

NATÁLIA ELIZABETH GALDINO ALVES

**EFEITO DO CONSUMO DA RAÇÃO HUMANA NA DIVERSIDADE
BOTÂNICA DA DIETA E SOBRE OS MARCADORES DE RISCO
METABÓLICO EM MULHERES COM SOBREPESO E OBESIDADE**

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
2012**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A474e
2012

Alves, Natália Elizabeth Galdino, 1984-

Efeito do consumo da ração humana na diversidade botânica da dieta e sobre os marcadores de risco metabólico em mulheres com sobrepeso e obesidade / Natália Elizabeth Galdino Alves. – Viçosa, MG, 2012.

169f. : il. ; 29cm.

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: Sônia Machado Rocha Ribeiro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 132-152

1. Dieta. 2. Obesidade - Tratamento. 3. Peso corporal - Regulação. 4. Stress oxidativo. 5. Inflamação. 6. Nutrição. 7. Fitoquímicos. 8. Dieta de baixa caloria. 9. Emagrecimento. 10. Alimentos - Combinação. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 613.2

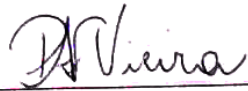
NATÁLIA ELIZABETH GALDINO ALVES

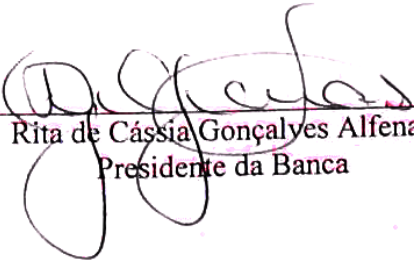
**EFEITO DO CONSUMO DA RAÇÃO HUMANA NA DIVERSIDADE
BOTÂNICA DA DIETA E SOBRE OS MARCADORES DE RISCO
METABÓLICO EM MULHERES COM SOBREPESO E OBESIDADE**

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: 20 de julho de 2012.


Helen Hermmana Miranda Hermsdorff


Patrícia Aparecida Fontes Vieira


Rita de Cássia Gonçalves Alfenas
Presidente da Banca

*“Lance seu coração sobre a barra, que seu corpo o acompanhará”
“Então você há de ver que os obstáculos não tinham tanta resistência assim”
Anônimo*

*Com imensa gratidão e amor, dedico este trabalho
aos meus pais, Geraldo e Cecília, aos meus irmãos
Guilherme e Nara, e ao Pedro*

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha fortaleza, por possibilitar a realização de meus desejos e me amparar nos momentos de dúvidas e incertezas.

Aos meus pais Geraldo Agostinho Alves dos Santos e Cecília Galdino Alves, meus exemplos de vida, determinação e amor. Minha eterna gratidão pelo apoio incondicional, pelos sacrifícios muitas vezes silenciados, pelas orações e carinho constante.

Aos meus irmãos Guilherme e Nara pelo companheirismo, amizade e tantos momentos de alegria.

Ao Pedro, pelo companheirismo, paciência, incentivo, dedicação e amor. E por ter suportado os momentos de distância nesses muitos anos de convivência.

A minha família, minha avó Zulmira (*in memória*), tias e tios, primos e primas, pelas orações, incentivo e carinho. Em especial, à tia Celina Galdino (*in memória*), por toda ajuda e dedicação.

Às minhas amigas, Tânia, Inês, Denise, Raquel, Ana Carolina, Ana Beatriz, Ivana, Lilian, Daniela, Naiá, Natália Reis, Geyza e meninas da república Indiscreta de Ouro Preto e da república de Viçosa, pela amizade e carinho.

À minha querida orientadora Sônia, pela excelente orientação, pelos inúmeros ensinamentos e oportunidades, pela convivência, amizade e confiança.

À Bárbara Nery. Faltam palavras para agradecer a importância de sua amizade e parceria, que nos permitiu realizar esse trabalho com dedicação e apreço.

Aos co-orientadores, Hércia Stampini Duarte Martino, Rita de Cássia Gonçalves Alfenas e Antônio Policarpo Souza Carneiro, por acreditarem no potencial desse trabalho e pelo auxílio imprescindível.

À professora Julie Cristie, pela excelente contribuição, disponibilidade e auxílio.

Às estagiárias: Marínisia, Natália, Vivian, Kellen, Isabela, Vanessa, e em especial à Olívia pela contribuição e apoio.

Às voluntárias, que participaram do estudo pela dedicação e confiança.

Aos funcionários do PSF Silvestre, pelo auxílio nas etapas desse projeto.

À Natália (LABIN/DNS) pela ajuda nas análises clínicas e pela disponibilidade.

À Fabiana (Laboratório de Nutrição Experimental/DNS), pelo auxílio nos experimentos e análises e pela amizade.

Às professoras Carla Barbosa, Ana Vlândia e Giana pelos ensinamentos e cordialidade.

Aos amigos do mestrado e doutorado, em especial Shaila, Érica, Carlos, Renata, Samanta, Graça, Júlia, Pâmela, José Luís, Ceres e Fabiana, pela amizade e excelentes momentos de descontração.

Aos funcionários, membros e parceiros dos Laboratórios de: Nutrição Experimental (DNS), Análise de Alimentos (DNS), Análises de Vitaminas (LAV) e Desenvolvimento de Novos Produtos (DNS) por toda atenção e apoio no período das análises.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuição científica ao avaliarem este trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição e Saúde, pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho.

A CAPES/Reuni pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
RESUMO	14
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3. HIPÓTESE	37
4. OBJETIVOS	38
4.1 Objetivo geral.....	38
4.2 Objetivos específicos	38
5. METODOLOGIA GERAL	40
5.1 Considerações gerais	40
5.2 Participantes	41
5.3 Desenho do estudo.....	41
5.4 Desenvolvimento dos produtos Ração Humana (RH) e <i>shakes</i>	44
5.5 Análise da composição química da RH e <i>shakes</i>	45
5.5.1 Composição centesimal.....	45
5.5.2 Fibra alimentar	46
5.5.3 Minerais	48
5.5.4 Fitatos da RH	49
5.5.5 Taninos condensados da RH.....	49
5.5.6 Fenólicos totais da RH	50
5.5.7 Atividade antioxidante da RH.....	51
5.6 Intervenção	51
5.7 Avaliação da ingestão calórica, de macronutrientes, fibra alimentar e antioxidantes	52
5.8 Avaliação da diversidade botânica da dieta	52

5.9	Avaliação antropométrica e da composição corporal.....	53
5.10	Aferição da pressão arterial.....	54
5.11	Determinação de biomarcadores em soro e plasma.....	55
5.11.1	Estado antioxidante total	55
5.11.2	Peroxidação lipídica	56
5.12	Diagnóstico de componentes da síndrome metabólica e grau de resistência à insulina.....	58
5.13	Análise estatística	58
5.14	Aspectos Éticos	59
6.	ARTIGO I.....	60
	O CONSUMO DE RAÇÃO HUMANA POR MULHERES ADULTAS DURANTE PROGRAMA DE PERDA DE PESO CORPORAL AUMENTA A DIVERSIDADE BOTÂNICA DA DIETA E O CONSUMO DE VITAMINA E.....	60
	RESUMO.....	60
	ABSTRACT.....	62
6.1	INTRODUÇÃO.....	64
6.2	MATERIAL e MÉTODOS.....	66
6.2.1	Participantes do estudo	66
6.2.2	Desenho do estudo	67
6.2.3	Desenvolvimento dos produtos alimentícios: RH e <i>shakes</i>	67
6.2.4	Caracterização da composição química do produto RH e dos <i>shakes</i> , valor nutricional e capacidade antioxidante de RH.....	69
6.2.5	Avaliação da diversidade botânica da dieta e do consumo alimentar.....	70
6.2.6	Avaliação de parâmetros antropométricos e fatores de risco metabólico	71
6.2.7	Análise Estatística	72
6.3	RESULTADOS	73
6.3.1	Características das participantes do estudo	73
6.3.2	Composição química, valor nutricional da RH e dos <i>shakes</i> e capacidade antioxidante da RH	75

6.3.3 Efeito da intervenção nutricional e ingestão de RH no consumo alimentar das participantes.....	78
6.3.4 Efeito da intervenção nutricional e ingestão de RH sobre a DB e consumo de grupos de alimentos.....	80
6.3.5 Associação entre DB e efeito sobre variáveis de risco metabólico.....	83
6.4 DISCUSSÃO.....	85
6.5 CONCLUSÃO	93
7. ARTIGO II	94
MODULAÇÃO DE PARÂMETROS DE RISCO METABÓLICO EM RESPOSTA À INGESTÃO DE RAÇÃO HUMANA: UM ESTUDO CONTROLADO RANDOMIZADO <i>CROSSOVER</i>	94
RESUMO.....	94
ABSTRACT.....	96
7.1 INTRODUÇÃO.....	98
7.2 MATERIAL E MÉTODOS	100
7.2.1 Participantes.....	100
7.2.2 Desenho do estudo	100
7.2.3 Elaboração do produto RH e dos <i>shakes</i>	101
7.2.4 Intervenção	103
7.2.5 Parâmetros avaliados.....	104
7.2.6 Análise Estatística	107
7.3 RESULTADOS	108
7.3.1 Participantes.....	108
7.3.2 Características gerais da dieta prescrita, aceitação e tolerância dos <i>shakes</i>	111
7.3.3 Caracterização das participantes quanto ao risco metabólico no período pré-intervenção	112
7.3.4 Efeitos da intervenção sobre os parâmetros clínico-antropométricos e de risco metabólico	114
7.3.5 Associação entre alterações observadas em parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos.....	120

7.3.6	Efeito da ordem sobre parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos	121
7.4	DISCUSSÃO.....	122
7.5	CONCLUSÃO	131
8.	REFERÊNCIAS.....	132
	ANEXOS.....	153
	ANEXO A – Questionário Internacional de Atividade Física.....	153
	ANEXO B – Questionário de Frequencia Alimentar.....	157
	ANEXO C – Certificado de Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.....	164
	ANEXO D – Autorização Secretaria Municipal de Saúde.....	165
	APÊNDICES	166
	APÊNDICE A – Questionário Socioeconômico.....	166
	APÊNDICE B – Curva analítica para determinação da capacidade antioxidante total do plasma.....	167
	APÊNDICE C – Curva analítica para determinação de malondialdeído e 4-hidroxiálqueno por ensaio LPO-586.....	168
	APÊNDICE D - Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	169

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO I

Figura 1 - Desenho experimental.....	43
Figura 2 - Capacidade antioxidante da RH e do pão branco	76

ARTIGO II

Figura 3 – Fluxograma do estudo	109
Figura 4 – Alterações (percentual) de variáveis de risco metabólico	119
Figura 5 - Correlações relevantes observadas durante o estudo	122

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Tabela 1 – Estudos de intervenção sobre o efeito do consumo de cereais em parâmetros antropométricos, clínicos e metabólicos	31
Tabela 2 – Ingredientes do produto RH e <i>shakes</i> utilizados no estudo	68
Tabela 3 – Características clínico-nutricionais basais das participantes por grupo de intervenção	74
Tabela 4 – Caracterização da diversidade botânica da dieta das participantes no baseline	75
Tabela 5 – Composição química da RH (por 100g) e dos <i>shakes</i> (por porção*) (base seca) testados no estudo	77
Tabela 6 – Ingestão calórica, de macronutrientes, fibra alimentar e antioxidantes das participantes <i>baseline</i> e <i>endpoint</i> por tratamento	79
Tabela 7 – Consumo de grupos de alimentos e DB da dieta das participantes no <i>baseline</i> e <i>endpoint</i> por tratamento	81
Tabela 8 – Efeito das intervenções sobre a diversidade botânica da dieta.....	82
Tabela 9 – Alterações da diversidade botânica e de variáveis clínicas e metabólicas.....	84

ARTIGO II

Tabela 10 – Ingredientes e composição química dos <i>shakes</i>	102
Tabela 11 – Características demográficas e estado nutricional da população estudada	110
Tabela 12 – Características de risco cardiometabólico das participantes pré-intervenção	113
Tabela 13 – Parâmetros clínico-antropométricos das participantes no <i>baseline</i> e <i>endpoint</i> por tratamento.....	115
Tabela 14 – Parâmetros de risco metabólico das participantes no <i>baseline</i> e <i>endpoint</i> por tratamento.....	117
Tabela 15 – Correlações entre as alterações em parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos.....	120
Tabela 16 – Efeito da ordem sobre parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos	121

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARR – Atividade de Retirada de Radical
ABTS – 2,2-Azino-di-[3-etilbenzotiazolína sulfonato]
AGLs – Ácidos Graxos Livre
AHA – American Heart Association
AMDR – *Acceptable Macronutrient Distribution Range*
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*
CAT – Capacidade Antioxidante Total do Plasma
CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*
CHO – Carboidratos
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNZ – Cinzas
DB – Diversidade Botânica
DCNTs – Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DCVs – Doenças Cardiovasculares
DEXA – *Dual-energy X-ray absorptiometry*
DNS – Departamento de Nutrição e Saúde
DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EAG – Equivalente de Ácido Gálico
EER – *Estimated Energy Requirement*
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
FAI – Fibra Alimentar Insolúvel
FAS – Fibra Alimentar Solúvel
FAT – Fibra Alimentar Total
HAE – 4-hidroxiálqueno
HOMA – *Homeostais Model Assessment*
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL – Interleucina
IMC – Índice de Massa Corporal
IOM – *Institute of Medicine*

IPAQ – Questionário Internacional de Nível de Atividade Física
LAC/DSA – Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde
LIP – Lipídios
MDA – Malondialdeído
METs – Equivalentes Metabólicos
PAD – Pressão Arterial Diastólica
PAP – Plano Alimentar Personalizado
PAS – Pressão Arterial Sistólica
PC – Perímetro da Cintura
PCR-us – Proteína C Reativa Ultra Sensível
PESF – Programa Estratégias de Saúde da Família
PQ – Perímetro do Quadril
PTN – Proteína
RC – Restrição Calórica
RCRH – Restrição Calórica Associada ao Consumo de Ração Humana
RH – Ração Humana
RI – Resistência à Insulina
SC – *Shakes* Controle
SRH – *Shakes* Ração Humana
TBA – Ácido Tiobarbitúrico
TBARS – *Thiobarbituric Acid-Reactive Substances*
TMOP – Tetrametoxipropano
UFV – Universidade Federal de Viçosa
UM – Umidade
WHO – *World Health Organization*

RESUMO

ALVES, Natália Elizabeth Galdino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2012. **Efeito do consumo da ração humana na diversidade botânica da dieta e sobre os marcadores de risco metabólico em mulheres com sobrepeso e obesidade.** Orientadora: Sônia Machado Rocha Ribeiro. Coorientadores: Hércia Stampini Duarte Martino, Rita de Cássia Gonçalves Alfnas e Antônio Policarpo Souza Carneiro.

O excesso de peso corporal está associado à ocorrência de diversas doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs). O maior consumo de alimentos ricos em compostos bioativos e dietas com maior diversidade botânica (DB) são apontados como boas estratégias para modular positivamente mecanismos moleculares associados ao risco de DCNTs. No Brasil, um produto denominado “Ração Humana” (RH), recebeu interesse de consumidores em decorrência de seus supostos efeitos para “controlar o peso corporal e manter a saúde física e mental”. O objetivo geral do estudo foi avaliar o efeito do consumo de RH sobre a diversidade botânica da dieta, ingestão de macronutrientes, micronutrientes antioxidantes, e sobre os níveis de marcadores de risco metabólico, durante intervenção nutricional com leve restrição calórica. Mulheres com sobrepeso/obesidade (n=22) foram aleatoriamente distribuídas em um estudo *crossover*, em dois períodos de cinco semanas, com uma semana de *washout*. Os critérios de inclusão foram: gênero feminino, IMC entre 25-35 kg/m², idade entre 24 e 45 anos, ingestão regular de produto lácteo no desjejum e ausência da intenção em alterar o padrão de atividade física durante o período do estudo. Foram excluídas: gestantes, lactantes, mulheres menopausadas, histerectomizadas, etilistas e/ou tabagistas, portadoras de doenças crônicas e/ou endócrinas, que apresentassem alergia/intolerância a algum composto do produto, oscilações no peso corporal (>5% nos últimos dois meses), uso de estratégias para controle do peso corporal e uso de medicamentos específicos. Foram testadas duas intervenções: restrição calórica de 15% em relação ao EER, associada ao consumo de *shake* contendo RH (SRH) (intervenção RCRH) e restrição calórica associada ao consumo de *shake* controle (SC), sem RH (intervenção RC), ambos ingeridos em substituição ao desjejum. Os seguintes parâmetros foram avaliados: diversidade botânica da dieta, ingestão de antioxidantes, biomarcadores de inflamação, de estresse oxidativo, componentes da síndrome metabólica (SM), peso e distribuição de gordura corporal. Na intervenção RCRH observou-se

redução do índice HOMA-IR ($-0,41 \pm 0,83$; $P = 0,03$), do peso corporal ($-0,77 \pm 1,35$ kg; $P=0,02$), do IMC ($-0,30 \pm 0,52$ kg/m²; $P=0,02$), da gordura ginóide ($-0,264$ g; $P=0,01$), do perímetro da cintura ($-2,54 \pm 2,74$ cm; $P=0,0003$), aumento de HDL-c ($0,08 \pm 0,15$ mmol/L; $P=0,04$), além de maior consumo de vitamina E ($1,9 \pm 3,2$ mg; $P=0,02$). Na intervenção RC houve redução da peroxidação lipídica (MDA-HAE: $-0,36 \pm 0,47$ μ M; $P=0,005$), do índice HOMA-IR ($-0,35 \pm 0,82$; $P=0,02$), além do peso corporal ($-0,74 \pm 1,27$ kg; $P=0,01$) e do IMC ($-0,27 \pm 0,51$ kg/m²; $P=0,02$). Porém, verificou-se aumento do LDL-c ($0,23 \pm 0,43$ mmol/L; $P=0,04$) e colesterol total ($0,38 \pm 0,64$ mmol/L; $P=0,01$) e da pressão arterial ($6,18 \pm 12,35$ mmHg; $P=0,03$). Ambas as intervenções resultaram em aumento significativo da DB da dieta ($P < 0,05$). Os efeitos da intervenção RCRH se sobrepuseram à restrição calórica isolada quanto à redução de gordura ginóide ($0,264$ g vs. $0,015 \pm 0,3$ g; $P=0,003$) e aumento da DB da dieta ($3,9 \pm 2,87$ vs. $1,13 \pm 2,45$; $P=0,001$). Analisando em conjunto os efeitos fisiológicos gerais de ambas as intervenções, verificou-se que a RCRH atuou positivamente em dois parâmetros de risco da síndrome metabólica, reduzindo perímetro da cintura e elevando HDL-c, além de melhorar a qualidade da dieta ingerida. A intervenção RC, apesar de ter reduzido a peroxidação lipídica e o índice HOMA-IR, atuou negativamente em dois parâmetros de risco metabólicos, elevando LDL-c e a pressão arterial. Os resultados mostraram que a perda de peso corporal *per si* não garantiu na totalidade a redução do risco metabólico e que o produto, fonte de fitoquímicos, exerceu efeitos funcionais diferenciados por diminuir o tecido adiposo na região central, e consequentemente reduzir o risco de resistência insulínica.

ABSTRACT

ALVES, Natália Elizabeth Galdino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Effect of human ration intake on botanical diversity of the diet and metabolic risk markers in overweight and obese women.** Adviser: Sônia Machado Rocha Ribeiro. Co-advisers: Hércia Stampini Duarte Martino, Rita de Cássia Gonçalves Alfnas and Antonio Policarpo Souza Carneiro.

Overweight is associated to the occurrence of many non communicable diseases (NCCD). The increased consumption of foods rich in bioactive compounds and diets with higher botanical diversity (BD) have been indicated as a potential strategie to modulate the molecular mechanisms associated with risk of NCCD. In Brazil, a product named "Human Ration" (HR), has called attention from consumers because of its supposed effects to "control body weight and maintain physical and mental health". The overall objective of the study was to evaluate the effect of a product similar to HR in metabolic risk factors during a nutritional intervention with mild caloric restriction. Overweight women (n=22) were randomly distributed in a crossover study in two five-week periods, separated by a washout week. Inclusion criteria were: female gender, BMI 25-35 kg / m², age between 24 and 45 years, use of dairy products at breakfast and no intention to change the pattern of physical activity or labor. Exclusion criteria were: pregnant women, nursing mothers, menopausal women, hysterectomized, alcoholics and/or smokers, chronic and/or endocrine diseases, allergy/intolerance to any product component, variation on body weight (>5% in the last 2 months), use of strategies to control body weight and use of specific drugs. Two interventions were tested: 15% caloric restriction in relation to the EER, associated with consumption of a shake containing HR (SHR) (CRHR intervention) and caloric restriction associated with consumption of a shake control (SC) without HR (CR intervention), both consumed as breakfast substitute. The following parameters were evaluated: BD diet, consumption of dietary antioxidants, inflammation biomarkers, oxidative stress, metabolic syndrome (MS), body weight and body fat distribution. In the intervention CRHR there was a reduction in HOMA-IR (-0.41 ± 0.83 , $P=0.03$), body weight (-0.77 ± 1.35 kg, $P=0.02$), BMI (-0.30 ± 0.52 kg / m², $P=0.02$), gynoid fat (-0.264 g, $P=0.01$), and waist circumference (-2.54 ± 2.74 cm, $P=0.0003$), increased HDL-C (0.08 ± 0.15 mmol / L, $P=0.04$) and greater consumption of vitamin E (1.9 ± 3.2 mg; $P=0.02$). In the CR intervention, lipid peroxidation (MDA-HAE: -

0.36 ± 0.47 mM, $P=0.005$), HOMA-IR index (-0.35 ± 0.82, $P=0.02$), well as body weight (-0.74 ± 1.27 kg, $P=0.01$) and BMI (-0.27 ± 0.51 kg / m², $P=0.02$) had a reduction. However, there was an increase in LDL-c (0.23 ± 0.43 mmol / L, $P=0.04$), total cholesterol (0.38 ± 0.64 mmol / L, $P=0.01$) and blood pressure (12.35 ± 6.18 mmHg, $P=0.03$). Both interventions resulted in a significant increment in the DB diet ($P<0.05$). The effects of RCHR intervention overlapped the caloric restriction in reducing gynoid fat (0.264 g vs. 0.015 ± 0.3 g, $P=0.003$) and increasing BD diet (3.9 ± 2.87 vs. 1, 13 ± 2.45, $P=0.001$). Analyzing the general physiological effects of both dietary intervention, it was observed that RCHR presented positive results on two parameters of metabolic syndrome risk by reducing waist and elevating HDLc, and improved the quality of food intake, while CR, although has reduced lipid peroxidation and HOMA-IR, acted negatively in two metabolic risk parameters, LDL-c and raising blood pressure. The results showed that the weight loss not ensured in reduction of all metabolic risks, and the product, source of phytochemicals, exerted different functional effects by reducing adipose tissue in the central region, and therefore reduce the risk of insulin resistance. Factors such as the amount ingested, time of intervention, metabolism of botanicals compounds with bioactive potential and initial oxidant status of the volunteers, as well as the level of caloric restriction may have contributed to this outcome.

