associada à redução da quantidade de macrófagos no TA e conseqüentemente na circulação, o que é acompanhado por redução do estado inflamatório de indivíduos obesos (OUCHI et al., 2011).

A inflamação também pode ser consequência do estresse oxidativo, o qual encontra-se aumentado em indivíduos obesos, e além da resistência à insulina, também está relacionado com disfunção endotelial. Ambas as modificações podem interagir e se amplificar, produzindo um conjunto de alterações metabólicas e vasculares (FONSECA-ALANIZ et al., 2007). Outra hipótese para a produção de adipocinas e proteínas de fase aguda pelo TA inclui a possibilidade de que a hipóxia funcione como o gatilho para o processo inflamatório (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011).

A hipóxia pode ocorrer em paralelo à expansão excessiva do TA durante a obesidade (PETRANGELI et al., 2015). Além disso, caracteriza-se como indutora da resposta inflamatória através da ativação do *hypoxia-inducible factor* (HIF) -1 $\alpha$ , principal regulador da resposta celular à hipóxia, e factor nuclear-kapa B (NF-kB), um fator de transcrição e importante mediador da resposta inflamatória (GHOSH; HAYDEN, 2008; SEMENZA, 2003). A ativação de NF-kB tipicamente resulta na expressão de moléculas de adesão, citocinas, receptores de superfície celular e enzimas pró-inflamatórias (PETRANGELI et al., 2015).

Evidências indicam que, em comparação com os macrófagos, os adipócitos têm uma capacidade igual ou superior a células do sistema imune de produzir substâncias inflamatórias, isso tem sido observado com o aumento dos fatores liberados pelos adipócitos com substancial contribuição para a inflamação sistêmica (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011). Além disso o TA é capaz de ativar os linfócitos T CD8<sup>+</sup> - linfócitos T citotóxicos - os quais promovem o recrutamento e ativação de macrófagos, evidenciando que as células T CD8<sup>+</sup> desempenham um papel essencial no início e propagação do processo inflamatório no TA e sistemicamente (NISHIMURA et al., 2009).

O estresse oxidativo na obesidade não se relaciona somente à inflamação e expansão do TA. A ingestão excessiva de nutrientes por indivíduos obesos induz estresse celular com consequente produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) superior ao necessário para sinalizar respostas fisiológicas (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012; SANTILLI et al., 2015). Assim, na obesidade, o estresse oxidativo pode surgir como consequência da alta ingestão de gordura e/ou açúcar simples na dieta (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012).

A ingestão excessiva de nutrientes, com refeições ricas em carboidratos, ácidos graxos saturados e ácidos graxos trans, estimula vias intracelulares levando ao estresse oxidativo por meio de diversos mecanismos bioquímicos, como a geração de radicais superóxido provenientes de NADPH oxidases, fosforilação oxidativa, auto-oxidação do gliceraldeído, proteína quinase C (PKC), e de vias poliol e hexosamina (SAVINI et al., 2013). O estresse oxidativo pode desempenhar um papel causal no desenvolvimento da obesidade, estimulando a deposição de tecido adiposo branco e alterando a utilização de nutrientes (DANDONA et al., 2010).

Quando a produção de ERO está aumentada ou sua remoção está diminuída, instala-se um desequilíbrio entre fatores oxidantes e antioxidantes que resulta em um estado pró-oxidativo (HOPPS et al., 2010). A presença de radicais livre em excesso pode danificar estruturas celulares e desencadear respostas inflamatórias (HOTAMISLIGIL, 2006; ROBERTS; SINDHU, 2009). O estresse oxidativo tem sido relacionado com a adiposidade, resistência à insulina, síndrome metabólica, e DCV incluindo hipercolesterolemia, ateroscleroses, hipertensão e falência cardíaca (FURUKAWA et al., 2004), sugerindo que esse quadro pode ser um evento precoce na fisiopatologia dessas doenças crônicas (CERIELLO, 2004).

Os radicais livres são gerados a partir da oxidação mitocondrial de glicose e ácidos graxos livres e por processos metabólicos e de defesa em outras partes da célula. Estes elementos incluem principalmente radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Em condições fisiológicas, as células apresentam um sistema de proteção antioxidante enzimático, representado principalmente por Superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e defesas não enzimática composta por vitaminas e minerais (VALDECANTOS; PÉREZ-MATUTE; MARTÍNEZ, 2009).

Técnicas simples têm permitido mensurar os produtos finais do processo oxidativo mediado pelos radicais livres. Malondialdeído (MDA, hidroperóxidos lipídicos, F2-

isoprostanos, são exemplos de substâncias amplamente utilizadas como marcadores da peroxidação lipídica (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). Em uma análise temporal desse processo, inicialmente são produzidos hidroperóxidos gerados em um estágio precoce da peroxidação lipídica, enquanto MDA ou F2-isoprostanos são formados ao final de um longo processo oxidativo (VINCENT; TAYLOR, 2006).

Estudos têm demonstrado que indivíduos obesos possuem uma concentração de MDA superior às encontradas em indivíduos com IMC normal (OLUSI, 2002). Nesse sentido, indivíduos com IMC maior que 40 kg/m<sup>2</sup> possuem maior concentração de MDA do que aqueles com IMC entre 19-25 kg/m<sup>2</sup>. Ao contrário do MDA, as enzimas antioxidantes, SOD e GPX, têm suas atividades diminuídas em indivíduos com IMC superior a 40 kg/m<sup>2</sup> quando comparadas com indivíduos eutróficos. Tal comportamento sugere a existência de um limiar de adiposidade, a partir do qual o excesso de gordura levaria a incapacidade do organismo em gerar adequada defesa antioxidante dada a quantidade de radia livres produzidos (VINCENT; TAYLOR, 2006). A atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx têm sido inversamente associadas ao IMC em crianças e adultos obesos (SAVINI et al., 2013; VIROONUDOMPHOL et al., 2000). Um estudo evidenciou que em mulheres obesas a atividade da GPx aumentou significativamente após a redução de peso (BOUGOULIA; TRIANTOS; KOLIAKOS, 2006). De forma similar, indivíduos com IMC normal tinham maior atividade de SOD e GPx em comparação com pessoas obesas (RAMEZANIPOUR et al., 2014).

O óxido nítrico (ON), é um importante fator de relaxamento derivado do endotélio e, em condições basais, é sintetizado em pequenas quantidades pela óxido nítrico sintase (NOS), endotelial e neuronal (CODONER-FRANCH et al., 2011; NASEEM, 2005). Embora o ON possua conhecida importância na gênese da aterosclerose, preservando o endotélio, suas concentrações encontram-se aumentadas na obesidade, o que predispõe à formação de produtos altamente danosos ao organismo, como o peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>) (CODONER-FRANCH et al., 2011; GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2000).

A enzima glutatona S-transferase (GST) compreende uma família de enzimas citosólicas e diméricas, amplamente distribuídas em todos os tipos celulares de mamíferos (MAHMOOD, 2010). A GST tem por função catalisar a adição nucleofílica de glutatona reduzida a centros eletrofílicos de compostos heterogêneos, como xenobióticos e os compostos gerados a partir deles, facilitando assim sua eliminação a partir da célula (RUSHMORE; PICKETT, 1993). Pouco se sabe a respeito do comportamento desta

enzima em indivíduos obesos, entretanto, tem sido sugerido que que fatores ligados à obesidade interferem negativamente na atividade da GST (ROE et al., 1999).

### 3.2 Fatores de risco cardiometabólicos

O risco cardiometabólico pode ser definido como o risco de DCV determinado por fatores tradicionais acrescido dos fatores de riscos ligados às características da síndrome metabólica. Dessa forma, estabelece-se uma ligação entre inflamação, obesidade, tanto visceral quanto gordura com localização ectópica, resistência à insulina e DCV (DESPRÉS, 2012).

Na obesidade, o desenvolvimento de complicações cardiometabólicas está relacionada às alterações sofridas pelos adipócitos, os quais possuem papel crítico no controle de algumas funções metabólicas (GREENBERG; OBIN, 2006). Indivíduos obesos liberam mais ácidos graxos livres e fatores pró-inflamatórios como *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), TNF- $\alpha$  e IL-6 que exercem maior efeito regulatório sobre a proteína C-reativa, aumentando suas concentrações (CANNON, 2007). A maior liberação de fatores pró-inflamatórios somado à maior quantidade de ácidos graxos livres, predispõe ao desenvolvimento de resistência à insulina e eventos cardiovasculares (GREENBERG; OBIN, 2006; POIRIER, PAUL, ECKEL, 2002). Juntos, obesidade e resistência à insulina contribuem para a disfunção vascular por inibir a liberação de óxido nítrico, um fator de proteção natural da integridade e homeostase vascular (ZALESIN et al., 2011). Hiperinsulinemia somado a resistência à insulina promove múltiplos prejuízos metabólicos e um aumento proporcional do risco cardiovascular (ESCHWEGE et al., 1985).

Mesmo modestas perdas de peso podem demonstrar significantes melhorias nos fatores de risco metabólicos relacionados à obesidade, particularmente diabetes e dislipidemias (DOW et al., 2013; GREGG EW et al., 2005). Tem sido estimado que uma redução de 5-10% no peso corporal de indivíduos obesos pode promover significativa redução dos marcadores cardiometabólicos incluindo glicose, insulina, marcadores inflamatórios, ainda que o IMC permaneça na categoria de risco (CANNON, 2007).

O excesso de peso associa-se a alterações desfavoráveis no perfil lipídico, relacionando-se, independentemente da idade e do sexo, com valores mais altos de IMC e concentrações plasmáticas mais elevadas de triglicerídeos, colesterol total e colesterol não HDL-c, e com concentrações mais baixas de HDL-c (ARONNE, 2007; DIAS et al.,

2005). O colesterol é um dos grandes mediadores para o risco cardiovascular na obesidade. Aproximadamente 70% dos pacientes com doenças cardiovasculares também possuem dislipidemia e IMC aumentado (ZALESIN et al., 2011).

Estudos demonstram que concentrações aumentadas de LDL-c estão diretamente associadas a desfechos vasculares negativos, já que essa lipoproteína está diretamente envolvida na formação e desestabilização das placas de ateroma (DOW et al., 2013). O LDL-c é excessivamente aterogênico, por ser facilmente oxidado e por sua capacidade de penetrar na barreira endotelial da parede dos vasos, aumentando a inflamação e agregação plaquetária (BADIMON; VILAHUR, 2012). Por outro lado, o HDL-c caracteriza-se como cardioprotetor e antiaterogênico por transportar o colesterol dos tecidos periféricos, incluindo aqueles acumulados na parede vascular, para o fígado, processo conhecido como transporte reverso do colesterol (LEWIS; RADER, 2005). O excesso de peso pode influenciar diretamente nos valores de HDL-c (DOW et al., 2013). Estudos demonstram que a diminuição de 1 kg no peso corporal pode aumentar os níveis de HDL-c em 0,35 mg/dl (LEWIS; RADER, 2005; SINGH; SHISHEHBOR; ANSELL, 2007).

Uma recente meta-análise envolvendo 300.000 indivíduos de diferentes grupos étnicos, mostrou que a relação cintura:estatura é um medida de avaliação do risco cardiometabólico melhor do que o IMC ou perímetro da cintura em homens e mulheres de todas as idades (ASHWELL; GUNN; GIBSON, 2012). Outro estudo com mais de 258.000 indivíduos reportou um progressivo aumento no risco cardiovascular com o aumento da circunferência da cintura e relação cintura quadril (DE KONING et al., 2007). Zalesin et al., (2011) observaram que um aumento de 1cm no perímetro da cintura está associado com um aumento de 2% no risco relativo de eventos cardiovasculares (ZALESIN et al., 2011).

Intervenções nutricionais são amplamente descritas por sua eficiência na promoção da perda de peso e/ou por possuírem nutrientes específicos que diminuem o risco cardiometabólico (SIQUEIRA-CATANIA et al., 2013). As oleaginosas são fonte de AGMI, vitaminas, minerais e polifenóis, os quais coletivamente contribuem para a redução do risco de doenças crônicas, entre elas, as cardiovasculares (BARBOUR et al., 2015). Indivíduos tipicamente consumidores de *nuts* possuem menor concentração de colesterol total e LDL-c e triglicérides, além de impactarem positivamente sobre o HDL-c (BROWN et al., 2015). Por sua semelhança nutricional com as *nuts*, o amendoim também tem sido descrito como cardioprotetor, e promovendo melhorias sobre as

concentrações de TNF- $\alpha$  e triglicerídeos, e melhorado a resistência à insulina e composição corporal (ALVES et al., 2014b; VASSILIOU et al., 2009).

### **3.3 Citocinas Th1/th2/th17 na obesidade**

As citocinas são pequenas glicoproteínas produzidas por diferentes tipos de células, predominantemente linfócitos, que regulam a imunidade, inflamação e a hematopoiese, sendo sua secreção um evento breve e auto-limitado (KHAN, 2008). Elas atuam sobre diversas funções fisiológicas e patológicas, incluindo imunidade inata, imunidade adquirida e uma variedade de respostas inflamatórias e metabólicas (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008).

Geralmente as citocinas desempenham múltiplos efeitos em uma única célula alvo e podem induzir ou inibir a síntese e a ação de outras citocinas. Depois de se ligar a receptores específicos na superfície de determinada célula, as citocinas produzem os seus efeitos específicos (DEMBIC, 2015). Além disso, elas regulam a intensidade e duração de uma resposta imune por estimular ou inibir a ativação, proliferação e/ou diferenciação de várias células e por regular a secreção de anticorpos e outras citocinas. A ligação de uma citocina a uma célula-alvo responsiva geralmente estimula o aumento da expressão de receptores e a secreção de outras citocinas, afetando outras células-alvo próximas dando continuidade e amplificando a resposta inflamatória (DEMBIC, 2015; KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008).

Ante um determinado desafio antigênico, o tipo de resposta imune a ser desencadeada será definida pela diferenciação do perfil de secreção de citocinas entre os subtipos de células linfocitárias T helper (Th). Dessa forma, tem sido demonstrado que as células T também são reguladas pela adiposidade e podem contribuir para a inflamação induzida pela obesidade (LUMENG; MAILLARD; SALTIEL, 2009).

Recentemente, foi observado acúmulo de células T no TA de humanos e de ratos obesos (DUFFAUT et al., 2009a; KINTSCHER et al., 2008; RAUSCH et al., 2008) precedida pelo acúmulo de macrófagos (DUFFAUT et al., 2009b; NISHIMURA et al., 2009). Diante disso, as células T são vistas como participantes necessárias ao início da inflamação no TA (SELL; ECKEL, 2010). Essa ideia foi reforçada pela descoberta de que a depleção de células T reduz infiltração de macrófagos no TA e melhora a sensibilidade à insulina em ratos alimentados com uma dieta de elevado teor de gordura (NISHIMURA et al., 2009; WINER et al., 2009a).

Os linfócitos T podem ser classificados, de acordo com as suas funções e fenótipo, como T helper (Th) ou linfócitos T citotóxicos (Tc). Linfócitos T helper CD4<sup>+</sup> regulam a resposta imunológica através da produção de citocinas que ativam macrófagos, células *Natural Killer* (NK) e linfócitos B, amplificando de uma forma específica e antígeno dependente a resposta imune (MOULIN et al., 2009).

Células T CD4<sup>+</sup> diferenciam-se em várias células Th com distintos perfis de secreção de citocinas; Th1 (secretam IL-2, IL-12, Interferon gama -IFN- $\gamma$ - e TNF- $\beta$ ), células Th2 (produzem, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-25), células Th17 (secretam IL-17A a IL-17F, IL-21, IL-22, IL-24, IL-26) (ZHU; PAUL, 2008).

O consumo de uma dieta rica em gordura promoveu aumento no número de células Th1 seguido de recrutamento de macrófagos inflamatórios para o TA de ratos obesos (WINER et al., 2009). Ainda, adipócitos provenientes de indivíduos obesos, mas não de indivíduos magros, foram capazes de induzir células Th17 e ativação de monócitos (ELJAAFARI et al., 2015). Em geral, células Th1 e Th17 desencadeiam respostas pró-inflamatórias, enquanto células Th2 contribuem para respostas anti-inflamatória (APOSTOLOPOULOS et al., 2015). Em indivíduos obesos com e sem DM2, as concentrações de citocinas Th17 encontram-se aumentadas no soro. Além disso, tem-se associado o aumento das células Th17 às complicações tardias da obesidade (ŁUCZYŃSKIA et al., 2015).

Células Th1 CD4<sup>+</sup> estão aumentadas na obesidade e se correlacionam positivamente com a incidência de doença hepática não alcoólica (PACIFICO et al., 2006). As células do fenótipo Th2 CD4<sup>+</sup> desempenham um papel supressor da inflamação relacionada à obesidade e resistência à insulina; a mudança na relação Th1 / Th2 em direção às células pró-inflamatórias do fenótipo Th1 pode ser responsável pela polarização de macrófagos M<sub>2</sub> para M<sub>1</sub> no TA, favorecendo um estado pró-inflamatório (MRAZ; HALUZIK, 2014).

### **3.3.1 Citocinas**

#### **3.3.1.1 Interleucina-17A (IL-17A)**

Enquanto monócitos e macrófagos têm sido claramente associados à indução de um perfil pró-inflamatório, pesquisas recentes têm mostrado que células Th17 também participam da inflamação decorrente da obesidade (AHMED; GAFFEN, 2010; WINER et al., 2009b). Foi observado aumento de células Th17 no TA de indivíduos obesos e com

DM2 (FABBRINI et al., 2013; DALMAS et al., 2014). De forma semelhante, células Th17 periféricas estavam significativamente aumentadas em mulheres obesas que participaram de uma coorte (SUMARAC-DUMANOVIC et al., 2009).

As IL-17A/F são citocinas que atuam predominantemente na propagação da inflamação, devido a onipresente expressão de seus receptores IL-17RA/RC (AHMED; GAFFEN, 2010). Além disso, IL-17A também aumenta a secreção de outras citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 $\beta$ , IL-6 e quimiocinas, por múltiplos tipos celulares como macrófagos, monócitos, células do estroma e células tronco. A IL-17A também pode inibir diretamente a adipogênese, o que prejudica o armazenamento de lipídios no TA e também contribui para o estabelecimento de resistência à insulina (RI) (AHMED; GAFFEN, 2013; ELJAAFARI et al., 2015; ZUNIGA et al., 2010). Além disso, a IL-17 pode estar envolvida na inflamação associada a complicações a longo prazo da DM2 (ŁUCZYŃSKIA et al., 2015). Supõe-se que a obesidade é também acompanhada por uma inflamação crônica, o papel das células Th17 deve predominar sobre outras populações de células, incluindo células Treg (FABBRINI et al., 2013). Apesar dos avanços, os mecanismos pelos quais células Th17 se infiltram no TA e seu papel exato permanecem pouco estudados (ELJAAFARI et al., 2015).

### 3.3.1.2 Interleucina-2 (IL-2)

A IL-2 foi descrita em 1975 como promotora do crescimento de linfócitos T derivados da medula óssea (GAFFEN; LIU, 2004). É uma potente citocina pró-inflamatória produzida principalmente por células TCD4<sup>+</sup> e TCD8<sup>+</sup> ativadas e com importantes efeitos na biologia das células T regulatórias (Treg) e na homeostase da resposta imune (VARGAS et al., 2015). Ainda, promove a diferenciação das células CD4<sup>+</sup> em células Th1 e Th2, enquanto inibe a diferenciação das células Th17 (LIAO; LIN; LEONARD, 2011; SHARMA; FU; JU, 2011).

Em indivíduos obesos sem comorbidades, a IL-2 pode representar um componente importante nos eventos inflamatórios precoces (VARGAS et al., 2015). Além disso, as concentrações plasmáticas de IL-2 associam-se significativamente com o IMC de indivíduos obesos (SHELTON et al., 2015). Há evidências de que a IL-2 também esteja envolvida no processo inflamatório ligado ao desenvolvimento de DM2 (LUCAS et al., 2013). Estudos mostram que as concentrações plasmáticas desta citocina estão aumentadas em indivíduos pré-diabéticos e correlacionam-se positivamente com a hemoglobina glicada (HbA1c) (LUCAS et al., 2013). Evidências também apontam que a

destruição das células- $\beta$  pancreáticas no diabetes auto-imune é mediada pela IL-2 (ZHOU; ZHANG; AUNE, 2003)

### 3.3.1.3 Interleucina-4 (IL-4)

A IL-4 é uma citocina secretada por linfócitos ativados Th2, basófilos, e mastócitos, executando funções pleiotrópicas, tais como diferenciação de células Th2, mudança de classe de imunoglobulina e proliferação de células B (TSAO et al., 2014). Também é secretada por mastócitos, eosinófilos e basófilos, sendo considerada um potente regulador da imunidade (GADANI et al., 2012). Sua principal atividade é determinar o perfil da resposta imune de células Th2, além de induzir a proliferação de células B e aumentar a expressão de MHC-II, possibilitando maior ativação de Th2. Ressalta-se ainda sua função de promover a diferenciação de outras células capazes de produzir IL-4 e várias citocinas como IL-5, IL-10 e IL-13 (DYKEN; LOCKSLEY, 2013; NELMS et al., 1999).

Evidências apontam que essa citocina está envolvida no metabolismo lipídico por meio da inibição do acúmulo de lipídios no TA, o que leva à diminuição do ganho de peso e da massa de gordura (CAO et al., 2014; TSAO et al., 2014). Spergel et al. (1999), revelaram que a IL-4 regula algumas quimiocinas pró-inflamatórias e o metabolismo lipídico e glicídico, por meio da promoção da sensibilidade à insulina, tolerância à glicose e inibição da deposição de lipídios (CAO et al., 2014; SPERGEL et al., 1999). Quando secretada a partir de adipócitos e hepatócitos, a IL-4 pode modular a resposta imune local e a sensibilidade à insulina, sugerindo que tal citocina potencialmente influencia nos processos metabólicos e na obesidade induzida pela dieta (EL-WAKKAD et al., 2013; OUCHI et al., 2011). Adicionalmente, El-Wakkad et al. (2013) encontraram associação direta entre as concentrações de IL-4 e obesidade central (EL-WAKKAD et al., 2013). Tal citocina também tem sido associada a um efeito pró-inflamatório, por apresentar capacidade de retardar a apoptose de neutrófilos e aumentar a produção de IL-18 por estes leucócitos, o que contribui para o recrutamento de outras células inflamatórias para o local da inflamação (GIRARD et al., 2009).

#### 3.3.1.4 Interleucina-6 (IL-6)

IL-6 é uma citocina de ação pleiotrópica e com uma multiplicidade de funções, tem um papel pró-inflamatório, com importantes efeitos na imunidade adaptativa, especialmente após ativação de células B e T (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008).

Vários tipos de células imunológicas, incluindo macrófagos e monócitos além de células endoteliais, adipócitos e células do músculo esquelético constituem fontes típicas de IL-6 (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al., 2011). A avaliação do TA humano como um órgão endócrino tem mostrado sua abundante produção de IL-6, principalmente pelo TA subcutâneo que produz aproximadamente 25% da IL-6 circulante (KIM et al., 2004).

Clinicamente, as concentrações plasmáticas de IL-6 correlacionam-se com a adiposidade, de tal modo que o aumento da IL-6 circulante é observado em indivíduos obesos e a perda de peso conduz a uma redução nas concentrações da mesma (ESPOSITO et al., 2003; FRIED; BUNKIN; GREENBERG, 1998; ZICCARDI, 2002).

As IL-6 também está correlacionada com RI e intolerância à carboidratos (LASTRA; MANRIQUE; HAYDEN, 2006; OUCHI et al., 2011). Esta citocina influencia a tolerância à glicose por meio da regulação negativa da visfatina, e também antagoniza a secreção de adiponectina (FONSECA-ALANIZ et al., 2007).

#### 3.3.1.5 Interleucina-10 (IL-10)

A IL-10 tem função predominantemente anti-inflamatória e moduladora na resposta inflamatória. Sua atividade biológica é mediada através de seu receptor de membrana (IL-10R), o qual pertence ao subgrupo de receptores similares ao INF, da família dos receptores de citocinas classe II (MOORE et al., 2001). Dessa forma, a IL-10 pode inibir a produção de várias citocinas, tais como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, em uma variedade de tipos celulares, além de se auto modular (MOORE et al., 2001). Seu poder anti-inflamatório é mais evidente nas doenças inflamatórias crônicas, principalmente naquelas em que o TNF- $\alpha$  atua de maneira significativa (BOLGER et al., 2002; DENYS et al., 2002; KAUR et al., 2006).

Recentemente, a IL-10 foi apontada como potencial indutora de efeitos metabólicos no organismo humano (STRACZKOWSKI et al., 2005). Essa citocina, tem sido inversamente associada com o IMC, percentual de gordura corporal e glicemia de jejum (BLÜHER et al., 2005). Baixas concentrações de IL-10, mostraram-se associadas tanto com síndrome metabólica quanto com DM2, no entanto, apesar de a IL-10 estar

associada com sensibilidade à insulina, seus mecanismos de ação permanecem desconhecidos (CHARLES et al., 2011).

Em situações de hiperinsulinemia, quadro frequentemente observado em indivíduos obesos, há prejuízo na produção de IL-10 e aumento na produção de IFN- $\gamma$ , favorecendo o estado pró-inflamatório (HAN et al., 2014). No TA, IL-10 promove seu efeito por meio da ligação com o seu receptor e por ativação das vias JAK/STAT que regulam a secreção de citocinas (TURNER et al., 2010; XIE et al., 2014).

#### *3.3.1.6 Fator de necrose tumoral (TNF)*

O fator de necrose tumoral (TNF) da superfamília (TNFSF) e o receptor de TNF (TNFR) da superfamília (TNFRSF) formam um sistema amplamente distribuídos em diferentes tipos de células e tecidos. Coletivamente eles desempenham papéis críticos em vários aspectos da biologia de mamíferos, incluindo o desenvolvimento embrionário, imunidade inata e adaptativa, e manutenção da homeostase celular (WU; HYMOWITZ, 2009).

Essa citocina é caracterizada como pró-inflamatória e produzida essencialmente por monócitos e macrófagos desempenhando um papel central em doenças auto-imunes e inflamatórias. A expressão de TNF é aumentada no TA de animais obesos e com DM2 (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993). Foi observado que, em modelos experimentais obesos, o bloqueio da sinalização do TNF- $\alpha$  conduz a uma melhoria na sensibilidade à insulina no tecido muscular e adiposo (UYSAL et al., 1997). O TNF- $\alpha$  atua diminuindo a fosforilação do receptor de insulina IRS1 tanto no tecido muscular quanto no TA, promovendo RI e demonstrando a ação do TNF- $\alpha$  como uma citocina pró-inflamatória que tem um papel central na RI relacionada com a obesidade (OUCHI et al., 2011).

As concentrações de TNF- $\alpha$  são aumentadas no tecido e no plasma de indivíduos obesos, e a redução no peso corporal destes indivíduos foi acompanhada da diminuição da expressão desta citocina (KERN et al., 1995; ZICCARDI, 2002). No sangue, as concentrações de TNF- $\alpha$  também se correlacionaram positivamente com marcadores de RI em um estudo de coorte (HIVERT et al., 2008).

O TNF- $\alpha$  ativa fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), o que resulta no aumento da expressão de moléculas de adesão na superfície de células endoteliais e células do músculo liso vascular, resultando em um estado inflamatório no TA, disfunção endotelial e aterogênese (LASTRA; MANRIQUE; HAYDEN, 2006).

Fator de necrose tumoral- $\beta$  (TNF- $\beta$ ), hoje denominado como linfotóxina- $\alpha$  (LT $\alpha$ ), é um homólogo próximo de TNF- $\alpha$ . Ambas as citocinas são reconhecidas pelos mesmos receptores de TNF amplamente distribuídos na superfície celular, isto é, o TNFR1 e TNFR2 e como consequência, muitos dos seus efeitos são similares (LADDHA et al., 2013). O TNF- $\beta$  contribui para o ganho de peso corporal e adiposidade, além de ser necessário para modular a acumulação de células imunitárias no TA (PAMIR et al., 2012).