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada um grande problema à saúde pública em todo o mundo (ABALLAY *et al.*, 2009). O aumento das taxas de prevalência levou a Organização Mundial de Saúde (OMS) (do inglês *World Health Organization* – WHO) a definir a obesidade como uma epidemia global (WHO, 2000; WHO, 2011). No Brasil, nos últimos 35 anos, o excesso de peso saltou de 18,5% para 50,1% em homens adultos e de 28,7% para 48% em mulheres adultas. Já a obesidade aumentou de 2,8% para 12,4% em homens e de 8% para 16,9% em mulheres (IBGE, 2010).

O aumento do peso corporal está relacionado ao aumento do risco de mortalidade e desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) (WHO, 2011), incluindo a síndrome metabólica (FORD; GILES, 2003; ACKERMANN *et al.*, 2011). Por sua vez, a síndrome metabólica é um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovascular, relacionados à deposição central de gordura, resistência à insulina, dislipidemia aterogênica (caracterizada por níveis elevados de triacilgliceróis e baixos níveis de HDL-c), pressão arterial e glicemia elevadas, bem como estado pró-trombótico e pró-inflamatório exacerbado (NCEP, 2007; GRUNDY, 2011).

A relação entre o excesso de peso corporal e o desenvolvimento de DCNTs está associada à inflamação crônica de baixa intensidade e estresse oxidativo (SHOELSON; HERRERO; NAAZ, 2007). Ambos intimamente relacionados à diminuição da atividade insulínica, mobilização de gorduras e disfunção endotelial (LAHOZA; MOSTAZA, 2007), condições que explicam o elevado número de mortes relacionadas ao excesso de peso em todo o mundo (WHO, 2011).

Tais consequências estão fortemente relacionadas à lipotoxicidade, um processo resultante da maior atividade lipolítica de adipócitos que esgotaram sua capacidade de armazenamento (DEFRONZO, 2004). Assim, a maior concentração de ácidos graxos livres no plasma pode danificar a função de órgãos não adiposos como fígado, pâncreas e músculo esquelético, pelo acúmulo ectópico de lipídios e consequente formação de metabólitos tóxicos que alteram cascatas de sinalização e causam danos intracelulares (SAVAGE; PETERSEN; SHULMAN, 2007). O aumento do fluxo de ácidos graxos eleva a produção de acetil-coenzima A e nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) mitocondrial, o que resultam em redução da via glicolítica, acúmulo intracelular de glicose, e comprometimento de sua

captação, resultando em maior estímulo à gliconeogênese, indução da resistência à insulina e prejuízo à secreção insulínica (RANDLE *et al.*, 1963).

Considerando o elevado risco para DCNTs, a alta prevalência da obesidade e a sua interferência negativa sobre a qualidade de vida dos indivíduos, investiga-se extensivamente estratégias eficientes para o tratamento da obesidade e para o controle do peso corporal. A intervenção dietética por si só é uma abordagem terapêutica eficiente, com destaque para a restrição calórica (ABETE *et al.*, 2006; CRUJEIRAS *et al.*, 2006; KATCHER *et al.*, 2008; HERMSDORFF; ZULET; ABETE; MARTÍNEZ, 2011), principalmente se associada ao consumo de cereais (MELANSON *et al.*, 2006; KATCHER *et al.*, 2008; HAMEDANI *et al.*, 2009; ISAKSSON *et al.*, 2012; TOUYAROU *et al.*, 2012) e hortaliças em geral (LAPOINTE *et al.*, 2010; HERMSDORFF; ZULET; ABETE; MARTÍNEZ, 2011; RAYNOR *et al.*, 2011). Outras estratégias incluem: modificação da distribuição de macronutrientes (PADDON-JONES *et al.*, 2008; DE SOUZA *et al.*, 2012) e substitutos de refeições (KEOGH; CLIFTON, 2005; ASHLEY *et al.*, 2007; METZNER; FOLBERTH-VÖGELE *et al.*, 2011)

As evidências acerca dos benefícios do consumo de alimentos à base de plantas sobre os níveis de biomarcadores de risco associados ao excesso de peso corporal tem despertado o interesse para se investigar a diversidade botânica da dieta, considerando a elevada bioatividade de fitoquímicos (THOMPSON; THOMPSON, 2010). Apesar de escassos, os resultados encontrados até o momento mostram que a ingestão de dietas que incluem maior número de famílias botânicas, denominadas de dietas de alta diversidade botânica, pode resultar em efeitos positivos sobre a redução da peroxidação lipídica e do dano oxidativo ao DNA (THOMPSON, HENRY J. *et al.*, 2005; THOMPSON *et al.*, 2006), atenuando fatores de risco para síndrome metabólica e outras doenças, por meio de modulação epigenética (KIRK *et al.*, 2008).

No mundo inteiro, no entanto, muitos indivíduos recorrem às estratégias e ao uso de produtos que prometem “verdadeiros milagres” para a redução de peso corporal e que podem não ser eficazes. No Brasil, atualmente, a maioria dos produtos alimentícios veiculados pela mídia, como “alimentos que podem prevenir e reverter o quadro de sobrepeso e obesidade” são constituídos por uma mistura de ingredientes, geralmente farelos, grãos e sementes, ricos em fibras, e compostos bioativos, que podem, dentre outros benefícios, contribuir para a perda de peso, normalização dos níveis de lipídios séricos e proteção contra radicais livres.

Dentre esses produtos, destaca-se a Ração Humana (RH), um complemento nutricional à base de cereais integrais elaborado com a finalidade de “manter o corpo nutrido e saudável,

aumentar a imunidade e a disposição física e mental” (TAKINUTRI, 2010), que vem sendo utilizado indiscriminadamente em substituição às refeições para perda de peso corporal (BRAGA; MENDONÇA, 2010). Após a primeira divulgação em rede nacional, com depoimento de consumidores e, também, orientações de especialistas sobre os riscos e benefícios de seu uso, muitos outros produtos similares começaram a ser veiculados e comercializados, principalmente pela internet.

A primeira versão foi patenteada e por isso, diversos produtos estão disponíveis sem padronização de composição e diferem quanto à quantidade e qualidade dos ingredientes utilizados. Contudo, parece ser consenso entre vários fabricantes e *sites* relacionados ao consumo da RH, a alegação de que o seu consumo pode promover uma grande e rápida perda de peso.

Apesar dos relatos de experiências positivas de consumidores, os quais incentivam o uso da RH, ainda existem muitas dúvidas sobre seus reais benefícios e potenciais riscos à saúde. Perante aos apelos e promessas de perda de peso, muitos indivíduos, principalmente mulheres preocupadas com a saúde e forma física, aderem ao uso do produto.

Diante do exposto, e considerando que, até o momento, os estudos científicos sobre as propriedades funcionais da RH são escassos, salienta-se a importância de avaliar seu efeito na modulação metabólica relacionada ao excesso de peso corporal, com enfoque sobre a diversidade botânica da dieta, consumo alimentar e sobre os níveis de biomarcadores de estresse oxidativo, inflamação e componentes da síndrome metabólica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Influência de gêneros na adiposidade corporal

Homens e mulheres diferem no que diz respeito à distribuição e à quantidade total de tecido adiposo. Independente do contexto cultural ou dos hábitos alimentares as mulheres têm um percentual de gordura maior e tendem a acumulá-la na região glúteo-femoral, enquanto os homens a acumulam na região central e, por isso, apresentam maior risco de desenvolver comorbidades (AZARBAD; GONDER-FREDERICK, 2010).

Modulações hormonais contribuem para essas diferenças. A distribuição de gordura central ou intra-abdominal em homens se deve à baixa produção de estrógenos. O acúmulo de gordura subcutânea na região glúteo-femoral, em mulheres pré-menopausa, permite afirmar que os depósitos de gordura intra-abdominal variam inversamente aos níveis de estrógenos (SHI; SEELEY; CLEGG, 2009). Ao contrário, mulheres pós-menopausa passam a exibir um padrão de distribuição de gordura corporal semelhante ao apresentado pelo gênero masculino (LEY; LEES; STEVENSON, 1992).

Existem evidências de que os estrógenos estejam envolvidos na regulação da adiposidade corporal, do gasto energético e da ingestão alimentar, modulando a distribuição de gordura corporal por potencializar a ação da leptina sobre a gordura visceral, contribuindo para sua mobilização e deposição no tecido subcutâneo. Além disso, sugere-se uma sinalização estrogênica em núcleos hipotalâmicos para modulação do gasto energético e regulação do peso corporal. A interação do estradiol com hormônios circulantes como a insulina e a leptina resulta em efeito inibitório sobre o comportamento alimentar, reduzindo o consumo de energia (SHI; SEELEY; CLEGG, 2009).

No entanto, apesar da ação estrogênica favorável quanto à deposição de gordura subcutânea, algumas peculiaridades tornam o gênero feminino suscetível à ocorrência de sobrepeso e obesidade, e acúmulo de gordura visceral. Dentre esses aspectos, cita-se o risco de ganho de peso futuro associado à gestação (YOGEV; CATALANO, 2009), ganho de peso e alterações na distribuição de peso corporal relacionado à menopausa (LIEDTKE *et al.*, 2012), inatividade física, número reduzido de horas de sono noturno (AZARBAD; GONDER-FREDERICK, 2010) e estresse psicológico (ZELLNER *et al.*, 2006).

O fator ambiental, influenciado por aspectos culturais e sociais como a ocidentalização dos hábitos, é importante para o desenvolvimento da obesidade, e se confunde com os fatores genéticos (FETT *et al.*, 2010). O excesso de peso tem sido considerado uma condição estigmatizada pela sociedade favorecendo discriminações e sentimentos de insatisfação com a imagem corporal. Em condições de sobrepeso e obesidade, o desejo de melhorar a aparência física e diminuir o descontentamento com o corpo parece constituir as principais motivações para a mudança quanto ao tamanho e à forma corporal (ALMEIDA *et al.*, 2005).

Nesse sentido, as mulheres constituem um contingente da população que apresenta comportamento preocupante pelo fato de que muitas delas recorrerem ao uso de estratégias para redução do peso corporal, em uma tentativa de reverter rapidamente o quadro de sobrepeso e obesidade, sem acompanhamento adequado de profissionais especializados.

Obesidade e fatores de risco para DCNTS

O tecido adiposo produz citocinas que estão envolvidas no processo inflamatório e por isso, a obesidade é reconhecida como um estado inflamatório de baixa intensidade (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006), associado ao aumento do estresse oxidativo e infiltração de células imunes nos adipócitos (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012).

Cascatas inflamatórias envolvem adipócitos, hepatócitos e células imunes (macrófagos, células T e eosinófilos). A inflamação altera a cascata de sinalização da insulina e bloqueia sua ação em vários níveis, prejudicando o metabolismo de glicose e lipídios por mecanismos diretos e indiretos (HOTAMISLIGIL, 2012). Concentrações elevadas de reagentes de fase aguda, como proteína C-reativa e ferritina (GONZALEZ *et al.*, 2006) e o efeito direto do TNF-alfa sobre a resistência à insulina (RI) em adipócitos (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993), representam algumas das evidências da relação entre obesidade e o processo inflamatório.

A obesidade está associada ao acúmulo de lipídios no interior do adipócito levando a expansão do tecido adiposo, por mecanismos de hipertrofia e hiperplasia. A hipertrofia do adipócito é acompanhada pela produção de citocinas pró-inflamatórias como o TNF-alfa, IL-6, resistina, MCP-1 e PAI-1, substâncias que possuem efeito local, como aumento da síntese de moléculas de adesão endotelial, aumento da permeabilidade vascular e da circulação de

monócitos, induzindo um estado local e sistêmico de resistência à insulina (WEISBERG *et al.*, 2006).

O estresse oxidativo e a sinalização inflamatória estão inter-relacionados e ambos podem levar a uma inibição da resposta à insulina (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012). O estresse oxidativo é causado pelo desequilíbrio entre a concentração de oxidantes e antioxidantes no meio biológico. Os radicais livres (RL) são espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) capazes de promover a oxidação de componentes celulares como tióis, co-fatores enzimáticos, proteínas, nucleotídeos e lipídios. A reação dessas espécies com ácidos graxos poliinsaturados nas membranas celulares inicia um processo em cadeia denominado peroxidação lipídica, que pode ser avaliado como um indicador do estresse oxidativo celular (LIMA; ABDALLA, 2001).

O aumento do estresse oxidativo associado à obesidade é caracterizado por:

- 1) Aumento da carga mecânica e metabólica do coração devido ao excesso de peso, o que eleva o consumo de oxigênio pelo miocárdio e conseqüentemente aumenta a produção de EROS (TURRENS, 1997);
- 2) Liberação de TNF- α pelo tecido adiposo que, dentre outros efeitos aumenta a produção de EROS (LECHLEITNER *et al.*, 2000);
- 3) Altas concentrações de glicose e ácidos graxos livres, associado à ingestão alimentar excessiva e atividade física reduzida (STEFANOVIĆ *et al.*, 2008);
- 4) Desordens na cadeia transportadora de elétrons, que resulta aumento da produção de EROS e lipoperóxidos, ou alterações na defesa antioxidante (BONDIA-PONS; RYAN; MARTINEZ, 2012).

O estresse oxidativo induzido por altas concentrações de glicose e ácidos graxos livres (AGL) desempenha importante papel na causa de resistência à insulina e disfunção das células β -pancreáticas (STEFANOVIĆ *et al.*, 2008). A hiperglicemia induz aumento da produção de EROS na mitocôndria pelo aumento do gradiente de prótons através da membrana interna. Quando esse gradiente excede o limite, a transferência de elétrons é bloqueada no complexo III, levando ao vazamento de elétrons a nível da ubiquinona e conseqüente formação de superóxidos (BROWNLEE, 2005).

A resistência à insulina surge como um mecanismo de defesa para reduzir a entrada de glicose e AGL nas células musculares e nos adipócitos. A sobrecarga de glicose no endotélio e nas células β -pancreáticas provoca estresse oxidativo resultando em disfunção. A disfunção endotelial contribui para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e a

disfunção das células β promove alteração da secreção de insulina, cujo resultado final é uma hiperglicemia pós-prandial que induz ao estresse oxidativo (CERIELLO; MOTZ, 2004).

A dislipidemia é outra alteração associada ao excesso de peso (STUBBS; KUSAL WICKREMESEKERA, 2002; CERCATO *et al.*, 2004; SINGH *et al.*, 2011), na qual níveis séricos elevados de triacilgliceróis (TAG), colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e lipoproteína de alta densidade (HDL-c) são reconhecidos como fatores de risco para as DCVs (NCEP, 2007). Estima-se que a morbidade e mortalidade por doença coronariana podem ser reduzidas em 25-35% por meio do tratamento da dislipidemia relacionada ao sobrepeso e obesidade (WILDE; PETERMAN, 2006), uma vez que aquela é fator de risco independente para a ocorrência de doenças cardiovasculares (DCVs) (ADAMS; GRUMMER-STRAWN; CHAVEZ, 2003).

Os riscos estão relacionados principalmente à gordura intra-abdominal que possui metabolismo particularmente ativo, o que favorece o fluxo de AGLs para o fígado, resultando em modificação dos níveis sanguíneos de lipoproteínas e conseqüente aumento nos níveis de TAG e redução de HDL-c. (PACCAUD *et al.*, 2000; SINGH *et al.*, 2011).

Alterações no perfil lipídico como elevação dos níveis de TAG séricos e redução dos níveis de HDL-c são fatores de risco para o desenvolvimento de síndrome metabólica (SM). A SM emergiu como uma epidemia do novo milênio, visto que afeta um em cada cinco indivíduos adultos, com impacto sobre a qualidade de vida de milhares de pessoas em todo o mundo (BHATNAGAR *et al.*, 2010). É considerado um transtorno complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovascular usualmente relacionado à deposição de gordura central e à resistência à insulina (HAFFNER; TAEGTMEYER, 2003). Tais alterações contribuem para o desenvolvimento de diabetes mellitus e aumentam o risco de mortalidade por doenças cardiovasculares (FORD; GILES; DIETZ, 2002; GRUNDY, 2011).

Segundo o NCEP (2007), a SM representa a combinação de pelo menos três dos seguintes componentes: 1) intolerância à glicose com glicemia de jejum maior ou igual a 110 mg/dL; 2) obesidade abdominal ou maior quantidade de gordura visceral com perímetro da cintura maior que 102 cm para homens e maior que 88 cm para mulheres; 3) TAG séricos maior ou igual a 150 mg/dL; 4) HDL-c menor que 40 mg/dL para homens e menor que 50 mg/dL para mulheres; e 5) terapia anti-hipertensiva vigente ou pressão arterial maior ou igual a 130 x 85 mmHg.

Modulação de biomarcadores da homeostase por compostos biotivos dos alimentos

Compostos bioativos (CBAs) são substâncias presentes em alimentos que exercem comprovada e potente atividade biológica, cujo consumo resulta em benefícios á saúde humana (CARRATÙ; SANZINI, 2005). A ingestão insuficiente desses compostos constitui importante fator associado às DCNTs em decorrência da deficiência dessas substâncias essenciais para a longevidade (JACOBS; TAPSELL, 2007; HOLST; WILLIAMSON, 2008; WILLIAMSON; HOLST, 2008).

Os CBAs podem agir de diferentes formas, tanto no que se refere aos alvos fisiológicos quanto aos seus mecanismos de ação. Determinadas moléculas têm potencial de óxi-redução, competem por sítios ativos e receptores nas diversas estruturas celulares, ou ainda, modulam a expressão gênica. Esses compostos podem ativar vias de sinalização intracelulares adaptativas contra o estresse oxidativo e preparam as células para resistirem a doses mais severas de estresse (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

Vários compostos bioativos estão presentes em alimentos de origem vegetal, como frutas, hortaliças, sementes, oleaginosas, e cereais que contêm ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides, minerais antioxidantes como zinco, selênio e manganês, compostos fenólicos, fitatos, taninos e fibras. Os compostos fenólicos são encontrados também nos cereais integrais, café, chá, chocolate, vinho tinto e nozes (NACZK; SHAHIDI, 2006; CROZIER *et al.*, 2007).

Uma das propriedades funcionais dos compostos bioativos mais investigada atualmente é a capacidade antioxidante. A capacidade antioxidante total (CAT) em alimentos é definida como a capacidade dos antioxidantes presentes em sequestrar radicais livres pré-formados e possui relação inversa com os níveis de marcadores da inflamação sistêmica (BRIGHENTI; VALTUENA; PELLEGRINI, 2005).

Valtuenã *et al.* (2008) verificaram que a ingestão de alimentos com maior CAT, independente da alteração dos biomarcadores de estresse oxidativo sérico, leva à diminuição da inflamação hepática e sistêmica, que são fatores de risco independentes para doenças crônicas.

A CAT dos cereais integrais se deve principalmente aos compostos fenólicos que se encontram associados às fibras. Em modelos animais a suplementação com produtos ricos em antioxidantes e fibras, incluindo os cereais, resultou em aumento do estado antioxidante no

ceco, demonstrando haver uma liberação prévia de antioxidantes da matriz do alimento (GOÑI; SERRANO, 2005). Dessa forma, os efeitos benéficos à saúde pelo consumo de cereais podem ocorrer devido à liberação lenta e contínua na corrente sanguínea de polifenóis ligados às fibras que são liberados na parte inferior do intestino (PEREZ-JIMENEZ; SAURA-CALIXTO, 2005; SERRANO; GOÑI; SAURA-CALIXTO, 2007).

Como discutido anteriormente, estudos com animais e humanos evidenciam a associação entre obesidade e aumento do estresse oxidativo e peroxidação lipídica. Um estudo verificou que mulheres obesas apresentaram maior concentração de malondialdeído (MDA) no plasma quando comparadas com mulheres eutróficas, e que o perímetro da cintura esteve correlacionado com os níveis plasmáticos de MDA (AMIRKHIZI *et al.*, 2010). Puchau *et al.* (2010), investigaram a relação entre a capacidade antioxidante total da dieta e SM, e verificaram uma associação inversa entre essas variáveis. Ainda, observaram que o consumo dos alimentos de origem vegetal (frutas, legumes, leguminosas e cereais) são os que mais contribuem para a ingestão de antioxidantes na dieta.

Portanto, os compostos bioativos presentes em produtos à base de cereais, sementes e fibras, poderiam atuar de forma benéfica na atenuação de alterações metabólicas decorrentes do estresse oxidativo e inflamação, contribuindo positivamente no tratamento do sobrepeso e da obesidade. Esses compostos podem ativar vias de sinalização intracelular contra o estresse oxidativo, e vias que resultam no aumento da expressão gênica que codificam proteínas para a proteção antioxidante celular (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

Assim, a resultante redução do estresse oxidativo, por ação de compostos bioativos, é metabolicamente favorável em indivíduos com sobrepeso e obesidade, pois resulta em redução de lipoproteínas oxidadas, reversão da vasoconstrição por restabelecimento de níveis adequados de óxido nítrico (importante vasodilatador), e melhora da sinalização insulínica, contribuindo para redução de risco de desenvolvimento de aterosclerose, hipertensão e diabetes (HARRISON, 2012).