### 3.3.1.7 Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

O IFN- $\gamma$  é um produto primário de células T e células NK, regulam o fenótipo dos macrófagos e participam do desenvolvimento de doenças metabólicas (O'ROURKE et al., 2012). Esta citocina é secretada por células Th1, induz a ativação de macrófagos, moléculas de adesão leucocitária, quimiocinas, MHCII e aumenta a capacidade de apresentação de antígenos por macrófagos de células endoteliais (ROCHA et al., 2008). Estudos mostram que o IFN- $\gamma$  regula a expressão de TNF- $\alpha$  e IL-10 de maneira recíproca no TA de ratos, aumentando o TNF- $\alpha$  e inibindo a expressão de IL-10, ação consistente com seu efeito pró-inflamatório (O'ROURKE et al., 2012).

Dietas ricas em gordura estimulam a secreção de IFN- $\gamma$  no TA de ratos selvagens. Um estudo mostrou que, animais obesos deficientes em IFN- $\gamma$  alimentados com uma dieta alta em gordura, apresentaram menor densidade de células inflamatórias no TA, e uma melhor tolerância à glicose quando comparados a animais controle sob a mesma dieta (CALDERON et al., 2008). Também tem sido observada a capacidade do IFN- $\gamma$  de induzir inflamação e estresse oxidativo, sendo apontado como causa da disfunção endotelial no DM2 (ROCHA et al., 2008). Ainda, ratos obesos deficientes em IFN- $\gamma$  tiveram significativamente menor expressão de genes inflamatórios no TA, tais como TNF- $\alpha$  e MCP-1 e uma melhor tolerância à glicose do que os ratos obesos controle, ambos sob a mesma dieta (ROCHA et al., 2008).

Vários estudos demonstraram que o IFN- $\gamma$  inicia mais cedo o acúmulo de linfócitos T e B no TA humano e ativa o recrutamento de macrófagos locais e a sua diferenciação em macrófagos M1 (DUFFAUT et al., 2009b). Nos seres humanos, O'Rourke et al. 2012 mostraram que o TA visceral proveniente de indivíduos obesos apresentam níveis elevados de IFN- $\gamma$  e uma elevada quantidade de macrófagos, e células NK em relação ao TA subcutâneo (GHIGLIOTTI et al., 2014; O'ROURKE et al., 2012).

### 3.4 Amendoim

Apesar de o amendoim ser uma leguminosa ele compartilha propriedades nutricionais similares as oleaginosas ou *nuts* (BARBOUR et al., 2015). Amendoins são uma excelente fonte de proteínas - aproximadamente 25% da energia e fibra alimentar fornecendo, cerca de 5% a 10% da necessidade diária em uma porção de 30g, com potenciais benéficos na saciedade e controle de peso (BARBOUR et al., 2014; ALVES et al., 2014b). Outros nutrientes bioativos do amendoim incluem vitamina E, polifenóis, potássio, cálcio, magnésio, tocoferóis e os fitoquímicos fitoesteróis, compostos fenólicos, resveratrol e arginina com efeito sobre a regulação da glicose, inflamação e estresse oxidativo (BARBOUR et al., 2015; KENDALL et al., 2010; SINGH; DEVARAJ; JIALAL, 2005).

O ácido graxo oleico, presente em grande quantidade no amendoim, especialmente no cultivar alto-oleico, reduz o grau de peroxidação lipídica durante o armazenamento por ser menos susceptível à oxidação (TALCOTT et al., 2005). Uma variedade rica em ácido graxo oleico contribui para melhoria das propriedades sensoriais e preservação da capacidade funcional relacionada à atividade antioxidante do amendoim (BARBOUR et al., 2015; TALCOTT et al., 2005). O cultivar IAC-505, desenvolvido pelo Instituto Agrônomo de Campinas apresenta 79% de ácido graxo oleico em proporção aos lipídios totais enquanto que o cultivar convencional tipo *runner*, IAC-886, contém cerca de 47% (Tabela 1). Amendoins do cultivar alto-oleico também tem demonstrado capacidade de reduzir lipídios sanguíneos (DERBYSHIRE, 2014).

Apesar de ser um alimento com alta densidade calórica, em média 5,9 kcal/g, e conter elevado teor de lipídios o amendoim apresenta benefícios à saúde. Tais benefícios estão relacionados ao seu elevado conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados (AGPI) e de compostos com atividade antioxidante e antiaterogênica (MAGUIRE et al., 2004). Segundo alguns estudos epidemiológicos, a ingestão de oleaginosas, entre elas o amendoim, encontram-se associadas a menor risco cardiovascular (KRIS-ETHERTON et al., 2008).

Um estudo experimental com ratos obesos não insulino-dependentes, mostrou que o óleo de amendoim alto oleico possui propriedades anti-inflamatórias e anti-diabéticas e age de forma semelhante a outros AGMI impedindo que o TNF- $\alpha$  cause resistência à insulina, além disso, foi observado aumento na produção de insulina, melhora nos níveis de glicose no sangue e redução de marcadores inflamatórios (VASSILIOU et al., 2009).

**Tabela 1.** Percentual de ácidos graxos em relação ao total de ácidos graxos em amendoim convencional e amendoim alto oleico.

Ácidos graxos	Amendoim convencional (IAC 886)	Amendoim alto oleico (IAC 505)
Ácido láurico (C12:0)	-	-
Ácido palmítico (C16:0)	8,78	5,23
Ácido heptadecanoico (C17:0)	0,46	0,18
Ácido esteárico (18:0)	2,14	2,08
Ácido elaidico (C18:1n9t)	-	-
Ácido oleico (C18:1n9)	50,96	81,47
Ácido linoleidico (C18:2n6t)	-	-
Ácido linoleico (C18:2n6)	31,93	3,87
Ácido araquidônico (C20:0)	0,82	1,19
Ácido gama-linolênico (18:3n6)	-	-
Ácido eicosanoico (C20:1n9)	0,82	1,45
Ácido alfa-linolenico (C18:3n3)	0,28	0,44
Ácido beénico (C22:0)	2,59	2,68
Ácido erúcico (C22:1n9)	-	0,17
Ácido lignocérico	1,46	1,65
Total AGS	16,25	13,01
Total MUFA	51,78	83,01
Total PUFA	32,21	4,30
Total trans	-	-

**Fonte:** Adaptado de Alves et al., 2014.

O consumo de amendoim convencional por ratos diabéticos durante 12 semanas, mostrou melhora do estado antioxidante por aumentar as concentrações plasmáticas de glutathiona (GSH) (EMEKLI-ALTURFAN; KASIKCI; YARAT, 2008). Além da capacidade de modular antioxidantes endógenos, também tem sido observado diminuição da peroxidação lipídica em estudos com modelos animais (EMEKLI-ALTURFAN; KASIKCI; YARAT, 2007).

Em comparação com o amendoim convencional o alto oleico mostrou-se mais eficiente sobre o estado inflamatório de homens com excesso de peso, promovendo uma redução mais eficaz nas concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  (ALVES et al., 2014b). Ainda, foi demonstrado recentemente que a administração de amendoim alto-oleico por 12 semanas não promoveu melhoras nos marcadores cardiometabólicos de indivíduos eutróficos, entretanto, apesar da energia adicional, o ganho de peso foi menor que o esperado (BARBOUR et al., 2015). Contudo, estudos dessa natureza, principalmente

utilizando marcadores inflamatórios mais sensíveis, ainda são escassos na literatura, bem como estudos que avaliem, especificamente, o amendoim e seu efeito sobre a capacidade antioxidante.

## **Referências Bibliográficas**

AHMED, M.; GAFFEN, S. L. IL-17 in obesity and adipogenesis. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 21, n. 6, p. 449–453, dez. 2010.

AHMED, M.; GAFFEN, S. L. IL-17 inhibits adipogenesis in part via C/EBP $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and Krüppel-like factors. **Cytokine**, v. 61, n. 3, p. 898–905, 2013.

APOSTOLOPOULOS, V. et al. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. **Molecular Nutrition & Food Research**, p. n/a–n/a, set. 2015.

ARONNE, L. J. Therapeutic Options for Modifying Cardiometabolic Risk Factors. **American Journal of Medicine**, v. 120, n. 3 SUPPL. 1, p. 26–34, 2007.

ASHWELL, M.; GUNN, P.; GIBSON, S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: Systematic review and meta-analysis. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 3, p. 275–286, 2012.

BADIMON, L.; VILAHUR, G. LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: Inflammatory resolution versus thrombotic chaos. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1254, n. 1, p. 18–32, 2012.

BARBOUR, J. et al. Effect of 12 Weeks High Oleic Peanut Consumption on Cardio-Metabolic Risk Factors and Body Composition. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7381–7398, 2015.

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**, v. 82, p. 124–130, 2014.

BLÜHER, M. et al. Association of interleukin-6, C-reactive protein, interleukin-10 and adiponectin plasma concentrations with measures of obesity, insulin sensitivity and glucose metabolism. **Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, v. 113, n. 9, p. 534–7, 2005.

BOLGER, A. P. et al. Effect of interleukin-10 on the production of tumor necrosis factor-alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic heart failure. **The American journal of cardiology**, v. 90, n. 4, p. 384–9, 2002.

BONDIA-PONS, I.; RYAN, L.; MARTINEZ, J. A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 68, n. 4, p.

701–711, 2012.

BOUGOULIA, M.; TRIANTOS, A.; KOLIAKOS, G. Plasma interleukin-6 levels, glutathione peroxidase and isoprostane in obese women before and after weight loss. Association with cardiovascular risk factors. **Hormones (Athens, Greece)**, v. 5, n. 3, p. 192–9, 2006.

BROWN, R. C. et al. Association of nut consumption with cardiometabolic risk factors in the 2008/2009 New Zealand adult nutrition survey. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7523–7542, 2015.

CALDERON, B. et al. **IFN-gamma-dependent regulatory circuits in immune inflammation highlighted in diabetes.** **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, 2008. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2653256&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> CANNON, C. P. Cardiovascular disease and modifiable cardiometabolic risk factors. **Clin Cornerstone**, v. 8, n. 3, p. 11–28, 2007.

CAO, Y. et al. SELECTION OF NON-COMPETITIVE LEPTIN ANTAGONISTS USING A RANDOM NANOBODY-BASED APPROACH. n. May, 2014.

CERIELLO, A. Is Oxidative Stress the Pathogenic Mechanism Underlying Insulin Resistance, Diabetes, and Cardiovascular Disease? The Common Soil Hypothesis Revisited. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 24, n. 5, p. 816–823, 2004.

CHARLES, B. A. et al. The roles of IL-6, IL-10, and IL-1RA in obesity and insulin resistance in African-Americans. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 96, n. 12, p. E2018–22, dez. 2011.

CODONER-FRANCH, P. et al. Nitric oxide production is increased in severely obese children and related to markers of oxidative stress and inflammation. **Atherosclerosis**, v. 215, n. 2, p. 475–480, 2011.

DALMAS, E. et al. Page 1 of 33 Diabetes. **Diabetes**, p. 1–33, 2014.

DANDONA, P. et al. Macronutrient intake induces oxidative and inflammatory stress: potential relevance to atherosclerosis and insulin resistance. **Experimental & molecular medicine**, v. 42, n. 4, p. 245–53, 2010.

DE KONING, L. et al. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: Meta-regression analysis of prospective studies. **European Heart Journal**, v. 28, n. 7, p. 850–856, 2007.

DEMBIC, Z. **Introduction—Common Features About Cytokines**. [s.l.] Elsevier, 2015. DENYS, A. et al. Evidence for a dual mechanism for IL-10 suppression of TNF- $\alpha$  production that does not involve inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase or NF- $\kappa$ B in primary human macrophages. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 168, n. 10, p. 4837–45, 2002.

DERBYSHIRE, E. J. A review of the nutritional composition, organoleptic

characteristics and biological effects of the high oleic peanut. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 65, n. 7, p. 781–90, 2014.

DESPRÉS, J.-P. Abdominal obesity and cardiovascular disease: is inflammation the missing link? **The Canadian journal of cardiology**, v. 28, n. 6, p. 642–52, 2012.

DIAS, P. et al. Evolução do peso numa consulta de dislipidemias. v. 12, p. 197–202, 2005.

DOW, C. A et al. Predictors of improvement in cardiometabolic risk factors with weight loss in women. **Journal of the American Heart Association**, v. 2, n. 6, p. e000152, 2013.

DUARTE MOREIRA ALVES, R. et al. High-oleic peanuts increase diet-induced thermogenesis in overweight and obese men. **Nutrición hospitalaria**, v. 29, n. 5, p. 1024–32, jan. 2014.

DUFFAUT, C. et al. Interplay between human adipocytes and T lymphocytes in obesity: CCL20 as an adipochemokine and T lymphocytes as lipogenic modulators. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 29, n. 10, p. 1608–1614, 2009a.

DUFFAUT, C. et al. Unexpected trafficking of immune cells within the adipose tissue during the onset of obesity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 384, n. 4, p. 482–485, 2009b.

DYKEN, S. J. VAN; LOCKSLEY, R. M. INTERLEUKIN-4- AND INTERLEUKIN-13-MEDIATED ALTERNATIVELY ACTIVATED MACROPHAGES: ROLES IN HOMEOSTASIS AND DISEASE. **Annu Rev Immunol**, p. 317–343, 2013.

ELJAAFARI, A. et al. Adipose tissue-derived stem cells from obese subjects contribute to inflammation and reduced insulin response in adipocytes through differential regulation of the Th1 / Th17 balance and monocyte activation . Clinical Research Department , Hospices Civils. v. 4159, p. 1–45, 2015.

ELMARAQBY, A. A.; SULLIVAN, J. C. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. **Cardiovascular Therapeutics**, v. 30, n. 1, p. 49–59, 2012.

EL-WAKKAD, A. et al. Proinflammatory, anti-inflammatory cytokines and adiponkines in students with central obesity. **Cytokine**, v. 61, n. 2, p. 682–687, 2013.

EMEKLI-ALTURFAN, E.; KASIKCI, E.; YARAT, A. Peanuts improve blood glutathione, HDL-cholesterol level and change tissue factor activity in rats fed a high-cholesterol diet. **European journal of nutrition**, v. 46, n. 8, p. 476–82, 2007.

EMEKLI-ALTURFAN, E.; KASIKCI, E.; YARAT, A. Peanut (*Arachis hypogaea*) Consumption Improves Glutathione and HDL-Cholesterol Levels in Experimental Diabetes. **Phytotherapy research**, n. 22, p. 180–184, 2008.

ESCHWEGE, E. et al. Coronary heart disease mortality in relation with diabetes, blood glucose and plasma insulin levels. The Paris Prospective Study, ten years later. **Hormone and metabolic research. Supplement series**, v. 15, p. 41–6, 1985.

ESPOSITO, K. et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. **The Journal of the American Medical Association**, v. 289, n. 14, p. 1799–1804, 2003.

FABBRINI, E. et al. Association Between Specific Adipose Tissue CD4+ T-Cell Populations and Insulin Resistance in Obese Individuals. **Gastroenterology**, v. 145, n. 2, p. 366–374.e3, 2013.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 12, p. 3117–3132, 2011.  
FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. **Jornal de Pediatria**, v. 0, n. 0, p. 192–203, 2007.

FRIED, S. K.; BUNKIN, D. A.; GREENBERG, A. S. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: Depot difference and regulation by glucocorticoid. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, n. 3, p. 847–850, 1998.

FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. v. 114, n. 12, 2004.

GADANI, S. P. et al. IL-4 in the brain: a cytokine to remember. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 189, n. 9, p. 4213–9, 2012.

GAFFEN, S. L.; LIU, K. D. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. **Cytokine**, v. 28, n. 3, p. 109–123, 2004.

GHIGLIOTTI, G. et al. Adipose Tissue Immune Response: Novel Triggers and Consequences for Chronic Inflammatory Conditions. **Inflammation**, v. 37, n. 4, p. 1337–1353, 2014.

GHOSH, S.; HAYDEN, M. S. New regulators of NF- $\kappa$ B in inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 11, p. 837–848, 2008.

GIRARD, D. et al. Interleukin (IL)-4 induces leukocyte infiltration in vivo by an indirect mechanism. **Mediators of Inflammation**, v. 2009, p. 1–11, 2009.

GREENBERG, A. S.; OBIN, M. S. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 2, p. 461S–465S, 2006.

GREGG EW et al. Secular trends in cardiovascular disease risk factors according to body mass index in us adults. **Jama**, v. 293, n. 15, p. 1868–1874, 2005.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.

899, p. 136–147, 2000.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British journal of pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–55, 2004.

HAN, J. M. et al. Insulin inhibits IL-10-mediated regulatory T cell function: implications for obesity. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 192, n. 2, p. 623–9, 15 jan. 2014.

HIVERT, M.-F. et al. Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor-alpha with insulin resistance. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 93, n. 8, p. 3165–72, 2008.

HOPPS, E. et al. A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 20, n. 1, p. 72–77, 2010.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 860–867, 14 dez. 2006.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v. 259, n. January, p. 87–91, 1993.

KARALIS, K. P. et al. Mechanisms of obesity and related pathology: linking immune responses to metabolic stress. **The FEBS Journal**, v. 276, n. 20, p. 5747–5754, 2009.

KAUR, K. et al. **Interplay of TNF-alpha and IL-10 in regulating oxidative stress in isolated adult cardiac myocytes.** **Journal of molecular and cellular cardiology**, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17045606>>

KENDALL, C. W. et al. Nuts, metabolic syndrome and diabetes. **Br J Nutr**, v. 104, n. 4, p. 465–473, 2010.

KERN, P. A. et al. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. **The Journal of clinical investigation**, v. 95, n. 5, p. 2111–2119, 1995.

KHAN, M. M. **Immunopharmacology**. Boston, MA: Springer US, 2008.

KIM, H. et al. Differential Effects of Interleukin-6 and -10 on Skeletal Muscle and Liver Insulin Action In Vivo. v. 53, n. April, 2004.

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. A. Citocinas. In: 6. ed. [s.l: s.n.]. p. 704.

KINTSCHER, U. et al. T-lymphocyte Infiltration in Visceral Adipose Tissue: A Primary Event in Adipose Tissue Inflammation and the Development of Obesity-Mediated Insulin Resistance. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 28, n. 7, p. 1304–1310, 2008.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. **The Journal of nutrition**, v.

138, n. 9, p. 1746S–1751S, 2008.

LADDHA, N. C. et al. Tumor necrosis factor B (TNFB) genetic variants and its increased expression are associated with vitiligo susceptibility. **PloS one**, v. 8, n. 11, p. e81736, 2013.

LASTRA, G.; MANRIQUE, C.; HAYDEN, M. **The Role of  $\beta$ -Cell Dysfunction in the Cardiometabolic Syndrome.pdf**, 2006.

LEWIS, G. F.; RADER, D. J. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. **Circulation Research**, v. 96, n. 12, p. 1221–1232, 2005.

LIAO, W.; LIN, J.-X.; LEONARD, W. J. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. **Current opinion in immunology**, v. 23, n. 5, p. 598–604, 2011.

LOWELL, B. B. Mitochondrial Dysfunction and Type 2 Diabetes. **Science**, v. 307, n. 5708, p. 384–387, 2005.

LUCAS, R. et al. Cytokine profiling of young overweight and obese female African American adults with prediabetes. **Cytokine**, v. 64, n. 1, p. 310–5, 2013.

ŁUCZYŃSKIA, M. et al. Elevated levels of Th17 cells in children with central obesity. **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, p. 595–601, 2015.

LUMENG, C. N.; MAILLARD, I.; SALTIEL, A. R. T-ing up inflammation in fat. **Nature medicine**, v. 15, n. 8, p. 846–847, 2009.

MAGUIRE, L. S. et al. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 55, n. 3, p. 171–178, 2004.

MAHMOOD, N. A. Glutathion-S- transferase Enzyme and Malondialdehyde (MDA) in Colorectal Cancer and in Healthy Control Abstract: n. 1, p. 3–8, 2010.

MOORE, K. W. et al. INTERLEUKIN -10 AND THE INTERLEUKIN -10 RECEPTOR. **Annual Review of Immunology**, v. 19, n. 1, p. 683–765, abr. 2001.

MOREIRA ALVES, R. D. et al. High-oleic peanuts: new perspective to attenuate glucose homeostasis disruption and inflammation related obesity. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 22, n. 9, p. 1981–1988, 2014.

MOULIN, C. M. et al. Impact of adiposity on immunological parameters. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 2, p. 183–189, 2009.

MRAZ, M.; HALUZIK, M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. **Journal of Endocrinology**, v. 222, n. 3, p. R113–R127, 2014.

NASEEM, K. M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 33–65, 2005.

- NELMS, K. et al. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. **Annual review of immunology**, v. 17, p. 701–38, jan. 1999.
- NISHIMURA, S. et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. **Nature Medicine**, v. 15, n. 8, p. 914–920, 2009.
- NUNN, A. V.; BELL, J. D.; GUY, G. W. Lifestyle-induced metabolic inflexibility and accelerated ageing syndrome: insulin resistance, friend or foe? **Nutrition & Metabolism**, v. 6, n. 1, p. 16, 2009.
- O'ROURKE, W. et al. Systemic inflammation and insulin sensitivity in obese IFN- $\gamma$ .pdf. **Metabolism Clinical And Experimental**, 2012.
- OLUSI, S. O. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 26, n. 9, p. 1159–1164, 2002.
- OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 2, p. 85–97, fev. 2011.
- PACIFICO, L. et al. Increased T-helper interferon- $\gamma$ -secreting cells in obese children. **European Journal of Endocrinology**, v. 154, n. 5, p. 691–697, 1 maio 2006.
- PAMIR, N. et al. Deficiency of lymphotoxin- $\alpha$  does not exacerbate high-fat diet-induced obesity but does enhance inflammation in mice. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 302, n. 8, p. E961–71, 2012.
- PETRANGELI, E. et al. Hypoxia Promotes the Inflammatory Response and Stemness Features in Visceral Fat Stem Cells from Obese Subjects. **Journal of Cellular Physiology**, n. July, p. n/a–n/a, 2015.
- POIRIER, PAUL, ECKEL, R. **Obesity and cardiovascular disease** *Curr Atheroscler Rep*, 2002.
- RAMEZANIPOUR, M. et al. The effect of weight reduction on antioxidant enzymes and their association with dietary intake of vitamins A, C and E. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 58, n. 7, p. 744–749, 2014.
- RAUSCH, M. E. et al. Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration. **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 3, p. 451–463, 2008.
- ROBERTS, C. K.; SINDHU, K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **Life Sciences**, v. 84, n. 21-22, p. 705–712, 2009.
- ROCHA, V. Z. et al. Interferon- $\gamma$ , a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: A role for adaptive immunity in obesity. **Circulation Research**, v. 103, n. 5, p. 467–476, 2008.

ROE, A L. et al. Characterization of cytochrome P450 and glutathione S-transferase activity and expression in male and female ob/ob mice. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 23, n. 1, p. 48–53, 1999.

RUSHMORE, T. H.; PICKETT, C. B. Glutathione S-transferases, structure, regulation, and therapeutic implications. **J Biol Chem**, v. 268, n. 16, p. 11475–11478, 1993.

SANTILLI, F. et al. Oxidative stress drivers and modulators in obesity and cardiovascular disease: from biomarkers to therapeutic approach. **Current medicinal chemistry**, v. 22, n. 5, p. 582–95, 2015.

SAVINI, I. et al. Obesity-Associated Oxidative Stress: Strategies Finalized to Improve Redox State. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10497–10538, 2013.

SELL, H.; ECKEL, J. Adipose tissue inflammation: novel insight into the role of macrophages and lymphocytes. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 13, n. 4, p. 366–370, 2010.

SEMENZA, G. L. Targeting HIF-1 for cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 10, p. 721–732, 2003.

SHARMA, R.; FU, S. M.; JU, S.-T. IL-2: A two-faced master regulator of autoimmunity. **Journal of Autoimmunity**, v. 36, n. 2, p. 91–97, mar. 2011.

SHELTON, R. C. et al. The pro-inflammatory profile of depressed patients is (partly) related to obesity. **Journal of Psychiatric Research**, v. 70, p. 91–97, 2015.

SHOELSON, S. E.; LEE, J.; GOLDFINE, A. B. Review series Inflammation and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 7, p. 1793–1801, 2006.

SHU, C. J.; BENOIST, C.; MATHIS, D. The immune system's involvement in obesity-driven type 2 diabetes. **Seminars in Immunology**, v. 24, n. 6, p. 436–442, dez. 2012.  
SINGH, I. M.; SHISHEBOR, M. H.; ANSELL, B. J. High-Density Lipoprotein as a Therapeutic Target. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 298, n. 7, p. 786–798, 2007.

SINGH, U.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Vitamin E, Oxidative Stress, and Inflammation. **Annual Review of Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 151–174, 2005.

SIQUEIRA-CATANIA, A. et al. Cardiometabolic risk reduction through lifestyle intervention programs in the Brazilian public health system. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 5, p. 21, 2013.

SPERGEL, J. M. et al. Roles of TH1 and TH2 cytokines in a murine model of allergic dermatitis. **The Journal of clinical investigation**, v. 103, n. 8, p. 1103–11, 1999.

STRACZKOWSKI, M. et al. Plasma interleukin-10 concentration is positively related

to insulin sensitivity in young healthy individuals. **Diabetes care**, v. 28, n. 8, p. 2036–7, 2005.

SUMARAC-DUMANOVIC, M. et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. **International journal of obesity (2005)**, v. 33, n. 1, p. 151–156, 2009.

TALCOTT, S. T. et al. Polyphenolic and antioxidant changes during storage of normal, mid, and high oleic acid peanuts. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 77–84, 2005.

TSAO, C.-H. et al. Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis. **Journal of lipid research**, v. 55, n. 3, p. 385–97, 2014.

TURNER, J. J. O. et al. Investigation of nuclear factor- $\kappa$ B inhibitors and interleukin-10 as regulators of inflammatory signalling in human adipocytes. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 162, n. 3, p. 487–493, 2010.

UYVAL, K. T. et al. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF function. **Nature**, v. 389, n. OCTOBER, p. 610–614, 1997.

VALDECANTOS, M. P.; PÉREZ-MATUTE, P.; MARTÍNEZ, J. A. Obesidad y estrés oxidante: Papel de la suplementación con antioxidantes de la dieta. **Revista de Investigacion Clinica**, v. 61, n. 2, p. 127–139, 2009.

VARGAS, R. et al. Increased C-reactive protein and decreased Interleukin-2 content in serum from obese individuals with or without insulin resistance: Associations with leukocyte count and insulin and adiponectin content. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, 2015.

VASSILIOU, E. K. et al. Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin production of the inflammatory cytokine TNF-alpha both in vitro and in vivo systems. **Lipids in health and disease**, v. 8, p. 25, 2009.

VÁZQUEZ-VELA, M. E. F.; TORRES, N.; TOVAR, A. R. White Adipose Tissue as Endocrine Organ and Its Role in Obesity. **Archives of Medical Research**, v. 39, n. 8, p. 715–728, 2008.

VINCENT, H. K.; TAYLOR, A. G. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **International Journal of Obesity**, v. 30, n. 3, p. 400–418, 22 mar. 2006.

VIROONUDOMPHOL, D. et al. Erythrocyte antioxidant enzymes and blood pressure in relation to overweight and obese Thai in Bangkok. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 31, n. 2, p. 325–34, 2000.

WELLEN, K. E.; HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation, stress, and diabetes. v. 115, n. 5, p. 1111–1119, 2005.

WINER, S. et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. **Nature Medicine**, v. 15, n. 8, p. 921–929, 2009a.

WINER, S. et al. Obesity predisposes to Th17 bias. **European Journal of Immunology**, v. 39, n. 9, p. 2629–2635, 2009b.

WU, H.; HYMOWITZ, S. G. Structure and Function of Tumor Necrosis Factor (TNF) at the Cell Surface. In: **Handbook of Cell Signaling 2nd edition**, [s.l: s.n.], p. 265–275.

XIE, L. et al. Overexpression of IL-10 in C2D macrophages promotes a macrophage phenotypic switch in adipose tissue environments. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e86541, 2014.

ZALESIN, K. C. et al. Impact of Obesity on Cardiovascular Disease. **Medical Clinics of North America**, v. 95, n. 5, p. 919–937, 2011.

ZHOU, W.; ZHANG, F.; AUNE, T. M. Either IL-2 or IL-12 is sufficient to direct Th1 differentiation by nonobese diabetic T cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 170, n. 2, p. 735–40, 2003.