Fibra alimentar e obesidade

Define-se fibra alimentar como a parte comestível de plantas ou carboidratos análogos que resistem à digestão e absorção no intestino delgado, e apresentam fermentação completa ou parcial no intestino grosso. Inclui polissacarídeos, oligossacarídeos e lignina. Evidências epidemiológicas sugerem uma relação inversa entre a ingestão de fibras e peso corporal (KOH-BANERJEE; B., 2003; SLAVIN, 2005), sendo que estudos de intervenção mostraram perda de peso corporal por meio da ingestão de dietas ricas em fibras ou suplemento de fibras (BIRKETVEDT *et al.*, 2000; MUELLER-CUNNINGHAM; QUINTANA; KASIM-KARAKAS, 2003).

As fibras têm sido utilizadas como alternativas para o controle, prevenção e tratamento da obesidade, e vários fatores têm sido relatados como mediadores de seu efeito, entre os quais a modulação sensório-motora gástrica parece ser crucial (PAPATHANASOPOULOS; CAMILLERI, 2010).

A literatura científica documenta diversos efeitos favoráveis das fibras sobre a homeostase sérica e ingestão calórica. A fibra solúvel exerce efeito favorável sobre os níveis de glicose e lipídios pelo aumento da viscosidade (GALISTEO *et al.*, 2008) e fermentação colônica com produção de ácidos graxos de cadeia curta que têm benefícios sobre o metabolismo lipídico, prevenção de doenças cardiovasculares, apoptose ou diferenciação da mucosa, e função de barreira da mucosa (WONG *et al.*, 2006). A fibra insolúvel tem efeito sobre a promoção da massa fecal, e como laxante, pela propriedade de atrair água (PAPATHANASOPOULOS; CAMILLERI, 2010).

As fibras podem, ainda, atuar na perda e manutenção do peso corporal porque alimentos ricos em fibras têm densidade calórica menor e a ingestão de um mesmo volume de alimento com alta quantidade de fibra aumenta a saciedade. Além disso, diminui a taxa de esvaziamento gástrico, retarda a absorção de calorias e de nutrientes, levando a diminuição pós-prandial dos níveis de glicose e lipídios séricos, e podem influenciar a oxidação e o armazenamento de lipídios no organismo (SLAVIN, 2005).

Birketvedt *et al.* (2000) verificaram que a adição de fibra alimentar à uma dieta hipocalórica, com baixo teor de gordura, contribuiu significativamente para a perda de peso corporal em mulheres. Entretanto, a adição de fibras fermentáveis e não fermentáveis não resultou em alteração da fome, saciedade e peso de mulheres que consumiram dietas auto-

selecionadas. Efeitos sobre a redução do peso corporal e biomarcadores de risco para DCNTs podem ser mais pronunciados por meio do consumo de alimentos ricos em fibra como frutas, verduras, leguminosas, oleaginosas, sementes e cereais (BABIO *et al.*, 2010), principalmente se associados à restrição calórica (ABETE *et al.*, 2006; CRUJEIRAS *et al.*, 2008; KATCHER *et al.*, 2008; LAPOINTE *et al.*, 2010; HERMSDORFF; ZULET; ABETE; MARTÍNE, 2011; WHO, 2011).

Tais evidências confirmam a importância da fibra dietética como adjuvante no tratamento e controle da obesidade.

Propriedades bioativas

Os efeitos benéficos à saúde por meio do consumo regular de cereais são atribuídos principalmente às fibras e micronutrientes presentes na camada exterior do grão e na fração do germe. Contudo, o farelo é que desempenha papel mais importante devido ao germe ser liberado durante o processamento dos cereais (SLAVIN *et al.*, 1999; FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008).

Segundo Slavin *et al.* (1999) micronutrientes tais como vitamina E, folato, ácidos fenólicos, zinco, ferro, selênio, cobre, manganês, carotenóides, betaína, colina, ácido aminosulfúrico, ácido fítico e lignanas podem ter potenciais efeitos antioxidantes, pois atuam *in vivo* melhorando o estado redox de vários tecidos.

A vitamina E, presente principalmente no germe, atua como sequestrador de radicais livres, especialmente nas membranas celulares, prevenindo a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008). O folato é um antioxidante indireto, por atuar na redução dos níveis plasmáticos de homocisteína, que possui considerável efeito pró-oxidativo (WARD *et al.*, 1997).

Os minerais e elementos traço são cofatores de diversas enzimas antioxidantes (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008). O ácido fítico, localizado na fração do farelo, suprime reações oxidativas catalisadas pelo ferro, e por sua capacidade de quelar esse mineral (reação de Fenton), apresenta potencial antioxidante *in vivo* pela supressão da peroxidação lipídica (WARD *et al.*, 1997).

Os cereais são também alimentos fontes de ácidos fenólicos, incluindo ferúlico, vanílico, caféico, siríngico, sináptico e *p*-cumárico (SOSULSKI; KRYGIER; HOGGE, 1982). Os mecanismos de ação frente ao estresse oxidativo não são totalmente elucidados. Especula-se que atuem como seqüestradores de radicais livres e/ou como queladores de metais de transição (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008), mas sua baixa biodisponibilidade no trato gastrointestinal pode limitar sua atividade (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Há sugestões de que esses compostos atuem em mecanismos relacionados à ativação/supressão de genes particulares envolvidos na resposta antioxidante (MYHRSTAD *et al.*, 2002; NA; SURH, 2006).

Estudos *in vitro* mostram que os ácidos fenólicos atuam na inibição da proliferação de adipócitos, inibição de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos e lipídios e redução da inflamação (HSU; HUANG; YEN, 2006; HSU; LO; YEN, 2007; NAGASAKA *et al.*, 2007; OHARA *et al.*, 2009). *In vivo*, observa-se redução de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, redução do peso corporal e melhora no metabolismo de lipídios e carboidratos (HILTUNEN, 2006; HSU; YEN, 2007; THOM, 2007; HSU *et al.*, 2009; CHO *et al.*, 2010; NAGASAKA *et al.*, 2011; OHARA *et al.*, 2011; SON *et al.*, 2011).

A maioria dos fitoquímicos antioxidantes presentes em cereais não são modificados durante a digestão gastrointestinal e atingem o cólon intactos, onde contribuem para manter um ambiente antioxidante. As condições ácidas do estômago e a hidrólise enzimática no duodeno contribuem para aumentar a solubilidade e atividade dos polifenóis de cereais (PEREZ-JIMENEZ; SAURA-CALIXTO, 2005).

A digestão pode contribuir para hidrólise parcial de polifenóis e a digestão de proteínas e carboidratos pode contribuir para aumentar a liberação de polifenóis, proporcionando um ambiente que protege o epitélio intestinal da ação de compostos pró-oxidantes (NAGAH; SEAL, 2005). Os polifenóis de cereais estão principalmente na forma ligada e exercem seus efeitos antioxidantes principalmente no cólon, ao contrário de frutas e vegetais, que contêm polifenóis livres ou solúveis que são mais disponíveis no intestino delgado (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008).

Estudos epidemiológicos mostram que o consumo de cereais integrais previne a síndrome metabólica, a obesidade (WILLIAMS; GRAFENAUER; O'SHEA, 2008) e as doenças crônicas associadas, incluindo doenças cardiovasculares (JACOBS; GALLAHER, 2004) e diabetes mellitus tipo 2 (LIU *et al.*, 2000; FUNG *et al.*, 2002). Ainda, verifica-se que

há uma relação inversa entre ingestão de cereais integrais e alterações no peso corporal, IMC e perímetro da cintura (KOH-BANERJEE *et al.*, 2004; BAZZANO *et al.*, 2005).

Entretanto, há afirmação de que a biodisponibilidade desses micronutrientes é variável e alguns podem perder seu potencial antioxidante ou que sua concentração no plasma e tecidos pode ser demasiadamente baixa para atuarem como sequestradores de radicais livres (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008), o que pode explicar ausência de efeitos sobre parâmetros metabólicos e clínicos observada em alguns estudos. A **Tabela 1** resume estudos que investigaram a bioatividade de cereais sobre parâmetros metabólicos, antropométricos e clínicos.

Tabela 1 – Estudos de intervenção sobre o efeito do consumo de cereais em parâmetros antropométricos, clínicos e metabólicos

Participantes	Desenho do estudo	Intervenção	Principais efeitos para cereais integrais	Referência
Homens com doença arterial coronariana (n=76)	Estudo paralelo randomizado controlado. Período: 16 semanas.	I1: 150 g de arroz branco cozido. I2: 70 g de cereais (cevada, arroz integral).	↓ glicose, insulina, homocisteína e MDA e ↑ HDL-c plasmáticos. ↓ 8-epi-prostaglandin F2 α urinária.	Jang <i>et al.</i> (2001)
Adultos com sobrepeso e obesidade, hiperinsulinêmicos (n=11)	Estudo <i>crossover</i> . Período: 2 períodos de 6 semanas, 6 a 9 semanas de <i>washout</i> .	I1: 6-10 porções de cereais refinados. I2: 6-10 porções de cereais integrais.	↓ de 10% na insulinemia de jejum. Sem diferenças quanto ao peso corporal, glicemia de jejum, e apetite.	Pereira <i>et al.</i> (2002)
Mulheres pós-menopausa com sobrepeso e obesidade (n=20)	Estudo <i>crossover</i> . Período: 2 períodos de 8 semanas, 8 semanas de <i>washout</i> .	I1: 4-5 porções de pão de trigo refinado. I2: 4-5 porções de pão de centeio.	Sem alterações significativas quanto à sensibilidade à insulina.	Juntunen <i>et al.</i> (2003)
Homens e mulheres com SM (n=72)	Estudo paralelo. Período: 12 semanas.	I1: aveia, pão de trigo e batatas. I2: pão de centeio e macarrão.	Não houve diferença entre os grupos quanto aos níveis de insulina, glicose, HDL-c e LDL-c. Não foi observado efeito sobre ingestão calórica e peso corporal.	Laaksonen <i>et al.</i> (2005)
Obesos com glicemia de jejum elevada (n=31)	Estudo <i>crossover</i> . Período: 2 períodos de 6 semanas, 2 semanas de <i>washout</i> .	I1: 200 g de substituto de refeição <i>Slimfat</i> . I2: 200 g de cereais integrais.	Maior redução nos níveis de insulinemia de jejum e HOMA-IR. Menor ingestão calórica.	Rave <i>et al.</i> (2007)
Homens (n=8) e mulheres (n=22) com sobrepeso	Estudo <i>crossover</i> . Período: 2 períodos de 6 semanas, 6-8 semanas de <i>washout</i> .	I1: 7 porções de cereais refinados. I2: 7 porções de cereais integrais.	Sem efeito sobre insulinemia, glicemia, LDL-c, HDL-c, e marcadores inflamatórios (PCR, IL-6, PAI-1).	Andersson <i>et al.</i> (2007)

I: intervenção; RC: restrição calórica; MDA: malondialdeído; HDL-c: *High-density lipoprotein*; LDL-c: *Low-density lipoprotein*; HOMA-IR: *homeostatic model of assessment of insulin resistance*; PCR: proteína C-reativa; IL-6: interleucina 6; PAI-1: *plasminogen activator inhibitor-1*;

Tabela 1 – Continuação

Participantes	Desenho do estudo	Intervenção	Principais efeitos para cereais integrais	Referência
Homens e mulheres com SM (n=50)	Estudo paralelo com restrição calórica. Período: 12 semanas.	I1: Evitou-se consumo cereais integrais. I2: Consumo de 4 a 7 porções de cereais integrais.	Maior redução do percentual de gordura abdominal; Sem diferenças entre os grupos quanto ao peso corporal, PC, CT, LDL-c, HDL-c, TAG, insulina, PAI-1, IL-6 e TNF-alfa.	Katcher <i>et al.</i> (2008)
Homens e mulheres com sobrepeso e obesidade (n=316)	Estudo paralelo. Período: 16 semanas.	I1: dieta habitual. I2: 60 g de mix de cereais integrais . I3: I2 por 8 semanas seguida por 120 g de mix por mais 8 semanas.	Sem efeito sobre peso corporal, MG, PC, insulinemia, glicemia e marcadores de risco para doença cardiovascular (HDL-c, LDL-c, TAG, ICAM, VCAM, fibrinogênio e PAI-1).	Brownlee <i>et al.</i> (2010)
Homens e mulheres (n=20) saudáveis	Estudo <i>crossover</i> . Períodos: 2 períodos de 14 dias, sem <i>washout</i> .	I1: 6 ou 8 porções de cereais integrais. I2: 6 ou 8 porções de cereais refinados.	Sem diferenças quanto à ingestão calórica e antioxidantes mensurados (ORAC, isoprostanos e TBARS).	Enright e Slavin (2010)
Homens e mulheres com sobrepeso e obesidade (n=204)	Estudo paralelo com restrição calórica. Período: 12 semanas.	I1: RC. I2: RC associada a 2 porções de cereal (aveia).	↓ mais significativa de CT, LDL-c e PC. Sem diferenças para ingestão calórica, peso corporal, LDL-c e TAG.	Maki <i>et al.</i> (2010)

I: intervenção; RC: restrição calórica; PC: perímetro da cintura; CT: colesterol total; HDL-c: *High-density lipoprotein*; LDL-c: *Low-density lipoprotein*; TAG: triacilgliceróis; PAI-1: *plasminogen activator inhibitor-1*; IL-6: interleucina 6; TNF-alfa: fator de necrose tumoral alfa; ICAM: *intercellular adhesion molecule*; VCAM: *vascular cell adhesion molecule-1*; ORAC: *Oxygen radical absorbance capacity*; TBARS: *thiobarbituric acid reactive substances*

Diversidade Botânica da Dieta

Opiniões recentes enfatizam a importância da diversidade botânica da dieta na redução de fatores de risco de DCNTs. De acordo com Thompson e Thompson (2010) as plantas são ricas em fitoquímicos ou fitonutrientes que atuam em sinergismo produzindo efeitos benéficos à saúde.

Para a classificação de alimentos à base de plantas quanto às famílias botânicas faz-se necessária uma abordagem taxonômica, sendo o sistema *Linnaean* o método mais comumente utilizado para a classificação de organismos vivos (SHANNON *et al.*, 2005; THOMPSON, HENRY J *et al.*, 2005). Esse sistema tem sido utilizado para verificar os componentes químicos específicos que podem ser responsáveis por benefícios à saúde e para o desenvolvimento de alimentos funcionais e suplementos nutracêuticos que enfatizam determinada classe de produtos químicos (ESPÍN; GARCÍA-CONESA; TOMÁS-BARBERÁN, 2007; MOLYNEUX *et al.*, 2007).

A classificação botânica traz informações quanto à composição fitoquímica de vários alimentos à base de plantas. Para esse entendimento, utiliza-se a quimiotaxinomia para identificar e classificar plantas de acordo com diferenças e similaridades em seus compostos bioquímicos (REYNOLDS, 2007). Por meio de informações taxonômicas e dados quimiotaxinômicos observa-se que plantas dentro de uma mesma família botânica tendem a apresentar maior similaridade química, com vias biossintéticas para classes específicas de compostos bioativos (HARTMANN, 2007; REYNOLDS, 2007; WATERMAN, 2007).

Os produtos da biossíntese de plantas são geralmente divididos em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários incluem carboidratos, proteínas e gorduras, sendo considerados essenciais para o crescimento e desenvolvimento de plantas. A produção dessas macromoléculas apresenta rigoroso controle genético e variam entre plantas, mas possuem limitado valor quimiotaxinômico. Ao contrário, as plantas desenvolveram capacidade para sintetizar uma vasta gama de metabólitos secundários, com propósitos principais de sinalização (hormônios vegetais) e defesa contra estressores abióticos (luz ultravioleta) e bióticos (micróbios) (HARTMANN, 2007; REYNOLDS, 2007).

Existem pelo menos 14 classes de fitoquímicos com atividade biológica, selecionados durante a evolução de forma a garantir a sobrevivência das espécies de plantas (WINK, 2003; HARTMANN, 2007; WINK, 2008) e cada classe de produtos químicos exerce atividades

biológicas que têm o potencial de promover benefícios à saúde humana, por meio de efeitos sobre o metabolismo microbiano e celular no organismo de indivíduos que ingere essas substâncias químicas de origem vegetal (THOMPSON; THOMPSON, 2010).

Doenças como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e obesidade, apresentam patogênese comum como alterações no metabolismo de glicose, inflamação crônica, aumento da oxidação celular e endotoxemia crônica, mecanismos esses que podem ser afetados por metabólitos primários e secundários de plantas (THOMPSON; THOMPSON, 2010).

Estudo realizado na Universidade Estadual do Colorado com o objetivo de avaliar a relação entre a diversidade botânica da dieta e biomarcadores de estresse oxidativo, investigou-se o efeito de duas dietas, com alta diversidade botânica (18 famílias botânicas) e baixa diversidade (5 famílias botânicas). Os autores verificaram que ambas as dietas foram capazes de reduzir a peroxidação lipídica, mas apenas a dieta com 18 famílias botânicas foi capaz de diminuir o dano oxidativo no DNA, sendo que o efeito sobre a redução da peroxidação lipídica também foi maior para essa dieta (THOMPSON *et al.*, 2006).

São escassos os estudos sobre o assunto, mas sugere-se a importância do consumo combinado e regular de alimentos de diversas famílias botânicas para a redução de risco de DCNTs (THOMPSON, HENRY J. *et al.*, 2005; THOMPSON *et al.*, 2006; THOMPSON; THOMPSON, 2010), visto que a distribuição de fitoquímicos em alimentos de origem vegetal, capazes de exercer efeitos biológicos, difere conforme a família botânica a que pertencem e por isso, há necessidade de se combinar os alimentos para potencializar a ação sinérgica dos fitoquímicos (THOMPSON; THOMPSON, 2010).

Não existem estudos sobre a diversidade botânica de dietas consumidas no Brasil, apesar da grande biodiversidade botânica do país.

Ração Humana

A primeira versão do produto alimentício denominado “Ração Humana” (RH) foi desenvolvida com o objetivo de “enriquecer as refeições, minimizar riscos à saúde e promover qualidade de vida”. É composta pelos seguintes ingredientes: quinua real, agar-agar (gelatina sem sabor), açúcar mascavo, aveia em flocos, cacau em pó, farelo de aveia, fibra de

trigo, farinha de arroz integral, fubá de milho branco, farinha de soja desengordurada, gergelim creme com casca, gérmen de trigo, guaraná em pó, levedo de cerveja e semente de linhaça.

O fabricante detentor da patente do produto recomenda o consumo de duas colheres de sopa do produto por dia (20g), complementando ou substituindo uma refeição leve, preferencialmente, o café da manhã. Os benefícios sugeridos apresentam claramente objetivo de propaganda, sem compromisso de resultado garantido e incluem “regulação das funções do organismo, tais como bom funcionamento intestinal, fortalecimento e manutenção das fibras musculares, de forma a evitar lesões e perda de massa muscular.” Esta primeira fórmula é vendida em 22 estados brasileiros e também está sendo exportada para outros países.

Outros benefícios amplamente divulgados, sem comprovação científica, referem-se à “aceleração do metabolismo, desintoxicação do organismo, saciedade, nutrição, redução da absorção de gordura pelo organismo e maior estímulo da digestão”. Tais alegações incentivam o comércio e estima-se que existam mais de 500 pontos de venda no Brasil, incluindo diversas versões e marcas de RH, que diferem quanto à proporção e tipo de ingrediente, modo de preparo e formas de consumo (complemento ou substituto). Novos produtos têm surgido e há dezenas de receitas disponíveis, em páginas na internet, para orientar a fabricação caseira.

No que diz respeito à legislação, o produto encontra-se na categoria de produtos isentos de registro. De acordo com o Anexo I da Resolução RDC nº 27/2010, regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estão isentos de registro matérias-primas alimentares e alimentos “in natura”. Para comercialização esses produtos necessitam de um alvará sanitário estadual ou municipal e de uma comunicação de início de fabricação (BRASIL, 2010).

Devido ao número de ingredientes ricos em fibra alimentar e em compostos bioativos, alguns nutricionistas têm recomendado o uso da RH devido aos benefícios que esses ingredientes podem trazer à saúde. Recentemente, em estudo realizado com mulheres em idade fértil, portadoras de sobrepeso e obesidade (IMC 27-35 kg/m²) (n=20), o consumo de RH por 45 dias em substituição ao desjejum, contrariou as alegações de seus efeitos para reduzir peso corporal e promover alterações da composição corporal. Porém, efeitos favoráveis foram observados quanto à redução dos níveis séricos de TAG, LDL-c e colesterol total (ROCHA *et al.*, 2012). Entretanto, em mulheres pós-menopausadas praticantes de atividade física, a suplementação de RH por 30 dias não causou redução significativa de colesterol total, triacilgliceróis e glicose séricos (MACHADO; NAVARRO, 2010). Assim,

apesar do amplo consumo de produtos similares à RH, seus benefícios no tratamento da obesidade ainda não são claros.

Os conhecimentos atuais sobre as alterações metabólicas no tecido adiposo na condição de obesidade, sua influência na homeostase sistêmica e os potenciais efeitos de compostos bioativos naturais no adipócito conduzem à necessidade de ampliação das metas no tratamento da obesidade. Embora a perda de peso corporal, por meio da redução da adiposidade, seja o objetivo que todos querem atingir no tratamento da obesidade, a necessidade de buscar estratégias para atenuar as alterações metabólicas associadas às comorbidades não pode ser negligenciada. Nesse contexto, a redução do estresse oxidativo e da inflamação são alvos cruciais a serem modulados durante a intervenção nutricional para tratamento e controle da obesidade.

3. HIPÓTESE

Em portadores de sobrepeso e obesidade, o estado clínico-nutricional e os níveis de biomarcadores séricos, que sofrem modulação por estresse oxidativo e inflamação, poderão ser melhorados em resposta ao consumo de RH associada à restrição calórica. As evidências científicas que suportam essa hipótese estão baseadas nos seguintes aspectos: o produto RH é rico em fibra alimentar e apresenta considerável diversidade botânica (sete famílias botânicas), por causa da sua composição de ingredientes à base de alimentos de origem vegetal, fontes de compostos bioativos, os quais podem contribuir para a redução do estresse oxidativo e inflamação crônica de baixo grau. Assim, o consumo de RH durante o tratamento para redução de peso corporal pode modular parâmetros de risco relacionados à síndrome metabólica e DCNTs.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Investigar, o efeito do consumo de Ração Humana sobre marcadores de risco metabólico, estresse oxidativo e inflamação, diversidade botânica da dieta, e ingestão de macronutrientes, e micronutrientes antioxidantes em mulheres portadoras de sobrepeso e obesidade.