ZHU, J.; PAUL, W. E. CD4 T cells: fates, functions, and faults. **Blood**, v. 112, n. 5, p. 1557–69, 1 set. 2008.

ZICCARDI, P. Reduction of Inflammatory Cytokine Concentrations and Improvement of Endothelial Functions in Obese Women After Weight Loss Over One Year. **Circulation**, v. 105, n. 7, p. 804–809, 2002.

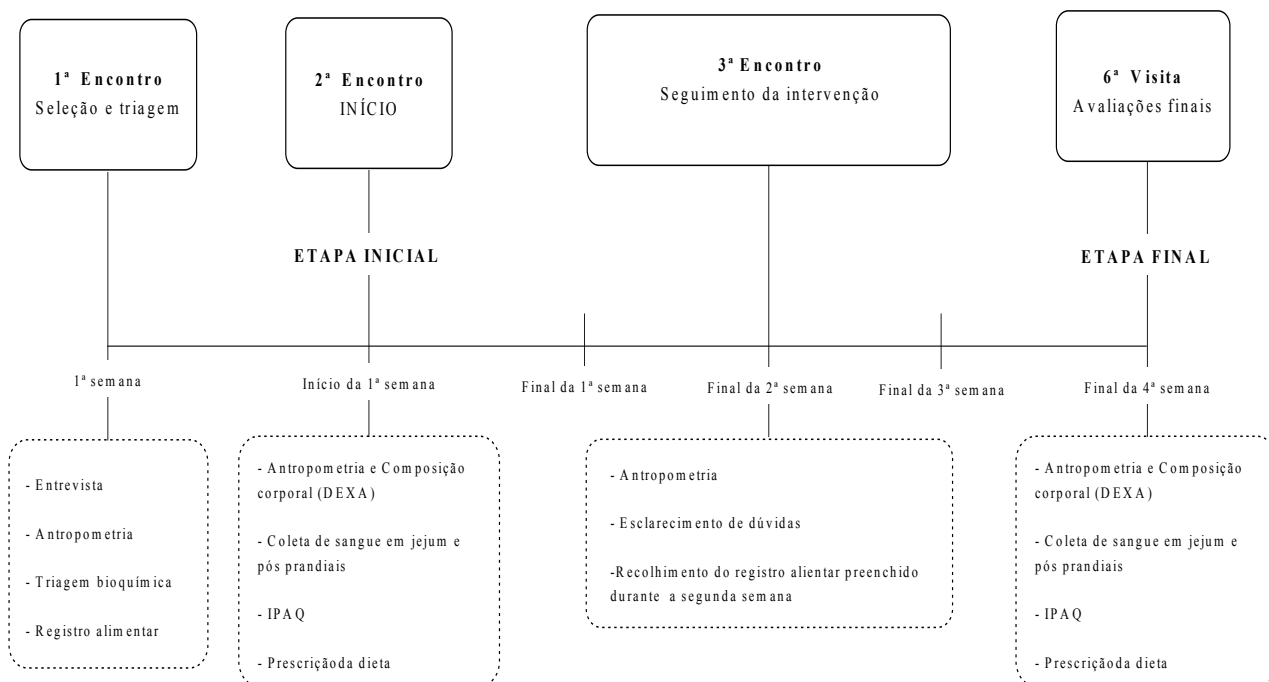
ZUNIGA, L. A. et al. IL-17 Regulates Adipogenesis, Glucose Homeostasis, and Obesity. **The Journal of Immunology**, v. 185, n. 11, p. 6947–6959, 1 dez. 2010.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente estudo utilizou amostras biológicas de 64 indivíduos que participaram do projeto intitulado “*Efeito do consumo de amendoim na composição corporal, metabolismo energético, apetite, marcadores inflamatórios e do estresse oxidativo e na microbiota e na permeabilidade intestinal em obesos*”, aprovado pelo Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos da UFV (Of. Ref. N° 185/2011) (ANEXO 1). A seguir está descrito a forma de recrutamento dos voluntários, delineamento experimental, intervenção nutricional, e avaliações e mensurações realizadas no projeto que originou o BIOBANCO.

### **4.1 Delineamento experimental**

Tratou-se de um estudo clínico cego-simples, prospectivo, controlado com 72 voluntários distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais paralelos (24 por grupo): amendoim convencional, amendoim rico em ácido graxo oleico e controle (sem amendoim). Os voluntários dos grupos com consumo de amendoim ingeriram diariamente 56 g de amendoim torrado, com pele, por quatro semanas consecutivas, enquanto os voluntários do grupo controle não consumiram amendoim. A todos os voluntários foi prescrita uma dieta hipocalórica, equilibrada em macronutrientes e isenta de qualquer outra oleaginosa. Dados de antropometria, composição corporal, ingestão alimentar, além de amostras de sangue, foram coletados ao início e ao final da intervenção. Adicionalmente, peso corporal foi avaliado ao final da segunda semana e a gestão alimentar foi avaliada em outros dois momentos, nas semanas 2 e 4 (Figura 1).



**FIGURA 1:** Delineamento experimental do estudo. TFEQ: *Three factor eating questionnaire*; DEXA: *Dual-energy X-ray absorptiometry*; IPAQ: *International physical activity questionnaire*. Adaptado de Alves et al., 2014b.

#### 4.2.1 Voluntários

Os voluntários para o estudo foram recrutados na comunidade local por meio de anúncios, panfletos e cartazes. Durante a seleção inicial os voluntários foram submetidos a uma triagem que consistiu na realização de uma avaliação nutricional, preenchimento de um questionário de seleção (ANEXO 2) e determinação da glicemia, colesterolemia e trigliceridemia capilar. Foram considerados os seguintes critérios para a inclusão no estudo:

- Homens com idade entre 18 e 50 anos;
- Índice de massa corporal (IMC) entre 26 e 34.9 kg/m<sup>2</sup>;
- Perímetro da cintura  $\geq$  90 cm;
- Ausência de doenças crônicas e agudas bem como de desordens e alergias alimentares;
- Glicemia capilar < 126 mg/dL;
- Colesterol capilar < 240 mg/dL;
- Triglicérideo capilar < 150 mg/dL;

- Não fazer uso regular de medicamentos antiinflamatórios, corticóides, antibióticos ou que afetem o apetite e/ou o metabolismo energético, lipídico e da glicose;
- Não apresentar episódios infecciosos ou alérgicos no último mês;
- Não estar em dietas para perda de peso;
- Apresentar peso estável nos últimos 3 meses (flutuação de até 5 kg);
- Não apresentar aversão ou alergia ao amendoim;
- Não apresentar ingestão de álcool superior a 21 unidades ( $\approx 168\text{g}$ ) por semana;
- Não ser fumante.

Aqueles que atenderam aos critérios de inclusão foram novamente informados a respeito dos objetivos, benefícios e incômodos do estudo e foram admitidos após assinarem o termo de consentimento livre esclarecido - TCLE (ANEXO 3). O voluntário foi informado de que poderia abandonar o estudo em qualquer momento, caso desejasse ou se apresentasse qualquer efeito adverso ao consumo de amendoim.

#### **4.2.2 Intervenção Nutricional**

A todos os voluntários foi prescrita uma dieta a ser seguida durante as quatro semanas do estudo. Esta dieta foi individualizada de acordo com a necessidade energética diária de cada indivíduo calculada a partir do produto entre o fator de atividade física (FAF) e o gasto energético de repouso (GER) mensurado por calorimetria indireta de acordo com o protocolo descrito por Alves et al. (2014) (ALVES et al., 2014a). Foram utilizados os fatores de atividade física recomendados pela Organização Mundial de Saúde (FAO, 2001). Os valores de FAF aplicados variaram de 1,4 a 1,7 dependendo da classificação do nível de atividade física de cada indivíduo. Para determinar o nível de atividade física de cada voluntário, foi solicitado o preenchimento do questionário internacional de atividade física – IPAQ (*International Physical activity Questionnaire*) (ver sessão 4.4.6) (ANEXO 4).

As dietas apresentaram uma restrição calórica diária de 250 kcal, suficiente para promover a perda de peso de 1 kg/mês. A distribuição de macronutrientes em relação ao valor calórico total do dia foi igual para todos os grupos experimentais e permaneceu dentro da faixa aceitável segundo - *Acceptable Macronutrient Distribution Range* – AMDR (BOARD, 1998). Os carboidratos, proteínas e lipídios contribuíram com 55%, 15% e 30% das calorias, respectivamente.

A dieta prescrita aos voluntários foi composta por um plano alimentar acompanhado por uma lista de alimentos distribuídos nas refeições com suas respectivas quantidades em medidas caseiras e em peso/volume, além de equivalentes em porções de grupos alimentares. Considerando que se tratou de um estudo em condições de vida livre, a cada voluntário foi entregue uma lista de substituição de alimentos, dividida em grupos alimentares e com tamanhos de porções em medidas caseiras. Esta lista de substituições foi elaborada com base nas recomendações do guia alimentar brasileiro proposto pelo Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). As dietas foram elaboradas com o auxílio do *software* DietPro versão 5.5i e as prescrições alimentares e as orientações quanto à substituição de alimentos foram realizadas por uma mesma nutricionista.

Além da dieta, os voluntários dos grupos amendoim convencional e amendoim rico em ácido graxo oleico receberam semanalmente sete pacotes, cada um contendo 56 g de amendoim torrado com pele. Estes voluntários ingeriram diariamente um pacote de amendoim em horário livre, sendo solicitados que anotassem em um formulário o horário em que o amendoim era consumido em cada dia. Os voluntários também eram orientados a não fracionar o consumo de amendoim ao longo do dia. As calorias fornecidas pela porção de amendoim consumida diariamente estavam incluídas no valor calórico total da dieta calculada. Os voluntários do grupo controle não recebiam amendoim, porém, seguiam sua alimentação habitual e as orientações de restrição calórica durante o estudo. Foi solicitado aos voluntários de todos os grupos que evitassem o consumo de qualquer outra oleaginosa durante o período de estudo. O seguimento da dieta experimental foi avaliado por registros alimentares preenchidos nas semanas 2 e 4.

A adesão ao protocolo foi avaliada pela checagem do IPAQ, e pela análise dos registros alimentares.

### ***4.2.3 Alimentos e refeição teste***

#### ***4.2.3.1 Amendoim***

Os alimentos testados foram dois tipos de amendoim torrado com pele: Convencional (cultivar IAC-886) e amendoim rico em ácido graxo oleico (cultivar IAC-505). Em etapa prévia ao início do estudo, o amendoim convencional IAC-886 foi doado pelo Instituto Agrônomo de Campinas e o amendoim rico em ácido graxo oleico IAC-505 foi doado pela empresa CAP Agroindustrial (São Paulo, Brasil). Todo o amendoim

recebido foi selecionado manualmente para eliminação de grãos defeituosos e/ou danificados. Posteriormente, o amendoim foi preparado de acordo com o protocolo estabelecido por Alves et al. (2014a) (ALVES et al., 2014a).

Amostras dos lotes de amendoim foram analisadas quanto ao teor de aflatoxina. A determinação de aflatoxinas nos amendoins torrados foi realizada pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED, Belo Horizonte, MG). Para tal, foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, seguindo os protocolos de Stroka et al. 200 (STROKA, ANKLAM *et al.*, 2000) e Trucksess et al. 1991 (TRUCKSESS, STACK *et al.*, 1991) Foram utilizadas colunas de imunoafinidade (*Aflatest*®, Vicam) para purificação das amostras e a quantificação da toxina foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de fluorescência e derivatização pós-coluna com célula eletroquímica *Kobra Cell*®. Não foram detectadas aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) nas amostras de amendoins.

#### 4.2.3.2 Refeição teste

No dia inicial e final do estudo os voluntários consumiram uma refeição teste para a análise de parâmetros pós-prandiais. A refeição teste fornecia 25% das calorias da dieta prescrita ao voluntário, considerando que ela substituiu o desjejum e a colação do dia. O volume e a distribuição de macronutrientes foram as mesmas para todos os grupos experimentais, sendo que os carboidratos, proteínas e lipídios forneceram, respectivamente, 35, 16 e 49% das calorias da refeição teste. Esta consistiu em um *Milk-shake* sabor morango associado a 56g de amendoim para os grupos experimentais com consumo de amendoim ou um biscoito para o grupo controle. A porção de biscoito fornecida ao grupo controle apresentou o mesmo peso, valor calórico e composição de macronutrientes e fibra dos 56 g de amendoim oferecidos aos outros grupos experimentais.

*Milk-shake*: Para o preparo do *Milk-Shake*, foram utilizados os seguintes ingredientes: água, gelo, leite em pó integral, *whey protein* (90% de pureza Bem Vital®), óleo de soja e pó instantâneo sabor morango para preparo de bebidas lácteas Nesquik®. A quantidade dos ingredientes a ser adicionada no *Milk-shake* dependia do valor calórico total da refeição, uma vez que este era proporcional à necessidade energética, e que a quantidade de amendoim/biscoito fornecida era fixa para todos os voluntários. A quantidade de lipídios do *Milk-shake* era suficiente para completar a quantidade de lipídios da refeição teste considerando que 49% das calorias da refeição, já incluindo o

amendoim/biscoito, eram provenientes dos lipídios. Para maior padronização, as fontes de lipídios do *Milk-shake* foram exclusivamente o leite em pó e o óleo de soja, havendo uma proporção de 1:1 no total de lipídios proveniente de cada fonte. Em seguida, a quantidade de *whey protein* (Bem Vital®) a ser adicionada ao *Milk-shake* foi suficiente para completar a quantidade de proteína da refeição teste, considerando que 16% das calorias da refeição, já incluindo o amendoim/biscoito, eram provenientes das proteínas. A quantidade de Nesquik® a ser adicionada ao *Milk-shake* foi suficiente para completar a quantidade de carboidrato da refeição teste considerando que 35% das calorias da refeição, já incluindo o amendoim/biscoito, eram provenientes de carboidratos. Para padronizar o volume de líquido servido, além do *Milk-shake*, era servida água a parte para completar um volume final de 500mL.

*Biscoito*: O biscoito servido ao grupo controle, em substituição ao amendoim, foi preparado no dia anterior ao consumo, uma porção por vez, utilizando sempre ingredientes da mesma marca, segundo Alves et al., 2014a (ALVES et al., 2014a). Brevemente, o biscoito tinha como ingredientes: 0,30 g de fermento químico em pó, 0,7g de sal refinado iodado, 1,2g de farelo de trigo, 1,5 g de semente de gergelim crua, 1,6 g do módulo de fibras (Bem Vital®), 11,6 g de farinha de trigo integral, 13,7 g do módulo de *whey protein* (Bem Vital®), 9,6 g de margarina tradicional com sal, 8,6 g de gordura vegetal hidrogenada, 30 g de ovo de galinha homogeneizado (clara e gema) e 7,17g de óleo de soja. Os ingredientes secos foram adicionados aos úmidos e a massa porcionada usando o medidor padrão com capacidade de 1/3 de colher de sopa. Em seguida, os biscoitos foram assados por 15 minutos à 180°C. Após assados, os biscoitos foram resfriados em temperatura ambiente, porcionados e devidamente armazenados até o momento do consumo.

#### **4.2.4 Avaliação da ingestão alimentar**

Durante a triagem, os voluntários receberam instruções verbais e escritas (ANEXO 5) para o preenchimento de um registro alimentar (ANEXO 6), que foi preenchido durante três dias não consecutivos, sendo um deles preenchido no final de semana anterior ao início do estudo. O consumo alimentar durante as semanas 2 e 4 do estudo também foi avaliado por meio de um registro alimentar de três dias não consecutivos. O voluntário também preencheu um registro alimentar no dia inicial e final. Foram avaliadas calorias totais ingeridas, assim como a distribuição calórica, obtendo-se

as porcentagens de cada macronutriente, quais sejam carboidratos, lipídios e proteínas e micronutrientes utilizando o programa de análises de dietas DietPro® (versão 5.5i). Todos os registros alimentares foram analisados por uma mesma pessoa com a finalidade de uma melhor padronização.

#### ***4.2.5. Avaliação antropométrica***

Os indivíduos foram pesados utilizando balança eletrônica microdigital, capacidade de 150 kg e precisão de 100 g (Tanita®), vestindo apenas roupa íntima. A altura foi determinada utilizando-se um antropômetro vertical milimetrado, com extensão de 2,2 m e escala de 0,5 cm. Em ambas as situações os indivíduos encontravam-se de pé, em posição firme, com os braços relaxados e cabeça no plano horizontal.

O perímetro da cintura foi aferido com o indivíduo em pé, usando uma fita métrica flexível e inelástica durante a expiração normal, sendo esta aferida no ponto médio entre a margem inferior das costelas e a borda da crista ilíaca (IDF, 2005). Medidas do perímetro da cintura  $\geq 90$  cm foram adotadas para a classificação da obesidade abdominal (IDF, 2005). O perímetro do quadril foi aferido na maior proeminência do mesmo também com o indivíduo de pé. O diâmetro abdominal sagital (DAS), que compreende a distância entre as costas e o abdômen, foi aferido com o auxílio de um compasso abdominal (Holtain, Ltd.; Dyfed, Wales, UK), de escala de 0-38 cm e precisão de 1 mm, com o indivíduo em posição supina no mesmo ponto anatômico em que o perímetro da cintura foi aferido (VASQUES et al., 2009). A composição corporal foi avaliada por meio da técnica de DEXA (Dual-energy X-ray Absortimetry) com tecnologia fan-beam (Lunar Prodigy Advance DXA System, versão 13,31, GE Lunar), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante.

#### ***4.2.6 Avaliação bioquímica***

Durante o recrutamento, glicemia, triglicerídeos e colesterol total dos voluntários foram avaliados por punção digital, utilizando o aparelho Accu-Check® InstantPlus®.

Ao início e ao final do estudo foram realizadas coletas de sangue em jejum, 1, 2 e 3 horas após a ingestão da refeição teste. Para a coleta de sangue, um técnico em enfermagem posicionou um cateter do tipo jelco na veia antecubital. Com a finalidade de manter o acesso, após cada coleta foi injetado 2 mL de solução estéril de cloreto de sódio

a 0.9%, de modo a lavar a via e evitar seu entupimento. No momento da coleta, foram aspirados e descartados 3 mL de soro fisiológico misturado ao sangue. Em jejum foram coletados 16 mL de sangue e em cada coleta pós-prandial, 8 mL de sangue foram coletados. Em cada coleta, metade do sangue foi imediatamente adicionado a tubos para sorologia e a outra metade a tubos contendo EDTA para obtenção de plasma, *buffy coat* e eritrócitos. Os tubos permaneceram em repouso por 20 minutos à 4°C e em seguida foram centrifugados à 2.200 x g por 15 minutos à 4 °C. Após a retirada do plasma e *buffy coat* dos tubos contendo EDTA, uma lavagem dos eritrócitos foi realizada adicionando-se solução de cloreto de sódio a 0.9% ao tubo seguido de uma centrifugação à 1500 x g por 10 minutos à 4 °C. O material coletado foi aliquotado em microtubos e armazenado em ultra-freezer (Thermo Scientific/Forma 900 Series®) a -80° C para posteriores análises.

Parte das determinações foram realizadas em auto-analisador (Mindray / BS-200® Chemistry Analyzer) seguindo a metodologia dos kits comerciais (Quibasa - Química Básica). Foram avaliadas, por teste colorimétrico enzimático, as concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, colesterol total, lipoproteína de alta densidade - colesterol (*High Density Lipoprotein-cholesterol* - HDL-c), lipoproteínas de baixa densidade – colesterol (*Low Density Lipoprotein-cholesterol* - LDL-c e ácido úrico, e por método Biureto, as proteínas totais séricas. A concentração da lipoproteína de muito baixa densidade – colesterol (*Very Low Density Lipoprotein-cholesterol* - VLDL-c) foram calculadas pela fórmula proposta por Friedwald *et al.* (1972) (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). Os índices aterogênicos, colesterol total:HDL-c e LDL-c:HDL-c foram calculados.

A determinação das concentrações séricas de insulina foi realizada utilizando imunoensaio de eletroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay - ECLIA em laboratório terceirizado. Para determinar o grau de resistência insulínica foi calculado o índice *Homeostasis Model Assessment* (HOMA-IR)(MATTHEWS *et al.*, 1985), conforme indicado a seguir:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{insulinemia de jejum (mU/L)} \times \text{glicemia de jejum (mmol/L)}}{22.5}$$

22.5

Por meio da técnica de imunoturbidimetria e em auto-analisador (Mindray / BS-200® Chemistry Analyzer), a concentração sérica de proteína C reativa ultra sensível (PCR-us) foi determinada utilizando kit comercial específico (Quibasa -Química Básica).

foi adotado como ponto de referência para PCR-us os valores de <1,0; 1,0-3,0 e > 3,0 mg/L para baixo, médio e alto risco para DCV, respectivamente. Foram excluídos das análises os dados de PCR-us superiores a 10 mg/dL, valor este indicativo de inflamação aguda (PEARSON et al., 2003).

### **4.3 Análises realizadas a partir do BIOBANCO.**

#### **4.3.1 Marcadores inflamatórios:**

A concentração das citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$  e TNF) plasmáticas foi mensurada por meio da técnica de citometria de fluxo com o Citometro BD FACSort, utilizando o kit Human citokine Th1/Th2/Th17 CBA Kit (BD Biosciences, EUA) de acordo com as recomendações do fabricante. O ensaio CBA permite um método de captura de analitos solúveis ou de um conjunto de analitos por meio de beads de conhecidos tamanhos e fluorescências, e em seguida, a fluorescência é mensurada utilizando citometria de fluxo. Os dados obtidos foram analisados utilizando software FCAP matriz™ e os valores expressos em pg/mL.

#### **4.3.2 Marcadores de estresse oxidativo**

Superóxido dismutase (SOD): Amostras de plasma foram utilizadas para determinar a atividade enzimática da Superóxido dismutase, em triplicata. O método baseia-se na capacidade desta enzima em catalisar a reação do superóxido ( $O_2^-$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) diminuindo assim a razão de auto-oxidação do pirogalol (MARKLUND; MARKLUND, 1974). Para a determinação da atividade enzimática, foram adicionados em microplacas 30  $\mu$ L de plasma, seguido da adição de 99  $\mu$ L de tampão fosfato (50 mM), 6  $\mu$ L de MTT (Brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) e 15  $\mu$ L de pirogalol. Em seguida, a placa foi incubada por 5 minutos em estufa a 37°C. Após o período de incubação, a reação foi paralisada pela adição de 150  $\mu$ L de DMSO (Dimetilsulfóxido ou Sulfóxido de dimetilo). A leitura da placa foi realizada em leitor de Elisa (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer) a 570nm e os valores expressos em U de SOD/L de plasma.

Glutathione S-transferase (GST): A atividade da enzima glutathione S-transferase foi mensurada em triplicata a partir da formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno

e estimada pela variação da absorbância a 340 nm por 60s. Brevemente, foram adicionados em uma cubeta 970 µl de tampão fosfato (0,1 M; pH 7,0), 10 µl de CNDB (0,1 M diluído em etanol 80%), 10 µL de solução fresca de GSH (0,1 M diluído em tampão fosfato a 0,1M, pH 7,0) e 10 µL de plasma, em seguida, foram realizadas leituras nos tempos, 0, 30, 60 e 90 segundos. A formação do conjugado ocorre espontaneamente no substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) em reação não enzimática, sendo acelerada pela atividade das enzimas GST. Uma unidade (U) de GST equivale à quantidade de enzima que forma 1mol do conjugado glutationa-2,4- dinitrobenzeno por minuto. O coeficiente de extinção molar do CDNB 340 = 9.6 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> foi utilizado para os cálculos (HABIG; PABST; JAKOBY, 1974). A atividade da GST foi expressa em µmol min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>.

Malondialdeído (MDA): A dosagem do MDA plasmático foi realizada em duplicata. O método baseia-se na dosagem das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Foi utilizado o método descrito por Buege e Aust, (1975) com modificações (BUEGE; AUST, 1975). A solução TBARS foi preparada a partir da mistura em igual proporção de ácido tricloroacético 15%, ácido tiobarbitúrico 0.375%, e HCL 0.25 N. Em seguida, 200 µL de solução TBARS foi adicionada a 100 µL de plasma, agitado em vortex por aproximadamente 10 segundos e levado ao banho maria por 40 minutos a uma temperatura entre 80° e 90°C. Após retirada do banho maria, as amostras foram resfriadas em bando de gelo por 5 minutos. Depois de resfriadas, foram adicionados 300 µL de N-butanol e a mistura agitada em vortex por ± 1 minuto. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C por 8 min a 2500 rpm e 200 µL do sobrenadante foi utilizado para determinar a quantidade de MDA na amostra. As leituras foram realizadas em aparelho de ELISA (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer) a 535 nm. A concentração de MDA na mostra foi determinada a partir da curva padrão utilizando o TMPO (1,1,3,3-Tetrametoxipropano) como padrão, os pontos da curva variaram de 0-8 µM/L. Os valores finais foram expressos em µmol/L.

Óxido Nítrico: O método baseia-se na detecção do nitrito usado como indicador da síntese de Óxido Nítrico (ON) pelo Reativo de Griess, composto por 1 % de sulfanilamida e 0.1 % naftil-etileno-diamina em 2,5 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (GRISHAM; JOHNSON; LANCASTER, 1996). Desta forma, foram adicionados 50 µL de plasma em microplacas com igual volume do reativo de Griess e incubado a temperatura ambiente por 15 min, em seguida

foi realizada a leitura a 540nm em aparelho de ELISA (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer). As análises de ON foram realizadas em duplicata. A concentração do óxido nítrico das amostras foi determinada utilizando curva padrão com concentrações conhecidas de nitrito de sódio que variaram de 0-125µM. Os valores finais foram expressos em µmol/L.

#### 4.4 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa SPSS (versão 22.0). Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão, porém, o APÊNDICE 1 traz os dados apresentados em média ± desvio padrão quando com distribuição normal e mediana e intervalo interquartil quando não paramétricos. A normalidade das variáveis foi calculada utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. As variáveis e seus percentuais de mudança {% de mudança= [(Final – inicial)/inicial]\*100}, foram comparados entre os grupos por meio dos testes ANOVA ou Kruskal-Wallis, seguidos respectivamente pelos testes *post hoc* de Tukey's ou Dunn's. Dentro de cada grupo, as diferenças após a intervenção ( $\Delta$ = Final – inicial) foram calculadas pelos testes de Wilcoxon ou Teste t pareado. O critério adotado para a significância estatística foi  $p < 0,05$ .

#### Referências bibliográficas

ALVES, R. D. M. et al. Regular intake of high-oleic peanuts improves fat oxidation and body composition in overweight/obese men pursuing a energy-restricted diet. **Obesity**, v. 22, n. 6, p. 1422–1429, 2014a.

ALVES, R. D. M. et al. High-oleic peanuts: New perspective to attenuate glucose homeostasis disruption and inflammation related obesity. **Obesity**, v. 22, n. 9, p. 1981–1988, set. 2014b.

BOARD, I. OF M. F. AND N. **Dietary Reference Intakes**. [s.l: s.n.].

BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia alimentar para a população brasileira. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Série A. Normas e Manuais Técnicos. 2006.

BUEGE, J. A.; AUST, S. Microsomal Lipid Peroxidation. **Enzymol**, v. 52, p. 302 – 310, 1975.

FEDERATION, I. D. **IDF Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome | International Diabetes Federation**. Acesso em: 26 out. 2015.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Human energy requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation.** Roma: [s.n.]. v. 0

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, B.; JOHNSON, G.; LANCASTER, J. Quantitation of Nitrate and Nitrite in Extracellular Fluids. **Methods**, v. 268, n. 1986, p. 237–246, 1996.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-Transferases: The First Enzymatic Step In Mercapturic Acid Formation. **J. Biol. Chem.**, n. 22, p. 7130–7139, 1974.

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 / FEBS**, v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974.

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

PEARSON, T. A. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 499–511, Jan 28 2003.

STUNKARD, A. J.; MESSICK, S. The three-factor eating questionnaire to measure dietary restraint, disinhibition and hunger. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 29, n. 1, p. 71–83, 1985.

STROKA, J. et al. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste and paprika powder: collaborative study. **AOAC**, v. 83, n. 2, p. 320–340, 2000.

TRUCKSESS, M. W. et al. Immunoaffinity column coupled with solution fluorometry or liquid chromatography postcolumn derivatization for determination of aflatoxins in corn, peanuts and peanut butter: collaborative study. **AOAC**, v. 74, n. 1, p. 81–88, 1991.

VASQUES, A. C. J. et al. Diferentes aferições do diâmetro abdominal sagital e do perímetro da cintura na predição do HOMA-IR. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 93, n. 5, p. 511–518, 2009.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ARTIGO 01: O consumo de amendoim alto oleico pode incrementar o impacto da perda de peso sobre marcadores inflamatórios em homens com excesso de peso

#### Resumo

**Introdução:** Recentemente, o consumo de alimentos fonte de ácidos graxos monoinsaturados foram associados à melhora dos marcadores inflamatórios em indivíduos com excesso de peso. **Objetivo:** avaliar o efeito do consumo diário de amendoim alto oleico, comparado ao amendoim convencional, ambos associados a uma dieta hipocalórica, sobre citocinas produzidas por células  $T_H1$ ,  $T_H2$  e  $T_H17$  em homens com excesso de peso. **Métodos:** Trata-se de um estudo clínico, simples-cego, randomizado e controlado, com 4 semanas de duração, no qual homens com excesso de peso (IMC de 26-35 Kg/m<sup>2</sup>) foram distribuídos em três grupos: amendoim alto oleico (AO,  $n=21$ ), amendoim convencional (AC,  $n=21$ ) e controle (CT,  $n=22$ ), e seguiam uma dieta hipocalórica com ou sem 56g de amendoim de alto oleico ou convencional. Foi avaliado o impacto do consumo de amendoim sobre citocinas  $T_H1$ ,  $T_H2$  e  $T_H17$ , composição corporal e marcadores metabólicos. **Resultados:** o grupo AO apresentou redução nas concentrações de TNF ( $p<0,05$ ) e IL-4 ( $p<0,05$ ), enquanto no grupo CT houve aumento na concentração de IL-17 ( $p<0,05$ ) e redução de 59,1% na concentração de IL-10 ( $p>0,05$ ). Os marcadores metabólicos não apresentaram diferenças entre os grupos após o período de intervenção. As concentrações de Insulina, PCRus e o índice  $HORA_{IR}$  reduziram apenas nos grupos que consumiram amendoim ( $p>0,05$ ). A concentração de HDL-c reduziu em todos os grupos ( $p<0,05$ ), e a de triacilgliceróis apenas nos grupos que consumiram amendoim ( $p<0,05$ ), em contrapartida, o colesterol total reduziu apenas no CT ( $p<0,05$ ). VLDL e LDL-c não apresentaram alterações após a intervenção. Peso, índice de massa corporal e perímetro da cintura reduziram em todos os grupos ( $p<0,05$ ). A redução da gordura total foi significativa no grupo AO e a perda de massa magra troncular foi maior no grupo CT. **Conclusão:** o consumo de amendoim alto oleico parece potencializar os efeitos da perda de peso sobre o estado inflamatório, enquanto o amendoim convencional apresentou-se neutro. Além disso, o consumo de amendoim alto oleico também sugere melhora na sensibilidade à insulina e composição corporal.

**Palavras-chave:** Amendoim alto oleico, células T<sub>H1</sub>, células T<sub>H2</sub> e células T<sub>H17</sub>, inflamação, obesidade.

## ABSTRACT

**Introduction:** Proinflammatory status caused by excess body fat is linked to the progression of metabolic dysfunction in obesity. Recently, the consumption of food sources of monounsaturated fatty acids has been associated with inflammatory markers improvement in overweight individuals. **Objective:** To evaluate the effect of high oleic peanut daily intake, compared to conventional peanut on inflammatory cytokines produced by cells T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub> and T<sub>H17</sub> in overweight and obese men. **Methods:** In a 4-week randomized clinical trial, overweight and obese men were assigned to the groups: control (CT, n=22), conventional peanuts (CP, n=21) or high-oleic peanuts (HO, n=21). They followed a hypocaloric diet with or without 56 g/day of conventional or high-oleic peanuts. It was evaluated the impact of peanut intake on cytokines produced by cells T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub> and T<sub>H17</sub>, body composition and metabolic markers. **Results:** HO group showed reduction on TNF levels (p<0.05) and IL-4 levels (p<0.05), while in the CT group there was increase in the IL-17 level (p<0.05) and reduction of 59.1% in IL-10 level (p> 0.05). Metabolic markers did not differ between groups after intervention. Only the peanut intake groups had modest reduction on insulin, hs-PCR and HOMA<sub>IR</sub> (p>0.05). HDL-c levels reduced in all groups (p<0.05) and triacylglycerol levels were reduced in CP and HO groups (p<0.05), however total cholesterol reduces only in the CT group (P <0.05). VLDL and LDL-c did not differ after the intervention. Weight, body mass index and waist circumference decreased in all groups (p> 0.05). Total fat was significantly reduced in HO group and truncal lean mass was higher in CT group. **Conclusion:** High oleic peanut intake seems to increment the effects of weight loss on the inflammatory status, while the conventional peanut presented itself neutral. Moreover, the high oleic peanut intake also suggests an insulin sensitivity and body composition improvements.

**Keywords:** High-oleic peanut, inflammation, obesity, T<sub>H1</sub> cells, T<sub>H2</sub> cells, T<sub>H17</sub> cells.

## Introdução

Indivíduos obesos apresentam alterações metabólicas e inflamatórias associadas principalmente ao excesso de adiposidade (NIEMAN et al., 1999; HERMSDORFF et al.,

2010, 2011; PETERSEN et al., 2014) e tendem a apresentar alteração no perfil de células T, favorecendo um estado pró-inflamatório (WALLACE et al., 2001; DENG et al., 2013). Dessa forma, tem disso verificado que tanto a perda de peso quanto o consumo de alimentos fonte de nutrientes com potencial anti-inflamatório podem trazer benefícios a indivíduos com excesso de peso (CLÉMENT et al., 2004; NICKLAS et al., 2004; RAMEL et al., 2010; CONNAUGHTON et al., 2016). Diversos estudos clínicos e epidemiológicos têm evidenciado que o consumo de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) promove melhorias sobre diversos aspectos da saúde humana, incluindo sensibilidade à insulina, inflamação e perfil lipídico (MUKUDDER-PETERSEN; OOSTHUIZEN; JERLING, 2005; GRIEL; KRIS-ETHERTON, 2006; KRIS-ETHERTON et al., 2008; GILLINGHAM; HARRIS-JANZ; JONES, 2011; ENNS et al., 2014; LOPES; PELÚZIO; HERMSDORFF, 2014).

Nesse sentido, o amendoim alto oleico (AAO) contém cerca de 83,0% de AGMI dos quais aproximadamente 80,0% são representados pelo ácido graxo oleico (ALVES et al., 2014a; BARBOUR et al., 2015). Evidências científicas apontam que a inserção de moderadas quantidades desse cultivar de amendoim na dieta pode melhorar o perfil lipídico, inflamação, sensibilidade à insulina e composição corporal (O'BYRNE; KNAUFT; SHIREMAN, 1997; ALVES et al., 2014a; ALVES et al., 2014b; BARBOUR et al., 2015).

Apesar de as células T apresentarem substancial importância na adequada resposta imune tanto contra patógenos quanto em doenças humanas (WALLACE et al., 2001), pouco se sabe a respeito do impacto do consumo de amendoim sobre a concentração plasmática de citocinas produzidas por células  $T_H1$ ,  $T_H2$  e  $T_H17$ , especialmente em indivíduos com excesso de peso. Dessa forma faz-se necessário entender a influência do consumo de um alimento rico em AGMI sobre o comportamento de tais citocinas. A hipótese do presente estudo é que indivíduos com excesso de peso que consomem AAO associado a uma dieta hipocalórica, apresentam melhora do estado inflamatório por efeito direto dos AGMI. Além disso, pela relação direta entre excesso de adiposidade e inflamação, nós acreditamos que a redução de peso e melhora da composição corporal também possa interferir nos marcadores inflamatórios.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo de intervenção nutricional foi avaliar o efeito do consumo diário de AAO, comparado ao ACO e dieta isenta de amendoim, sobre citocinas inflamatórias secretadas por células  $T_H1$ ,  $T_H2$  e  $T_H17$  em homens com excesso de peso.

## **Metodologia**

### ***Sujeitos***

Os indivíduos foram recrutados por meio de anúncios, panfletos e cartazes. Ao todo, 150 possíveis voluntários foram recrutados e submetidos a uma triagem nutricional na qual foram aferidos peso e altura, e preenchidos questionários sobre história clínica, nutricional e prática de atividade física. Entre os critérios de elegibilidade estavam, idade entre 18 e 50 anos, índice de massa corporal (IMC) de 26-35 Kg/m<sup>2</sup>, peso estável ( $\pm 3$  kg) durante os três últimos meses, não fumantes, sem transtornos alimentares ou alergias, inclusive ao amendoim, consumo de etanol inferior a 168g por semana e não fazer uso de medicação que pudesse afetar os resultados do estudo ou interferir na perda de peso.

Indivíduos com presença de alguma doença inflamatória foram excluídos do estudo. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (protocolo:185/2011). Todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo, leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

### ***Desenho do estudo***

Trata-se de um estudo clínico randomizado, simples-cego, controlado com quatro semanas de duração. Os participantes foram aleatoriamente distribuídos em três grupos: controle (CT  $n= 22$ ), amendoim convencional (AC  $n= 21$ ) e amendoim alto-oleico (AO  $n=21$ ). No dia anterior ao início da intervenção, os voluntários receberam uma refeição padronizada. Após um jejum noturno de 12 horas, os voluntários compareceram ao Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC), onde foram submetidos à inserção de um cateter para coleta de sangue em jejum bem como à avaliação da composição corporal, em seguida, consumiram uma refeição teste de acordo com o grupo experimental, dentro do intervalo de 15 minutos. Por meio do cateter posicionado na veia antecubital realizou-se coletas de sangue 1, 2 e 3 horas pós-prandiais (Figura 1). Durante as quatro semanas de intervenção, os voluntários seguiram uma dieta hipocalórica e foram orientados a manter o nível de atividade física habitual. Ao final do estudo, todas as avaliações foram repetidas.

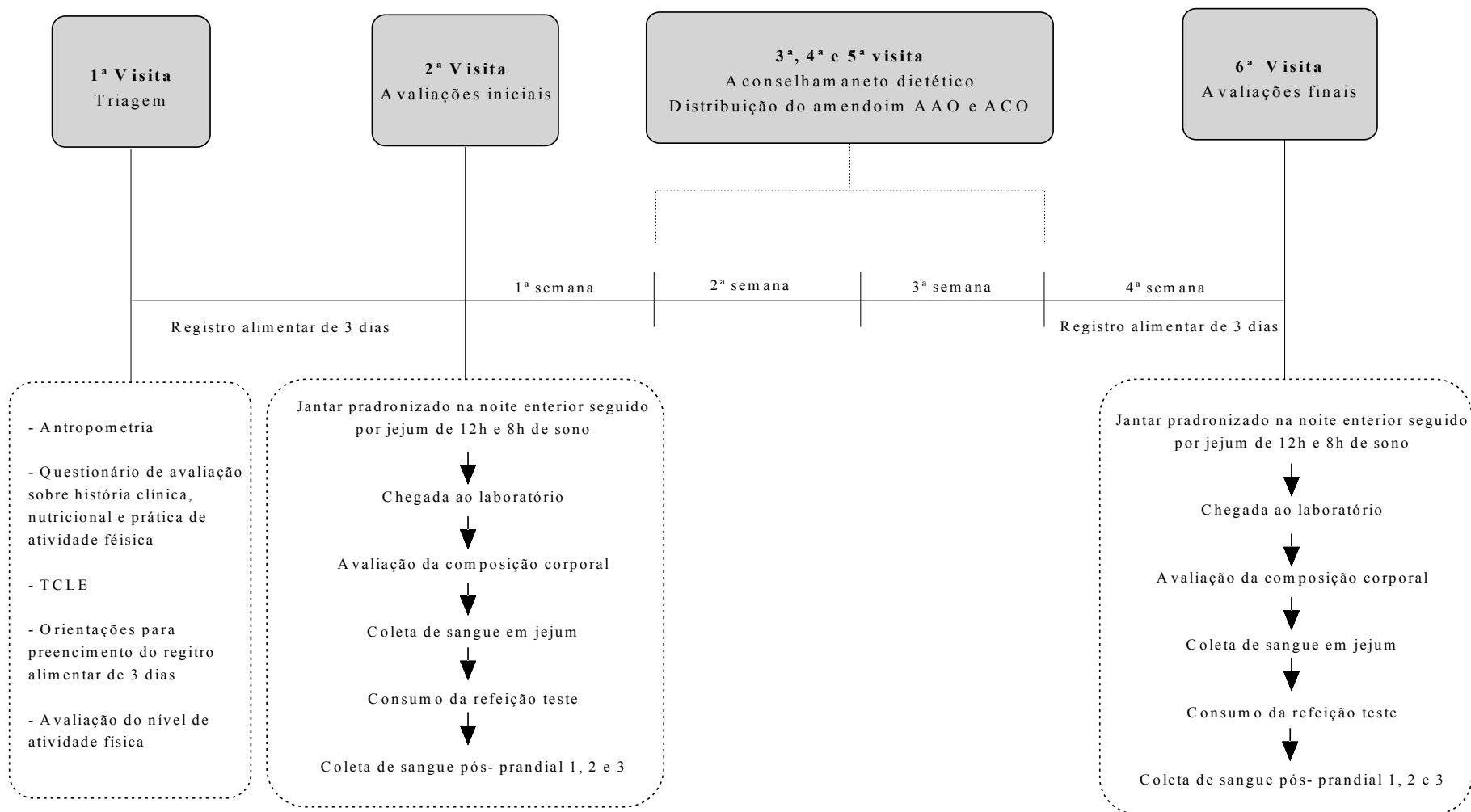
### ***Intervenção nutricional***

As necessidades energéticas de cada voluntário foram calculadas mediante calorimetria indireta como descrito anteriormente por Alves et al., (2014b). Em seguida, 250 kcal/dia foram subtraídas para a prescrição da dieta, essa redução calórica previa uma perda de peso de aproximadamente 1 kg/mês. Todas as dietas forneciam 15% de proteína, 30% de lipídio e 55% de carboidrato em relação ao valor calórico total.

Os grupos AO e AC consumiram uma porção diária de 56g de AAO e ACO, respectivamente, já inseridos no cálculo da prescrição da dieta, dessa forma, a restrição calórica total e distribuição de macronutrientes foi semelhante entre os três grupos experimentais. O grupo CT seguiu apenas a dieta hipocalórica e não consumiu nenhum alimento teste. Os voluntários do grupos AO e AC foram orientados a consumir a porção de amendoim fornecida de uma única vez em qualquer horário do dia. Além disso, por se tratar de um estudo de intervenção em condições de vida livre, todos os voluntários foram instruídos a utilizar uma lista de substituição de alimentos para auxiliar o seguimento da dieta.

Após as avaliações feitas em jejum, foi oferecido aos voluntários a refeição teste de acordo com o grupo experimental. Cada refeição teste forneceu 25% da necessidade energética diária e consistiu em um *milkshake* sabor morango e 56g de amendoim torrado e sem pele (AAO ou ACO) ou biscoito para o grupo CT. As refeições tinham o mesmo peso, densidade calórica, e forneciam 35% de carboidrato, 16% de proteína e 49% de gordura em relação ao valor calórico total. O modo de preparo do amendoim e da refeição teste, assim como a avaliação da ingestão alimentar foram descritas anteriormente por Alves et al., (2014b).

As porções de amendoim convencional e alto oleico continham, respectivamente, 13,6 e 12,8g de carboidrato, 16,8 e 16,3g de proteínas, 24,0 e 24,7g de gordura e 5,0 e 5,5g de fibra alimentar. O ácido graxo oleico representou 51,0% do total de gordura do ACO e 81,5% do AAO. A porção de 56g do biscoito apresentava 12,2g de carboidratos, 16,4g de proteína, 24,6g de gordura e 4,7g de fibra alimentar.



**Figura 5.** Desenho do estudo. AAO, amendoim alto oleico; ACO, amendoim convencional.

### ***Procedimentos metodológicos***

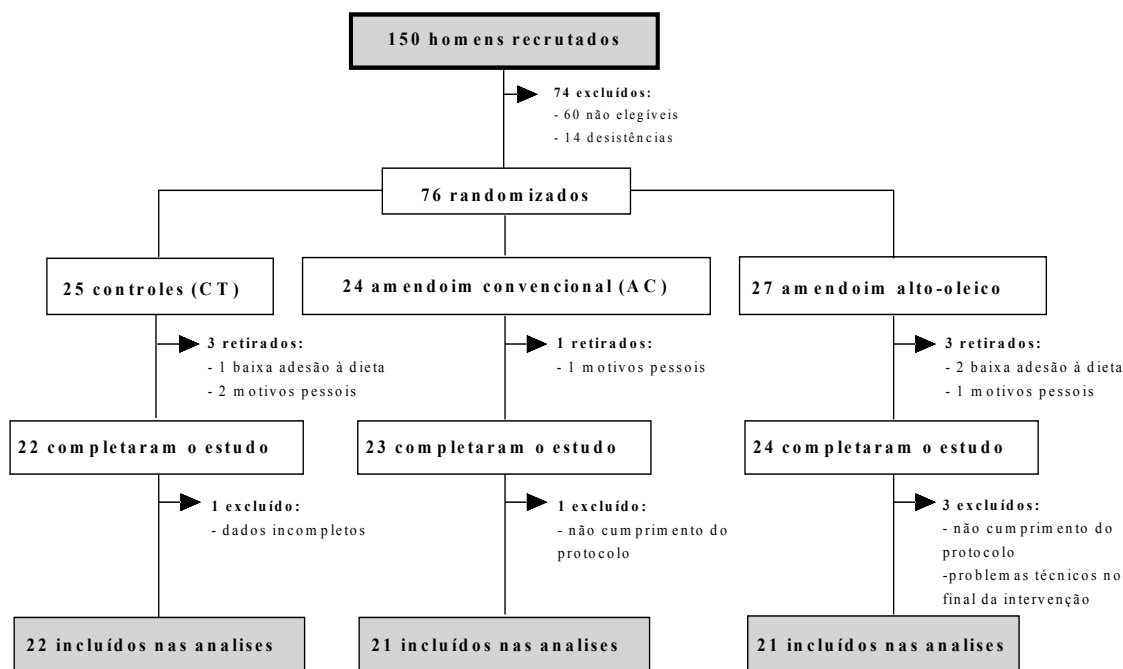
Todas as mensurações foram feitas ao início e ao final do período de intervenção de 4 semanas de acordo com protocolo apresentado por Alves et al., (2014b) (ALVES et al., 2014b). Nas 72h anteriores às avaliações do estudo, os participantes foram instruídos a não consumir álcool ou caféina, manter o nível de atividade física habitual e manter a regularidade do sono (8h/noite). Foram avaliados peso, altura e perímetro da cintura. A composição corporal foi avaliada por DEXA (*Dual-energy X-ray Absortiometry*) de acordo com protocolo apresentado por Alves et al., (2014b) (ALVES et al., 2014b).

As dosagens de colesterol total e frações, triacilgliceróis, glicose, insulina, e proteína C-reativa foram realizadas em jejum e pós-prandial por métodos de análise automatizados utilizando kits comerciais como descrito anteriormente (ALVES et al., 2014b). O HOMA-IR (*homeostasis model assessment of insulin resistance*) foi calculado de acordo com a equação proposta por Matthews et al. (1985) (MATTHEWS et al., 1985). A resistência à insulina foi classificada de acordo com Ascaso et al. (2001) (ASCASO et al., 2001).

As concentrações plasmáticas das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$  e TNF foram mensuradas por meio da técnica de citometria de fluxo com o Citometro BD FACSort, utilizado o kit Human citokine Th1/Th2/Th17 CBA Kit (BD Biosciences, EUA), que permite detecção simultânea das citocinas em cada amostra de plasma. Os dados obtidos foram analisados utilizando software FCAP matriz™ e os valores expressos em pg/mL.

### ***Análises estatísticas***

As análises estatísticas foram calculadas utilizando o programa SPSS (versão 22.0). A normalidade das variáveis foi calculada utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão. As áreas abaixo da curva das citocinas foram calculadas no programa Excel (Microsoft® Excel 2013), por meio do método trapezoidal. As variáveis foram comparadas entre os grupos por meio dos testes ANOVA ou Kruskal-Wallis, seguidos respectivamente pelos testes *post hoc* de Tukey's e Dunn's. Dentro de cada grupo, as diferenças após a intervenção ( $\Delta$ = Final – inicial) foram calculadas pelos testes de Wilcoxon ou Teste t pareado. O critério adotado para a significância estatística foi  $p < 0.05$ .



**Figura 6.** Fluxograma dos participantes inseridos no estudo. Adaptado de Alves et al., 2014c.

## Resultados

Setenta e seis indivíduos foram randomizados e 64 completaram o estudo (Figura 2). A média de idade foi de  $27 \pm 0,9$  anos e de IMC de  $29,76 \pm 0,3$  kg/m<sup>2</sup>. Ao todo, 61% ( $n=39$ ) eram sobrepeso e os demais obesos. As características antropométricas, inflamatórias e metabólicas não diferiram significativamente entre os grupos no início do estudo, com exceção da insulina e do HOMA-IR que apresentaram valores mais elevados no grupo AO ( $p<0,05$ ) (Tabela 1). Sete participantes no grupo AO (33,3%), três no grupo AC (14,2%) e dois no grupo CT (9,0%) apresentaram resistentes à insulina ( $\text{HOMA}_{\text{IR}} > 3,5$ ).

Após o período de intervenção, os marcadores metabólicos não diferiram entre os grupos (Tabela 2). A concentração de colesterol total reduziu significativamente apenas no grupo CT ( $p<0,05$ ), enquanto as concentrações de triacilgliceróis reduziram nos grupos AO e AC ( $p<0,05$ ). A concentração de HDL-c reduziu de forma significativa em todos os grupos, entretanto, o maior percentual de redução (-8,3%) foi observado no grupo CT. O LDL-c e o VLDL-c não apresentaram alterações significativas ( $p>0,05$ ). A concentração de glicose aumentou de forma significativa nos grupos AO (5,8%) passando de 91.8 para 96.1 mg/dL e CT (4,8%) de 91.4 para 95.4 mg/dL, configurando um aumento clinicamente irrelevante.

**Tabela 1.** Características basais dos participantes de acordo com o grupo experimental.

	CT (n=22)	AC (n=21)	AO (n=21)	<i>p</i>
<b>Idade (anos)</b>	27,4 ± 1,6	28,0 ± 1,5	27,2 ± 1,8	0,728
<b>Peso (Kg)</b>	94,5 ± 2,4	92,7 ± 2,1	95,5 ± 2,2	0,695
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	29,7 ± 0,5	29,4 ± 0,4	30,1 ± 0,5	0,802
<b>Perímetro da cintura (cm)</b>	102,2 ± 1,9	100,5 ± 1,2	102,3 ± 1,6	0,697
<b>Glicose (mg/dL)</b>	91,3 ± 1,4	92,2 ± 2,5	91,7 ± 1,8	0,854
<b>Insulina (µU/mL)</b>	8,7 ± 1,4 <sup>a</sup>	8,3 ± 1,1 <sup>a</sup>	11,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	<b>0,023</b>
<b>HOMA-IR</b>	1,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	<b>0,033</b>
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	187,3 ± 9,8	194,6 ± 9,8	180,8 ± 9,1	0,607
<b>LDL-c (mg/dL)</b>	121,9 ± 8,3	127,5 ± 10,1	110,1 ± 8,4	0,395
<b>VLDL-c (mg/dL)</b>	24,1 ± 2,1	27,2 ± 3,4	28,6 ± 3,3	0,821
<b>HDL-c (mg/dL)</b>	40,3 ± 2,5	43,7 ± 3,3	38,2 ± 2,0	0,270
<b>Triacilgliceróis (mg/dL)</b>	120,0 ± 10,5	160,0 ± 28,6	155,9 ± 20,2	0,689
<b>PCR-us (mg/dL)</b>	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0,373
<b>IL-17 (pg/mL)</b>	6,0 ± 2,2	6,57 ± 3,4	18,61 ± 5,8	0,147
<b>TNF (pg/mL)</b>	1,33 ± 0,5	0,94 ± 0,4	1,61 ± 0,6	0,190
<b>IL-10 (pg/mL)</b>	1,51 ± 0,9	0,45 ± 0,2	0,61 ± 0,2	0,643
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	1,53 ± 0,6	1,12 ± 0,3	1,71 ± 0,4	0,716
<b>IL-4 (pg/mL)</b>	0,34 ± 0,1	0,28 ± 0,1	0,51 ± 0,1	0,305
<b>Composição corporal (DEXA)</b>	<b>n=12</b>	<b>n=16</b>	<b>n = 17</b>	
<b>Massa gorda (Kg)</b>	32,8 ± 1,7	28,8 ± 1,6	32,4 ± 1,6	0,182
<b>Massa magra (Kg)</b>	61,3 ± 1,2	60,6 ± 1,2	58,6 ± 1,4	0,216
<b>Massa magra ginoide (Kg)</b>	8,5 ± 0,2	7,8 ± 0,2	7,7 ± 0,2	0,057
<b>Massa gorda ginoide (Kg)</b>	5,6 ± 0,2	4,9 ± 0,31	5,2 ± 0,3	0,290
<b>Massa magra androide (Kg)</b>	4,1 ± 0,1	3,9 ± 0,08	3,9 ± 0,1	0,441
<b>Massa gorda androide (Kg)</b>	2,5 ± 0,2	2,0 ± 0,1	2,3 ± 0,1	0,162
<b>Massa magra troncular (Kg)</b>	27,6 ± 0,7	26,6 ± 0,5	26,0 ± 0,8	0,336
<b>Massa gorda troncular (Kg)</b>	17,1 ± 1,3	14,5 ± 0,7	16,7 ± 1,0	0,194

Os valores são média e erro da média. O valor de *p* refere-se à comparação das características basais entre os grupos experimentais (ANOVA ou Kruskal-Wallis; *p*<0.05). Os valores com diferença estatística significativa estão indicados por letras. AO, grupo amendoim alto-oleico; AC, grupo amendoim convencional; CT, grupo controle; IMC, índice de massa corporal; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c, lipoproteína de muito baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; PCR-us, proteína C-reativa ultrasensível; DEXA, *Dual-energy X-ray Absortometry*. Adaptada de Alves et al., 2014a.