4.2 Objetivos específicos

- ✓ Desenvolver um produto similar à Ração Humana¹;
- ✓ Desenvolver um *shake* para servir de base de adição da RH;
- ✓ Caracterizar a RH e os *shakes* utilizados quanto à composição química;
- ✓ Caracterizar as participantes quanto aos parâmetros sócio-demográficos, clínico-antropométricos, quanto ao risco metabólico e estados inflamatório e antioxidante, no período pré-intervenção;
- ✓ Verificar o efeito da ingestão de RH sobre a diversidade botânica da dieta das participantes;
- ✓ Analisar o efeito da ingestão de RH sobre o consumo de macronutrientes, micronutrientes e antioxidantes;
- ✓ Verificar a existência de associações entre parâmetros de risco metabólico, biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatório e ingestão dietética de antioxidantes;
- ✓ Avaliar o efeito da ingestão de RH sobre o perfil de lipídios, glicemia e insulinemia de jejum e grau de resistência insulínica;
- ✓ Estudar o efeito da ingestão de RH sobre os níveis de biomarcadores inflamatórios e de estresse oxidativo;
- ✓ Avaliar o efeito da ingestão de RH sobre componentes da Síndrome Metabólica: pressão arterial, perímetro da cintura, glicemia de jejum, HDL-c e TAG;

¹ No presente estudo o produto similar à Ração Humana (mix de cereais, sementes e grãos) será denominado Ração Humana – RH

- ✓ Avaliar a associação entre as respostas de biomarcadores de estresse oxidativo, de inflamação e risco metabólico frente às intervenções;
- ✓ Verificar o efeito da ordem dos tratamentos sobre parâmetros de risco metabólico.

5. METODOLOGIA GERAL

5.1 Considerações gerais

A presente dissertação apresenta resultados de um projeto mais amplo, no qual se avaliou o efeito da ingestão de RH por mulheres com sobrepeso e obesidade durante intervenção nutricional, com restrição calórica leve para redução do peso corporal. O estudo envolveu 2 abordagens: i) efeito do consumo de RH sobre a redução do peso e composição corporal e saúde óssea, que deu origem à dissertação intitulada **“Efeito de uma mistura de cereais, sementes e grãos (“Ração Humana”) no estado nutricional de ferro e zinco, na composição corporal e na saúde óssea”** (ENES, 2012); ii) efeito do consumo de RH sobre diversidade botânica da dieta, ingestão de macronutrientes, micronutrientes e fitoquímicos antioxidantes, e sobre níveis de marcadores de risco metabólicos, incluindo estresse oxidativo e inflamação. Duas discentes de Mestrado em Ciência da Nutrição foram responsáveis pela execução do projeto, que envolveu uma equipe de apoio composta por seus respectivos orientadores (2), co-orientadores (4), bolsistas de iniciação científica (3) e discentes de graduação que participaram da pesquisa como membros voluntários (4). Para o presente estudo foram analisados dados de composição corporal, consumo alimentar, dados bioquímicos referentes aos biomarcadores de risco para DCNTs, e variáveis metabólicas e clínicas relacionados ao excesso de peso, incluindo componentes da síndrome metabólica. O estudo foi desenvolvido em parceria com o Programa Estratégia de Saúde da Família do bairro Silvestre, mediante autorização da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura Municipal de Viçosa, que gentilmente cedeu espaço para o recrutamento e atendimento às voluntárias. Para a realização do estudo contou-se com o apoio dos seguintes laboratórios da Universidade Federal de Viçosa: Nutrição Experimental e Análise de Alimentos, Análises Clínicas, Desenvolvimento de Novos Produtos e Análise Sensorial do Departamento de Nutrição e Saúde (DNS), Absorção Atômica do Departamento de Solos e Laboratório de Fisiologia Molecular de Plantas do Departamento de Biologia Vegetal. Parte das análises foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas e no setor de Raio X da Divisão de Saúde (DSA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

5.2 Participantes

O estudo foi realizado mediante parceria entre o Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e o Programa Estratégia de Saúde da Família (PESF) do bairro Silvestre no município de Viçosa-MG/Brasil. Foram estabelecidos os seguintes critérios de inclusão: gênero feminino, idade entre 24 e 45 anos, índice de massa corporal (IMC) entre 25 e 35 kg/m², hábito de realizar o desjejum utilizando produto lácteo e ausência da intenção em alterar o padrão de atividade física.

Não foram incluídas gestantes, lactantes, mulheres menopausadas – amenorréia por período ≥ 12 meses (GRACIA *et al.*, 2005), histerectomizadas, etilistas e/ou tabagistas, portadoras de doença gastrointestinal (doença celíaca, síndrome de má absorção, gastrectomia ou colectomia), hepatopatia crônica, doença renal (litíase, insuficiência renal crônica), doença endócrina (hiperparatireoidismo, hiper ou hipotireoidismo), que estivessem utilizando antiinflamatórios, diuréticos tiazídicos, estatinas, androgênicos, polivitamínicos e/ou polimineral, ou que apresentassem alergia ou intolerância a algum ingrediente do produto da RH. Oscilações no peso corporal superior a 5% nos últimos dois meses (MAKI *et al.*, 2010) e o uso de estratégias para o controle do peso corporal nos últimos dois meses também foram utilizados como critério de exclusão.

5.3 Desenho do estudo

O estudo foi realizado por meio de uma intervenção dietética do tipo *crossover 2x2*, incluindo 2 períodos de 5 semanas (com 1 semana de *washout*) de uma dieta com restrição calórica (RC) adicionado de: i) *skake* controle (RC) ou ii) *skake* + RH (RCRH) como substitutos do desjejum. O plano alimentar foi elaborado por nutricionista de maneira a respeitar a restrição calórica de 15% em relação à necessidade energética estimada (*Estimated Energy Requirement* – EER), calculada por meio de equação específica para sobrepeso e obesidade (IOM, 2005). As participantes (22 mulheres) foram aleatoriamente alocadas para formar dois grupos (n=11) em duas ordens. Na primeira ordem, as participantes do grupo 1 iniciaram o estudo com o tratamento RC e em seguida receberam o tratamento RCRH (ordem

RC-RCRH). Na segunda, inverteu-se a ordem dos tratamentos (ordem RCRH-RC) (**Figura 1**).

Os *shakes*, placebo e RH, foram ofertados em dois sabores, morango e chocolate. Os *shakes* e a Ração Humana foram avaliados quanto à sua composição química. Para investigar a adesão ao plano e o efeito dos tratamentos sobre o consumo alimentar avaliou-se a ingestão alimentar por meio de registros alimentares de três dias, sendo dois dias úteis e um dia no final de semana, utilizando-se o *software* DIETPRO, versão 5.0. O perfil socioeconômico foi caracterizado no *baseline* por meio de questionário específico (APÊNDICE A). As participantes foram orientadas a manter o perfil de atividade física habitual e durante o período de intervenção tais orientações foram reforçadas e investigadas, por meio da aplicação do Questionário Internacional de Nível de Atividade Física (IPAQ) versão 6 (ANEXO A). Ao início e ao final de cada etapa do estudo avaliou-se o efeito dos tratamentos sobre o consumo alimentar, diversidade botânica da dieta, parâmetros antropométricos e de composição corporal, parâmetros clínicos e metabólicos, incluindo biomarcadores de estresse oxidativo e inflamação.

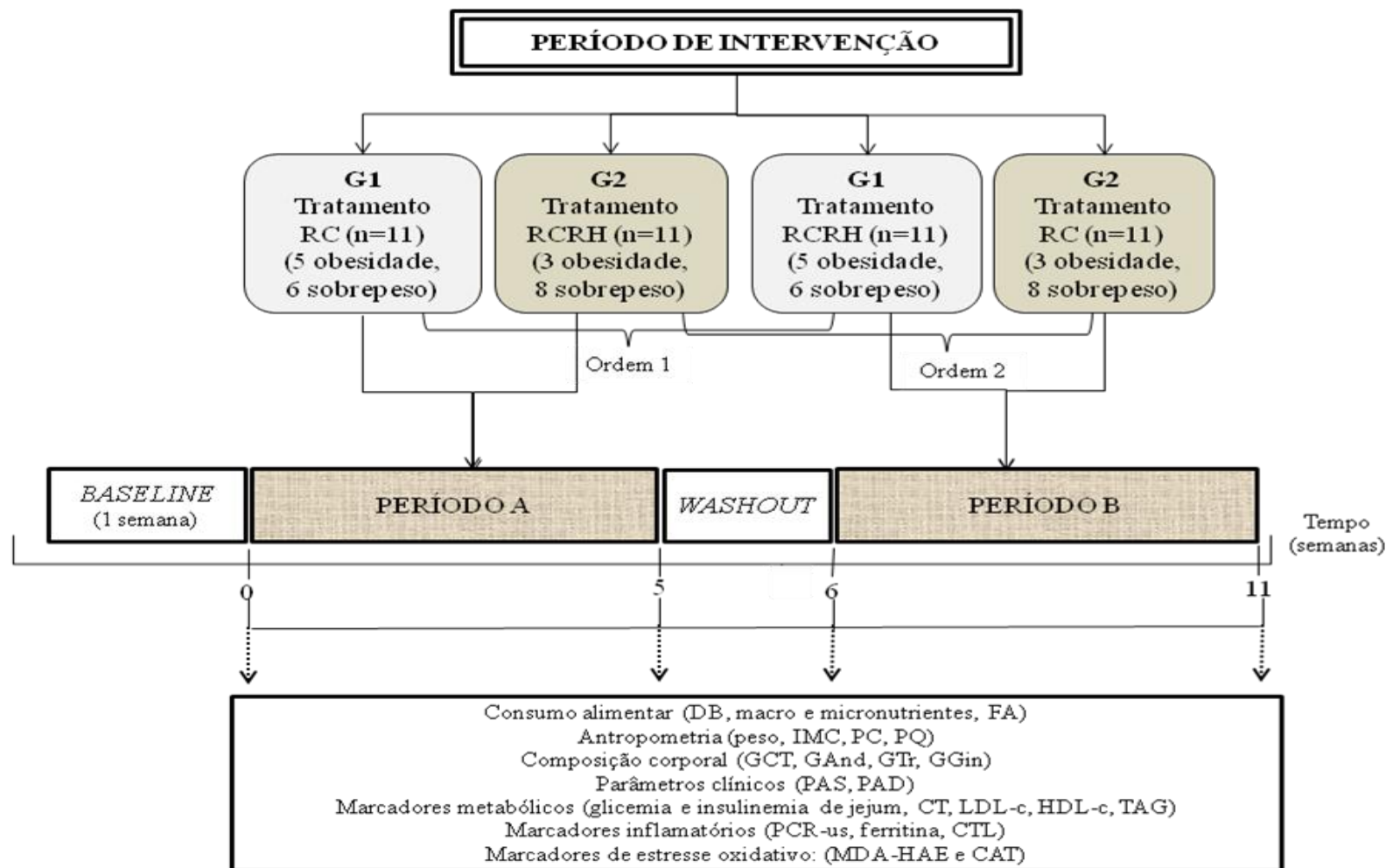


Figura 1 - Desenho experimental

RC: restrição calórica; DB: diversidade botânica da dieta; FA: fibra alimentar; IMC: índice de massa corporal; PC: perímetro da cintura; PQ: perímetro do quadril; GCT: gordura corporal total; GAnd: gordura região andróide; GTr: gordura região do tronco; GGin: gordura região glúteo-femoral (ginóide); PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; CT: colesterol total; LDL-c: *Low-density lipoprotein*; HDL-c: *high-density lipoprotein*; TAG: triacilgliceróis; MDA: malondialdeído; MDA-HAE: malondialdeído-4-hidroquialqueno; CAT: capacidade antioxidante total do plasma; PCR-us: proteína C-reativa ultra-sensível; CTL: contagem total de leucócitos

5.4 Desenvolvimento dos produtos Ração Humana (RH) e *shakes*

Os produtos utilizados no presente estudo foram desenvolvidos no Laboratório de Desenvolvimento de Novos Produtos e Análise Sensorial do DNS/UFV.

A RH utilizada durante o estudo foi elaborada seguindo as proporções de ingredientes similares às versões de produtos comercializados no Brasil, conforme descrito a seguir: fibra de trigo (20%), farinha de soja desengordurada (10%), farinha de arroz integral (8%), aveia em flocos (8%), fubá de milho branco (8%), gérmen de trigo (6%), quinoa real (2%), sementes de linhaça (10%) e gergelim creme (8%) trituradas, açúcar mascavo (8%), cacau em pó (2%), guaraná em pó (2%), levedo de cerveja (2%), agar-agar (gelatina sem sabor) (4%).

Tais ingredientes foram adquiridos de um mesmo lote no comércio local. Previamente ao preparo, as sementes de gergelim e linhaça foram trituradas em liquidificador (Walita, modelo LiquiFaz). Os ingredientes foram pesados, conforme a quantidade necessária, em balança semi-analítica (Balança BioPrecisa®, modelo BS3000A, capacidade máxima 300 g e mínima de 5g) ou analítica (Balança Shimadzu®, modelo AY220, capacidade máxima de 220 gramas e mínima de 0,01 gramas). Posteriormente, foram misturados em ordem crescente de quantidade e cuidadosamente homogeneizados. Após o preparo, a RH foi acondicionada em embalagens plásticas de coloração escura, de forma a evitar a instabilidade oxidativa por ação de luz, calor e oxigênio e mantida sob refrigeração.

Foram elaborados *shakes* com adição de RH e sem adição de RH (controle). Ambos os *shakes* foram fornecidos nos sabores morango e chocolate, visando melhorar a palatabilidade dos mesmos. Desta forma, os sabores foram alternados entre os dias, buscando melhorar a aceitação e aumentar a adesão por parte das participantes. Os *shakes* controle e RH diferem entre si quanto à composição química e não foram elaborados no intuito de serem isoenergéticos.

O *shake* contendo RH (intervenção RCRH) foi composto por Ração Humana (20 g), leite em pó desnatado (15g), goma xantana (0,3g), chocolate em pó 50% cacau (7g) ou achocolatado sabor morango (10g). O *shake* controle (intervenção RC) continha todos esses ingredientes, nas mesmas proporções, exceto a Ração Humana. Dessa forma, a porção de *shake* RC continha 22,3 gramas no sabor chocolate e 25,3 no sabor morango, enquanto o *shake* RH nos sabores chocolate e morango continha 42,3 e 45,3 gramas, respectivamente.

Os ingredientes foram pesados individualmente, homogeneizados e acondicionados em embalagens plásticas fechadas por seladora manual. Os *shakes* foram preparados semanalmente e mantidos sob refrigeração até o momento da entrega semanal às voluntárias. Os produtos utilizados nas intervenções, incluindo todas as versões de *shake*, bem como a RH, foram avaliados quanto à sua composição química, conforme descrito no item 5.5.

5.5 Análise da composição química da RH e *shakes*

Avaliou-se a composição centesimal, teor de fibra alimentar (total e frações solúvel e insolúvel) e de minerais da RH e *shakes*. Determinou-se também os teores de fitatos, taninos condensados, fenólicos totais e a capacidade antioxidante da RH. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Nutrição Experimental e Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição e Saúde/UFV e no Laboratório de Absorção Atômica do Departamento de Solos/UFV.

5.5.1 Composição centesimal

Determinou-se a umidade à 105°C, por gravimetria, seguindo procedimento descrito pela AOAC (2002) (Método Ba 2a-38).

O método micro Kjeldahl foi utilizado para a determinação do teor protéico por meio da quantificação de nitrogênio total, utilizando-se fator de conversão igual a 6,25 (AOAC, 2002) (Método Ba 4a-38).

O teor de lipídios foi determinado por extração em aparelho Soxhlet, utilizando-se éter de etílico como extrator, por 8 horas sob refluxo, de acordo com a AOAC (2002) (Método Ba 3-38).

A concentração de cinzas foi determinada segundo procedimento descrito pela AOAC (2002) (Método Ba 5a-49). As amostras foram submetidas à calcinação em mufla (Quimis[®], modelo 318, Diadema, Brasil) e o resultado foi expresso pela diferença de massa antes e após a calcinação.

Para determinar o teor de carboidratos utilizou-se o cálculo da diferença entre total da amostra (100%) e os teores de proteínas, lipídios, fibra alimentar total, teor de água e cinzas.

Para o cálculo do valor calórico foram utilizados os fatores de conversão 4, 4 e 9 kcal/g de alimento para carboidratos, proteínas e lipídios, respectivamente (FRARY; JOHNSON, 2005).

5.5.2 Fibra alimentar

Os teores de fibra alimentar total (FAT), fração solúvel (FAS) e insolúvel (FAI) da RH e dos *shakes* foram determinados por meio do método enzimático gravimétrico (Método Ba 6-84) (AOAC, 2002). Para hidrólise enzimática foram utilizadas α -amilase termoresistente, protease e amiloglicosidase (Total dietary fiber assay kit, Sigma[®]). Para a filtração utilizou-se cadinhos de vidro com placa de vidro sintetizado com porosidade n^o2 (ASTM 40-60mesh) e celite como auxiliar de filtração. O teor de fibra alimentar total foi obtido por meio da soma entre as frações solúvel e insolúvel.

5.5.2.1 Preparo de cadinhos

Resumidamente, os cadinhos foram deixados de molho durante 24 horas em detergente neutro (Chemco[®]) a 20%. Após esse período, foram enxaguados à vácuo com água destilada no sentido normal e oposto. Em seguida, foram colocados em estufa (Marconi[®], modelo MA-035/5, Piracicaba, Brasil) para secagem a 105°C por 1 h e incinerados em mufla (Quimis[®], modelo 318, Diadema, Brasil) a 525°C por 5 h. Posteriormente, foram lavados cinco vezes com 20 mL de HCl 0,5N e enxaguados três vezes com 20 mL de água destilada no sentido oposto. Foram secos novamente em estufa a 105°C por 12 h e resfriados em dessecador contendo sílica para aferição do peso. Pesou-se 1 g de celite, com precisão de 0,0001 g, adicionou-se aos cadinhos e repetiu-se a secagem a 105°C por 12 horas para pesagem posterior.

5.5.2.2 Obtenção do hidrolisado

Pesou-se em béquer de 600 mL, 1 g de amostra previamente desengordurada, em duplicata, com precisão de 0,1mg. Em cada béquer adicionou-se 50 mL de tampão fosfato pH 6,0. O pH foi ajustado para $6,0 \pm 0,2$, adicionando, se necessário, NaOH 0,275 ou HCl 0,325 N. Nessa solução foi adicionado 0,1 mL de α -amilase termoresistente. Tampou-se o béquer com folha de papel alumínio e aqueceu-se em banho-maria (Marconi[®], modelo MA 093, Piracicaba, Brasil) a 97°C durante 30 minutos, com agitação (100rpm) a cada 5 min. As amostras foram resfriadas em temperatura ambiente. O pH foi ajustado para $7,5 \pm 0,1$, por meio da adição de aproximadamente 10 mL de NaOH 0,275N. Em seguida, adicionou-se 0,1 mL de protease (5 mg/0,1 mL) na solução pré-digerida e o béquer foi novamente tampado com folha de alumínio e incubado à 60°C por 30 min, com agitação horizontal contínua (100 rpm). Após resfriamento do hidrolisado à temperatura ambiente, foi adicionado em torno de 10 mL de HCl 0,325 N com a finalidade de ajustar o pH para $4,3 \pm 0,3$. Por fim, foi adicionado 0,1 mL de amiloglicosidase na solução e o béquer foi novamente tampado com folha de alumínio e incubado a 60°C por 30 min com agitação horizontal contínua (100 rpm), para obtenção do hidrolisado final. O mesmo procedimento foi realizado em duplicata para obtenção do branco.

5.5.2.3 Fibra insolúvel

O hidrolisado foi filtrado com auxílio de bomba de vácuo (Marconi[®], modelo MA-058, Piracicaba, Brasil) em cadinho previamente preparado. O resíduo do cadinho foi lavado com 10 mL de água destilada, repetindo o procedimento três vezes, lavando primeiramente o béquer que continha a amostra para minimizar as perdas. O volume filtrado em kitasato foi transferido para um béquer de 600 mL, utilizando-se 320 mL de álcool 98%, aquecido a 60°C para lavar o kitasato, sendo este material reservado para análise de fibra solúvel. Em seguida, os cadinhos foram lavados duas vezes com o volume de 20 mL de etanol a 95%, e duas vezes com 20 mL acetona. Os cadinhos foram secos em estufa a 105°C durante 12 horas.

Posteriormente, realizou-se análise de proteína e cinzas nos resíduos do cadinho (AOAC, 2002).

5.5.2.4 Fibra solúvel

O volume obtido e reservado na etapa filtração da fibra insolúvel foi deixado em repouso em temperatura ambiente durante 1 hora para precipitação. Após esse período, o precipitado foi filtrado nos cadinhos e esses foram lavados com auxílio da bomba de vácuo com 20 mL etanol a 78%. O conteúdo reservado foi filtrado no cadinho com auxílio de bomba de vácuo. Esses foram lavados consecutivamente três vezes com volume de 20 mL de etanol a 78%, duas vezes com 20 mL de etanol a 95% e duas vezes com 20 mL de acetona. Posteriormente, os cadinhos com o resíduo foram secos em estufa a 105°C durante 12 horas e prosseguiu-se para análise de proteínas e cinzas dos resíduos conforme descrito anteriormente.

5.5.3 Minerais

Para a determinação do teor dos minerais ferro, cálcio, zinco, cobre, manganês, magnésio, sódio, potássio e fósforo, foi pesado 1 g de amostra em triplicada em tubo de digestão e foram adicionados 10 mL de ácido nítrico concentrado. Posteriormente, as amostras foram aquecidas em bloco digestor com exaustão, com temperatura inicial de 80 °C e aumento progressivo até 160 °C, temperatura à qual as amostras foram submetidas durante um período de 16 horas até a formação de solução límpida. Os tubos foram resfriados em temperatura ambiente. O conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 50 mL, o tubo lavado com água deionizada e agitado em vórtex, para evitar perdas, e seu conteúdo vertido no balão volumétrico até que o volume fosse completado. Essa solução foi utilizada para leitura do conteúdo dos minerais em equipamento de espectrofotometria de emissão de plasma (Perkin Elmer – Optima 3300 DV, Norwalk, USA). Todas as vidrarias utilizadas foram previamente desmineralizadas em solução de ácido nítrico 10% durante 12 h e secas em estufa de circulação de ar (GOMES; OLIVEIRA, 2011).