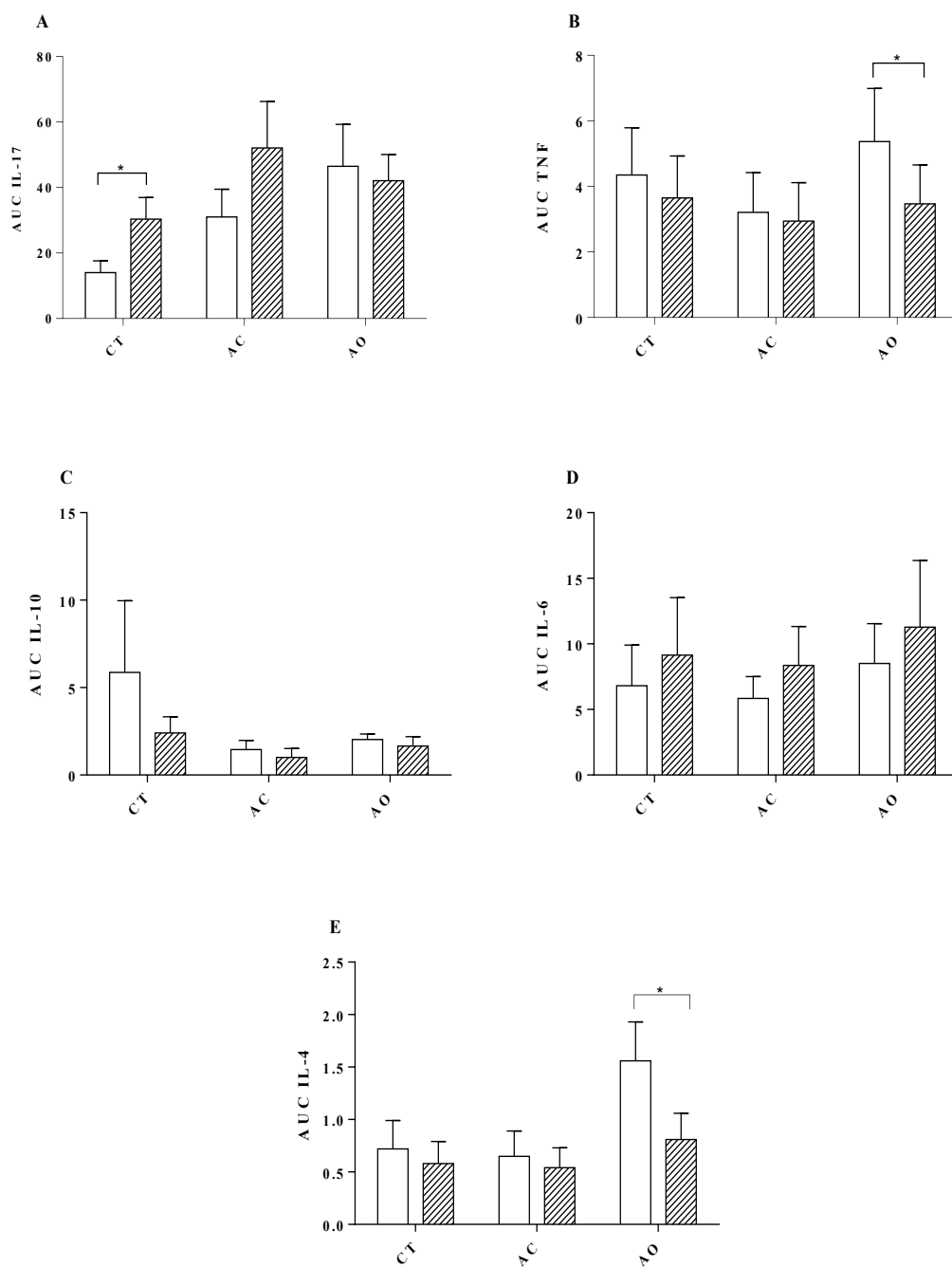
O índice HOMA-IR não foi alterado de forma significativa em nenhum grupo experimental, porém, o grupo CT apresentou aumento de 6,8% em relação ao valor inicial, enquanto o grupo AO reduziu -0,05%, mesmo o grupo AO iniciando o estudo com maior HOMA-IR ( $2,6 \pm 0,2$ ) e o CT com os menores valores ( $1,9 \pm 0,3$ ).

**Tabela 2.** Alteração nos marcadores bioquímicos após o período de intervenção.

	CT (n=22)	AC (n=21)	AO (n=21)	p
<b>Glicose (mg/dL)</b>	4,0 ± 1,8*	2,5 ± 2,7	4,9± 1,7*	0,737
<b>Insulina (µU/mL)</b>	0,2 ± 1,4	-0,3 ± 0,6	-0,6 ± 0,7	0,417
<b>HOMA-IR</b>	0,1 ± 0,3	-0,09 ± 0,2	-0,001 ± 0,1	0,368
<b>Triacilgliceróis (mg/dL)</b>	14,6 ± 17,7	-27,9 ± 14,9*	-28,8 ± 13,0*	0,081
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	-13,8 ± 5,9*	-2,8 ± 7,0	-11,0 ± 7,8	0,585
<b>LDL-c (mg/dL)</b>	-9,2 ± 5,3	0,8 ± 5,9	1,5 ± 7,5	0,412
<b>HDL-c (mg/dL)</b>	-4,0 ± 1,3*	-2,8 ± 1,7*	-3,0 ± 1,2*	0,842
<b>VLDL-c (mg/dL)</b>	-0,03 ± 2,0	-3,2 ± 1,9	-5,1 ± 2,6	0,274
<b>PCR-us (mg/dL)</b>	0,5 ± 0,4	-0,1 ± 0,1	-0,05 ± 0,2	0,259

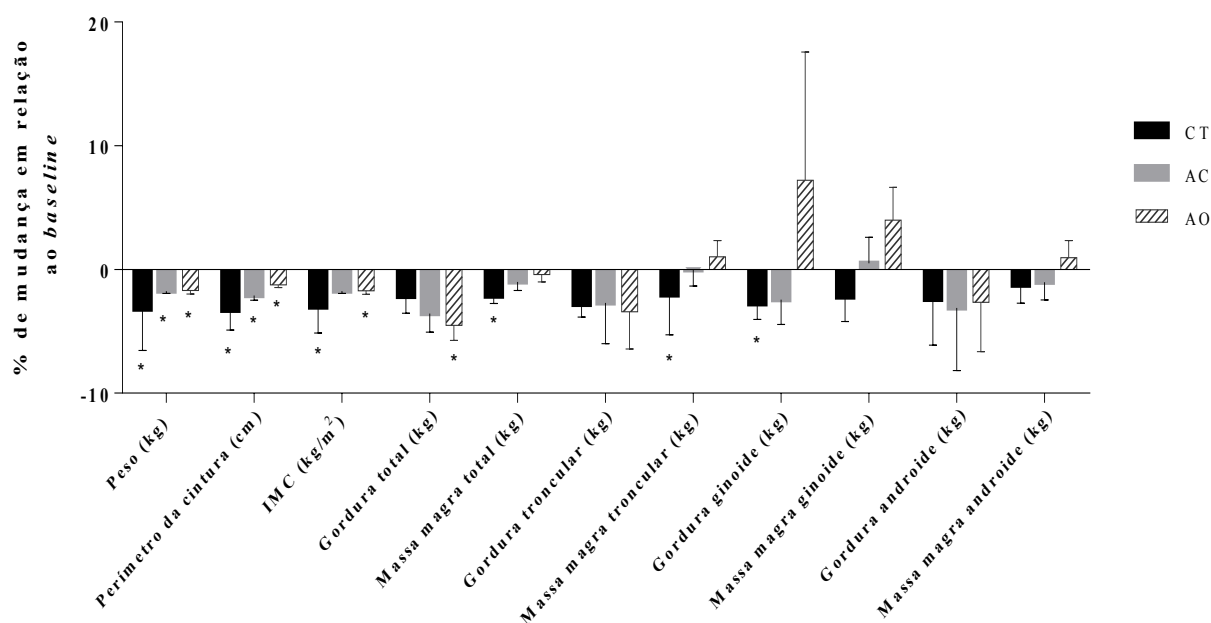
Os valores são média e erro da média. Os marcadores bioquímicos não apresentaram diferença entre os grupos experimentais (ANOVA ou Kruskal-wallis,  $p < 0,05$ ). \* significa diferença entre a avaliação final e inicial (Teste t pareado ou Wilcoxon;  $p < 0,05$ ). AO, grupo amendoim alto-oleico; AC, grupo amendoim convencional; CT, grupo controle; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; LDL-c; lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c, lipoproteína de muito baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; PCR-us, proteína C-reativa ultrasensível. Adaptada de Alves et al., 2014a.

O TNF e a IL-4 apresentaram menor resposta no grupo AO, -35,3 e -48,0% respectivamente ( $p < 0,05$ ). A IL-17A aumentou 2,1 vezes no grupo CT ( $p < 0,05$ ) e reduziu -9,4% no grupo AO, embora sem significância estatística. A IL-10 não diferiu significativamente em nenhum grupo, entretanto, o maior percentual de redução foi observado no grupo CT (-59,1%), quando comparada aos grupos AO (-18,2%) e AC (-30,3%). Ainda, IL-6 não apresentou diferença em nenhum grupo experimental (Figura 3). Na avaliação inicial a concentração das citocinas IFN- $\gamma$  e IL-2 ficaram abaixo do nível de detecção (0,003 pg/mL) do kit utilizado na maioria dos voluntários (IFN- $\gamma$ : 93,4%  $n=59$  e IL-2: 95,3%  $n=61$ ) e foram excluídas das análises estatísticas.



**Figura 7.** Resposta das pós-prandial das citocinas antes e após o período de intervenção em área abaixo da curva (AUC). Não houve diferença entre os grupos (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). \* indica diferença entre AUC inicial e AUC final (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). **A**, comportamento da IL-17 por grupo experimental; **B**, comportamento da TNF por grupo experimental; **C**, comportamento da IL-10 por grupo experimental; **D**, comportamento da IL-6 por grupo experimental; **E**, comportamento da IL-4 por grupo experimental. AUC, área abaixo da curva; AO, grupo alto oleico; AC, grupo amendoim convencional; CT, grupo controle; IL-17, interleucina-17; TNF, fator de necrose tumoral; IL-10, interleucina-10; IL-6, interleucina-6; IL-4, interleucina-4.

O peso, o IMC e o perímetro da cintura reduziram significativamente em todos os grupos em comparação ao valor inicial ( $p < 0,05$ ). Todavia, as mudanças na composição corporal não foram significativamente diferentes entre os grupos experimentais (Figura 4). A redução da gordura total foi significativa apenas no grupo AO (-3,9%) ( $p < 0,05$ ), embora a maior perda de peso tenha sido no grupo CT (-4,4%). O total de massa magra reduziu significativamente somente no grupo CT (-2,1%). No grupo AO houve aumento de massa magra troncular (0,9%), ginoide (3,2%) e androide (0,5%), embora sem significância estatística.



**Figura 8.** Percentual de mudança na composição corporal após quatro semanas de intervenção de acordo com o grupo experimental. A composição corporal não apresentou diferença entre os grupos experimentais (ANOVA ou Kruskal-wallis,  $p < 0,05$ ). \* significa diferença entre a avaliação final e inicial (Teste t pareado ou Wilcoxon;  $p < 0,05$ ). AO, grupo amendoim alto-oleico; AC, grupo amendoim convencional; CT, grupo controle; IMC, índice de massa corporal.

A ingestão calórica inicial e final não diferiu entre os grupos experimentais ( $p > 0,05$ ). Conforme esperado, o consumo AGMI foi significativamente maior no grupo AO (78,1%) em comparação ao grupo AC e CT, nos quais o consumo de AGMI reduziu -20,4% e -32,5% respectivamente. Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) reduziram de forma significativa apenas no grupo CT (-30,0%), bem como neste grupo, os ácidos graxos saturados (AGS) também apresentaram maior percentual de redução (-23,7%) (Tabela 3). O consumo de fibras não diferiu quando comparada dentro ou entre grupos.

**Tabela 3.** Mudança na ingestão de macronutrientes e fibras após 4 semanas de intervenção.

	CT (n=22)	AC (n=21)	AO (n=21)	p
<b>Energia (kcal/dia)</b>	-552,4 ± 243,9*	-275,7 ± 258,0	- 212,0 ± 163,7	0,538
<b>Carboidrato (g)</b>	-57,7 ± 29,6	-58,5 ± 34,0	-65,0 ± 14,7*	0,977
<b>Proteína (g)</b>	-16,4 ± 11,4	-9,5 ± 10,9	-6,5 ± 8,1	0,785
<b>Lipídio (g)</b>	-28,3 ± 10,9*	-0,3 ± 11,1	8,2 ± 12,6	0,082
<b>AGPI (g)</b>	-5,5 ± 1,9*	0,9 ± 3,4	-1,9 ± 1,5	0,210
<b>AGMI (g)</b>	-10,7 ± 3,3 <sup>a*</sup>	5,0 ± 3,4 <sup>b</sup>	17,8 ± 5,5 <sup>b*</sup>	<b>&lt;0,001</b>
<b>AGS (g)</b>	-8,5 ± 3,1*	-0,9 ± 2,7	3,3 ± 4,4	0,097
<b>Fibra (g)</b>	1,7 ± 3,1	-2,6 ± 3,8	3,4 ± 2,2	0,356

Os valores são média e erro da média. Os percentuais de mudança foram comparados entre os grupos por ANOVA ou Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). A diferença entre as avaliações iniciais e finais foram avaliadas por Teste t pareado ou Wilcoxon ( $p < 0,05$ ). As diferenças entre grupos estão indicadas por letras. \* indica diferença entre os valores final e inicial. AGPI, ácido graxo poliinsaturado; AGMI, ácido graxo monoinsaturado; AGS, ácido graxo saturado.

## Discussão

No presente estudo, foi observado que indivíduos com sobrepeso e obesidade que consumiram amendoim do cultivar alto oleico paralelo a uma dieta hipocalórica apresentaram maior redução na resposta pró-inflamatória pós-prandial quando comparados àqueles que seguiram apenas a dieta hipocalórica. As citocinas TNF e IL-4 foram significativamente reduzidas no grupo AO enquanto no grupo CT houve aumento de IL-17. A maior depleção da gordura total no grupo AO somado à composição de micro e macronutrientes do AAO, sugere impacto positivo sobre o estado inflamatório.

Embora ao final da intervenção os marcadores bioquímicos não tenham diferido significativamente entre grupos, houve redução significativa de triacilgliceróis nos grupos AC e AO e de HDL-c em todos os grupos, porém no CT a redução de HDL-c foi 33,3% maior do que no grupo AO. Curiosamente, o grupo CT foi o único que apresentou redução significativa na concentração de colesterol total condizente com o fato de que somente neste grupo houve redução significativa do consumo de AGS (g) (ALVES et al., 2014c). No grupo AO, a glicose também apresentou uma concentração média significativamente maior ao final do estudo, entretanto, permaneceu dentro do limite considerado normal. O índice HOMA-IR e a insulina, diferiam significativamente entre os grupos AO e CT no início do estudo, no entanto, essa diferença não permaneceu ao final da intervenção. Além disso, no grupo CT houve aumento não significante na insulina e HOMA-IR, em contrapartida os grupos que consumiram amendoim apresentaram redução não

significante nesses marcadores. Tais alterações são clinicamente relevantes e sugerem que o consumo de amendoins, especialmente do cultivar alto oleico, possam contribuir na melhora da sensibilidade à insulina (ALVES et al., 2014c).

As alterações na composição corporal foram mais favoráveis no grupo AO, no qual observou-se significativa redução na gordura total (-3,9%). Além disso, embora sem significância estatística, esse grupo também apresentou menor redução na massa magra total (-0,3%) e aumento de massa magra nos compartimentos ginoide (3,2%), androide (2,5%) e troncular (0,8%), que consistem em mudanças relevantes do ponto de vista clínico e que podem ter contribuído para a melhora nos parâmetros inflamatórios observada nesse grupo (ALVES et al., 2014a). Estudos tem reportado que a oxidação diferencial dos ácidos graxos estaria relacionada ao seu grau de saturação (ALPER; MATTES, 2002; MOUSSAVI; GAVINO; RECEVEUR, 2008) e que os AGMI são preferencialmente oxidados (ALPER; MATTES, 2002). Dessa forma, sugere-se que as alterações na composição corporal observadas no grupo AO devem-se ao fato de o AAO promover maior oxidação de gordura após o seu consumo possivelmente devido ao maior estímulo do sistema nervoso simpático por AGMI em detrimento de outros ácidos graxos (MOUSSAVI; GAVINO; RECEVEUR, 2008; ALVES et al., 2014a)

Recentemente foi demonstrado que a obesidade promove proliferação de células pró-inflamatórias  $T_H17$  e induz aumento nas concentrações sanguíneas de IL-17A (AHMED; GAFFEN, 2010). No presente estudo, a resposta da IL-17A reduziu 9,5% no grupo AO e aumentou 97,5% no grupo CT. A explicação para esse comportamento não está clara, ainda são poucos os estudos que avaliaram esta citocina em indivíduos com peso elevado, especialmente após uma intervenção nutricional. Contudo, é possível que as alterações na composição corporal tenham sido as principais moduladoras da IL-17A já que essa citocina apresentou redução apenas no grupo com maior perda de gordura total e menor redução de massa magra e aumentou de maneira significativa no grupo CT, o qual apresentou significativa perda de massa magra e menor perda de gordura. De forma semelhante, um estudo experimental demonstrou que ratos com significativa perda de peso, causada pela depleção tanto de gordura quanto de massa magra, também apresentaram aumento expressivo de IL-17A (TANG et al., 2010). Entretanto, Sumarac-Dumanovic et al. (2014) não encontram associação entre a concentração de IL-17A e gordura abdominal quando compararam mulheres obesas a eutróficas (SUMARAC-DUMANOVIC et al., 2009).

O excesso de gordura na obesidade está associado ao aumento da expressão de células  $T_H1$ , pró-inflamatórias, em relação as células  $T_H2$ , anti-inflamatórias (MCLAUGHLIN et al., 2014; MRAZ; HALUZIK, 2014). Em nosso estudo, ambas as citocinas  $T_H2$  (IL-10 e IL-4) apresentaram menor resposta em todos os grupos após a intervenção. A maior redução de IL-10 no grupo CT em relação aos grupos teste sugere efeito positivo do amendoim sobre esta citocina, visto que o consumo de *nuts* tem sido amplamente associado à redução de marcadores pró-inflamatórios (JIANG, 2005; SALAS-SALVADÓ et al., 2008). Provavelmente, o consumo de amendoim por um período mais prolongado, levaria ao aumento das concentrações plasmáticas de IL-10, como evidenciado por Colpo et al. (2014) (COLPO et al., 2014). A perda de peso também contribui para o aumento da IL-10 (RAMEL et al., 2010), entretanto, a média de perda de peso no presente estudo foi de  $2,2 \pm 1,1\%$ , e a literatura prevê alterações significantes nos parâmetros inflamatórios a partir de uma perda de peso de 5-10%.

Além da atividade anti-inflamatória, a IL-4 possivelmente interfere no metabolismo lipídico (TSAO et al., 2014). Recentemente, um estudo experimental demonstrou que essa citocina aumenta a concentração sérica de ácidos graxos não esterificado, evitando o acúmulo de lipídios no tecido adiposo (CHANG et al., 2012; TSAO et al., 2014). Além disso, também possui habilidade anti-lipogênica por suprimir a diferenciação de adipócitos e promover a lipólise em adipócitos maduros (TSAO et al., 2014). De forma contrária, nossos resultados mostram significativa redução da IL-4 no grupo AO o qual apresentou maior redução de gordura. Entretanto, em indivíduos com síndrome metabólica (SM) foi observada positiva correlação entre a concentração de triacilglicerol sérico e IL-4 (SURENDAR et al., 2011), condizente com nossos resultados, que mostram maior redução de triacilgliceróis no grupo AO, o qual também apresentou menor concentração de IL-4. Porém, a forma como ambos se associam permanece desconhecida.

A dieta do mediterrâneo tem sido associada à redução nas concentrações plasmáticas de citocinas pró-inflamatórias por possuir ácidos graxos monoinsaturados em grandes quantidades (YUDKIN et al., 1999). Richard et al. (2012), verificaram que homens com SM que seguiram a dieta do mediterrâneo e perderam peso apresentaram redução de TNF, IL-6 e IL-18 maior do que aqueles que seguiram apenas a dieta (RICHARD et al., 2012). De forma semelhante, em nosso estudo o TNF reduziu de forma significativa apenas no grupo AO, entretanto, também reduziu nos grupos AC e CT, provavelmente devido à perda de peso significativa em todos os grupos. Borges et al.

(2007), também verificaram que mulheres com obesidade abdominal apresentaram redução expressiva de TNF- $\alpha$  após redução de peso (BORGES et al., 2007). Além disso, um estudo *in vitro* demonstrou que o óleo de AAO reduziu de forma significativa as concentrações de TNF- $\alpha$  e o efeito inibitório desta citocina sobre a insulina (VASSILIOU et al., 2009).

De forma geral, o consumo da dieta do mediterrâneo, bem como alguns de seus componentes como, *nuts* e azeite de oliva estão associados à redução nas concentrações periféricas de IL-6, PCR e fibrinogênio (ESTRUCH et al., 2006; SALAS-SALVADÓ et al., 2008b; KALGAONKAR et al., 2011; RICHARD et al., 2012). Embora sem significância estatística, houve declínio nas concentrações de PCR nos grupos que consumiram amendoim. No entanto, o consumo de AAO e ACO não alteraram as concentrações plasmáticas de IL-6. De forma semelhante, outros estudos que avaliaram o impacto de alimentos fontes de AGMI sobre a IL-6 também não verificaram diferenças nas concentrações desta citocina (RAJARAM; CONNELL; SABATÉ, 2010; CASAS-AGUSTENCH et al., 2011; KALGAONKAR et al., 2011; CHIANG et al., 2012).

Nós acreditamos que o tamanho da nossa amostra e período de intervenção foram os principais contribuintes para esse resultado, visto que efeitos benéficos sobre a IL-6 normalmente são observados em estudos de coorte de longa duração (ESTRUCH et al., 2006; SALAS-SALVADÓ et al., 2008b). Ainda, deve-se levar em consideração a cinética desta citocina. A IL-6 possui um pico de secreção entre 4-6h após um estímulo, em seguida é estabilizada e degradada (DEFORGE; REMICK, 1991). Baseado nisso, o aumento de IL-6 encontrado em todos os grupos pode ser mero efeito do consumo da refeição já que a avaliamos nos tempos 0, 1, 2 e 3h pós-prandiais. Talvez uma avaliação mais prolongada revelaria um comportamento diferente desta citocinas nos grupos que consumiram amendoim.

As citocinas T<sub>H</sub>1, IFN- $\gamma$  e IL-2 não foram detectadas com sucesso. Uma provável justificativa seria o fato de estas citocinas estarem fortemente associadas a processos inflamatórios, os quais foram tomados como um fator de exclusão em nosso estudo (MADHUMITHA et al., 2014) Ainda, IFN- $\gamma$  e IL-2 são frequentemente encontradas em obesos com comorbidades manifestas, diferente dos participantes do presente estudo, e estão associadas à origem de resistência à insulina e estímulo a outras citocinas pró-inflamatórias (ROCHA et al., 2008; MADHUMITHA et al., 2014; KHAN et al., 2015).

Recentemente, tem sido sugerido a existência de um limiar de adiposidade, a partir do qual o excesso de gordura levaria a alterações metabólicas (LESSARD et al., 2014).

Lessarde et al. (2014), sugerem que a limitada capacidade de expansão do tecido adiposo subcutâneo, leva ao acúmulo de gordura nos compartimentos viscerais, hipertrofia dos adipócitos e concomitantes alterações metabólicas e inflamatórias (FONTANA et al., 2007). No estudo desenvolvido por Bosch et al. (2015), foi identificado um limiar de adiposidade de 23,4% para homens e 38,3% para mulheres, a partir do qual para cada aumento de 1% na gordura corporal haveria um aumento significativo na gordura visceral e conseqüentemente o surgimento de alterações metabólicas (BOSCH et al., 2015). Entretanto é prudente considerar a individualidade biológica da amostra utilizada no estudo desenvolvido por Bosch et al., visto que, a adiposidade média em nossos voluntários foi  $32,6 \pm 1,0\%$  e apenas 18,7% deles apresentavam RI como única comorbidade verificada em toda a amostra. Além disso, Han et al. (2011), sustentam nossa colocação, sugerindo que a adiposidade em indivíduos com  $IMC < 30$  não ocasiona prejuízos na regulação da homeostase inflamatória (HAN et al., 2011).

No presente estudo, os marcadores bioquímicos apresentaram poucas alterações frente ao consumo de amendoim. Inesperadamente o HDL-c reduziu de forma significativa em todos os grupos. De forma semelhante, Ibarrola-Jurado et al. (2013), encontraram redução de HDL-c, embora não significativa, após um estudo transversal avaliando o consumo de *nuts* (IBARROLA-JURADO et al., 2013). Corroborando com nossos resultados, nenhum efeito foi observado sobre LDL-c ou VLDL-c, após uma intervenção de 12 semanas com amendoim alto oleico (50-70g/ dia) (BARBOUR et al., 2015). Os grupos que consumiram amendoim apresentaram redução nos triacilgliceróis, enquanto no grupo CT houve aumento. Segundo Ros et al., (2010) a redução de triacilgliceróis é mais eficiente em indivíduos com concentrações superiores a 150 mg/dL, reforçando nossos resultados (ROS, 2010). De forma semelhante outros estudos mostram que aumento do consumo de AGMI em detrimento dos carboidratos promove melhora nas concentrações de lipoproteínas e expressiva redução de triacilgliceróis (KRIS-ETHERTON et al., 1999; HUTCHINSON et al., 2008).

Embora o grupo AO tenha consumido maior quantidade de gordura saturada, os benefícios inflamatórios observados nesse grupo potencialmente devem-se ao fato de que AGMI são capazes de neutralizar os efeitos pró-inflamatórios dos AGS (SARTORIUS et al., 2012). Somado a isso, o ácido graxo oleico possui atividade anti-inflamatória e é o maior componente do total de AGMI tanto no AAO quanto no ACO. Estudos apontam que esse ácido graxo é capaz de inibir a expressão de COX2 e a fosforilação de JNK e ERK (LAMY et al., 2016), além de inibir ROS e p38MAPK e as vias de sinalização

AKT/IKK/NF-KB (OH et al., 2009; SALVADÓ et al., 2013), dessa forma, independente do mecanismo de ação, o efeito comum é a redução de marcadores inflamatórios.

Entre os fatores limitantes estão a avaliação dos compostos fenólicos do amendoim, já que eles também interferem nos parâmetros inflamatórios e metabólicos avaliados (PANDEY; RIZVI, 2009; UMENO et al., 2016). Também devemos considerar o tempo de avaliação pós-prandial que não contemplou o tempo necessário para a resposta de todas as citocinas avaliadas. Apesar disso, vieses como nível de atividade física, horas de sono, doenças inflamatórias e consumo de outras oleaginosas ou *nuts* foram bem controlados. Além disso, todos os voluntários seguiram adequadamente o protocolo do estudo.

Em conclusão, o grupo AO apresentou melhora do estado inflamatório, possivelmente influenciadas pelas alterações na composição corporal observadas nesse grupo. Além disso, o grupo AO também sugeriu melhora na sensibilidade à insulina. Já o ACO apresentou-se neutro em relação à inflamação por não interferir no comportamento de nenhuma das citocinas avaliadas, e embora positivo, seu impacto na composição corporal foi menos expressivo quando comparado ao do AAO. Dessa forma, moderadas quantidades de AAO podem ser incluídas como parte de uma alimentação saudável, com benefícios à composição corporal e com potencial benefício no estado inflamatório de homens com excesso de peso.

## Referências bibliográficas

AHMED, M.; GAFFEN, S. L. IL-17 in obesity and adipogenesis. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 21, n. 6, p. 449–453, dezembro. 2010.

ALPER, C. M.; MATTES, R. D. Effects of chronic peanut consumption on energy balance and hedonics. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 26, p. 1129–1137, 2002.

ALVES, R. D. M. et al. Regular intake of high-oleic peanuts improves fat oxidation and body composition in overweight/obese men pursuing a energy-restricted diet. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 22, n. 6, p. 1422–1429, 2014a.

ALVES, R.D.M. et al. High-oleic peanuts increase diet-induced thermogenesis in overweight and obese men. **Nutrición hospitalaria**, v. 29, n. 5, p. 1024–32, jan. 2014b.

ALVES, R. D. M. et al. High-oleic peanuts: new perspective to attenuate glucose homeostasis disruption and inflammation related obesity. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 22, n. 9, p. 1981–1988, 2014c.

- ASCASO, J. F. et al. Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética. **Medicina Clínica**, v. 117, n. 14, p. 530–533, 2001.
- BARBOUR, J. et al. Effect of 12 Weeks High Oleic Peanut Consumption on Cardio-Metabolic Risk Factors and Body Composition. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7381–7398, 2015.
- BORGES, R. L. et al. Impact of weight loss on adipocytokines, C-reactive protein and insulin sensitivity in hypertensive women with central obesity. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 89, n. 6, p. 409–414, 2007.
- BOSCH, T. A. et al. Identification of sex-specific thresholds for accumulation of visceral adipose tissue in adults. **Obesity**, v. 23, n. 2, p. 375–382, 2015.
- CASAS-AGUSTENCH, P. et al. Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. 2, p. 126–135, 2011.
- CHANG, Y. et al. Regulation of glucose / lipid metabolism and insulin sensitivity by. **International Journal of Obesity**, n. 34, 2012.
- CHIANG, Y. L. et al. The effect of dietary walnuts compared to fatty fish on eicosanoids, cytokines, soluble endothelial adhesion molecules and lymphocyte subsets: A randomized, controlled crossover trial. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 87, n. 4-5, p. 111–117, 2012.
- CLÉMENT, K. et al. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. **The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 18, n. 14, p. 1657–1669, 2004.
- COLPO, E. et al. Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. **Nutrition**, v. 30, n. 4, p. 459–465, 2014.
- CONNAUGHTON, R. M. et al. Impact of anti-inflammatory nutrients on obesity-associated metabolic-inflammation from childhood through to adulthood. **Proceedings of the Nutrition Society**, n. March, p. 1–10, 2016.
- DEFORGE, L. E.; REMICK, D. G. Kinetics of TNF, IL-6, and IL-8 gene expression in LPS-stimulated human whole blood. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 174, n. 1, p. 18–24, 1991.
- DENG, T. et al. Class II major histocompatibility complex plays an essential role in obesity-induced adipose inflammation. **Cell Metabolism**, v. 17, n. 3, p. 411–422, 2013.
- ENNS, J. E. et al. Diets high in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids decrease fatty acid synthase protein levels in adipose tissue but do not alter other markers of adipose function and inflammation in diet-induced obese rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)**, v. 90, n. 2-3, p. 77–84, fev. 2014.

- ESTRUCH, R. et al. Effects of a Mediterranean-Style Diet on Cardiovascular Risk Factors. **Annals of Internal Medicine**, v. 145, n. 1, p. 1, 4 jul. 2006.
- FONTANA, L. et al. Visceral Fat Adipokine Secretion Is Associated With Systemic Inflammation in Obese Humans. **Diabetes**, v. 56, n. April, p. 1010–1013, 2007.
- GILLINGHAM, L. G.; HARRIS-JANZ, S.; JONES, P. J. H. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. **Lipids**, v. 46, n. 3, p. 209–228, 2011.
- GRIEL, A. E.; KRIS-ETHERTON, P. M. Tree nuts and the lipid profile: a review of clinical studies. **The British journal of nutrition**, v. 96 Suppl 2, p. S68–S78, 2006.
- HAN, S. N. et al. Obesity with a body mass index under 30 does not significantly impair the immune response in young adults. **Nutrition Research**, v. 31, n. 5, p. 362–369, 2011.
- HERMSDORFF, H. H. M. et al. Association of body fat distribution with proinflammatory gene expression in peripheral blood mononuclear cells from young adult subjects. **Omics : a journal of integrative biology**, v. 14, n. 3, p. 297–307, 2010.
- HERMSDORFF, H. H. M. et al. Central adiposity rather than total adiposity measurements are specifically involved in the inflammatory status from healthy young adults. **Inflammation**, v. 34, n. 3, p. 161–170, 2011.
- HUTCHINSON, D. et al. Dietary monounsaturated fat activates metabolic pathways for triglyceride-rich lipoproteins that involve apolipoproteins E and C-III. **Journal of Lipid Research**, v. 49, n. 4, p. 825–832, 2008.
- 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, p. 1–8, 2013.
- JIANG, R. Nut and Seed Consumption and Inflammatory Markers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **American Journal of Epidemiology**, v. 163, n. 3, p. 222–231, 2005.
- KALGAONKAR, S. et al. Differential effects of walnuts vs almonds on improving metabolic and endocrine parameters in PCOS. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 3, p. 386–393, 2011.
- KHAN, I. M. et al. Intermuscular and perimuscular fat expansion in obesity correlates with skeletal muscle T cell and macrophage infiltration and insulin resistance. **International journal of obesity (2005)**, v. 39, n. 11, p. 1607–18, 2015.
- KRIS-ETHERTON, P. M. et al. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1009–1015, 1999.

- KRIS-ETHERTON, P. M. et al. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 9, p. 1746S–1751S, 2008.
- LAMY, S. et al. Olive oil compounds inhibit the paracrine regulation of TNF- $\alpha$ -induced endothelial cell migration through reduced glioblastoma cell cyclooxygenase-2 expression. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 27, p. 136–145, jan. 2016.
- LESSARD, J. et al. Low abdominal subcutaneous preadipocyte adipogenesis is associated with visceral obesity, visceral adipocyte hypertrophy, and a dysmetabolic state. **Adipocyte**, v. 3, n. 3, p. 197–205, 2014.
- LOPES, L.; PELÚZIO, M.; HERMSDORFF, H. H. M. Ingestão de ácidos graxos monoinsaturados e metabolismo lipídico Monounsaturated fatty acid intake and lipid metabolism. v. 15, n. 1, p. 52–60, 2014.
- MADHUMITHA, H. et al. Increased Th1 and suppressed Th2 serum cytokine levels in subjects with diabetic coronary artery disease. **Cardiovascular diabetology**, v. 13, p. 1, 2014.
- MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, 1985.
- MCLAUGHLIN, T. et al. T-cell profile in adipose tissue is associated with insulin resistance and systemic inflammation in humans. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 34, n. 12, p. 2632–2636, 2014.
- MOUSSAVI, N.; GAVINO, V.; RECEVEUR, O. Could the Quality of Dietary Fat, and Not Just Its Quantity, Be Related to Risk of Obesity? **Obesity**, v. 16, n. 1, p. 7–15, 2008.
- MRAZ, M.; HALUZIK, M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. **Journal of Endocrinology**, v. 222, n. 3, p. R113–R127, 2014.
- MUKUDDER-PETERSEN, J.; OOSTHUIZEN, W.; JERLING, J. C. A systematic review of the effects of nuts on blood lipid profiles in humans. **J Nutr**, v. 135, n. 9, p. 2082–2089, 2005.
- NICKLAS, B. J. et al. Diet-induced weight loss, exercise, and chronic inflammation in older, obese adults: a randomized controlled clinical trial 1 – 3. p. 544–551, 2004.
- NIEMAN, D. C. et al. **Influence of obesity on immune function.** **Journal of the American Dietetic Association**, 1999.
- O'BYRNE, D. J.; KNAUFT, D. A.; SHIREMAN, R. B. Low fat-monounsaturated rich diets containing high-oleic peanuts improve serum lipoprotein profiles. **Lipids**, v. 32, n. 7, p. 687–695, 1997.
- OH, Y. T. et al. Oleic acid reduces lipopolysaccharide-induced expression of iNOS and COX-2 in BV2 murine microglial cells: Possible involvement of reactive oxygen

species, p38 MAPK, and IKK/NF- $\kappa$ B signaling pathways. **Neuroscience Letters**, v. 464, n. 2, p. 93–97, october. 2009.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2, n. 5, p. 270–8, 2009.

PETERSEN, P. S. et al. Dynamic and extensive metabolic state-dependent regulation of cytokine expression and circulating levels. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 307, n. 12, p. R1458–R1470, 15 dez. 2014.

RAJARAM, S.; CONNELL, K. M.; SABATÉ, J. Effect of almond-enriched high-monounsaturated fat diet on selected markers of inflammation: a randomised, controlled, crossover study. **The British journal of nutrition**, v. 103, n. 6, p. 907–912, 2010.

RAMEL, A et al. Effects of weight loss and seafood consumption on inflammation parameters in young, overweight and obese European men and women during 8 weeks of energy restriction. **European journal of clinical nutrition**, v. 64, n. 9, p. 987–993, 2010.

RICHARD, C. et al. Effect of the Mediterranean Diet With and Without Weight Loss on Markers of Inflammation in Men With Metabolic Syndrome. **Obesity**, v. 21, n. 1, p. 51–57, 2012.

ROCHA, V. Z. et al. Interferon- $\gamma$ , a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: A role for adaptive immunity in obesity. **Circulation Research**, v. 103, n. 5, p. 467–476, 2008.

ROS, E. Health benefits of nut consumption. **Nutrients**, v. 2, n. 7, p. 652–682, 2010.  
SALAS-SALVADÓ, J. et al. The effect of nuts on inflammation. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 17, n. SUPPL. 1, p. 333–336, 2008a.

SALAS-SALVADÓ, J. et al. Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. **European journal of clinical nutrition**, v. 62, n. 5, p. 651–659, 2008b.

SALVADÓ, L. et al. Oleate prevents saturated-fatty-acid-induced ER stress, inflammation and insulin resistance in skeletal muscle cells through an AMPK-dependent mechanism. **Diabetologia**, v. 56, n. 6, p. 1372–82, 2013.

SARTORIUS, T. et al. Monounsaturated fatty acids prevent the aversive effects of obesity on locomotion, brain activity, and sleep behavior. **Diabetes**, v. 61, n. 7, p. 1669–1679, 2012.

SUMARAC-DUMANOVIC, M. et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. **International journal of obesity (2005)**, v. 33, n. 1, p. 151–156, 2009.

SURENDAR, J. et al. Increased levels of both Th1 and Th2 cytokines in subjects with metabolic syndrome (CURES-103). **Diabetes technology & therapeutics**, v. 13, n. 4,

p. 477–482, 2011.

TANG, H. et al. TLR4 activation is required for IL-17-induced multiple tissue inflammation and wasting in mice. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, n. 4, p. 2563–9, 2010.

TSAO, C.-H. et al. Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis. **Journal of lipid research**, v. 55, n. 3, p. 385–97, 2014.

UMENO, A. et al. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. **Molecules**, v. 21, n. 6, p. 708, 2016.

VASSILIOU, E. K. et al. Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin production of the inflammatory cytokine TNF-alpha both in vitro and in vivo systems. **Lipids in health and disease**, v. 8, p. 25, 2009.

WALLACE, F. A. et al. Dietary fatty acids influence the production of Th1- but not Th2-type cytokines. **Journal of leukocyte biology**, v. 69, n. 3, p. 449–457, 2001.

YUDKIN, J. S. et al. C-Reactive Protein in Healthy Subjects: Associations With obesity , Insulin Resistance , and Endothelial Dysfunction. p. 972–979, 1999.

## 5.2 ARTIGO 02: Impacto do consumo diário de amendoim sobre o risco cardiometabólico e estresse oxidativo em homens com excesso de peso

### Resumo:

**Introdução:** o excesso de peso induz ao estresse oxidativo e a alterações metabólicas, tais como resistência à insulina e dislipidemia que levam ao aumento do risco cardiometabólico. Por sua semelhança nutricional com as demais oleaginosas, o consumo de amendoim tem sido associado à redução do risco cardiovascular. **Objetivo:** Avaliar o impacto do consumo diário de amendoim convencional e amendoim alto oleico, sobre marcadores cardiometabólicos e estresse oxidativo em homens com sobrepeso e obesidade. **Métodos:** Trata-se de um estudo clínico, simples-cego, randomizado e controlado, com 4 semanas de duração, no qual homens com excesso de peso foram distribuídos em três grupos: controle (CT,  $n=22$ ), amendoim convencional (AC,  $n=21$ ) e amendoim alto oleico (AO,  $n=21$ ). Eles seguiram uma dieta hipocalórica com ou sem 56g de amendoim de convencional ou alto oleico. Foram avaliadas variáveis antropométricas e bioquímicas associadas ao risco cardiometabólico bem como marcadores do estresse oxidativo. **Resultados:** Ao final da intervenção, os biomarcadores de risco cardiometabólico não diferiram entre os grupos. Peso, índice de massa corporal, perímetro da cintura, diâmetro sagital e relação cintura estatura reduziram em todos os grupos em relação ao baseline ( $p<0,05$ ). Os grupos que consumiram amendoim apresentaram redução na concentração de triacilglicerol ( $p<0,05$ ) e modesta redução de Insulina, PCRus e HOMA-IR ( $p>0,05$ ). A concentração de colesterol total reduziu apenas no grupo CT ( $p<0,05$ ), enquanto a de HDL-c reduziu em todos os grupos ( $p<0,05$ ). As taxas colesterol total:HDL e LDL:HDL-c aumentaram significativamente no grupo AC, enquanto o colesterol não-HDL reduziu nos grupos CT e AO ( $p>0,05$ ). A atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e glutatona S-transferase, bem como a concentração de oxido nítrico não apresentaram alterações entre ou dentro dos grupos. O MDA e a taxa MDA:SOD reduziram no grupo CT em relação aos grupos AC e AO ( $p<0,05$ ). **Conclusão:** Os indivíduos que consumiram amendoim apresentaram benefícios cardiometabólicos adicionais quando comparados ao grupo controle. Em relação ao estresse oxidativo, nenhum dos marcadores avaliados foi alterado após o consumo de amendoim.

**Palavras-chave:** amendoim alto oleico, estresse oxidativo, obesidade, risco cardiometabólico.

## ABSTRACT

**Introduction:** Overweight status induces oxidative stress and metabolic changes such as insulin resistance and dyslipidemia leading to increased cardiometabolic risk. Due to the nutritional similarity with other oleaginous, the peanut intake has been associated with reduction of cardiovascular risk. **Objective:** To evaluate the impact of daily intake of conventional peanut and high-oleic peanuts on cardiometabolic markers and oxidative stress markers in overweight and obese men. **Methods:** In a 4-week randomized clinical trial, overweight and obese men were assigned to the groups: control (CT, n=22), conventional peanuts (CP, n=21) or high-oleic peanuts (HO, n=21). They followed a hypocaloric diet with or without 56 g/day of conventional or high-oleic peanuts. It was evaluated anthropometric and biochemical variables associated with cardiometabolic risk and oxidative stress markers. **Results:** After nutritional intervention, the cardiometabolic risk biomarkers did not differ between groups. Weight, body mass index, waist circumference, sagittal diameter and waist-to-height ratio reduced in all groups compared to baseline ( $p < 0.05$ ). Peanuts groups showed reduced triacylglycerol levels ( $p < 0.05$ ), and modest reduction insulin, hs-CRP and HOMA<sub>IR</sub> ( $p > 0.05$ ). Total cholesterol levels decreased only in CT group ( $p < 0.05$ ), while the HDL-c decreased in all groups ( $p < 0.05$ ). Total/HDL cholesterol ratio and LDL/HDL cholesterol ratios increased significantly in the CP group, while the non-HDL cholesterol reduced in CT group and HO group ( $p > 0.05$ ). Antioxidant enzymes activity superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase and nitric oxide levels did not show changes between or within groups. **Conclusion:** Peanut intake groups showed additional cardiometabolic when compared to the control group. About oxidative stress, none of the markers evaluated showed changes after peanuts intake.

**Keywords:** cardiometabolic risk, high-oleic peanut, obesity, oxidative stress.

## Introdução

Em indivíduos com excesso de peso, o alto grau de adiposidade, especialmente na região abdominal, induz a liberação de citocinas inflamatórias, tal como IL-6 e TNF- $\alpha$ , que levam ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e subsequente

estresse oxidativo nos tecidos (KALRA; ROITMAN, 2010). Esse processo fisiopatológico tem sido considerado o principal mecanismo envolvido nas comorbidades cardiovasculares associadas à obesidade (MARANHÃO et al., 2011). Dessa forma, em indivíduos obesos, tanto a redução do peso quanto a modulação do estado oxidativo, possuem papel cardioprotetor em longo prazo (DOW et al., 2013).

Diversos estudos clínicos e prospectivos sugerem que o consumo de oleaginosas, pode ter impacto positivo no controle do estresse oxidativo devido à alta concentração de polifenóis, vitaminas e minerais antioxidantes e ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) em sua composição (LÓPEZ-URIARTE et al., 2009; IBARROLA-JURADO et al., 2013). O estudo PREDIMED encontrou que um consumo diário de aproximadamente 30g de *nuts* (amêndoas, nozes e avelãs) associou-se a uma redução em torno de 30% nos eventos cardiovasculares (BERRYMAN et al., 2015). Dessa forma, baseado em sua composição nutricional e conhecidos benefícios sobre a saúde do coração, as *nuts* são consideradas um alimento chave na dieta cardioprotetora e foram os primeiros alimentos a receber o título de cardioprotetor pela *Food and Drug Administration* (FDA, EUA) (KING et al., 2008).

Apesar de o amendoim ser uma leguminosa ele compartilha propriedades nutricionais similares às oleaginosas e seu consumo também tem sido associado ao menor risco cardiovascular (HARGROVE et al., 2001; KRIS-ETHERTON et al., 2008; BARBOUR et al., 2015). Entretanto, apesar do efeito cardioprotetor atribuído ao amendoim, poucos estudos clínicos disponíveis na literatura avaliaram diretamente o efeito do consumo diário de amendoim alto oleico (AAO) sobre marcadores de risco cardiometabólicos (ALVES et al., 2014c; BARBOUR et al., 2015). Além disso, também são escassos estudos que avaliem o efeito do consumo de amendoim sobre o estado antioxidativo.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo de intervenção nutricional foi avaliar o impacto do consumo diário de amendoim convencional (ACO) e amendoim alto oleico, sobre os marcadores cardiometabólicos e de estresse oxidativo em homens com excesso de peso.

## **Metodologia**

### ***Sujeitos***

Cento e cinquenta voluntários foram recrutados na comunidade local por meio de anúncios, panfletos e cartazes. Inicialmente, todos foram submetidos a uma triagem nutricional onde foram aferidos peso e altura, e preenchidos questionários sobre história clínica, nutricional e prática de atividade física. Entre os critérios de elegibilidade estavam, idade entre 18 e 50 anos, índice de massa corporal (IMC) de 26-35 kg/m<sup>2</sup>, peso estável ( $\pm$  3kg) durante os três últimos meses, não fumantes, sem transtornos alimentares ou alergias inclusive ao amendoim, consumo de etanol inferior a 168g por semana e não fazer uso de medicação que pudesse afetar os resultados do estudo ou interferir na perda de peso. Indivíduos com presença de alguma doença inflamatória não foram incluídos no estudo. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (protocolo:185/2011). Todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

### ***Desenho do estudo***

Tratou-se de um estudo clínico randomizado, controlado com quatro semanas de duração. Os participantes foram aleatoriamente distribuídos em três grupos: controle (CT  $n= 22$ ), amendoim convencional (AC  $n= 21$ ) e amendoim alto-oleico (AO  $n=21$ ). Após um jejum noturno de 12 horas, os voluntários compareceram ao Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC), onde foram submetidos à avaliação antropométrica e coleta de sangue para avaliação de marcadores cardiometabólicos. Durante as quatro semanas de intervenção, os voluntários seguiram uma dieta hipocalórica e foram orientados a manter o nível de atividade física habitual. Ao final do estudo, todas as avaliações foram repetidas.

### ***Intervenção nutricional***

Para a prescrição da dieta, a necessidade energética de cada voluntário foi calculada por calorimetria indireta de acordo com o protocolo descrito anteriormente por Alves et al., (2014a) e em seguida, 250 kcal/dia foram subtraídas. Essa redução calórica previa uma perda de peso de aproximadamente 1kg/mês. Todas as dietas forneciam 15% de proteína, 30% de lipídio e 55% de carboidrato em relação ao valor calórico total.

Os grupos AO e AC consumiram uma porção diária de 56g de AAO e ACO, respectivamente, já inseridos no cálculo da prescrição da dieta, dessa forma, a restrição calórica e o perfil de macronutrientes da dieta prescrita foi foram semelhantes entre os

três grupos experimentais. O grupo CT seguia apenas a dieta hipocalórica e não consumia nenhum alimento teste. Os voluntários foram orientados a consumir a porção de amendoim fornecida de uma única vez em qualquer horário do dia. Além disso, por se tratar de um estudo de intervenção em condições de vida livre, todos os voluntários foram instruídos a utilizar uma lista de substituição de alimentos para auxiliar no seguimento da dieta.

Os amendoins de ambos os tipos foram preparados em calor seco e em seguida embalados a vácuo e armazenados para posterior distribuição aos voluntários. As porções de ACO e AAO continham, respectivamente, 13,6 e 12,8g de carboidrato, 16,8 e 16,3g de proteínas, 24,0 e 24,7g de gordura e 5,0 e 5,5g de fibra alimentar. O ácido graxo oleico representa 51,0% do total de gordura do ACO e 81,5% do AAO.

### ***Procedimentos metodológicos***

Todas as avaliações foram realizadas ao início e ao final do período de intervenção de 4 semanas. Nas 72h anteriores ao início do estudo, os participantes foram instruídos a não consumir álcool ou cafeína, manter o nível de atividade física habitual e manter a regularidade do sono (8h/noite). Foram avaliados peso, altura, perímetro da cintura e diâmetro abdominal sagital, seguindo protocolos padronizados. A coleta de sangue em jejum foi realizada por punção na veia antecubital e as amostras foram centrifugadas a 2.200g por 15min a 4°C, em seguida foram aliqüotadas e armazenadas a -80° C para futuras análises.

As dosagens de colesterol total e frações, triacilgliceróis, glicose, insulina e proteína C-reativa, foram realizadas em jejum por métodos de análise automatizados utilizando kits comerciais como descrito anteriormente (ALVES et al., 2014a). O HOMA-IR (*Homeostasis model assessment of insulin resistance*) foi calculado de acordo com a equação proposta por Matthews et al (1985). A resistência à insulina foi classificada de acordo com Ascaso et al., 2001 (ASCASO et al., 2001).

A avaliação da peroxidação lipídica, baseou-se na dosagem do malondialdeído (MDA) como uma das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Foi utilizado o método descrito por Buege e Aust, (1975) com modificações e as análises feitas em duplicata utilizando amostras de plasma. Brevemente, 100 µL de plasma, foram adicionados a 200µL solução TBARS (ácido tricloroacético a 15% e ácido tiobarbitúrico a 0,375%, dissolvidos em HCL 0,25 N), agitados e colocados em banho-maria por 45 minutos a aproximadamente 80° C. Em seguida foram adicionados 300 µL de N-butanol

e centrifugados por 8 minutos a 2500 rpm. Após a centrifugação, 200 µL do sobrenadante foram pipetados em microplacas e a leitura realizada a 535nm em espectrofotômetro (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer). Os resultados foram calculados de acordo com a curva-padrão que variou de 0-8 µM/L.

A concentração de Óxido Nítrico (ON) foi avaliada por meio do Reativo de Griess (sulfanilamida a 1 % e naftil-etileno-diamina a 0,1 % em H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 2,5 %)(GRISHAM; JOHNSON; LANCASTER, 1996). Amostras de plasma de 50 µL foram adicionadas em microplacas com igual volume do Reativo de Griess e incubado a temperatura ambiente por 15 min, em seguida foi realizada a leitura a 540nm em espectrofotômetro (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer). As análises de ON foram realizadas em duplicata. A concentração de ON das amostras foi determinada utilizando uma curva padrão com concentrações conhecidas de nitrito de sódio que variou de 0-125 µM/L.

A atividade da Superóxido Dismutase (SOD) foi determinada em triplicata e baseou-se na capacidade desta enzima em catalisar a reação do superóxido (O<sup>2 -</sup>) em peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) diminuindo assim a razão de auto-oxidação do pirogalol (MARKLUND; MARKLUND, 1974). Para a determinação da atividade enzimática, foi adicionado em microplacas 30 µL de plasma, seguido da adição de 99 µL de tampão fosfato (50 mM), 6 µL de MTT (Brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) e 15 µL de pirogalol. Em seguida, a placa foi incubada por 5min a 37°C. Após o período de incubação, a reação foi paralisada pela adição de 150 µL de DMSO (Dimetilsulfóxido ou Sulfóxido de dimetilo). A leitura da placa foi realizada em leitor de Elisa (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer) a 570nm. A atividade da SOD foi expressa em U de SOD/L. Foi ainda calculada a razão SOD:MDA.

A enzima glutationa S-tranferase (GST) teve sua atividade mensurada a partir da formação do conjugado glutationa-2,4-dinitrobenzeno e estimada pela variação da absorbância a 340 nm por 60s. Para a análise, foram adicionados em uma cubeta 970 µl de tampão fosfato (0,1 M; pH 7,0), 10 µl de CNDB (0,1 M diluído em etanol 80%), 10 µL de solução fresca de GSH (0,1 M diluído em tampão fosfato a 0.1M, pH 7,0) e 10 µL da plasma, em seguida, foram realizadas leituras nos tempos, 0, 30, 60 e 90 segundos. A formação do conjugado ocorre espontaneamente no substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) em reação não enzimática, sendo acelerada pela atividade das enzimas GST. Uma unidade (U) de GST equivale à quantidade de enzima que forma 1mol do conjugado glutationa-2,4- dinitrobenzeno por minuto. O coeficiente de extinção molar do CDNB

(340 = 9,6 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) foi utilizado para os cálculos (HABIG; PABST; JAKOBY, 1974). A atividade da GST foi expressa em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ .

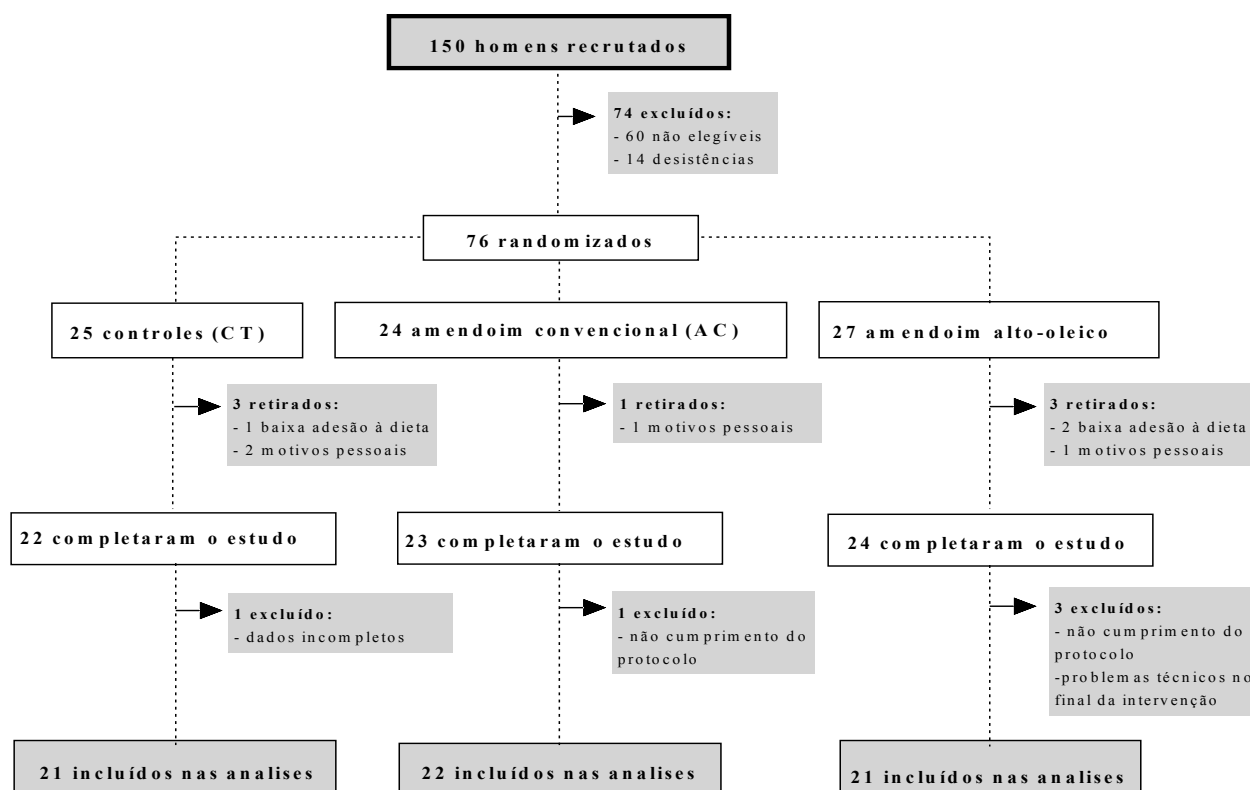


Figura 1. Fluxograma dos participantes inseridos no estudo. Adaptado de Alves et al., (2014).

### **Análises estatísticas**

As análises estatísticas foram realizadas por meio o programa SPSS (versão 22.0). A normalidade das variáveis foi calculada utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão. As variáveis foram comparadas entre os grupos por meio dos testes ANOVA ou Kruskal-Wallis, seguidos respectivamente pelos testes *post hoc* de Tukey's e Dunn's. Dentro de cada grupo, as diferenças após a intervenção ( $\Delta = \text{Final} - \text{inicial}$ ) foram calculadas pelos testes de Wilcoxon ou Teste t pareado. O critério adotado para a significância estatística foi  $p < 0,05$ .