5.5.4 Fitatos da RH

O teor de fitato foi determinado por cromatografia de troca iônica e espectrofotometria, segundo método de Latta e Eskin (1980), com modificações propostas por Ellis e Morris (1986). Para a extração dos fitatos, pesou-se 0,1 g de RH e adicionou-se 5 mL de HCl 2,4%. Prosseguiu-se com agitação horizontal, em agitador rotativo, por 12 horas à 250 rpm. Centrifugou-se o extrato à 3000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi filtrado à vácuo em funil de büchner e purificado utilizando coluna de troca iônica, com fase estacionária constituída por resina Dowex- AGX-4. A coluna foi pré-condicionada com NaCl 2 M e o extrato obtido das etapas anteriores foi aplicado cuidadosamente à mesma. Os fósforos inorgânicos foram eluídos com NaCl 0,05 M, seguido da eluição dos fitatos retidos com NaCl 2 M. O fitato foi determinado colorimetricamente, com base na coloração rósea do reagente de Wade, formada a partir da reação entre o íon férrico e o ácido sulfossalicílico, que apresenta absorvância máxima à 500 nm. Na presença de fitato, o ferro é sequestrado e indisponível para reagir com o ácido sulfossalicílico, resultando em uma redução da intensidade da cor. Uma curva analítica utilizando padrão de ácido fítico ($C_6H_{18}O_{24}P_6 \times Na.yH_2O$, Sigma®), nas concentrações de 10 a 100 $\mu g \cdot mL^{-1}$ foi elaborada, por meio da equação de regressão linear ($y = -0,0038x + 0,4963$; $R^2=0,9938$) para expressar o teor de fitatos em miligramas de ácido fítico por 100 gramas de RH.

5.5.5 Taninos condensados da RH

Utilizou-se o método de reação vanilina, segundo Burns (1971), com modificações de Maxson e Rooney (1972) e Price, Van Scoyoc e Butler (1978), para determinação do teor de taninos condensados. Foram utilizadas alíquotas de 200 mg de amostras de RH em 10 mL de solução a 1% de HCl em metanol. Os tubos foram colocados em agitador automático à 80 rpm durante 20 minutos para a extração dos taninos mantendo temperatura à 30°C. Em seguida, foram centrifugados a 3.000 rpm, por 20 minutos. Alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram adicionadas a 2,5 mL de solução a 1% de vanilina em metanol e 2,5 mL de solução a 8% de HCl em metanol. Os tubos foram mantidos em repouso por 20 minutos e

as absorvâncias foram medidas à 500 nm em espectrofotômetro (UV-1601, Shimadzu®) contra o branco. Foi subtraída das leituras das amostras a absorvância do branco, na qual a solução de vanilina foi omitida. Em seguida, as absorvâncias foram medidas a 500 nm contra o branco reagente. Uma curva-padrão de catequina ($y = 0,0045x + 0,0013$; $R^2=0,997$) foi usada para expressar os resultados em miligrama equivalente de catequina por 100 gramas de RH. Para obter a curva preparou-se uma solução estoque de catequina em metanol (1mg/mL) e alíquotas de 5, 5, 10, 20, 25 e 50 foram retiradas da solução concentrada e o volume foi ajustado para 100 mL em balão volumétrico com metanol. A reação foi feita nas mesmas condições descritas para a amostra.

5.5.6 Fenólicos totais da RH

Para a determinação de fenólicos solúveis totais utilizou-se o método colorimétrico proposto por Singleton et al. (1999), utilizando-se o reagente de Folin – Ciocalteu, que oxida os compostos fenólicos em ambiente alcalino, e reduzem o fosfomolibdato presente no reagente, formando um composto de coloração azul que pode ser lido espectrofotometricamente à 765nm (espectrofotômetro UV-1601, Shimadzu®). Para obtenção do extrato, amostras de RH (1 g), previamente trituradas, adicionadas de solução extratora constituída por metanol:água (60:40 v/v), segundo Bloor (2001), foram mantidas em temperatura ambiente sob agitação por 30 minutos (180 rpm). A mistura foi centrifugada (1000 g por 10 minutos) e os sobrenadantes coletados foram acondicionados em frascos âmbar, até o momento das análises. A concentração de compostos fenólicos solúveis presente nas amostras foi determinada a partir de uma curva padrão de ácido gálico construída com concentrações de 0,01 a 0,1 g/L ($y = 30,76x + 0,081$, $R^2 = 0,996$). O resultado foi expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de RH.

5.5.7 Atividade antioxidante da RH

A capacidade antioxidante da RH foi comparada à capacidade antioxidante do pão branco, ambas determinadas por meio da atividade de retirada do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), segundo método proposto por Blois (1958).

Para obtenção do extrato, utilizou-se o mesmo procedimento para extração de fenólicos totais, descrito no item anterior. Alíquotas dos extratos (100 µL) foram adicionadas de solução metanólica de DPPH• 0,1mM (1,5 mL), sendo a mistura agitada em vórtex por 1 minuto, e mantida em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz. A leitura de absorvância em 517 nm foi feita, utilizando-se em espectrofotômetro (espectrofotômetro UV-1601, Shimadzu®), assegurando-se que a absorvância estivesse entre 0,9 e 1,0 para realização do teste. A atividade de retirada de radical (AAR) foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$AAR(\%) = [(A_{amostra} - A_{branco})/A_{controle}] \times 100$$

Em que: $A_{amostra}$ é a absorvância da amostra de RH (solução de DPPH• mais amostra), A_{branco} é a absorvância da amostra somente (amostra sem solução de DPPH•), $A_{controle}$ é a absorvância do controle (solução de DPPH• sem amostra).

5.6 Intervenção

Os *shakes*, controle e RH, foram ofertados em dois sabores, morango e chocolate. As participantes receberam os *shakes* semanalmente em embalagens porcionadas para o consumo diário. Anteriormente ao início da intervenção, as voluntárias receberam um copo com tampa e marcador de medida indicando a quantidade exata de água a ser adicionada (150 mL) no preparo do *shake*. Orientou-se para que toda a porção de *shake* fosse adicionada ao copo medidor, seguida por adequada homogeneização em água por meio de agitação manual por 1 minuto, utilizando o copo devidamente tampado. As voluntárias foram orientadas a consumir todo o conteúdo do *shake*; caso contrário, o volume não ingerido deveria ser registrado em formulário próprio e entregue às pesquisadoras.

Durante o estudo, as participantes foram orientadas a seguir o plano alimentar personalizado (PAP) elaborado por nutricionista, com distribuição normal de macronutrientes, destinado a atender as necessidades nutricionais, preconizando-se a restrição calórica de 15% em relação ao valor obtido pela necessidade energética estimada – *Estimated Energy Requirement* (EER) – proposta para adultos portadores de sobrepeso e obesidade (IOM, 2005). Foi estimada uma perda de peso corporal em torno de 1,5 a 2 kg (2 a 2,7%) em cada período de intervenção e 3 a 4 kg (4 a 5%) durante todo o estudo. Para o cumprimento adequado do PAP, as voluntárias receberam também uma lista de substituição de alimentos, organizada por grupos alimentares, e orientações gerais por escrito para direcioná-las quanto às escolhas alimentares saudáveis. O desjejum habitual foi substituído pela ingestão diária de *shake* controle (intervenção RC) ou *shake* contendo Ração Humana (intervenção RCRH), descontando o percentual calórico fornecido por cada tipo de *shake* no plano alimentar, de maneira a atingir a restrição diária de 15% nas refeições posteriores.

5.7 Avaliação da ingestão calórica, de macronutrientes, fibra alimentar e antioxidantes

As participantes completaram o registro alimentar de três dias, sendo dois dias úteis e um dia no final de semana no *baseline* (T0) e ao final de cada intervenção (T4). A conversão de medidas caseiras para medidas de massa e volume foi realizada utilizando a tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras (PINHEIRO *et al.*, 2001). A estimativa da quantidade dos nutrientes ingeridos foi avaliada por meio do *software* DIETPRO, versão 5.0. Avaliou-se a ingestão total de calorias, macronutrientes (proteína, lipídios, carboidratos), gorduras saturadas, mono e poliinsaturadas, fibra alimentar e dos micronutrientes: vitamina E, zinco, selênio e manganês.

5.8 Avaliação da diversidade botânica da dieta

Foram utilizadas informações do questionário de frequência alimentar (QFA), específico para estudo da relação entre dieta e DCNTs (FURLAN-VIEBIG; PASTOR-VALERO, 2004) (ANEXO B), aplicado no *baseline*, para listar os alimentos de origem

vegetal consumidos pelas participantes. Foram incluídos na listagem os ingredientes da RH e os alimentos de origem vegetal citados nos registros alimentares durante o estudo e que não constavam no QFA.

A diversidade botânica da dieta foi analisada por meio da classificação dos alimentos à base de plantas quanto às famílias botânicas a que pertenciam, segundo a taxonomia *Linnaen*. O “Catálogo de Hortaliças Brasileiras” (Embrapa, 2010) e o livro “Alimentos regionais brasileiros” (Brasil, 2002) foram utilizados para a busca do nome científico de cada espécie. Para encontrar a família botânica a que pertenciam, utilizou-se busca no *site* criado pelos institutos *Botanical Gardens, Kew e Missouri Botanical Garden*, que disponibiliza uma lista de plantas a “*The Plant List*” contendo 1.040.426 espécies e 620 famílias de plantas (<http://www.theplantlist.org>).

Avaliou-se o número de famílias botânicas consumidos no início e ao final de cada período de intervenção. Para essa avaliação, convencionou-se utilizar apenas o primeiro registro alimentar aplicado em cada etapa.

5.9 Avaliação antropométrica e da composição corporal

O peso corporal foi aferido em balança eletrônica (Líder P150-m®, capacidade máxima de 150 kg, mínima de 2 kg, precisão de 50 g, plataforma 0,30 x 0,35 m), seguindo o protocolo recomendado por Jellife (1966). Utilizando roupas leves e descalças as voluntárias, se posicionaram ao centro da plataforma da balança, em posição ereta, com braços estendidos ao longo do corpo e olhar fixo no horizonte.

A estatura foi aferida utilizando-se antropômetro vertical de plataforma (Altura Exata®, escala de 0,1 cm e extensão de 2 metros). Descalças, as voluntárias permaneceram com os pés unidos em posição ereta e com braços estendidos ao longo do corpo. O IMC foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela altura (m) ao quadrado (QUETELET, 1869). Foram utilizados os pontos de corte preconizados pela WHO (2000) para a classificação do estado nutricional, segundo o IMC.

O perímetro da cintura (PC) foi aferido na menor curvatura localizada entre as costelas e a crista ilíaca, com a participante de pé, durante a expiração normal, utilizando-se fita métrica inelástica, sem compressão dos tecidos. Quando não foi possível identificar a menor curvatura, a medida foi realizada dois cm acima da cicatriz umbilical (LOHMAN; ROCHE;

MARTORELL, 1998). Valores inferiores a 80 cm foram considerados como adiposidade abdominal adequada (ALBERTI et al., 2009).

A composição corporal (gordura corporal total, gordura visceral, gordura na região do tronco e quadril e massa livre de gordura) foi avaliada por meio do método de absormetria radiológica de dupla energia (DEXA) (GE Healthcare®, Lunar Prodigy Advance, United Kingdom). A precisão e exatidão das medidas realizadas foram garantidas por calibração e controle de qualidade diário e semanal, por meio de *phantom* de água e padrão de hidroxiapatita, respectivamente, e nenhum erro significativo foi encontrado. O exame foi realizado por técnico habilitado e treinado, na Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Para quantificação dos compartimentos de gordura utilizou-se o *software* especializado (enCore, GE Lunar's software platform, versão 13.31) para reconstrução da imagem e tecidos subjacentes. O exame foi realizado conforme o seguinte protocolo: a voluntária permaneceu deitada em decúbito dorsal sobre uma mesa (em que a fonte e o detector passaram ao longo do corpo com uma velocidade de 1 cm/s), descalça e utilizando somente um avental, sem quaisquer tipo de material metálico (brincos, anéis, colares, próteses dentárias, ou outros), em jejum e com a bexiga esvaziada. O ciclo menstrual foi investigado de forma a evitar a realização do exame nesse período para que a retenção hídrica não interferisse nos resultados.

5.10 Aferição da pressão arterial

A pressão arterial foi determinada conforme procedimentos recomendados pela Associação Americana do Coração (do inglês *American Heart Association's* – AHA) (PICKERING et al., 2005). Foi utilizado aparelho medidor de pressão digital automático (G. Tech, Linha Master) aprovado pela Sociedade Brasileira de Hipertensão. Três medidas foram realizadas e utilizou-se a média dos valores obtidos. Em casos de medidas discrepantes, optou-se por utilizar a média dos dois valores mais próximos.

5.11 Determinação de biomarcadores em soro e plasma

A coleta de sangue, para a obtenção de soro e plasma, foi realizada utilizando tubos *vacutainer*, seguindo os protocolos adotados pelo Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde (LAC/DSA) da UFV, realizado por técnico em enfermagem habilitado. No momento do exame, as participantes se encontravam em jejum de 12 h. Coletou-se 15 mL de sangue que foram fracionados em tubos de heparina, EDTA e soro gel, conforme o parâmetro bioquímico a ser analisado. O material foi centrifugado por 20 minutos e armazenados a -80°C em ultra-freezer (Forma® 900 series, Thermo Scientific) até o momento das análises.

Análise de insulina de jejum (eletroquimioluminescência), proteína C-reativa ultrasensível (nefelometria), ferritina (quimioluminescência) e contagem total de leucócitos (impedância elétrica) foram realizadas pelo LAC/DSA da UFV em convênio com o laboratório Álvaro Dias (Rio de Janeiro-RJ). Análises de glicose de jejum (método glicose oxidase), TAG, HDL-c e LDL-c (método enzimático colorimétrico) e colesterol total (método enzimático colorimétrico-COD-PAP), foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do DNS/UFV, por meio de kits comerciais (Bioclin®) em analisador automático para química clínica (BS 200, Mindray®), calibrado com reagente para testes analíticos em metodologias automatizadas e padrões de nível normal e patológico.

5.11.1 Estado antioxidante total

A capacidade antioxidante total (CAT) do plasma foi avaliada por meio do kit *Antioxidant Assay Cayman* (ref. 709001, Cayman Chemical Company®). O ensaio baseia-se na habilidade dos antioxidantes na amostra em inibir a oxidação do ABTS (2,2-Azino-di-[3-etilbenzotiazolina sulfonato] a $ABTS^+$ pela metamioglobina. A quantidade de $ABTS^+$ produzida pode ser monitorada pela leitura da absorvância em 750 nm. Nas condições de reação usadas, os antioxidantes na amostra causam supressão da absorvância à 750 nm ou 405 nm para um grau que é proporcional a sua concentração. A capacidade dos antioxidantes na amostra para prevenir a oxidação do ABTS é comparada com o Trolox, um análogo do tocoferol e é quantificado como mMEq de trolox. O padrão trolox liofilizado foi reconstituído pela adição de 1 mL de água ultra pura. Ao reagente cromogen (ABTS liofilizado) foram

adicionados 6 mL de água ultra pura pra reconstituição. O tampão (3 mL) foi diluído com 27 mL de grau HPLC para obtenção de uma solução contendo 5 mM de fosfato de potássio, 0,9% de cloreto de sódio e 0,1% de glicose, pH = 7. A metamioglobina liofilizada foi reconstituída pela adição de 600 µL do tampão. As amostras de plasmas, anteriormente agitadas em vórtex (Phoenix®, modelo AP56), foram submetidas à diluição de 1:20, adicionado-se 190 µL do tampão aos tubos para microcentrífuga contendo 10 µL de plasma. Após todas as etapas de reconstituição e diluição, utilizou-se agitação em vórtex para a homogeneização. Inicialmente, pipetou-se, no centro da placa de Elisa, 10 µL dos padrões de trolox, em triplicata, em concentrações crescentes (0; 0,045; 0,090; 0,135; 0,18; 0,225 e 0,330 mM) . Aliquotas de 10 µL de plasma diluído (1:20) foram adicionadas aos poços restantes devidamente identificados para as amostras. Em seguida, adicionou-se sequencialmente 10 µL do reagente metamioglobina, 150 µL do reagente *cromogen* e 40 µL de peróxido de hidrogênio. A placa foi coberta com adesivo e incubada em temperatura ambiente por 5 minutos em agitador de placa com agitação moderada (700-900 rotações/minuto). Após incubação, removeu-se o adesivo de maneira a assegurar ausência de bolhas nos poços e procedeu-se a leitura de absorvância em 750 nm, em espectrofotômetro com leitor de Elisa (Titertek multiskan, Plus-MkII), Laboratório de Fisiologia Molecular de Plantas do Departamento de Biologia Vegetal da UFV. Para o cálculo da capacidade antioxidante total do plasma, utilizou-se a equação da reta obtida pela construção da curva-padrão de Trolox ($y = -0,789x + 0,247$, $R^2 = 0,992$) (APÊNDICE B) e os valores foram expressos em mM.

5.11.2 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi avaliada por ensaio colorimétrico, utilizando o kit comercial BioxytechLPO-586, OxisResearch®, que avalia conjuntamente malondialdeído e 4-hidroxiacetonato, produtos da peroxidação. O princípio do ensaio consiste da reação do reagente cromogênico, N-metil-2-fenilindol (R1), com malondialdeído (MDA) e 4-hidroxiacetonato (HAE) à 45°C, que são produtos da peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados. Uma molécula de MDA ou HAE reage com 2 moléculas do reagente R1 para formar um cromóforo estável, com absorvância máxima a 586 nm. O R1 foi diluído pela adição de 6 mL do diluente (ferro férrico) à 18 mL do R1. A solução padrão de 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMOP) em Tris-HCl foi diluída em 1/500 v/v em água deionizada

imediatamente antes do uso, para obtenção de uma solução de concentração de 20 µM. Para a construção da curva padrão, os padrões foram preparados em triplicada, utilizando diluições com água deionizada para obter as concentrações 0; 0,5; 1; 2; 3; 4 µM. Em tubos de vidro para microcentrífuga foram pipetados 200 µL de plasma. Adicionou-se 650 µL do R1 às amostras e aos padrões. Para o branco, utilizou-se 650 µL de 75% acetonitrila em 25% do diluente. Prosseguindo adicionou-se 150 µL de ácido metassulfônico (R2) às amostras, aos padrões e ao branco, e agitou-se em vórtex e incubando em banho Maria à 45°C por 60 min. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 10 min à 15000 g. O sobrenadante foi transferido para cubetas de 1 mL e a leitura da absorvância foi feita em 586 nm, utilizando espectrofotômetro (Shimadzu®, modelo UV-1601) (Laboratório de Análise de Alimentos – DNS/UFV). Os resultados foram expressos em µM de MDA-HAE por meio de equação da reta obtida de curva analítica do 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMOP) ($y = 0,260x + 0,012$; $R^2 = 0,991$) (APÊNDICE C).

5.12 Diagnóstico de componentes da síndrome metabólica e grau de resistência à insulina

Os componentes da SM foram avaliados considerando os pontos de corte propostos pelos NCEP-ATP III (2007). Foram diagnosticadas como portadoras da SM, as voluntárias que apresentaram três dos seguintes componentes: perímetro abdominal superior a 88 cm, glicemia de jejum superior a 100 mg/dL, níveis superiores a 150 mg/dL (1,69 mmol/L) para TAG, HDL-c inferior a 50 mg/dL (1,29 mmol/L), pressão arterial sistólica superior a 130 mmHg ou diastólica superior a 85 mmHg (NCEP, 2007).

O grau de RI foi avaliado pelo índice *Homeostasis Model Assessment* (HOMA-IR), considerando adequados os valores de HOMA-IR menores que 2,5 (MATTHEWS *et al.*, 1985), conforme equação abaixo:

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

5.13 Análise estatística

O cálculo do tamanho amostral foi realizado segundo método proposto por Mera, Thompson e Prasad (1998). Considerou-se como variável principal o percentual de gordura corporal. Adotou-se um poder estatístico de 80%. Para avaliação dos dados demográficos utilizou-se estatística descritiva. Todas as variáveis contínuas foram submetidas ao teste *Skewness/Kurtosis* para análise quanto à normalidade. As variáveis foram expressas por média \pm desvio padrão e mediana e intervalo interquartil (P25 e P75), visto que algumas não apresentaram distribuição normal (peso, IMC, MG, PAS, PAD, MDA, razão MDA/LDL-c, razão MDA/CAT, insulinemia, colesterol total, LDL-c, ferritina, PCR-us, ingestão de vitamina E, selênio, manganês e de lipídios).

Para detectar diferenças significativas antes e após cada intervenção utilizou-se o teste-t de *Student* pareado ou o correspondente não paramétrico *Wilcoxon matched-pairs signed rank*. A comparação entre os tratamentos foi realizada por meio dos testes t de *Student* ou seu correspondente não paramétrico *Mann Whitney*, comparando o delta obtido em cada

intervenção, conforme recomendado por Mills et al. (2009). Para avaliar associações entre variáveis metabólicas, dietéticas e antropométricas, utilizou-se o coeficiente de correlação de *Pearson* (para as variáveis com distribuição normal) ou seu correspondente *Spearman* (para variáveis com distribuição assimétrica). Possíveis alterações durante o período de *washout* foram avaliadas por meio de teste-t de *Student* pareado ou o correspondente não paramétrico *Wilcoxon matched-pairs signed rank*, comparando os valores basais no período A e no período B. O efeito da ordem sobre os parâmetros foi avaliado comparando o delta das alterações por t de *Student* ou seu correspondente *Mann Whitney*, em função da ordem (ordem 1 ou ordem 2). A comparação da composição química dos *shakes* utilizados no estudo foi realizada por meio do teste de *Tukey*. Todas as análises estatísticas anteriormente descritas foram realizadas utilizando-se o *software* Stata versão 9.0, adotando-se nível de significância de 5%.

5.14 Aspectos Éticos

O estudo foi iniciado após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, sob o registro 008/2011 (ANEXO C). O desenvolvimento do projeto foi também autorizado pela Secretaria de Saúde da Prefeitura Municipal de Viçosa (ANEXO D).