### **Resultados**

Sessenta e quatro voluntários completaram o estudo (Figura 1). A média de idade foi de  $27 \pm 0,9$  anos e de IMC de  $29,76 \pm 0,3 \text{ kg/m}^2$ . Entre os voluntários 61% ( $n=39$ ) eram sobrepeso e os demais obesos. Sete participantes no grupo AO (33,3%), três no

grupo AC (14,2%) e dois no grupo CT (9,0%) eram resistentes à insulina (HOMA-IR >3,5). As características antropométricas e bioquímicas não diferiram significativamente entre os grupos no início do estudo, com exceção da insulina e do HOMA-IR que apresentaram valores mais elevados no grupo AO ( $p < 0.05$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Características basais dos participantes de acordo com o grupo experimental.

	CT (n=22)	AC (n=21)	AO (n=21)	<i>p</i>
<b>Idade (anos)</b>	27,4 ± 1,6	28,0 ± 1,5	27,2 ± 1,8	0,728
<b>Peso (Kg)</b>	94,5 ± 2,4	92,7 ± 2,1	95,5 ± 2,2	0,695
<b>Altura (m)</b>	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	0,898
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	29,7 ± 0,5	29,4 ± 0,4	30,1 ± 0,5	0,802
<b>Perímetro da cintura (cm)</b>	102,2 ± 1,9	100,5 ± 1,2	102,3 ± 1,6	0,697
<b>Diâmetro sagital (cm)</b>	23,4 ± 0,6	22,4 ± 0,4	23,16 ± 0,53	0,447
<b>Relação cintura estatura</b>	57,4 ± 1,0	56,7 ± 0,7	57,4 ± 0,9	0,837
<b>ON (µmol/L)</b>	34,6 ± 3,3	27,92 ± 3,97	40,88 ± 7,3	0,413
<b>MDA (µmol/L)</b>	0,54 ± 0,1	1,04 ± 0,1	0,69 ± 0,1	0,062
<b>SOD (U/L)</b>	0,44 ± 0,04	0,55 ± 0,05	0,47 ± 0,03	0,258
<b>GST (µmol min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>)</b>	1,91 ± 0,1	1,53 ± 0,2	1,69 ± 0,1	0,370
<b>MDA:SOD</b>	0,73 ± 0,2	1,88 ± 0,3	1,26 ± 0,2	0,119
<b>Glicose (mg/dL)</b>	91,3 ± 1,4	92,2 ± 2,5	91,7 ± 1,8	0,854
<b>Insulina (µU/mL)</b>	8,7 ± 1,4 <sup>a</sup>	8,3 ± 1,1 <sup>a</sup>	11,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	<b>0,023</b>
<b>HOMA-IR</b>	1,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	<b>0,033</b>
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	187,3 ± 9,8	194,6 ± 9,8	180,8 ± 9,1	0,607
<b>LDL-c (mg/dL)</b>	121,9 ± 8,3	127,5 ± 10,1	110,1 ± 8,4	0,395
<b>VLDL-c (mg/dL)</b>	24,1 ± 2,1	27,2 ± 3,4	28,6 ± 3,3	0,821
<b>HDL-c (mg/dL)</b>	40,3 ± 2,5	43,7 ± 3,3	38,2 ± 2,0	0,270
<b>Colesterol total:HDL-c</b>	4,85 ± 0,29	4,71 ± 0,2	4,90 ± 0,30	0,896
<b>LDL-c:HDL-c</b>	3,17 ± 0,2	3,02 ± 0,2	2,90 ± 0,24	0,708
<b>Colesterol não-HDL-c</b>	147,0 ± 9,9	150,9 ± 9,2	142,5 ± 8,6	0,821
<b>Triacilgliceróis (mg/dL)</b>	120,0 ± 10,5	160,0 ± 28,6	155,9 ± 20,2	0,689
<b>PCR-us (mg/dL)</b>	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0,373

Os valores são média e erro da média. O valor de *p* refere-se à comparação das características basais entre os grupos experimentais (ANOVA ou Kruskal-Wallis;  $p < 0.05$ ). Os valores com diferença estatística significativa estão indicados por letras. AO, grupo amendoim alto-oleico; AC, grupo amendoim convencional; CT, grupo controle; IMC, índice de massa corporal; ON, óxido nítrico; MDA, malondialdeído; SOD, superóxido dismutase; GST, glutathione S transferase; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; LDL-c; lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c, lipoproteína de muito baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; PCR-us, proteína C-reativa ultrasensível.

Todos os grupos apresentaram redução significativa de peso, IMC, perímetro da cintura, relação cintura estatura e diâmetro sagital em relação aos valores basais (Tabela 2). As diferenças entre grupos observadas nas concentrações de insulina e HOMA-IR no *baseline*, não permaneceram após o período de intervenção. O HOMA-IR aumentou 6,8% no grupo CT em relação ao valor inicial, enquanto o grupo AO reduziu -0,05%, apesar do grupo AO ter iniciado o estudo com maior HOMA<sub>IR</sub> (2,6 ± 0,2) e o CT com o menor HOMA-IR (1,9 ± 0,3). Já a insulina, apresentou redução em ambos os grupos que consumiram amendoim (p>0,05). Embora clinicamente irrelevante, a concentração de glicose aumentou após a intervenção nos grupos AO (5,8%; p<0,05) passando de 91,8 para 96,1 mg/dL e CT (4,8%; p<0,05) passando de 91,4 para 95,4 mg/dL.

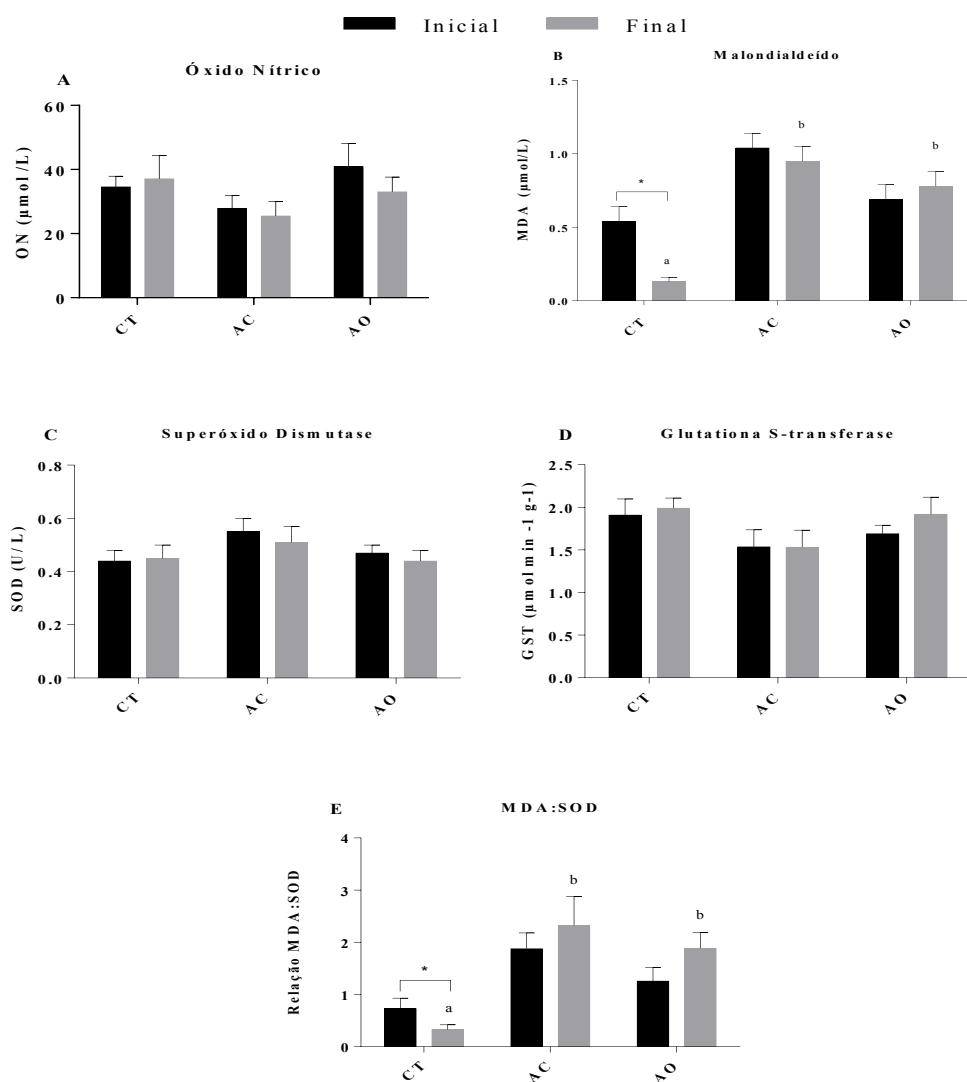
**Tabela 2.** Mudança nos marcadores de risco cardiometabólico após o período de intervenção.

	CT (n=22)	AC (n=21)	AO (n=21)	<i>p</i>
<b>Peso (Kg)</b>	-2,24 ± 0,35*	-1,57 ± 0,2*	-1,58 ± 0,3*	0,221
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	-0,69 ± 0,1*	-0,51 ± 0,07*	-0,50 ± 0,09*	0,299
<b>Perímetro da cintura (cm)</b>	-2,06 ± 0,3*	-2,10 ± 0,4*	-1,29 ± 0,2*	0,223
<b>Diâmetro sagital (cm)</b>	-0,86 ± 0,1*	-0,73 ± 0,1*	-0,59 ± 0,1*	0,393
<b>Relação cintura estatura</b>	-1,1 ± 0,1*	-1,2 ± 0,2*	-0,7 ± 0,1*	0,215
<b>Glicose (mg/dL)</b>	4,0 ± 1,8*	2,5 ± 2,7	4,9 ± 1,7*	0,737
<b>Insulina (µU/mL)</b>	0,2 ± 1,4	-0,3 ± 0,6	-0,6 ± 0,7	0,417
<b>HOMA-IR</b>	0,1 ± 0,3	-0,09 ± 0,2	-0,001 ± 0,1	0,368
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	-13,8 ± 5,9*	-2,8 ± 7,0	-11,0 ± 7,8	0,585
<b>LDL-c (mg/dL)</b>	-9,2 ± 5,3	0,8 ± 5,9	1,5 ± 7,5	0,412
<b>VLDL-c (mg/dL)</b>	-1,2 ± 2,0	-0,85 ± 1,9	-3,27 ± 2,6	0,274
<b>HDL-c (mg/dL)</b>	-4,0 ± 1,3*	-2,8 ± 1,7*	-3,0 ± 1,2*	0,842
<b>Colesterol total:HDL-c</b>	-0,004 ± 0,1	0,30 ± 0,1*	0,09 ± 0,1	0,349
<b>LDL-c:HDL-c</b>	-0,05 ± 0,1	0,31 ± 0,1*	0,31 ± 0,1	0,144
<b>Colesterol não-HDL</b>	-11,8 ± 5,7	0,0 ± 5,9	-8,0 ± 7,2	0,408
<b>Triacilgliceróis (mg/dL)</b>	14,6 ± 17,7	-27,9 ± 14,9*	-28,8 ± 13,0*	0,081
<b>PCR-us (mg/L)</b>	0,5 ± 0,4	-0,1 ± 0,1	-0,05 ± 0,2	0,259

Os valores são média e erro da média. O valor de *p* refere-se à comparação das características basais entre os grupos experimentais (ANOVA ou Kriskal-Walis; p<0,05). Os valores com diferença estatística significativa estão indicados por letras. \* indica diferença entre os valores final e inicial. CT, grupo controle; AC, grupo amendoim convencional; AO, grupo amendoim alto-oleico; IMC, índice de massa corporal; HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina; LDL-c; lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c, lipoproteína de muito baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; PCR-us, proteína C-reativa ultrassensível

A redução observada na concentração de HDL-c foi significativa em todos os grupos. O VLDL também apresentou redução em sua concentração em todos os grupos,

porém, sem significância estatística. O LDL-c e colesterol total reduziram apenas no grupo CT -10,5% ( $p>0,05$ ) e -8,4% ( $p<0,05$ ) respectivamente. As taxas, Colesterol total:HDL-c e LDL-c:HDL-c reduziram de forma não significativa no grupo CT -0,09% e -2,3%, enquanto no grupo AC aumentaram 6,5% e 7,7% respectivamente ( $p<0,05$ ). O colesterol não-HDL reduziu nos grupos AO (-5,6%) e CT (-8,0%) ( $p>0,05$ ). As concentrações de triacilglicerol e PCR-us reduziram apenas nos grupos que consumiram amendoim, porém, essa redução só foi significativa para o triacilglicerol.



**Figura 2.** Média das dosagens em jejum dos marcadores de estresse oxidativo. As diferenças entre os grupos experimentais estão indicadas por letras (ANOVA ou Kruskal-Wallis,  $p<0,05$ ). \* significa diferença entre os valores final e inicial (Teste T ou Wilcoxon,  $p<0,05$ ). **A**, concentração de óxido nítrico (ON); **B**, concentração de Malondialdeído (MDA); **C**, atividade da Superóxido dismutase (SOD); **D**, atividade da glutathione S-transferase; **E**, taxa MDA:SOD; **F**, taxa MDA: GST.

Após o período de intervenção MDA e a taxa MDA:SOD apresentaram-se significativamente menores no grupo CT em relação aos grupos AO e AC. As

concentrações de ON não diferiram dentro ou entre grupos. A atividade das enzimas SOD e GST não apresentaram alterações significativas, porém a atividade da SOD reduziu ligeiramente nos grupos que consumiram amendoim (AC, -7,2% ; AO, -6,3%), enquanto a atividade da GST apresentou aumento nos grupos CT (4,1%) e AO (13,6%) e redução no grupo AC (-0,1%) ( $p > 0,05$ ) (Figura 2).

## Discussão

No presente estudo, o consumo diário de 56g de AAO ou ACO não prejudicou a perda de peso ao ser oferecido em paralelo a uma dieta hipocalórica, apesar disso, seus efeitos em marcadores cardiometabólicos não foram superiores aos da dieta isenta de oleaginosas. Além disso, a inserção de amendoins na dieta não interferiu de forma expressiva no estado antioxidante dos voluntários.

O excesso de peso e a obesidade estão associados ao desenvolvimento de comorbidades e ao maior risco de doença cardiovascular (DCV), dessa forma, uma redução de 5-10% do peso corporal pode contribuir para a diminuição do risco de DCV (CANNON, 2007). Em nosso estudo, nós observamos uma redução média de 1,5kg (1,6%) de peso corporal nos grupos que consumiram amendoim, superior à perda de peso prevista pela dieta, que era de aproximadamente 1kg. Outros estudos clínicos têm sugerido que o consumo de *nuts* paralelo à restrição calórica pode favorecer a perda de peso, possivelmente por aumentar a saciedade e a termogênese (IBARROLA-JURADO et al., 2013; ALVES et al., 2014a; 2014b). Além disso, apesar de densamente calóricas, a incompleta mastigação das *nuts* prejudica a absorção e promove maior excreção fecal de gordura (IBARROLA-JURADO et al., 2013).

O índice de adiposidade RCE é um marcador com maior sensibilidade para prever risco cardiometabólicos do que o IMC ou perímetro da cintura (ASHWELL; HSIEH, 2005; ASHWELL; GUNN; GIBSON, 2012). No presente estudo, foi observado redução significativa na RCE em todos os grupos, independentemente da perda de peso, visto que a maior redução na RCE foi observada no grupo AC, o qual apresentou menor redução de peso corporal. De forma semelhante, a gordura abdominal também diminuiu em todos os grupos, como verificado pelo menor perímetro da cintura e diâmetro sagital, contribuindo para a redução do risco cardiovascular.

O efeito das *nuts* sobre a sensibilidade à insulina, está intimamente relacionado com mudanças no peso corporal (BARBOUR et al., 2015). Apesar de não significativa,

a redução do HOMA-IR e insulina observada nos grupos que consumiram amendoim foram provavelmente influenciadas pela perda de peso e aumento na ingestão AGMI. Embora as concentrações de glicose tenham aumentado após a intervenção, todos os grupos permaneceram dentro do limite de normalidade. Barbour et al. (2015), também observaram associação entre o consumo de AGMI e redução de insulina após 12 semanas de intervenção com amendoim do cultivar alto oleico (BARBOUR et al., 2015). Uma recente revisão, demonstrou melhora da sensibilidade à insulina e regulação da glicose após o consumo de dietas ricas em AGMI tanto por indivíduos saudáveis quanto por indivíduos diabéticos (GILLINGHAM; HARRIS-JANZ; JONES, 2011). Entre os mecanismos envolvidos nesse efeito estão a possível alteração na composição de ácidos graxos da membrana celular promovida pela ingestão de AGMI (DIMOPOULOS et al., 2006). Tal alteração, possui efeito funcional sobre a permeabilidade e fluidez da membrana, que passa a apresentar maior afinidade ao receptor de insulina e aumentar a expressão dos transportadores de glicose (WEICKERT, 2012).

Estudos clínicos mostram que a redução de triacilgliceróis promovida pelo consumo de alimentos fonte de AGMI é mais eficaz quando esse marcador apresenta-se elevado (SABATE; ODA; ROS, 2014). Tal fato, condiz com o resultado do presente estudo que mostra redução significativa de triacilglicerol nos grupos que consumiram amendoim (AO, -18,4%; AC, -17,4%), os quais apresentavam concentração média superior a 150mg/dL no *baseline*. Uma possível explicação é fato de a degradação do triacilglicerol pela enzima lipoproteína lipase (LPL) exibir especificidade pelo substrato, onde são degradados preferencialmente triacilgliceróis compostos por ácidos graxos de cadeia longa com insaturações, justificado pela presença principalmente AGMI no amendoim, especialmente o ácido graxo oleico (C18:1n9) (WANG; HARTSUCK; MCCONATHY, 1992; PERONA et al., 2010). Dessa forma, sugerimos que o consumo de amendoim pode ter desempenhado um papel ativo na redução dos triacilgliceróis plasmáticos.

O estudo NHANES 1999–2004, mostrou que o consumo de *nuts*, incluindo amendoins estava associado com um risco 20% menor de redução no HDL-c (O'NEIL et al., 2011). No PREDIMED, após três meses de acompanhamento os voluntários apresentaram redução de triacilgliceróis e aumento de HDL-c posterior ao consumo da dieta do mediterrâneo enriquecida com *nuts* (ESTRUCH et al., 2006). Coelho et al. (2006), também encontraram aumento nas concentrações de HDL-c em indivíduos com excesso de peso após o consumo de óleo de amendoim por 4 semanas (COELHO et al.,

2006). Contrariamente, nós observamos redução significativa de HDL-c em todos os grupos. Corroborando com Berryman et al. (2015) que também encontraram redução significativa nas concentrações de HDL-c após o consumo diário de aproximadamente 50g de *nuts* por indivíduos com excesso de peso (BERRYMAN et al., 2015). Além disso, alguns estudos prospectivos não tem verificado associação entre as concentrações de HDL-c e o consumo de *nuts*, embora tal lipoproteína possua função cardioprotetora, e seu aumento seja frequentemente associados ao consumo de *nuts* (IBARROLA-JURADO et al., 2013; SABATE; ODA; ROS, 2014).

As mudanças nas concentrações de VLDL em resposta ao consumo de dieta enriquecida com *nuts*, mostram resultados discordantes em alguns estudos clínicos (MERCANLIGIL et al., 2007; SHERIDAN et al., 2007). Nós observamos redução do VLDL em todos os grupos, embora de forma não significativa, sendo o maior percentual de redução no grupo AO (-11,3%). Em contrapartida o colesterol total reduziu apenas no grupo CT condizente. Apesar do aumento médio de 0,9% observado nos grupos que consumiram amendoim, as concentrações finais de LDL-c permaneceram dentro do limite de normalidade.

As mudanças nas taxas colesterol total:HDL-c e LDL-c:HDL-c são consideradas melhores preditores do risco cardiovascular do que mudanças somente no LDL-c (MERCANLIGIL et al., 2007). Quando as taxas colesterol total:HDL-c e LDL-c:HDL-c apresentam-se superiores a 4,5 e 3,5 respectivamente, o risco cardiovascular é aumentado (MAHLEY et al., 1995). Em nosso estudo, ao final da intervenção, houve aumento significativo em ambas as taxas no grupo AC, porém, somente o colesterol total:HDL-c excedeu o limite de 4,5, favorecendo um estado pró-aterogênico. Esses resultados devem-se principalmente à redução significativa de HDL-c observada em todos os grupos. Em contrapartida, Mercanligil et al. (2007), observaram que o consumo de *nuts* por um período de três semanas foi eficaz na redução tanto do colesterol total:HDL-c quanto do LDL-c:HDL-c em homens adultos hipercolesterolêmicos (MERCANLIGIL et al., 2007). Recentes evidências também indicam que o colesterol não-HDL é um preditor de risco mais sensível para DCV do que LDL-c isoladamente, uma vez que engloba todas as partículas aterogênicas contendo colesterol, incluindo o próprio LDL-c e VLDL (DOW et al., 2013). Entretanto, nenhum dos grupos apresentou alteração significativa no colesterol não-HDL-c, embora ele tenha reduzido nos grupos CT e AO -8,0% e -5,6% respectivamente.

Frequentemente, PCRus é utilizada como um marcador de risco cardiovascular por estar envolvida na origem da lesão aterogênica, podendo reduzir a expressão de ON, síntese de prostaciclina, e se ligar ao LDL-c promovendo maior agregação de macrófagos, um passo essencial na aterogênese (RIDKER; MORROW, 2003; YOUNG; RIFAI, 2009). Além disso, também regula a expressão de moléculas de adesão em células endoteliais (RIDKER; MORROW, 2003). Embora não significativa, no presente estudo verificou-se um aumento médio de 40% na concentração plasmática de PCRus no grupo CT, enquanto os grupos que consumiram amendoim reduziram em média 8,0% a concentração de PCRus plasmático, possivelmente tal comportamento deve-se à capacidade anti-inflamatória dos AGMI, especialmente ácido graxo oleico (SALVADÓ et al., 2013). De forma semelhante, um estudo de coorte verificou que indivíduos que aderiram à dieta do mediterrâneo, apresentaram redução de 20% na concentração de PCRus (CHRYSOHOOU et al., 2004).

Entre os marcadores de estresse oxidativo avaliados, somente o MDA apresentou diferença estatística entre os grupos, mostrando-se menor no grupo CT. Além disso, após a intervenção, esse grupo também reduziu significativamente as concentrações de MDA em relação ao *baseline*. Uma possível explicação inclui o menor consumo de gordura total observado no grupo CT em relação aos grupos AO e AC. Embora o consumo de amendoins por quatro semanas não tenha reduzido o MDA plasmático, estudos prévios mostram que o consumo de *nuts*, reduzem a peroxidação lipídica por aumentar a ingestão de vitamina E, AGMI e polifenóis (HADDAD et al., 2006; JENKINS et al., 2008). Entretanto, vale ressaltar que apesar de alta concentração de gordura insaturada, o consumo de AAO não ocasionou aumento nas concentrações de MDA. Condizente com o resultado anterior, a taxa MDA:SOD, interpretada como um índice do estresse oxidativo (SKRHA et al., 1999), apresentou significativa redução no grupo CT, reflexo da expressiva diminuição de MDA e não por aumento na atividade enzimática da SOD.

Estudos de intervenção com *nuts* ou mesmo amendoim que avaliem a atividade enzimática da SOD ainda são escassos. No presente estudo, não foi observada alteração na atividade desta enzima. Da mesma forma, a atividade da GST também mostrou-se pouco afetada após o consumo de amendoim. Acreditamos que o constante fornecimento de antioxidantes não enzimáticos por meio do consumo diário de amendoim pode ter evitado o aumento das concentrações de radicais livres e contribuído para o equilíbrio do estado antioxidante. Dessa forma, não houve formação de produtos oxidativos e conseqüentemente, não houve estímulo para o aumento das concentrações de enzimas

antioxidantes. Tal hipótese é reforçada pelo comportamento dos marcadores avaliados, que mostram modesta redução nas concentrações de ON nos grupos que consumiram amendoim, seguido da pouca alteração na atividade das enzimas SOD e GST, além de não ter sido observado mudanças relevantes nas concentrações de MDA como apresentado anteriormente. Entretanto, a avaliação de outros marcadores que reforçassem nossa hipótese não foi objetivo do estudo.

Condizentes com nossos resultados, ao avaliar o efeito do consumo de *nuts* em indivíduos com síndrome metabólica Davis et al. (2007) verificaram melhora da capacidade antioxidante total, que reflete o aumento das concentrações de antioxidantes não enzimáticos no plasma, entretanto, não foram observadas alteração na atividade da glutathione peroxidase ou glutathione reductase (DAVIS et al., 2007). Além disso, a maioria dos voluntários do presente estudo, não apresentavam comorbidades associadas ao excesso de peso o que poderia estar acompanhado de um estado antioxidante mais equilibrado. Dessa forma, o impacto do consumo do amendoim, pode ter sido minimizado, uma vez que intervenções com *nuts* parecem reduzir o estresse oxidativo de forma mais eficiente em indivíduos com maior alteração oxidativa (LI et al., 2007).

O presente estudo apresenta algumas limitações. O fato de nossos voluntários não apresentarem comorbidades prejudicou a avaliação do efeito do amendoim sobre fatores de risco cardiometabólicos, uma vez que, apesar de obesos, a maioria dos nossos voluntários não apresentavam alterações associadas ao excesso de peso. A não avaliação dos antioxidantes não enzimáticos do amendoim, também é um fator limitante já que eles também interferem em parâmetros metabólicos e principalmente no estresse oxidativo. Apesar disso, o consumo de outras oleaginosas que pudessem interferir nos resultados do estudo foram bem controlados e todos os voluntários seguiram adequadamente o protocolo do estudo.

Em conclusão, no presente estudo, o consumo de amendoim promoveu benefícios cardiometabólicos adicionais em relação à dieta controle. Os grupos que consumiram amendoim apresentaram benefícios adicionais em relação ao grupo CT, como redução de triacilgliceróis e, ainda que não significativo, redução nas concentrações de PCR, insulina e HOMA-IR. Porém, nossos resultados devem ser interpretados com cautela, considerando a presença de resultados contraditórios importantes, como a redução de HDL-c observada em todos os grupos, seguido do aumento de aproximadamente 1% de LDL-c nos grupos teste. Além disso, não foi observado diferença relevante entre o efeito do consumo de AAO ou ACO sobre os marcadores cardiometabólicos. Quanto ao estresse

oxidativo, não houve alteração significativa em nenhum dos marcadores avaliados, entretanto, o consumo de amendoim pode ter contribuído para a manutenção do equilíbrio no estado antioxidante uma vez que não foi observada alteração na atividade das enzimas antioxidantes avaliadas e na concentração do MDA, enquanto o ON apresentou modesta redução apenas nos grupos que consumiram amendoim.

## Referências Bibliográficas

ALVES, R. D. M. et al. Regular intake of high-oleic peanuts improves fat oxidation and body composition in overweight/obese men pursuing a energy-restricted diet. **Obesity**, v. 22, n. 6, p. 1422–1429, 2014a.

ALVES, R. D. M. et al. High-oleic peanuts increase diet-induced thermogenesis in overweight and obese men. **Nutrición hospitalaria**, v. 29, n. 5, p. 1024–32, jan. 2014b.

ALVES, R. D. et al. High-oleic peanuts: New perspective to attenuate glucose homeostasis disruption and inflammation related obesity. **Obesity**, v. 22, n. 9, p. 1981–1988, set. 2014c.

ASCASO, J. F. et al. Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética. **Medicina Clínica**, v. 117, n. 14, p. 530–533, 2001.

ASHWELL, M.; GUNN, P.; GIBSON, S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: Systematic review and meta-analysis. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 3, p. 275–286, 2012.

ASHWELL, M.; HSIEH, S. D. Six reasons why the waist-to-height ratio is a rapid and effective global indicator for health risks of obesity and how its use could simplify the international public health message on obesity. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 56, n. 5, p. 303–307, 2005.

BARBOUR, J. et al. Effect of 12 Weeks High Oleic Peanut Consumption on Cardio-Metabolic Risk Factors and Body Composition. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7381–7398, 2015.

BERRYMAN, C. E. et al. Effects of Daily Almond Consumption on Cardiometabolic Risk and Abdominal Adiposity in Healthy Adults With Elevated LDL-Cholesterol: A Randomized Controlled Trial. **Journal of the American Heart Association**, v. 4, n. 1, p. e000993–e000993, 2015.

BUEGE, J. A.; AUST, S. Microsomal Lipid Peroxidation. **Enzymol**, v. 52, p. 302 – 310, 1975.

CANNON, C. P. Cardiovascular disease and modifiable cardiometabolic risk factors. **Clin Cornerstone**, v. 8, n. 3, p. 11–28, 2007.

CHRYSOHOOU, C. et al. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA study. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 44, n. 1, p. 152–158, 2004.

COELHO, S. B. et al. Effects of peanut oil load on energy expenditure, body composition, lipid profile, and appetite in lean and overweight adults. **Nutrition**, v. 22, n. 6, p. 585–592, 2006.

DAVIS, L. et al. The effects of high walnut and cashew nut diets on the antioxidant status of subjects with metabolic syndrome. **European Journal of Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 155–164, 2007.

DIMOPOULOS, N. et al. Differential effects of palmitate and palmitoleate on insulin action and glucose utilization in rat L6 skeletal muscle cells. **The Biochemical journal**, v. 399, n. 3, p. 473–481, 2006.

DOW, C. A et al. Predictors of improvement in cardiometabolic risk factors with weight loss in women. **Journal of the American Heart Association**, v. 2, n. 6, p. e000152, 2013.

DUARTE MOREIRA ALVES, R. et al. High-oleic peanuts increase diet-induced thermogenesis in overweight and obese men. **Nutrición hospitalaria**, v. 29, n. 5, p. 1024–32, jan. 2014.

ESTRUCH, R. et al. Effects of a Mediterranean-Style Diet on Cardiovascular Risk Factors. **Annals of Internal Medicine**, v. 145, n. 1, p. 1, 4 jul. 2006.

GILLINGHAM, L. G.; HARRIS-JANZ, S.; JONES, P. J. H. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. **Lipids**, v. 46, n. 3, p. 209–228, 2011.

GRISHAM, B.; JOHNSON, G.; LANCASTER, J. Quantitation of Nitrate and Nitrite in Extracellular Fluids. **Methods**, v. 268, n. 1986, p. 237–246, 1996.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-Transferases: The First Enzymatic Step In Mercapturic Acid Formation. **J. Biol. Chem**, n. 22, p. 7130–7139, 1974.

HADDAD, E. et al. A pecan-enriched diet increases ??-tocopherol/cholesterol and decreases thiobarbituric acid reactive substances in plasma of adults. **Nutrition Research**, v. 26, n. 8, p. 397–402, 2006.

HARGROVE, R. L. et al. Low fat and high monounsaturated fat diets decrease human low density lipopro ... n. March, p. 1758–1763, 2001.

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, p. 1–8, 2013.

- JENKINS, D. J. A et al. Almonds reduce biomarkers of lipid peroxidation in older hyperlipidemic subjects. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 5, p. 908–913, 2008.
- KALRA, S.; ROITMAN, J. L. Selected abstracts from recent publications in cardiopulmonary disease prevention and rehabilitation. **Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention**, v. 30, n. 3, p. 203–204, 2010.
- KING, J. C. et al. Tree nuts and peanuts as components of a healthy diet. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 9, p. 1736S–1740S, 2008.
- KRIS-ETHERTON, P. M. et al. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 9, p. 1746S–1751S, 2008.
- LI, N. et al. Almond Consumption Reduces Oxidative DNA Damage and Lipid Peroxidation in. n. August, p. 2717–2722, 2007.
- LÓPEZ-URIARTE, P. et al. Nuts and oxidation: A systematic review. **Nutrition Reviews**, v. 67, n. 9, p. 497–508, 2009.
- MAHLEY, R. W. et al. Turkish Heart Study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. **Journal of Lipid Research**, v. 36, n. 4, p. 839–59, 1995.
- MARANHÃO, P. A. et al. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. **Nutrition & metabolism**, v. 8, n. 1, p. 32, 2011.
- 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 / FEBS**, v. 47, n. 3, p. 469–474, 1974.
- MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412–419, 1985.
- MERCANLIGIL, S. M. et al. Effects of hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adult men. **European journal of clinical nutrition**, v. 61, n. 2, p. 212–220, 2007.
- O'NEIL, C. E. et al. Nut consumption is associated with decreased health risk factors for cardiovascular disease and metabolic syndrome in U.S. adults: NHANES 1999-2004. **J Am Coll Nutr**, v. 30, n. 6, p. 502–510, 2011.
- PERONA, J. S. et al. Reduction in systemic and VLDL triacylglycerol concentration after a 3-month Mediterranean-style diet in high-cardiovascular-risk subjects. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 21, n. 9, p. 892–898, 2010.
- RIDKER, P. M.; MORROW, D. A. **C-reactive protein, inflammation, and coronary risk. Cardiology clinics**, 2003.

SABATE, J.; ODA, K.; ROS, E. Nut consumption and lipid levels. **Arch Intern Med**, v. 170, n. 9, p. 821–827, 2014.

SALVADÓ, L. et al. Oleate prevents saturated-fatty-acid-induced ER stress, inflammation and insulin resistance in skeletal muscle cells through an AMPK-dependent mechanism. **Diabetologia**, v. 56, n. 6, p. 1372–82, jun. 2013.

SCARBOROUGH, R. M.; KLEIMAN, N. S.; PHILLIPS, D. R. Lowering LDL Cholesterol. p. 96–103, 1999.

SHERIDAN, M. J. et al. Pistachio nut consumption and serum lipid levels. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 2, p. 141–8, 2007.

SKRHA, J. et al. Insulin action and fibrinolysis influenced by vitamin E in obese Type 2 diabetes mellitus. **Diabetes research and clinical practice**, v. 44, n. 1, p. 27–33, 1999.

WANG, C. S.; HARTSUCK, J.; MCCONATHY, W. J. Structure and functional properties of lipoprotein lipase. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1123, p. 1–17, 1992.  
WEICKERT, M. O. Nutritional modulation of insulin resistance. **Scientifica**, v. 2012, p. 424780, 2012.

YOUNG, I.; RIFAI, N. **High-Sensitivity C-Reactive Protein and Clinical Chemistry**, 2009.

## CONCLUSÕES GERAIS

Nós observamos que o consumo diário de amendoim paralelo a uma dieta restrita em calorias, pode trazer benefícios ao estado inflamatório, composição corporal e melhorar alguns marcadores de risco cardiometabólico em homens com sobrepeso e obesidade. A inserção de 56 g de amendoim à dieta, promoveu redução na concentração plasmática de TNF pós-prandial, que juntamente com a perda de peso e redução da gordura abdominal, podem ter contribuído para a modesta melhora na sensibilidade à insulina observada nos grupos que consumiram amendoim. A composição corporal após a intervenção foi positivamente influenciada pelo consumo de amendoim, especialmente do cultivar alto oleico, visto que os grupos AC e AO apresentaram maior redução de gordura e menor perda de massa magra. Embora seja fonte de antioxidantes não enzimáticos, o consumo regular de amendoim não interferiu na atividade de nenhuma das enzimas antioxidantes avaliadas, provavelmente por ter promovido um equilíbrio no estado antioxidante dos participantes do presente estudo, considerando que não foi observado alterações relevante nas concentrações de ON ou MDA nos grupos que consumiram amendoim. Conclui-se então, que o consumo diário de amendoim apresenta benefícios à saúde, porém, mais estudos são necessários afim de melhor avaliar seu efeito sobre inflamação, risco cardiometabólico e estresse oxidativo. Dessa forma seu consumo poderá ser inserido como parte da dieta destinada a indivíduos com excesso de peso.

ANEXO 1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

*Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-000 - Telefone: (31) 3899-1269*

Of. Ref. Nº 185/2011/Comitê de Ética

Viçosa, 16 de dezembro de 2011.

Prezada Professora:

Cientificamos V. S<sup>a</sup>. de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em sua 9ª Reunião de 2011, realizada nesta data, analisou e aprovou, sob o aspecto ético, o projeto intitulado *Efeitos do consumo de amendoim na composição corporal, metabolismo energético, apetite, marcadores de inflamação e do estresse oxidativo e na microbiota e permeabilidade intestinal em obesos.*

Atenciosamente,

  
Professora Patrícia Aurélio Del Nero

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos  
Presidente

À Professora  
Rita de Cássia Gonçalves Alfenas  
Departamento de Nutrição e Saúde

/rhs.

**ANEXO 2**



Rec: \_\_\_\_\_ Proj: \_\_\_\_\_

**QUESTIONÁRIO DE SELEÇÃO**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone Casa: \_\_\_\_\_ Trabalho: \_\_\_\_\_ Cel: \_\_\_\_\_

E-mail: \_\_\_\_\_

Escolaridade: \_\_\_\_\_

Ocupação: \_\_\_\_\_

Você ou seus familiares já apresentaram ou apresentam algumas destas doenças:

	<b>Estado Atual</b>				
	Nunca	Data diagnóstico	Pouco controlado	Bem controlado	Curado
Doença cardiovascular					
Diabetes					
Hipoglicemia					
Hipertensão arterial					
Câncer					
Anorexia/Bulimia					
Doenças psiquiátricas					
Anemia					
Osteoporose					
Tireoidopatas					
Doença renal					
Doença celíaca					
Doença intestinal crônica					
Outras doenças *					

\*Especifique: \_\_\_\_\_

Você faz uso de algum medicamento? ( ) Não ( ) Sim

Quais: \_\_\_\_\_

Você tem alguma alergia a medicamentos, alimentos ou outras substâncias, ou alguém de sua família já apresentou algum tipo de alergia? ( ) Não ( ) Sim

Se sim, quais: \_\_\_\_\_ -

\_\_\_\_\_

Sintomas: \_\_\_\_\_

\_ Você fuma ou usa outro tipo de fumo, se sim qual frequência? ( ) Não ( ) Sim

Quais: \_\_\_\_\_

Você pratica atividades físicas regulares?

( ) Não ( ) Sim

Quais: \_\_\_\_\_

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?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Quais os alimentos que você mais gosta?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

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

Antropometria, PA, Bioquímicos		BIA	TANITA
Estatura		Gordura (%)	Gordura (%)
Peso		Gordura (kg)	TMB (kcal/dia)
IMC		MM (kg)	Resistência
CC (ponto médio)		TMB (kcal/dia)	Gordura (kg)
CC (Cicatriz)		Água (L)	MM (kg)
CC (menor curva)		Água (% peso)	Água (kg)
CC (sobre crista)		Água (% MM)	
CQ		Resistência	
C. Coxa			
C. Pescoço			
DAS ponto médio			
DAS cicatriz			
DAS menor curva			
DAS sobre crista			
Pressão Arterial			
Colesterol			
Triglicerídeo			
Glicose			

( ) Perdeu \_\_\_Kg ( ) Ganhou \_\_\_Kg

Qual o maior peso que você já teve e com que idade? Peso: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Qual o menor peso que você já teve e com que idade? Peso: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

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

Uma variação de 3 kg afetaria o modo como você vive hoje?

( ) Nada ( ) Um pouco ( ) Moderadamente ( ) Muito

**ANEXO 3 - A**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Estou ciente de que:

1. Os procedimentos que serão adotados na pesquisa “Efeitos do consumo de amendoim na composição corporal, metabolismo energético, apetite, marcadores de inflamação e do estresse oxidativo e na microbiota e permeabilidade intestinal em obesos” consistem em: aplicação de questionários para obtenção de dados pessoais e sobre a ingestão alimentar e o nível de atividade física; avaliações antropométricas não invasivas (peso, altura, circunferência da cintura e do quadril e, avaliação da composição corporal); de medida da pressão arterial; de exames de sangue (por punção digital e venosa); coleta de urina e de fezes; e consumo diário ou não de um alimento teste durante o estudo. O estudo completo terá duração de 4 semanas consecutivas.
2. Como participante do estudo não serei submetido a nenhum tipo de intervenção que possa causar danos à minha saúde, visto que as condutas a serem adotadas objetivam a promoção da mesma e são respaldadas na literatura científica.
3. Estou ciente de que não terei nenhum tipo de vantagem econômica ou material por participar do estudo, além de poder abandonar a pesquisa em qualquer etapa do desenvolvimento, sem qualquer prejuízo.
4. Estou em conformidade que meus resultados obtidos estarão disponíveis para a agência financeira e para a equipe envolvida na pesquisa e poderão ser publicados com a finalidade de divulgação das informações científicas obtidas, sempre resguardando minha individualidade e identificação.

De posse de todas as informações necessárias, concordo em participar do projeto.

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

\_\_\_\_\_ *Voluntário*

*Profa. Neuza Maria Brunoro Costa*  
(Responsável pelo projeto)

*Profa. Rita de Cássia G. Alfenas*  
(Responsável pelo projeto)

*Raquel Duarte Moreira Alves*  
(Doutoranda)

*Ana Paula Boroni Moreira*  
(Doutoranda)

## ANEXO 3 - B

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **1- Título do estudo**

Efeitos do consumo de amendoim na composição corporal, metabolismo energético, apetite, marcadores de inflamação e do estresse oxidativo e na microbiota e permeabilidade intestinal em obesos

#### **2- Objetivo do estudo**

Avaliar os efeitos do consumo de amendoim convencional e do amendoim rico em ácido graxo oléico na composição corporal, metabolismo energético, apetite, marcadores de inflamação e do estresse oxidativo e na microbiota e permeabilidade intestinal em por meio de um estudo de intervenção nutricional, randomizado e controlado que se realizará com homens com obesidade grau I.

#### **3- Local de execução**

O projeto será desenvolvido no Laboratório de Metabolismo Energético e Composição Corporal (LAMECC) no Departamento de Nutrição e Saúde.

#### **4- Nomes e número do telefone da equipe envolvida no projeto**

Professores responsáveis: Rita de Cássia Gonçalves Alfenas – 31 38993740

Neuza Maria Brunoro Costa – 28 35528656

Josefina Bressan – 31 38992692

Doutorandas executoras: Raquel Duarte M. Alves – 31 91207685 / 31 38993388

Ana Paula Boroni Moreira – 31 91413020 / 38993388

#### **5- Critérios de inclusão dos indivíduos**

A população do estudo será constituída por homens com idade entre 18 e 50 anos, com sobrepeso e obesidade grau I (IMC entre 27 e 34,9 kg/m<sup>2</sup>), com circunferência do quadril  $\geq$  90 cm, peso estável nos últimos três meses e que não apresentem aversão ou intolerância a amendoim. Ainda, para serem incluídos no estudo, os voluntários deverão apresentar bom estado de saúde, ou seja, ausência de doenças crônicas e agudas bem como glicemia, colesterolemia e trigliceridemia inferiores a 126, 240 e 150 mg/dL, respectivamente. Usuários regulares de medicamentos, bebida alcoólica e cigarros não poderão ser incluídos na pesquisa.

#### **6- Critérios de exclusão**

Indivíduos que não atendam os critérios de inclusão, e/ou que não concordem com os objetivos do estudo. Será excluído o voluntário que durante o estudo apresente algum efeito adverso que o impeça de continuar.

#### **7- Critérios de atendimento e assistência, assim como responsáveis**

Nos casos em que se identifique inadequação do estado nutricional, uma orientação individual, prescrição de dieta e acompanhamento nutricional será realizada pela equipe responsável.

#### **8- Descrição do estudo**

Neste estudo clínico cego-simples controlado, parte dos voluntários deverão consumir, durante 4 semanas, 56g de amendoim, outra parte não receberá alimento algum. A todos os voluntários será prescrita uma dieta hipocalórica e será solicitado mantenham o padrão de atividade física durante a intervenção. Dados de antropometria, composição corporal, gasto energético, ingestão alimentar, além de amostras de sangue e urina, serão coletados ao início e ao final da intervenção.

#### **9- Benefícios para os indivíduos**

Todos os voluntários incluídos ou não no estudo terão seu estado nutricional avaliado e receberão um plano alimentar individualizado, visando à redução de peso. Além disso, os participantes do estudo terão acesso aos seus dados de avaliação antropométrica, composição corporal e bioquímicos. Caso necessário, ao final do estudo, todos os voluntários receberão um novo plano alimentar individualizado, visando à redução de peso e adequação dos dados bioquímicos que se apresentarem fora dos níveis de normalidade.

#### **10- Riscos para os indivíduos**

Não existem riscos para a saúde dos participantes, pois os procedimentos invasivos serão realizados por pessoas treinadas. 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 colocar a agulha e formação de hematomas no local da entrada da agulha, algumas horas após o teste. Este técnico será orientado a ser o mais preciso possível para evitar estes incômodos aos participantes do estudo. O uso da bioimpedância elétrica e do DEXA para avaliação da composição corporal e do Deltatrac para avaliação de gasto energético não envolvem riscos. Os alimentos fornecidos no estudo serão elaborados com matéria prima de boa procedência e qualidade. E ainda, visando preservar a saúde dos voluntários, o amendoim fornecido terá níveis aceitáveis de aflatoxina assegurado por testes realizados por uma instituição credenciada à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.

#### **11- Direito dos indivíduos de recusar-se a participar ou retirar-se do estudo**

Todos os participantes terão total liberdade de recusar-se a participar ou retirar-se em qualquer momento do estudo, sem nenhuma penalização ou constrangimento

#### **12- Direito dos indivíduos à privacidade**

A aplicação dos questionários, coleta de dados secundários e a aferição das medidas antropométricas seguidas da análise e a divulgação dos resultados serão realizadas assegurando-se a privacidade dos participantes.

#### **13- Publicação de informações**

Os dados obtidos estarão disponíveis no Laboratório onde foi realizado o estudo e o voluntário terá acesso a partir de consulta à equipe envolvida na pesquisa. Na publicação destes dados serão mantidos os direitos assegurados no item 12.

#### **14- Informação financeira**

Não haverá nenhuma forma de contrato de trabalho ou remuneração para com os participantes envolvidos.

#### **15- Dano à saúde**

A metodologia aplicada não acarreta nenhum dano à saúde dos participantes. A equipe de trabalho não se responsabiliza por informações não prestadas pelo avaliado, que possam interferir na sua saúde.

**Todos os pontos levantados neste Termo de Consentimento foram discutidos comigo e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. De posse de todas as informações necessárias, concordo em participar do projeto.**

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Voluntário \_\_\_\_\_

*Profa. Neuza Maria Brunoro Costa*  
(Responsável pelo projeto)

*Profa. Rita de Cássia G. Alfenas*  
(Responsável pelo projeto)

*Raquel Duarte Moreira Alves*  
(Doutoranda)

*Ana Paula Boroni Moreira*  
(Doutoranda)

## ANEXO 4



### QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA



Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Quantas horas você trabalha por dia: \_\_\_\_\_

Quantos anos completos você estudou: \_\_\_\_\_

Para responder as questões lembre que:

- Atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal
- Atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal

#### SEÇÃO 1- ATIVIDADE FÍSICA NO TRABALHO

Esta seção inclui as atividades que você faz no seu serviço, que incluem trabalho remunerado ou voluntário, as atividades na escola ou faculdade e outro tipo de trabalho não remunerado fora da sua casa. **NÃO** incluir trabalho não remunerado que você faz na sua casa como tarefas domésticas, cuidar do jardim e da casa ou tomar conta da sua família. Estas serão incluídas na seção 3.

**1a.** Atualmente você trabalha ou faz trabalho voluntário fora de sua casa?

( ) Sim ( ) Não – Caso você responda não

**Vá para seção 2: Transporte**

As próximas questões são em relação a toda a atividade física que você fez na **última semana** como parte do seu trabalho remunerado ou não remunerado. **NÃO** inclua o transporte para o trabalho. Pense unicamente nas atividades que você faz por **pelo menos 10 minutos contínuos**:

**1b.** Em quantos dias de uma semana normal você **anda**, durante **pelo menos 10 minutos contínuos**, como **parte do seu trabalho**? Por favor, **NÃO** inclua o andar como forma de transporte para ir ou voltar do trabalho.

CAM \_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) nenhum – **Vá para a seção 2 - Transporte.**

**1c.** Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** caminhando **como parte do seu trabalho**?

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

**1d.** Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades **moderadas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como carregar pesos leves **como parte do seu trabalho**?

MOD \_\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) nenhum - **Vá para a questão 1f**

**1e.** Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades moderadas **como parte do seu trabalho**?

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

Rec: \_\_\_\_\_ Proj: \_\_\_\_\_ Fase: \_\_\_\_\_

**1f.** Em quantos dias de uma semana normal você gasta fazendo atividades **vigorosas**, por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como trabalho de construção pesada, carregar grandes pesos, trabalhar com enxada, escavar ou subir escadas **como parte do seu trabalho**:

\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) nenhum - **Vá para a questão 2a.**  VIG

**1g.** Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades físicas vigorosas **como parte do seu trabalho**?

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

#### SEÇÃO 2 - ATIVIDADE FÍSICA COMO MEIO DE TRANSPORTE

Estas questões se referem à forma típica como você se desloca de um lugar para outro, incluindo seu trabalho, escola, cinema, lojas e outros.

**2a.** O quanto você andou na última semana de carro, ônibus, metrô ou trem?

\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) nenhum - **Vá para questão 2c**

**2b.** Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** andando de carro, ônibus, metrô ou trem?

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

Agora pense **somente** em relação a caminhar ou pedalar para ir de um lugar a outro na última semana.

**2c.** Em quantos dias da última semana você andou de bicicleta por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua o pedalar por lazer ou exercício)

\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para a questão 2e.**  MOD

**2d.** Nos dias que você pedala quanto tempo no total você pedala **POR DIA** para ir de um lugar para outro?

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

**2e.** Em quantos dias da última semana você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** para ir de um lugar para outro? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

\_\_\_\_ dias por **SEMANA**  
( ) Nenhum - **Vá para a Seção 3.**  CAM

**2f.** Quando você caminha para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta? (**NÃO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício)

\_\_\_\_ horas \_\_\_\_\_ minutos

**SEÇÃO 3 – ATIVIDADE FÍSICA EM CASA: TRABALHO, TAREFAS DOMÉSTICAS E CUIDAR DA FAMÍLIA.**

Esta parte inclui as atividades físicas que você fez na última semana na sua casa e ao redor da sua casa, por exemplo, trabalho em casa, cuidar do jardim, cuidar do quintal, trabalho de manutenção da casa ou para cuidar da sua família. Novamente pense **somente** naquelas atividades físicas que você faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**.

**3a.** Em quantos dias da última semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer, rastelar **no jardim ou quintal**.

dias por **SEMANA**  
 Nenhum - Vá para questão 3b.

**3b.** Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo no total você gasta **POR DIA** fazendo essas atividades moderadas **no jardim ou no quintal**?

horas  minutos

**3c.** Em quantos dias da última semana você fez atividades **moderadas** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer ou limpar o chão **dentro da sua casa**.

dias por **SEMANA**  
 Nenhum - Vá para questão 3d.

**3d.** Nos dias que você faz este tipo de atividades moderadas **dentro da sua casa** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

horas  minutos

**3e.** Em quantos dias da última semana você fez atividades físicas **vigorosas no jardim ou quintal** por pelo menos 10 minutos como carpir, lavar o quintal, esfregar o chão:

dias por **SEMANA**  
 Nenhum - Vá para a seção 4.

**3f.** Nos dias que você faz este tipo de atividades vigorosas **no quintal ou jardim** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

horas  minutos

**SEÇÃO 4- ATIVIDADES FÍSICAS DE RECREAÇÃO, ESPORTE, EXERCÍCIO E DE LAZER.**

Esta seção se refere às atividades físicas que você fez na última semana unicamente por recreação, esporte, exercício ou lazer. Novamente pense somente nas atividades físicas que faz **por pelo menos 10 minutos contínuos**. Por favor, **NÃO** inclua atividades que você já tenha citado.

**4a.** Sem contar qualquer caminhada que você tenha citado anteriormente, em quantos dias da última semana você caminhou **por pelo menos 10 minutos contínuos no seu tempo livre**?

dias por **SEMANA**  Nenhum - Vá para questão 4b

**4b.** Nos dias em que você caminha **no seu tempo livre**, quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

horas  minutos

**4c.** Em quantos dias da última semana você fez atividades **moderadas no seu tempo livre** por pelo menos 10 minutos, como pedalar ou nadar a velocidade regular, jogar bola, vôlei, basquete, tênis:

dias por **SEMANA**  
 Nenhum - Vá para questão 4d.

**4d.** Nos dias em que você faz estas atividades moderadas **no seu tempo livre** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

horas  minutos

**4e.** Em quantos dias da última semana você fez atividades **vigorosas no seu tempo livre** por pelo menos 10 minutos, como correr, fazer aeróbicos, nadar rápido, pedalar rápido ou fazer Jogging:

dias por **SEMANA**  
 Nenhum - Vá para seção 5.

**4f.** Nos dias em que você faz estas atividades vigorosas **no seu tempo livre** quanto tempo no total você gasta **POR DIA**?

horas  minutos

**SEÇÃO 5 - TEMPO GASTO SENTADO**

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

**5a.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana**?

horas  minutos

**5b.** Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana**?

horas  minutos

O espaço abaixo será preenchido pelo pesquisador (Por favor, não preencha)

Resultado:

Caminhada		Ativ. moderada		Ativ. vigorosa	
Frequên	Duração	Frequên	Duração	Frequên	Duração

Classificação:

Sedentário  Irregularmente ativo A  
 Irregularmente ativo B  Ativo  Muito ativo

## ANEXO 5



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



### ORIENTAÇÕES PARA O PREENCHIMENTO DE REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS

**Preencha em 3 dias não consecutivos, sendo dois em dia de semana e um em final de semana**

- É importante que registre o horário em que os alimentos/bebidas foram consumidos;
- Indique as datas e os dias da semana dos registros;
- Você deve anotar todos os alimentos e as bebidas consumidos ao longo do dia, **exceto** água;
- Não se esqueça de anotar balas, bombons, chicletes, etc;
- Não se esqueça dos alimentos consumidos fora de casa;
- Anote tudo após a ingestão para que não se esqueça de nenhum alimento ou bebida e suas respectivas quantidades;
  - Você deve anotar o tipo de alimento e/ou bebida com o máximo de informações possíveis:
    - Para produtos industrializados, relate a marca e a quantidade (ex: Biscoito marca X, um pacote de XX g ou X unidades);
    - Indique se na preparação foi utilizado molho (creme de leite, vermelho, branco, queijo, rosê, madeira, shoyo, etc);
    - Indique o tipo de preparação (cru, cozido, ensopado, frito, refogado, assado, grelhado, à milanesa, empanado, etc); Ex: bife à milanesa;
    - Relate se as hortaliças são cruas, cozidas ou refogadas;
    - Relate se as hortaliças são em folhas, unidades, rodela, fatias, em cubos ou raladas;
    - Indique se o alimento ou a bebida é integral, desnatado, *light*, *diet*, sem açúcar, etc;
  - Para as quantidades, procure ser o mais exato possível:
    - Relate as medidas caseiras:
      - Colheres: café, chá, sobremesa, sopa, servir (arroz) ou escumadeira e concha (P, M, G);
      - Copo: descartável (cafézinho, xx ml), de geléia, americano (tipo lagoinha – boteco), duplo (tipo requeijão), tulipa de chopp, taça, de dose;
      - Xícara: cafézinho, chá ou caneca P, M, G (se possível colocar de quantos ml);
      - Prato: pires, de sobremesa, raso, fundo, cumbuca;
    - Informe se a medida utilizada estava cheia ou rasa. Ex: colher de sopa cheia;
    - Pode-se indicar apenas a unidade e tamanho. Ex: 1 coxinha tamanho festa / 2 fatias de pão / 1 gomo de lingüiça de porco frita.
  - Descreva bem as porções. Ex: 1 coxa média de frango, frita com pele;
  - Lembre-se de anotar bebidas alcoólicas e o que foi adicionado a elas. Ex: Caipivodka de limão com açúcar; run com coca light/comum;
  - Informe se adicionou açúcar, sal, azeite, manteiga, requeijão, margarina, catchup, maionese, geléia bem como a quantidade adicionada; Coloque o tamanho dos alimentos (P, M, G). Ex: 1 fatia pequena de melancia; 1 laranja média.

## ANEXO 6



Rec: \_\_\_\_\_ Proj: \_\_\_\_\_ Fase: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ Seg Ter Qua Qui Sex Sáb Dom  
Use o verso se necessário

<b>REFEIÇÃO HORÁRIO LOCAL</b>	<b>MEDIDA CASEIRA</b> Ex: 1 colher de sopa cheia	<b>Alimento</b> Ex: cenoura crua ralada
Horário:  Local:		
Horário:  Local:		
Horário:  Local:		
Horário:  Local:		
Horário:  Local:		
Horário:  Local:		