As participantes do estudo foram informadas e esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e sigilo dos dados. Porém, não foi informada a discriminação do tipo de produto nos dois períodos de intervenção, por se tratar de estudo simples cego. Iniciou-se a pesquisa somente após prévio consentimento do indivíduo, por meio da assinatura do Consentimento Livre Esclarecido (APÊNDICE D) segundo as Diretrizes Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde- Ministério da Saúde (1997).

6. ARTIGO I

O CONSUMO DE RAÇÃO HUMANA POR MULHERES ADULTAS DURANTE PROGRAMA DE PERDA DE PESO CORPORAL AUMENTA A DIVERSIDADE BOTÂNICA DA DIETA E O CONSUMO DE VITAMINA E

Natália Elizabeth Galdino Alves
Bárbara Nery Enes
Hércia Stampini Duarte Martino
Rita de Cássia Gonçalves Alfenas
Antônio Policarpo Souza Carneiro
Sônia Machado Rocha Ribeiro

RESUMO

Acredita-se que o consumo de alimentos de origem vegetal resulta em efeitos benéficos no controle do peso corporal, bem como na redução de biomarcadores de risco de doenças. Esses efeitos são atribuídos à presença de fitoquímicos com elevado potencial bioativo. No presente estudo, simples cego, do tipo *crossover*, investigou-se o efeito da ingestão de um produto à base de alimentos de origem vegetal, a Ração Humana (RH), sobre a diversidade botânica da dieta (DB) e o consumo de nutrientes e de fitoquímicos antioxidantes em mulheres com sobrepeso e obesidade. Foram exploradas as associações entre DB, consumo de nutrientes e os parâmetros de risco metabólico. As participantes (n=22) foram distribuídas aleatoriamente em dois períodos de cinco semanas de uma dieta com restrição calórica de 15% (RC) (em relação ao EER), combinada com a ingestão de *shakes* com RH (RCRH) ou sem RH (RC), separados por uma semana de *washout*. O consumo de nutrientes e de fitoquímicos antioxidantes foi avaliado, por meio de registros alimentares de três dias, preenchidos ao início e ao final do estudo. A DB da dieta foi avaliada por meio de consulta bibliográfica para classificação de famílias botânicas dos alimentos consumidos. Anteriormente ao início do estudo, as participantes apresentaram dieta com baixa DB ($5,4 \pm 1,56$ famílias botânicas) incluindo: *Gramineae*, *Leguminosaceae*, *Compositaceae*, *Cruciferaeae*, *Sonolaceae*, *Umbileferae*, *Rutaceae*, *Musaceae* e *Rosaceae*. Em ambas as

intervenções, houve aumento do número de famílias botânicas (RC: $1,13 \pm 2,45$, $P = 0,03$; RCRH: $3,9 \pm 2,87$, $P < 0,01$). Foi observado consumo de maior número de porções da família *Rutaceae* na intervenção RC. Na intervenção RCRH, verificou-se introdução das famílias *Amaranthaceae* (fonte de betaláinas), *Linaceae* (rica em plifenóis), e *Pedaliaceae* (contém aminas e fenilpropanos), bem como aumento do consumo da família *Musaceae* (fonte de flavonóides). As duas intervenções interferiram no consumo de grupos alimentares e na DB da dieta, sem alterar o consumo da quantidade de macronutrientes. Na intervenção RCRH, houve redução da ingestão de ácidos graxos monoinsaturados e saturados ($-1,21 \pm 2,35\%$ e $-1,69 \pm 2,26\%$, respectivamente; $P=0,01$) e aumento da ingestão de vitamina E ($1,75 \pm 3,24$ mg; $P=0,03$). Na intervenção RC, houve redução do consumo de vegetal C e na RCRH, houve aumento do consumo de cereais integrais e introdução do consumo de sementes. Na intervenção RC o número de famílias botânicas foi negativamente correlacionado à PAS ($r = -0,58$; $P < 0,01$). Na intervenção RCRH o número de porções da família *Linaceae* se associou negativamente aos níveis de LDL-c ($r = -0,60$; $P < 0,01$) e colesterol total ($r = -0,53$; $P < 0,01$), demonstrando o efeito do consumo de sementes no perfil lipídico sérico. Conclui-se que a intervenção nutricional *per si* estimulou as participantes a consumirem dietas com maior diversidade botânica. Os resultados mostraram que estratégias dietéticas para aumentar a DB da dieta podem ser úteis no manejo da obesidade. Outros estudos são necessários para esclarecer a magnitude dos efeitos da diversidade botânica da dieta sobre parâmetros de risco metabólico, investigando quais famílias, quantidade e número de porções seriam mais eficazes na modulação favorável de mecanismos fisiopatológicos determinantes de comorbidades associados ao excesso de peso.

Palavras chave: obesidade, restrição calórica, perda de peso, ração humana, diversidade botânica, antioxidantes, risco metabólico.

ABSTRACT

HUMAN RATION CONSUMPTION BY OVERWEIGHT WOMEN DURING A WEIGHT LOSS PROGRAM INCREASES DIET'S BOTANICAL DIVERSITY AND VITAMIN E INTAKE

There are suggestions that the consumption of plant foods results in beneficial effects on body weight control and the reduction of risk biomarkers of diseases due to the presence of phytochemicals with high bioactive potential. This study investigated the effect of the consumption of a product based on plant foods named Human Ration (HR), on the botanical diversity of the diet (BD) and the consumption of antioxidant nutrients and phytochemicals in overweight women during dietary intervention for weight loss. It was explored the associations between DB, nutrient intake and metabolic risk parameters. Participants (n=22) were randomly assigned to one single-blind, crossover study with two five week periods of a diet with 15% caloric restriction (CR) (in relation to EER), combined with the ingestion of shakes with (CRHR) or without HR (CR), separated by a washout week. The consumption of antioxidants nutrient and phytochemicals was evaluated using a 3 days food recorder at the beginning and end of study. The DB's diet was assessed by means of bibliographic families for botanical classification of the food intake. Before the study, participants had a diet with low BD (5.4 ± 1.56 botanical families) including: *Gramineae*, *Leguminosaceae*, *Compositaceae*, *Cruciferiaceae*, *Sonalaceae*, *Umbileferae*, *Rutaceae*, *Musaceae* and *Rosaceae*. Both interventions increased the number of botanical families (CR: 1.13 ± 2.45 , $P=0.03$; CRHR: 3.9 ± 2.87 , $P<0.01$). In the RC intervention the number of portions consumed of *Rutaceae* family was higher. In the CRHR intervention it was introduced the families *Amaranthacea* (source of betalaines), *Linaceae* (rich in polyphenols) and *Pedaliaceae* (containing amines and (phenylpropanes) as well as increased the consumption of the *Musaceae* family (source of flavonoids). Both interventions interfered with the consumption of food groups and BD diet without changing the amount of macronutrients consumption, and intervention RCRH decreased intake of saturated and monounsaturated fatty acids ($-1.21 \pm 2.35\%$ and $-1.69 \pm 2.26\%$, respectively, $P=0.01$) and increased vitamin E intake (1.75 ± 3.24 mg, $P=0.03$). In CR intervention there was a reduction on vegetable C consumption and in CRHR intervention an increased on whole grains consumption and

introduction of seeds intake. In the RC intervention the number of botanical families was negatively correlated with SBP ($r = -0.58, P < 0.01$). In the CRHR intervention the number of *Linaceae* family servings was negatively correlated with LDL-c ($r = -0.60, P < 0.01$) and total cholesterol ($r = -0.53, P < 0.01$), showing the effect of seeds consumption in the serum lipid profile. It was concluded that nutritional intervention itself encouraged the participants to consume a diet with higher botanical diversity. The consumption of RH caused a significant increase in the botanical diversity of the diet, increased vitamin E intake, with favorable effects on serum lipid profile and reduction of waist circumference. The results showed that dietary strategies to increase the BD may be useful in the diet on management of obesity. More studies are needed to clarify the magnitude of the effects of the botanical diversity of diet on metabolic risk parameters, exploring which families, quantity and number of servings would be more effective in modulating favorable pathophysiological mechanisms determining comorbidities associated with excess weight.

Keywords: obesity, caloric restriction, weight loss, human diet, botanical diversity, antioxidant intake, metabolic risk

6.1 INTRODUÇÃO

A prevalência de obesidade mais do que duplicou desde a década de 80 e atualmente mais de 65% da população mundial vive em países em que o sobrepeso e obesidade matam mais pessoas que o baixo peso (WHO, 2011). Isso porque o excesso de peso é um considerável fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs). A obesidade resulta principalmente da má qualidade nutricional da dieta e do sedentarismo (WHO, 2011), bem como dos fatores genéticos, metabólicos, culturais e psicossociais (WHO, 2005).

Apesar da prevalência alarmante o excesso de peso e suas consequências malélicas à saúde podem ser evitadas (WHO, 2011), pela redução da ingestão calórica e aumento do consumo de frutas, legumes, hortaliças e cereais (ABETE *et al.*, 2006; CRUJEIRAS *et al.*, 2008; KATCHER *et al.*, 2008; LAPOINTE *et al.*, 2010; HERMSDORFF; ZULET; ABETE; MARTÍNE, 2011; WHO, 2011). Modulação de eventos epigenéticos que favorecem a perda de peso corporal também tem sido sugerida (KIRK *et al.*, 2008). A adoção de um padrão alimentar variado e rico em alimentos de origem vegetal contribui positivamente para a longevidade, pois reduz o risco de doenças crônicas (WHO, 2011).

Considerando as evidências científicas acerca do potencial bioativo de fitoquímicos presentes em alimentos à base de plantas (THOMPSON; THOMPSON, 2010), tem sido investigado o efeito da diversidade botânica da dieta sobre a saúde humana, com destaque para redução da peroxidação lipídica sérica (THOMPSON, HENRY J. *et al.*, 2005; THOMPSON *et al.*, 2006).

Existem 14 classes de fitoquímicos com atividade biológica. Entretanto, a distribuição nos alimentos irá depender da família botânica a que pertencem (THOMPSON; THOMPSON, 2010). Segundo esses autores, a meta de consumo diário deve preconizar a ingestão de alimentos de várias famílias botânicas, de maneira a potencializar o sinergismo entre os fitoquímicos e reduzir a probabilidade de efeitos adversos.

Nesse contexto, verifica-se a necessidade de maior enfoque sobre o potencial funcional das dietas, e não somente sobre o efeito de alimentos isolados, visto que a ingestão regular e variada de fitoquímicos pode contribuir para a redução de fatores de risco associados ao excesso de peso tais como: resistência à insulina, intolerância à glicose, dislipidemias e adiposidade central, fatores esses resultantes da relação intrínseca entre estresse oxidativo

(MCCORD; EDEAS, 2005; D'ARCHIVIO *et al.*, 2012) e inflamação crônica de baixa intensidade (SHOELSON; HERRERO; NAAZ, 2007).

Estratégias dietéticas que resultem em maior diversidade botânica da dieta implicam em alteração na composição química da dieta, não apenas quanto ao teor de fitoquímicos, mas também quanto à quantidade de nutrientes. Estudos mostram que é possível manter distribuição normal de macronutrientes e garantir ingestão adequada de micronutrientes por meio do maior consumo de frutas e vegetais quando associado às estratégias para perda de peso corporal (CRUJEIRAS *et al.*, 2006; MELANSON *et al.*, 2006; HERMSDORFF; ZULET; ABETE; MARTÍNE, 2011). Nesses estudos são observados, além da redução de peso corporal, efeitos sobre variáveis de risco metabólico como redução de marcadores inflamatórios, da pressão arterial e LDL-c (HERMSDORFF; ZULET; ABETE; MARTÍNE, 2011) e redução de marcadores de estresse oxidativo (CRUJEIRAS *et al.*, 2006).

Uma estratégia que vem sendo investigada para redução de peso corporal envolve o uso de substitutos de refeição, associados ou não a restrição calórica. Geralmente, são utilizados produtos ricos em fibras e micronutrientes, ou compostos por ingredientes com alegação de funcionalidade (ALLISON *et al.*, 2003; ASHLEY *et al.*, 2007; HAMEDANI *et al.*, 2009; METZNER; FOLBERTH-VOGELE *et al.*, 2011). Os resultados mostram redução de peso corporal, de gordura corporal e de LDL-c (ALLISON *et al.*, 2003), melhor adequação da ingestão de nutrientes essenciais (ASHLEY *et al.*, 2007), maior supressão da fome e apetite (HAMEDANI *et al.*, 2009) e maior taxa de respondedores à perda de peso corporal (METZNER; FOLBERTH-VOGELE *et al.*, 2011).

No Brasil, um produto alimentício constituído por uma mistura de 14 ingredientes, (incluindo cereais, sementes e grãos) denominada Ração Humana (RH), tem sido utilizado, como complemento alimentar ou substituto de refeição, para a redução do peso corporal e manutenção da saúde (BRAGA; MENDONÇA, 2010). Doze dos seus ingredientes são de origem vegetal, que em conjunto somam 7 famílias botânicas distintas, com variada classe de fitoquímicos (THOMPSON; THOMPSON, 2010).

A maioria dos ingredientes da RH é constituída de cereais, pertencentes à família *Gramineae*, os quais são importantes fontes de fitoquímicos com atividade antioxidante (SLAVIN *et al.*, 1999). Outros ingredientes tais como as sementes de linhaça (KASOTE; HEGDE; DESHMUKH, 2011) e gergelim (SILVA *et al.*, 2011), quinoa real (ALVAREZ-JUBETE *et al.*, 2010), cacau em pó (SCHINELLA *et al.*, 2010), guaraná em pó (MAJHENIČ; ŠKERGET; KNEZ, 2007) e açúcar mascavo (PHILLIPS; CARLSEN; BLOMHOFF, 2009),

também apresentam elevado potencial antioxidante, por conterem compostos fenólicos como ácidos fenólicos, flavonóides e proantocianidinas (USDA, 2004; NEVEU *et al.*, 2010; USDA, 2011).

Além disso, a RH é fonte de fibra alimentar. Existem evidências da relação inversa entre a ingestão de fibras e o peso corporal (KOH-BANERJEE; B., 2003; SLAVIN, 2005), sendo verificado também como efeito favorável sobre a redução de peso corporal por meio de dietas ricas em fibras ou inclusão de suplementos de fibras (BIRKETVEDT *et al.*, 2000; MUELLER-CUNNINGHAM; QUINTANA; KASIM-KARAKAS, 2003).

Portanto, o consumo de RH associado à restrição calórica pode contribuir para uma maior diversidade botânica da dieta e modulação positiva de fatores de risco associados ao excesso de peso. Assim, investigou-se por delineamento *crossover*, os efeitos da restrição calórica associada ao consumo de *shake* com e sem RH, como substitutos de refeição, sobre a diversidade botânica da dieta, ingestão de macronutrientes e de micronutrientes antioxidantes.

6.2 MATERIAL e MÉTODOS

6.2.1 Participantes do estudo

As participantes do estudo foram recrutadas no Programa Estratégias de Saúde da Família (PESF) do bairro Silvestre no município de Viçosa-MG/Brasil. Foram consideradas elegíveis mulheres com idade entre 24 e 45 anos, com índice de massa corporal (IMC) entre 25 e 35 kg/m², que apresentassem ingestão regular de produto lácteo no desjejum e demonstrassem ausência da intenção em alterar o padrão de atividade física. Não foram incluídas gestantes, lactantes, mulheres menopausadas – amenorréia por período ≥ 12 meses (GRACIA *et al.*, 2005), histerectomizadas, etilistas e/ou tabagistas, portadoras de doença gastrointestinal, hepatopatia crônica, doença renal ou doença endócrina, ou que apresentassem alergia ou intolerância algum composto do produto. Outros critérios de exclusão utilizados foram: oscilações no peso corporal superior a 5% nos últimos dois meses (MAKI *et al.*, 2010), uso de estratégias para controle do peso corporal nos últimos dois meses e uso de medicamentos (antiinflamatórios, diuréticos tiazídicos, estatinas, androgênicos, polivitamínicos e/ou polimineral). O perfil socioeconômico das participantes foi caracterizado

no *baseline*, por meio de questionário específico. As participantes foram orientadas a manter o perfil de atividade física habitual e durante o período de intervenção tais orientações foram reforçadas e investigadas, por meio da aplicação do Questionário Internacional de Nível de Atividade Física (IPAQ) versão 6, proposto pela WHO (1998), e validado em português por Pardini *et al.* (2001).

6.2.2 Desenho do estudo

No presente estudo foi um prescrito plano alimentar de maneira a atingir restrição calórica de 15% em relação à necessidade energética estimada (*Estimated Energy Requirement* – EER), calculada por meio de equação específica para sobrepeso e obesidade (IOM, 2005). Assim, 22 participantes foram randomizadas em delineamento *crossover* 2x2, simples cego, com controle de ordem, em dois tratamentos: restrição calórica associada ao consumo de *shake* adicionado de RH (intervenção RCRH) e restrição calórica associada ao consumo de *shake* sem RH (intervenção RC). Os *shakes* foram consumidos em substituição ao desjejum habitual. O estudo foi composto por dois períodos de cinco semanas separados por uma semana de *washout*. Os grupos experimentais diferiram quanto à ordem em que as voluntárias participaram nas duas intervenções do estudo: RC-RCRH e RCRH-RC.

6.2.3 Desenvolvimento dos produtos alimentícios: RH e *shakes*

O produto RH à base de ingredientes vegetais disponíveis no mercado brasileiro foi desenvolvido no laboratório de Desenvolvimento de Novos Produtos do Departamento de Nutrição e Saúde – Universidade Federal de Viçosa. Foram elaborados *shakes* com adição de RH e sem adição de RH (controle). Ambos os *shakes* foram fornecidos nos sabores morango e chocolate, visando melhorar a palatabilidade dos mesmos. Desta forma, os sabores foram alternados entre os dias, buscando melhorar a aceitação e aumentar a adesão por parte das participantes. Os *shakes* controle e RH diferem entre si quanto à composição química e nutricional.

Os tipos e proporções de ingredientes do produto RH e dos *shakes* estão descritos na **Tabela 2**. Os ingredientes adicionados em cada tipo de *shake* foram homogeneizados semanalmente. A seguir, tais ingredientes foram porcionados em pacotes de 50 gramas para uso individual e diário, acondicionados em embalagens plásticas de polipropileno, as quais foram rotuladas e mantidas em geladeira à 10° C, até o momento de distribuição para as participantes do estudo.

Foram retiradas amostras dos *shakes* e do produto RH para análise de composição química e da capacidade antioxidante.

Tabela 2 – Ingredientes do produto RH e *shakes* utilizados no estudo

Produtos/Ingredientes	Quantidade			
	(g/100g)	(g/porção) ¹		
RH				
Fibra de trigo	20		4	
Farinha de soja desengordurada	10		2	
Semente de linhaça	10		2	
Farinha de arroz integral	8		1,6	
Aveia em flocos	8		1,6	
Fubá de milho branco	8		1,6	
Gergelim creme com casca	8		1,6	
Açúcar mascavo	8		1,6	
Germe de trigo	6		1,2	
Agar-agar (gelatina sem sabor)	4		0,8	
Quinoa real, cacau em pó	2		0,4	
Guaraná em pó	2		0,4	
Cacau em pó	2		0,4	
Levedo de cerveja	2		0,4	
<i>Shakes</i> (g/porção) ²	SRHC	SRHM	SCC	SCM
Ração Humana	20	20	-	-
Leite em pó	15	15	15	15
Chocolate em pó (50% cacau)	7	-	7	-
Achocolatado em pó sabor morango	-	10	-	10
Goma Xantana	0,3	0,3	0,3	0,3

¹porção equivalente à 20 gramas de RH. ²porção diária de *shake* (SRHC = 42 g; SRHM= 45 g; SCC= 22 g; SCM = 25 g). SRHC: *shake* RH sabor chocolate; SRHM: *shake* RH sabor morango; SCC: *shake* controle sabor chocolate; SCM: *shake* controle sabor morango.

6.2.4 Caracterização da composição química do produto RH e dos *shakes*, valor nutricional e capacidade antioxidante de RH

A composição centesimal da RH e dos *shakes* foi determinada segundo metodologia proposta pela *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC (2002) para avaliação do conteúdo de: umidade (Método Ba 2a-38), cinzas (Método Ba 5a-49), proteínas (Método Ba 4a-38), lipídios (Método Ba 3-38) e fibra alimentar total e frações (Método Ba 6-84). O teor de carboidratos foi calculado por meio da diferença entre o total da amostra (100%) e os teores de proteínas, lipídios, fibra alimentar total, teor de água e cinzas. Para o cálculo do valor energético, foram utilizados os fatores de conversão 4, 4 e 9 kcal/g de alimento para carboidratos, proteínas e lipídios, respectivamente (FRARY; JOHNSON, 2005). O conteúdo de minerais foi quantificado por meio de espectrofotometria de absorção (GOMES; OLIVEIRA, 2011). As análises de vitamina E foram conduzidas por CLAE, utilizando-se as condições cromatográficas propostas por Guinaze (2009).

As condições de ensaio para determinação de fitatos e taninos condensados seguiram os procedimentos citados por Moraes *et al.* (2012), sendo o teor de fitatos determinado por cromatografia de troca iônica e espectrofotometria, segundo método de Latta e Eskin (1980), com modificações por Ellis e Morris (1986). Para determinação de taninos utilizou-se o método de reação de vanilina descrito por Burns (1971), com modificações de Maxson e Rooney (1972) e Price, Van Scoyoc e Butler (1978). O conteúdo de fenólicos solúveis totais em extrato hidro-alcoólico foi determinado por método colorimétrico proposto por Singleton *et al.* (1999), utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteau.

A capacidade antioxidante do extrato hidro-alcoólico da RH foi comparada à capacidade antioxidante do pão branco, ambas determinadas por meio da atividade de retirada do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), segundo método proposto por Blois (1958). Para essas análises as condições dos ensaios foram as mesmas descritas previamente por SILVA *et al.* (2011).

Categorias propostas pela agência reguladora brasileira – ANVISA (PORTARIA Nº 27, 1998, 13 de jan), foram consideradas para classificar o produto RH e os *Shakes*, como *fonte de* ou *rico em*, se 100 gramas do produto oferece 15% ou 30% da IDR, respectivamente.

6.2.5 Avaliação da diversidade botânica da dieta e do consumo alimentar

Para avaliação da diversidade botânica da dieta aplicou-se no baseline o questionário de frequência alimentar quantitativo específico para avaliação da relação entre dieta e DCNTs, desenvolvido por Furlan-Viebig e Pastor-Valero (2004), de forma a listar os alimentos de origem vegetal habitualmente consumidos para classificação quanto às famílias botânicas a que pertenciam. Utilizou-se o site desenvolvido pelos institutos *Royal Botanic Gardens, Kew* e *Missouri Botanical Garden*, para investigar por meio do nome científico de cada espécie, a família botânica dos alimentos conforme taxonomia *Linnaean* (**Quadro 1**). Para listar os alimentos quanto à espécie utilizou-se como material de apoio o “Catálogo de Brasileiro de Hortaliças” (EMBRAPA, 2010) e o livro “Alimentos regionais brasileiros” (BRASIL, 2002).

Avaliou-se o efeito das intervenções sobre o número, porções ingeridas e tipo de famílias botânicas consumidos durante o estudo (*baseline* e *endpoint*). Para essa avaliação, utilizou-se apenas o primeiro dia de registro alimentar aplicado em cada etapa, devido a grande variabilidade alimentar.

Alimentos comuns	Família Botânica	Grupo alimentar
Arroz, aveia em flocos, farinha de arroz, fibra de trigo, fubá de milho branco milho verde, germe de trigo	<i>Gramineae</i>	Cereais
Linhaça marrom	<i>Linaceae</i>	Sementes
Gergelim creme	<i>Pedaliaceae</i>	Sementes
Ervilha, feijão, grão de bico, lentilha, soja, vagem	<i>Leguminosaceae</i>	Leguminosas
Alface, almeirão, escarola, serralha	<i>Compositaceae</i>	Vegetal A
Brócolis, couve, couve-flor, repolho	<i>Cruciferae</i>	Vegetal A
Jiló, tomate	<i>Sonchaceae</i>	Vegetal A
Batata inglesa	<i>Sonchaceae</i>	Vegetal C
Abóbora, abobrinha, chuchu	<i>Cucurbitaceae</i>	Vegetal B
Cenoura	<i>Umbiferae</i>	Vegetal B
Laranja, limão	<i>Rutaceae</i>	Frutas
Banana	<i>Musaceae</i>	Frutas
Ameixa, maçã, morango, pêra, pêssego	<i>Rosaceae</i>	Frutas

Quadro 1 – Classificação dos vegetais quanto à família botânica e grupo alimentar

O consumo alimentar foi avaliado ao início e ao final de cada intervenção, por meio de registro alimentar de três dias, sendo dois dias úteis e um dia no final de semana. As medidas caseiras foram convertidas em medidas de massa e de volume, conforme a Tabela para

Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras (PINHEIRO *et al.*, 2001). A quantidade de nutrientes ingeridos foi estimada por meio do *software* DIETPRO, versão 5.0. Avaliou-se a ingestão calórica total, percentual de macronutrientes (proteínas, lipídios e carboidratos), fibra alimentar e micronutrientes antioxidantes (selênio, zinco, manganês e vitamina E).

Os alimentos consumidos foram convertidos em porções, conforme o valor calórico atribuído a uma porção de alimento em cada grupo alimentar, de acordo com a pirâmide alimentar brasileira (cereais: 150 kcal/porção; frutas: 35 kcal/porção; hortaliças: 15 kcal/porção; leguminosas: 55 kcal/porção) (PHILIPPI *et al.*, 1999). Para as sementes, utilizou-se o valor calórico fornecido por 8 gramas, considerando que essa quantidade é recomendada para alcançar a razão ideal de ácidos graxos ω -3 e ω -6, por meio do consumo de linhaça (MORRIS; VAISEY-GENSER, 2003).

6.2.6 Avaliação de parâmetros antropométricos e fatores de risco metabólico

O peso corporal e a estatura foram aferidos segundo protocolo padronizado (Jelliffe (1966)). O IMC foi calculado (QUETELET, 1869) e classificado utilizando os pontos de corte preconizados pela WHO (2000). O perímetro da cintura (PC) foi aferido de acordo com proposta descrita na literatura (LOHMAN; ROCHE; MARTORELL, 1998) e os valores inferiores a 80 cm foram considerados como adiposidade abdominal adequada (ALBERTI *et al.*, 2009). A pressão arterial foi aferida seguindo procedimento padronizado e recomendado pela Associação Americana do Coração (do inglês *American Heart Association's* – AHA) (PICKERING *et al.*, 2005), utilizando-se como referência os valores preconizados pela AHA para prevenção de doenças cardiovasculares em mulheres (MOSCA *et al.*, 2011).

Amostras de sangue foram coletadas com as participantes em jejum de 12 horas, sendo fracionadas em tubos de heparina, EDTA e soro gel, conforme o parâmetro bioquímico a ser analisado. A capacidade antioxidante total (CAT) do plasma foi avaliada por meio do kit *Antioxidant Assay Cayman* (ref. 709001, *Cayman Chemical Company*®). A peroxidação lipídica foi determinada colorimetricamente por meio de kit comercial (*Bioxytech* LPO-586, *OxisReseah*®).

O perfil de lipídios séricos (triacilgliceróis, colesterol total, HDL-c e LDL-c) foi determinado por meio de método enzimático colorimétrico, utilizando kits comerciais (Bioclin ®) e analisador automático para química clínica (BS 200, Mindray®). Utilizou-se como referência os valores preconizados pela AHA para prevenção de doenças cardiovasculares em mulheres (MOSCA *et al.*, 2011), considerando-se como risco: triacilgliceróis > 150 mg/dL ou > 1,69 mmol/L; colesterol total > 200 mg/dL ou 5,17 mmol/L; HDL-c < 50 mg/dL ou 1,29 mmol/L e LDL-c > 100 mg/dL ou > 2,58 mmol/L).

6.2.7 Análise Estatística

O cálculo do tamanho amostral foi realizado segundo método proposto por Mera, Thompson e Prasad (1998), adotando um poder estatístico de 80%. Considerou-se como variável principal o percentual de gordura corporal. As variáveis foram expressas por média \pm desvio padrão e mediana e intervalo interquartil (P25 e P75), visto que algumas não apresentaram distribuição normal (ingestão de vitamina E, selênio, manganês e de lipídios, e porções de famílias botânicas). Utilizou-se o delta das alterações para expressar o efeito de cada tratamento sobre parâmetros antropométricos, bioquímicos e clínicos. Para detectar diferenças significativas antes e após cada intervenção utilizou-se o teste-t de *Student* pareado ou o correspondente não paramétrico *Wilcoxon matched-pairs signed rank*. A comparação entre os tratamentos foi realizada por meio dos testes t de *Student* ou seu correspondente não paramétrico *Mann Whitney*, comparando o delta obtido em cada intervenção, conforme recomendado por Mills *et al.* (2009). Para avaliar possíveis associações entre as alterações observadas para a diversidade botânica da dieta (número de famílias e porções consumidas) e variáveis de consumo alimentar (ingestão de macronutrientes, fibras, antioxidantes e qualidade de gordura da dieta), e variáveis de risco metabólico (perímetro da cintura, pressão arterial, capacidade antioxidante total do plasma, peroxidação lipídica e lipídios séricos), utilizou-se o coeficiente de correlação de *Pearson* ou seu correspondente não paramétrico *Spearman*. Possíveis alterações durante o período de *washout* foram avaliadas por meio de teste-t de *Student* pareado ou o correspondente não paramétrico *Wilcoxon matched-pairs signed rank*, comparando os valores basais no período A e no período B. O efeito da ordem de tratamento sobre os parâmetros foi avaliado comparando o delta das alterações por t de *Student* ou seu correspondente *Mann Whitney*, em função da ordem (ordem 1: RC-RCRH ou

ordem 2: RCRH-RC). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *software* Stata versão 9.0, adotando-se nível de significância de 5%.

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Características das participantes do estudo

A média de idade das participantes era de $35,04 \pm 5,6$ anos e a média de escolaridade de $7,45 \pm 3,64$ anos. A maioria (86,36%) tinha renda familiar inferior a três salários mínimos (<1866,00 R\$). Assim, a maioria das participantes apresentou baixa escolaridade e renda. Quase metade das voluntárias (46%) foram classificadas como pouco ativas.

Anteriormente às intervenções não foram verificadas diferenças para as variáveis de risco metabólico entre os grupos (**Tabela 3**). Observou-se valores de perímetro da cintura elevados (>80 cm). A CAT do plasma e os níveis de MDA-HAE encontravam-se adequados (>1,35 mM e <1,33 μ M, respectivamente), assim como os níveis de triacilgliceróis (<1,69 mmol/L) e colesterol total (<5,17 mmol/L). Porém, foram observados níveis elevados de LDL-c (>2,58 mmol/L) e reduzidos de HDL-c (<1,29 mmol/L). A pressão arterial sistólica esteve ligeiramente elevada em ambos os grupos de intervenção (>120 mmHg).

Tabela 3 – Características clínico-nutricionais basais das participantes por grupo de intervenção

Variáveis	Restrição Calórica		Restrição Calórica+RH		P*
	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	
Peso (kg)	72,79±9,55	73,4 (64,1; 80,3)	72,88±9,57	72,4 (64,4; 81,2)	0,96
IMC (kg/m ²)	28,72±2,87	28,15 (26,30; 31,23)	28,76±2,93	28,65 (25,87; 31,27)	0,99
PC (cm)	96,0±7,5	95,3 (90,0; 102,4)	97,1±7,6	96,0 (91,4; 103,5)	0,63
PAS (mmHg)	120,18±21,33	118,5 (110,0; 120,0)	126,95±24,76	126,0 (111,0; 134,0)	0,16
PAD (mmHg)	78,54±13,39	84,0 (73,0; 80)	74,90±11,10	74,5 (67,0; 80,0)	0,29
CAT (mM)	1,6±1,2	1,5 (0,75; 2,1)	1,6±0,7	1,4 (0,9; 2,3)	0,98
MDA-HAE (µM)	1,0±0,4	1,0 (0,64; 1,27)	1,0±0,6	1,0 (0,42; 1,47)	0,79
TAG (mmol/L)	1,03±0,38	1,00 (0,72; 1,08)	1,10±0,40	1,09 (0,79; 1,35)	0,61
CT (mmol/L)	4,44±0,87	4,26 (3,74; 4,68)	4,49±1,03	4,39 (3,62; 4,96)	0,73
HDL-c (mmol/L)	1,24±0,2	1,27 (1,08; 1,39)	1,21±7,8	1,18 (1,03; 1,29)	0,58
LDL-c (mmol/L)	2,66±0,87	2,53 (2,14; 2,99)	2,74±0,82	2,68 (2,01; 3,33)	0,63

IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; CAT: capacidade antioxidante total do plasma MDA-HAE: peroxidação lipídica (malondialdeído e 4-hidroquialqueno); TAG: triacilgliceróis; CT: colesterol total; HDL-c: high-density lipoprotein; LDL-c: *Low-density lipoprotein*; *p-valor para a diferença nos valores de *baseline* entre as intervenções.

Não houve diferença da diversidade botânica da dieta, avaliada pelo número de famílias botânicas consumidas, entre os dois grupos de participantes no período basal. A média do número de famílias consumidas foi de 5,4±1,56. Na **Tabela 4** estão descritas as principais famílias botânicas presentes na alimentação das participantes anteriormente à intervenção, bem como o número de porções por dia e alimentos comuns representativos de cada família. Para a maioria das famílias observou-se consumo inferior a uma porção por dia, exceto para a família *Leguminosae* e *Solanaceae*. Dentre as frutas, as famílias *Rutaceae* e *Rosaceae* foram as mais representativas.

Tabela 4 – Caracterização da diversidade botânica da dieta das participantes no baseline

Família Botânica	Porção/dia* (Média±DP)	Alimentos comuns	Grupo alimentar
<i>Gramineae</i>	0,74±0,50	Arroz, milho verde	Cereais
<i>Leguminosaceae</i>	1,18±1,06	Ervilha, feijão, grão de bico, lentilha, soja, vagem	Leguminosas
<i>Compositaceae</i>	0,19±0,31	Alface, almeirão, escarola, serralha	Vegetal A
<i>Cruciferaeae</i>	0,18±0,62	Brócolis, couve, couve-flor, repolho	Vegetal A
<i>Sonolaceae</i>	1,33±3,13	Jiló, tomate, pimentão	Vegetal A
		Batata inglesa	Vegetal C
<i>Umbiliferae</i>	0,15±0,54	Cenoura	Vegetal B
<i>Rutaceae</i>	0,71±1,47	Laranja, lima, limão	Frutas
<i>Musaceae</i>	0,37±0,51	Banana	Frutas
<i>Rosaceae</i>	0,99±1,39	Ameixa, maçã, morango, pêra, pêssego	Frutas

*Porção estabelecida conforme valor calórico atribuído a uma porção de alimento por grupo alimentar.

6.3.2 Composição química, valor nutricional da RH e dos *shakes* e capacidade antioxidante da RH

A composição centesimal da RH e dos *shakes* está apresentada na **Tabela 5**. A RH é um produto de densidade calórica média (3,19 kcal g⁻¹) (CDC, 2005). Quanto ao valor nutricional de acordo com a Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL., 1998), pode ser considerado como um alimento rico em proteína, fibra alimentar, ferro, magnésio, zinco, fósforo, cobre, manganês e vitamina E, sendo ainda fonte de cálcio. A RH apresentou teores de 620±60 mg/100g de fitato, 277,8±38,3 mg/100g de taninos condensados e 42,7±0,74 mg/100g de fenólicos totais. A capacidade antioxidante da RH foi mais elevada que o pão branco, correspondendo aproximadamente ao dobro do potencial para eliminar radicais DPPH• (**Figura 2**).

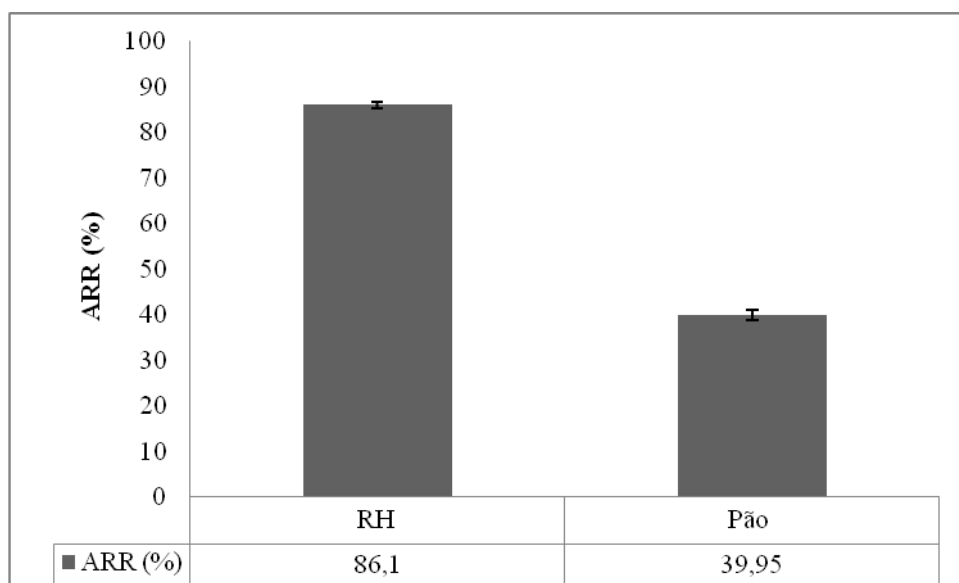


Figura 2 - Capacidade antioxidante da RH e do pão branco

ARR: atividade de retirada de radical.

A adição de RH aos *shakes* contribuiu para o maior teor de macronutrientes e conseqüentemente para o maior valor calórico (**Tabela 5**). Resultou também em maior conteúdo de fibra alimentar total, com destaque para fração insolúvel, e maior concentração de minerais. Os *shakes* RH podem ser considerados fontes de ferro, zinco, magnésio, manganês e cálcio, e ricos em potássio, fósforo e vitamina E (BRASIL., 1998). Os *shakes* RH forneceram os seguintes constituintes, considerados como compostos bioativos na dieta das participantes: fitato, fenólicos totais e taninos condensados, nas quantidades de 124 ± 10 mg, $8,55 \pm 0,15$ mg e $55,56 \pm 0,01$ mg por porção diária, respectivamente.

Tabela 5 – Composição química da RH (por 100g) e dos *shakes* (por porção*) (base seca) testados no estudo

Componente	RH	SCM	SCC	SRHM	SRHC
Umidade (g)	7,00 ± 0,13	0,77±0,01 ^B	1,03±0,06 ^B	3,00±0,22 ^A	2,69±0,21 ^A
Cinzas (g)	4,10 ± 0,39	1,32±0,03 ^C	1,20±0,01 ^D	1,85±0,02 ^A	1,77±0,01 ^B
Proteínas(g)	20,37 ± 0,64	4,91±0,13 ^B	4,8±0,09 ^B	8,95±0,00 ^A	8,66±0,35 ^A
Lipídios (g)	13,40 ± 0,33	1,20±0,10 ^C	1,37±0,09 ^C	6,67±0,62 ^A	4,8±0,09 ^B
Fibra Solúvel (g)	2,72 ± 0,42	0,79±0,03 ^{AB}	0,45±0,07 ^B	0,95±0,17 ^A	0,81±0,09 ^{AB}
Fibra insolúvel (g)	13,68 ± 0,57	0,24±0,15 ^B	0,57±0,17 ^B	3,22±0,40 ^A	3,25±0,87 ^A
Fibra total (g)	16,40 ± 1,00	1,02±0,12 ^B	1,02±0,09 ^B	4,17±0,24 ^A	4,06±0,78 ^A
Carboidrato (g)	38,59 ± 0,99	15,72±0,40 ^B	12,41±0,13 ^C	20,91±0,74 ^A	20,05±0,29 ^A
Calorias (kcal)	319,15±1,47	93,4±0,07 ^C	81,97±0,40 ^D	174,45±4,26 ^B	157,34±3,5 ^A
Ferro (mg)	6,31 ± 0,10	0,71±0,09 ^C	0,68±0,03 ^C	1,90±0,03 ^A	1,58±0,03 ^B
Zinco (mg)	5,5 ± 0,20	0,56±0,05 ^C	0,62±0,02 ^C	1,57±0,02 ^B	1,84±0,07 ^A
Cálcio (mg)	147,9 ± 8,01	224,75±15,2 ^B	126,80±1,94 ^C	278,99±7,95 ^A	209,53±0,53 ^B
Sódio (mg)	0,38 ± 0,00	1,58±0,03 ^C	1,00±0,02 ^D	1,78±0,04 ^A	1,66±0,03 ^B
Manganês (mg)	6,4 ± 0,74	0,25 ± 0,00 ^B	0,22±0,00 ^B	1,27±0,00 ^A	1,29±0,09 ^A
Magnésio (mg)	227,3 ± 7,01	24,09±1,82 ^C	31,54±0,87 ^B	69,87±1,17 ^A	76,16±2,66 ^A
Potássio (mg)	24,21 ± 2,87	2,61±0,49 ^C	2,14±0,17 ^C	7,68±0,51 ^A	6,24±0,74 ^B
Fósforo (mg)	647,43 ± 28,87	170,39±16,46 ^B	145,44±5,17 ^B	301,67±9,69 ^A	303,14±10,84 ^A
Cobre (mg)	0,90 ± 0,09	0,00±0,00 ^D	0,14±0,00 ^C	0,18±0,01 ^B	0,28±0,00 ^A
Vitamina E (mg)	19,84±1,45	ND	ND	1,78±0,05	1,66±0,04
Fitato (mg)	620±60	124±10	124±10	ND	ND
Fenólicos (mg)	42,7±0,74	8,55±0,15	8,55±0,15	ND	ND
Taninos (mg)	277,8±38	55,56±0,01	55,56±0,01	ND	ND

Valores representam médias e desvio padrão de 3 repetições. *porção diária de *shake* (SRHC = 42 g; SRHM= 45 g; SCC= 22 g; SCM = 25g). SCM: *shake* controle morango; SCC: *shake* controle chocolate; SRHM: *shake* ração humana morango; SRHC: *shake* ração humana chocolate; ND: não determinado. Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

6.3.3 Efeito da intervenção nutricional e ingestão de RH no consumo alimentar das participantes

O consumo de RH, uma vez por dia, na quantidade de 20 gramas durante cinco semanas, não interferiu no consumo de calorias, fibras e macronutrientes. Porém, para a intervenção RCRH observou-se redução significativa na ingestão de gorduras monoinsaturadas ($-1,21 \pm 2,35\%$; $P=0,01$), de gordura saturada ($-1,69\%$; $P=0,01$) e aumento da ingestão de vitamina E ($1,75 \pm 3,24$ mg; $P=0,03$). Entretanto, quando se comparou as duas intervenções esse efeito não foi diferente entre ambas (**Tabela 6**). Em números absolutos, os valores médios de calorias ingeridas foram inferiores ao valor calórico médio prescrito ($2048,57 \pm 168,95$ kcal/dia), porém tais diferenças não foram estatisticamente significativas ($P>0,05$).

Tabela 6 – Ingestão calórica, de macronutrientes, fibra alimentar e antioxidantes das participantes *baseline* e *endpoint* por tratamento

Variáveis	Restrição Calórica				P	Restrição Calórica+RH				P	P ⁽¹⁾
	Baseline		Endpoint			Baseline		Endpoint			
	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média ± DP	Mediana (P25; P75)		Média±DP	Mediana (P25; P75)	Média±DP	Mediana (P25; P75)		
CAL (kcal/d)	2268,4±1050,9	2224,9 (1430; 2516)	1855,0±543,9	1706,7 (1469; 2065)	0,19	1788,7±553	1645,7 (1405; 2260)	1706,7±391,2	1680,5 (1469; 2065)	0,67	0,31
CHO (%)	53,59±7,59	55,70 (47,99; 59,42)	54,93±8,26	54,86 (52,21; 59,00)	0,74	53,80±6,32	55,03 (49,28; 58,45)	53,49±6,66	52,99 (48,45; 59,09)	0,52	0,70
PTN (%)	13,75±2,77	13,04 (12,12; 14,89)	14,08±2,8	14,05 (13,2; 16,46)	0,33	13,75±2,76	13,35 (12,30; 15,35)	15,09±2,49	15,73 (14,19; 16,62)	0,42	0,23
LIP (%)	32,90±6,57	31,05 (28,27; 36,04)	30,26±6,41	29,65 (27,03; 33,17)	0,09	32,44±4,59	31,95 (29,00; 35,37)	31,40±5,15	31,13 (26,10; 34,62)	0,49	0,46
GMI (%)	8,61±1,83	8,01 (7,22; 9,88)	8,46±2,39	7,98 (7,34; 9,51)	0,71	9,35±2,33	9,30 (7,79; 11,11)	8,13±2,37	7,91 (5,94; 9,22)	0,01	0,39
GPI (%)	10,60±2,90	10,18 (8,05; 13,52)	9,61±2,12	9,48 (8,44; 11,00)	0,23	10,74±2,06	10,63 (9,08; 11,97)	9,84±2,46	9,78 (7,81; 10,75)	0,17	0,92
GS (%)	12,07±6,94	11,00 (9,34; 12,10)	9,53±2,61	10,00 (7,37; 11,06)	0,06	10,95±2,40	10,59 (9,72; 12,24)	9,26±2,23	9,62 (7,76; 10,853)	0,01	0,56
CD (mg/d)	218,8±171,2	189,8 (108,1; 257,7)	196,3±92,4	188,4 (12,1; 256,8)	0,52	191,6±119,0	150,2 (96,5; 263,4)	152,9±71,8	129,1 (108,3; 208,7)	0,34	0,80
FIBRA (g/d)	20,43±9,02	19,06 (12,15; 27,30)	20,29±7,25	21,0 (14,48; 23,16)	0,83	20,98±5,54	21,83 (18,42; 22,99)	22,67±6,80	20,95 (18,12; 26,81)	0,38	0,49
VIT E (mg/d)	10,8±2,4	11,4 (8,7; 13)	11,6±2,5	12,0 (9,54; 12,8)	0,25	10,8±2,7	11,6 (8,6; 13,2)	12,7±1,9	12,6 (11,3; 13,9)	0,03	0,65
Se (µg/d)	42,2±9,5	41,3 (36,2; 47,5)	39,9±8,5	38,8 (35,4)	0,32	37,4±8,0	36,6 (31,2; 44,3)	37,7±5,4	37,8 (33,8; 42,0)	0,95	0,18
Zn (mg/d)	4,9±1,8	4,3 (3,5; 6,4)	5,24±1,0	4,9 (4,4; 6,0)	0,39	5,1±1,4	5,3 (3,9; 6,4)	5,5±0,8	5,5 (4,8; 6,1)	0,43	0,95
Mn (mg/d)	1,3±0,7	1,1 (0,97; 1,4)	1,15±0,5	1,08 (0,8; 1,4)	0,08	1,7±0,7	1,8 (1,2; 2,3)	1,8±0,3	1,74 (1,7; 2,1)	0,62	0,17

n= 22 voluntárias. P: Comparação entre *baseline* e *endpoint* em cada intervenção, resultados obtidos por meio do teste t de *Student* pareado ou *Wilcoxon matched-pairs signed rank test* (P<0,05 p).

P⁽¹⁾ Efeito dos tratamentos – diferença obtida pela comparação do Δ das alterações entre as duas intervenções por meio do teste t de *Student* (P<0,05).

kCAL: ingestão calórica; CHO: Carboidratos; PTN: Proteínas; LIP: Lipídios; GMI: gordura monoinsaturada; GPI: gordura poliinsaturada; GS: gordura saturada; CD: colesterol dietético; VIT E: Vitamina E; Se: Selênio; Zn: Zinco; Mn: Manganês.

6.3.4 Efeito da intervenção nutricional e ingestão de RH sobre a DB e consumo de grupos de alimentos

Avaliando o consumo alimentar por grupo de alimentos e a contribuição calórica das famílias botânicas representativas de cada grupo (**Tabela 7**), observou-se, em relação aos valores basais, uma redução significativa na quantidade consumida de vegetal C após a intervenção RC ($-26,59 \pm 54,75$; $P=0,04$), que foi acompanhado por uma redução no percentual de calorias provenientes da família *Solanaceae* e aumento no percentual de calorias provenientes da família *Euforbiaceae* (alimento comum: mandioca). Na intervenção RCRH, houve aumento do consumo de cereais, com redução no percentual de calorias provenientes da família *Gramineae*, e introdução do consumo de sementes, em quantidade, número de porções e calorias, em relação ao *baseline*.

Tabela 7 – Consumo de grupos de alimentos e DB da dieta das participantes no *baseline* e *endpoint* por tratamento

<i>Grupos de alimentos</i>	RC		RCRH		<i>P</i> ¹	<i>P</i> ²	<i>P</i> ³
	<i>Baseline</i>	<i>Endpoint</i>	<i>Baseline</i>	<i>Endpoint</i>			
Cereais							
Quantidade (g)	96,77±72,5	102,74±55,3	91,97±53,3	119,20±61,60	0,88	0,04	0,31
Porções (n)	0,72±0,56	0,76±0,40	0,77±0,46	1,30±0,49	0,94	<0,01	0,19
Calorias (kcal)	109,21±84,28	114,83±61,47	115,61±69,41	156,66±73,99	0,96	0,01	<0,01
<i>Gramineae</i> (%)	100	100	100	75,09			
<i>Amaranthaceae</i> (%)	0	0	0	24,91			
Sementes							
Quantidade (g)	6,13±28,7	0,00±0,00	0,00±0,00	3,60±0,00	0,31	<0,01	<0,01
Porções (n)	0,13±0,63	0,00±0,00	0,00±0,00	0,35±0,00	0,31	<0,01	<0,01
Calorias (kcal)	7,47±35	0,00±0,00	0,00±0,00	19,6±0,00	0,31	<0,01	<0,01
<i>Linaceae</i> (%)	0	0	0	54,08			
<i>Pedaliaceae</i> (%)	100%	0	0	45,91			
Leguminosas							
Quantidade (g)	95,95±101	105,50±109,86	117,54±92,58	136,77±96,38	0,54	0,79	0,72
Porções (n)	1,05±1,11	1,16±1,21	1,30±1,02	1,51±1,06	0,54	0,48	0,70
Calorias (kcal)	58,26±61,21	64,13±66,79	71,60±56,40	83,14±58,45	0,54	0,81	0,70
<i>Leguminosaceae</i> (%)	100	100	100	100			
Vegetal A							
Quantidade (g)	49,45±73,7	30,79±56,07	48,29±50,79	61,27±62,51	0,13	0,24	0,07
Porções (n)	0,79±1,18	1,38±1,41	1,00±0,96	0,90±1,05	0,09	0,41	0,06
Calorias (kcal)	11,89±17,61	20,84±16,97	14,46±15,75	17,38±17,13	0,95	0,41	0,38
<i>Compositaceae</i> (%)	23,60	16,98	20,83	29,31			
<i>Cruciferaeae</i> (%)	4,80	40,71	36,12	36,12			
<i>Sonolaceae</i> (%)	71,60	40,17	39,84	38,04			
<i>Outras</i> (%)	0	2,14	3,21	1,52			
Vegetal B							
Quantidade (g)	14,13±37,9	3,81±13,254	17,02±39,074	10,18±18,42	0,39	0,89	0,52
Porções (n)	0,35±0,96	0,40±0,91	0,48±1,15	0,26±0,48	0,74	0,86	0,77
Calorias (kcal)	2,63±7,64	0,79±3,02	6,90±17,39	3,6±7,22	0,95	0,41	0,69
<i>Cuubitaceae</i> (%)	57,65	100	15,52	24,98			
<i>Umbiliferae</i> (%)	21,09	0	51,83	54,85			
<i>Outras</i> (%)	21,26	0	32,65	20,17			
Vegetal C							
Quantidade (g)	29,31±51,64	4,77±16,36	4,77±16,36	4,77±22,38	0,04	0,60	0,12
Porções (n)	0,24±0,44	0,24±0,10	0,30±0,92	0,40±1,15	0,56	0,70	0,64
Calorias (kcal)	36,69±67,17	6,21±34,72	45,91±138,82	10,62±30,49	0,56	0,24	0,50
<i>Sonolaceae</i> (%)	61,32	46,30	7,24	6,84			
<i>Araceae</i> (%)	0	0	12,23	53,02			
<i>Euforbiaceae</i> (%)	38,68	53,82	80,53	40,14			
Frutas							
Quantidade (g)	129,77±114,92	199,95±182,23	157,12±166,14	147,50±167,40	0,06	0,73	0,18
Porções (n)	2,41±1,74	3,73±3,7	3,15±3,33	2,74±2,52	0,12	0,45	0,14
Calorias (kcal)	84,67±60,90	130,61±129,79	110,34±116,65	96,22±88,44	0,12	0,72	0,44
<i>Rutaceae</i> (%)	28,86	52,93	22,44	49,93			
<i>Musaceae</i> (%)	18,08	16,06	10,09	27,48			
<i>Rosaceae</i> (%)	45,87	29,99	28,21	15,86			
<i>Outras</i> (%)	7,19	1,02	39,23	6,73			

RC: restrição calórica associada ao consumo de *shake* controle; RCRH: restrição calórica associada ao consumo de *shake* RH; g: gramas; n: número de porções; (%): percentual em relação ao valor calórico.

P1: comparação entre *baseline* e *endpoint* na intervenção RC; P2: comparação entre *baseline* e *endpoint* na intervenção RCRH; P2: comparação entre os tratamentos.

Durante a intervenção RC houve aumento significativo no número de porções consumidas da família *Rutaceae* ($1,24 \pm 1,9$; $P < 0,01$), em relação ao baseline. E na intervenção RCRH houve aumento no número de porções das famílias *Gramineae* ($0,27 \pm 0,43$; $P < 0,01$), *Pedaliaceae* ($0,19 \pm 0$; $P < 0,01$) e *Musaceae* ($0,43 \pm 0,84$; $P = 0,03$). A presença de linhaça na RH possibilitou a inserção da família *Linaceae* ($0,23 \pm 0,11$; $P < 0,01$), sendo que para essa família e para a família *Pedaliaceae* o resultado encontrado foi significativo também quando comparada à intervenção RC ($P < 0,01$) (**Tabela 8**).

Tabela 8 – Efeito das intervenções sobre a diversidade botânica da dieta

Família Botânica	RC			RCRH			
	Baseline	Endpoint	P^1	Baseline	Endpoint	P^1	P^2
	Número de porções			Número de porções			
<i>Gramineae</i>	$0,72 \pm 0,56$	$0,76 \pm 0,40$	0,95	$0,77 \pm 0,46$	$1,04 \pm 0,49$	$< 0,01$	0,01
<i>Linaceae</i>	$0,00 \pm 0,00$	$0,0 \pm 0,00$	---	$0,00 \pm 0,00$	$0,23 \pm 0,11$	$< 0,01$	$< 0,01$
<i>Pedaliaceae</i>	$0,13 \pm 0,63$	$0,16 \pm 0,0$	0,07	$0,00 \pm 0,00$	$0,19 \pm 0,00$	$< 0,01$	0,31
<i>Leguminosaceae</i>	$1,05 \pm 1,11$	$1,30 \pm 1,25$	0,31	$1,30 \pm 1,02$	$1,51 \pm 1,06$	0,81	0,51
<i>Compositaceae</i>	$0,18 \pm 0,37$	$0,23 \pm 0,38$	0,84	$0,20 \pm 0,23$	$0,33 \pm 0,50$	0,36	0,62
<i>Cruciferaeae</i>	$0,36 \pm 0,17$	$0,54 \pm 1,04$	0,35	$0,33 \pm 0,85$	$0,37 \pm 0,79$	0,54	0,22
<i>Sonolaceae</i>	$2,07 \pm 0,4,22$	$0,8 \pm 1,27$	0,16	$0,60 \pm 1,08$	$0,48 \pm 0,66$	0,73	0,38
<i>Cuubitaceae</i>	$0,10 \pm 0,35$	$0,05 \pm 0,20$	0,49	$0,07 \pm 0,25$	$0,03 \pm 0,15$	0,72	0,73
<i>Umbiliferae</i>	$0,07 \pm 0,19$	$0,20 \pm 0,55$	0,85	$0,23 \pm 0,73$	$0,13 \pm 0,42$	0,65	0,68
<i>Rutaceae</i>	$0,72 \pm 1,63$	$1,96 \pm 2,23$	$< 0,01$	$0,70 \pm 1,37$	$2,64 \pm 0,40$	0,40	0,08
<i>Musaceae</i>	$0,42 \pm 0,52$	$0,59 \pm 0,68$	0,37	$0,31 \pm 0,50$	$0,75 \pm 0,98$	0,03	0,44
<i>Rosaceae</i>	$1,10 \pm 0,1,45$	$1,19 \pm 1,49$	0,98	$0,88 \pm 1,34$	$0,43 \pm 0,91$	0,22	0,35

RC: restrição calórica associada ao consumo de *shake* controle; RCRH: restrição calórica associada ao consumo de *shake* RH.

P^1 : comparação entre *baseline* e *endpoint* em cada intervenção; P^2 : comparação entre os tratamentos.

6.3.5 Associação entre DB e efeito sobre variáveis de risco metabólico

O número de famílias botânicas aumentou significativamente em ambas as intervenções (RC: $1,13 \pm 2,45$, $P=0,03$; RCRH: $3,9 \pm 2,87$, $P<0,01$), sendo o aumento estatisticamente mais elevado para a intervenção RCRH ($P<0,01$) (**Tabela 9**). A ordem dos tratamentos influenciou o aumento da diversidade botânica, sendo significativo quando as voluntárias foram submetidas primeiramente a intervenção contendo RH e depois a restrição calórica sem RH (ordem RCRH-RC) ($P < 0,01$).

Para as variáveis de risco metabólico (**Tabela 9**) não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Porém, foram observados efeitos mais favoráveis para a intervenção RCRH, que resultou em redução no perímetro da cintura ($-2,54 \pm 2,74$ cm; $P<0,01$) e aumento dos níveis de HDL-c ($0,08 \pm 0,15$ mmol/L; $P=0,04$). Já a intervenção RC induziu aumento significativo da PAS ($6,18 \pm 12,35$ mmHg; $P=0,03$), dos níveis de colesterol total ($0,38 \pm 0,64$ mmol/L; $P=0,01$) e de LDL-c ($0,23 \pm 0,43$ mmol/L; $P=0,04$), apesar de ter resultado em redução significativa dos níveis de MDA-HAE ($-0,36 \pm 0,47$ μ M; $P=0,005$).

Não foram observadas alterações significativas para triacilgliceróis e capacidade antioxidante total do plasma (CAT). O período de uma semana de *washout* foi suficiente para anular os efeitos observados sobre esses parâmetros ($P>0,05$).

Na intervenção RCRH o aumento no número de famílias foi positivamente correlacionado ao aumento de HDL-c ($r = 0,47$; $P<0,01$) e o aumento do consumo de porções da família *Linaceae* foi negativamente correlacionado aos níveis de LDL-c ($r= -0,60$; $P<0,01$) e colesterol total ($r= -0,53$; $P<0,01$).

Tabela 9 – Alterações da diversidade botânica e de variáveis clínicas e metabólicas

Variáveis	RC (Δ)	P^1	RCRH (Δ)	P^1	P^2
DB	1,13 \pm 2,45	0,03	3,9 \pm 2,87	0,0007	0,001
PC (cm)	-1,12 \pm 2,57	0,06	-2,54 \pm 2,74	<0,01	0,06
PAS (mmHg)	6,18 \pm 12,35	0,03	-2,45 \pm 22,38	0,67	0,12
PAD (mmHg)	-3,04 \pm 12,41	0,59	-0,72 \pm 12,99	0,79	0,48
TAG (mmol/L)	0,07 \pm 0,40	0,47	-0,03 \pm 0,44	0,70	0,35
CT (mmol/L)	0,38 \pm 0,64	0,01	0,26 \pm 0,82	0,14	0,63
HDL-c (mmol/L)	0,02 \pm 0,13	0,40	0,08 \pm 0,15	0,04	0,25
LDL-c (mmol/L)	0,23 \pm 0,43	0,04	0,07 \pm 0,64	0,51	0,69
MDA-HAE (μ M)	-0,36 \pm 0,47	0,005	-0,16 \pm 0,69	0,33	0,41
CAT (mM)	0,02 \pm 1,65	0,95	-0,03 \pm 1,2	0,81	0,54

RC: restrição calórica associada ao consumo de *shake* controle; RCRH: restrição calórica associada ao consumo de *shake* RH; DB: número de famílias botânicas; PC: perímetro da cintura; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; TAG: triacilgliceróis; HDL-c: *High-density lipoprotein*; LDL-c: *Low-density lipoprotein*; MDA-HAE: malondialdeído+4-hidroquialqueno; CAT: capacidade antioxidante.

6.4 DISCUSSÃO

No presente estudo investigou-se o efeito da ingestão de RH sobre a DB da dieta e o consumo alimentar, explorando as possíveis associações entre a DB e a modulação de fatores de risco metabólico. A RH foi consumida como substituto do jejum durante um programa de perda de peso com as participantes ingerindo uma dieta com leve restrição calórica e distribuição normal em macronutrientes. O nível de restrição calórica foi estabelecido considerando que restrições severas além de contribuir para a desistência de participantes, podem resultar em redução da ingestão de micronutrientes e fitoquímicos (MELANSON *et al.*, 2006).

As participantes do estudo apresentaram baixa escolaridade e atividade física reduzida. Essas características basais contribuem para o excesso de peso, visto que esse associa-se negativamente ao nível educacional (MARTÍN *et al.*, 2008; SICHIERI; MOURA, 2009) e condição socioeconômica (MARTÍN *et al.*, 2008). Além disso, o reduzido perfil de atividade física também contribui para o balanço energético positivo e consequente ganho de peso (BALL; CRAWFORD, 2006).

Entre os grupos randomizados observou-se no período de *baseline*, valores médios de perímetro da cintura que traduzem riscos de complicações metabólicas associadas ao desenvolvimento de DCNTs (WHO, 2000; ALBERTI *et al.*, 2009). Os valores elevados de LDL-c e reduzidos de HDL-c conjuntamente com valores elevados de pressão arterial configuram perfil favorável ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (MOSCA *et al.*, 2011). Apesar das alterações de lipoproteínas plasmáticas, LDL-c e HDL-c, e do excesso de peso presente, os valores médios de CAT e MDA-HAE não indicaram estado de estresse oxidativo (DIAZ *et al.*, 1998).

Antes da intervenção, as participantes do estudo apresentaram reduzido consumo de famílias botânicas, em número ($5,4 \pm 1,56$) e quantidade de porções ($0,09 \pm 0,36$ a $0,74 \pm 0,78$). No estudo de Thompson *et al.* (2006), o consumo de uma dieta contendo 18 famílias botânicas resultou em redução do dano oxidativo do DNA e em efeitos mais expressivos sobre a peroxidação lipídica que uma dieta contendo somente 5 famílias botânicas.

O consumo reduzido de alimentos à base de plantas pode dificultar o controle de peso, pois resulta em ingestão inadequada de micronutrientes e fitoquímicos antioxidantes e antiinflamatórios (TRINIDAD *et al.*, 2010). Além disso, os benefícios à saúde atribuídos ao

consumo de cereais integrais (BAZZANO et al., 2005; WILLIAMS; GRAFENAUER; O'SHEA, 2008; BROWNLEE et al., 2010; MAKI et al., 2010), sementes (CHEN et al., 2005; RHEE; BRUNT, 2011) e alimentos com elevada capacidade antioxidante (BRIGHENTI; VALTUENA; PELLEGRINI, 2005; VALTUENA et al., 2008) são bem documentados.

Nesse sentido, a RH mostrou-se um alimento com elevada capacidade antioxidante, que pode ser atribuída a alguns de seus ingredientes como: cereais em geral (SAURACALIXTO; PEREZ-JIMENEZ; GONI, 2009), semente de linhaça (KASOTE; HEGDE; DESHMUKH, 2011), semente de gergelim (SILVA et al., 2011), quinoa real (ALVAREZ-JUBETE et al., 2010), cacau (SCHINELLA et al., 2010), guaraná em pó (MAJHENIČ; ŠKERGET; KNEZ, 2007) e açúcar mascavo (PHILLIPS; CARLSEN; BLOMHOFF, 2009).

O pão branco era o principal alimento presente no desjejum das participantes no baseline e apresentou reduzida CAT, mostrando que a RH contribuiu para melhorar a qualidade dessa refeição, pois sabe-se que a ingestão de alimentos com maior capacidade antioxidante apresenta relação inversa com marcadores de inflamação sistêmica e características de síndrome metabólica (BRIGHENTI; VALTUENA; PELLEGRINI, 2005; PUCHAU et al., 2010).

Com relação aos fitonutrientes avaliados, a RH apresentou teor de fitato (620 ± 60 mg/100g) inferior ao verificado para alguns de seus ingredientes, tais como: farelo de arroz (3920 ± 160 mg/100g), farelo de trigo (4040 ± 230 mg/100g) e semente de gergelim (3200 ± 120 mg/100g) (SANT'ANA et al., 2000). O conteúdo total de taninos condensados ($277,8 \pm 38,3$ mg/100g) pode ser considerado bastante baixo se comparado, por exemplo, ao cacau em pó (3219 mg/100g) (GU et al., 2006). O teor de fenólicos totais ($42,7 \pm 0,74$ mg/100g) foi inferior ao verificado na literatura para a linhaça crua ($692, 94 \pm 64,2$ mg/100g) (MORAES et al., 2010), gergelim tipo creme ($147,5 \pm 31,7$ mg/100g) (SILVA et al., 2011) e para o cacau em pó, que pode apresentar valores superiores a 1000 mg/100g (LLORACH-ASUNCIÓN et al., 2010; KHAN et al., 2011).

Os compostos anteriormente citados são antioxidantes (GRAF; EATON, 1985; DECKER, 1998), porém ainda não há recomendação quanto à quantidade ideal de consumo diário para a saúde humana. Além dos fitoquímicos avaliados, outros compostos bioativos estão presentes nos ingredientes utilizados no preparo da RH e podem contribuir para as suas propriedades funcionais *in vivo*, como saponinas, peptídios bioativos e isoflavonas da soja e derivados (XIAO, 2008), beta-glucana da aveia (KHOURY et al., 2012), sesamol do gergelim

(JOSHI et al., 2005), orizanóis da farinha de arroz (NAGENDRA PRASAD et al., 2011), dentre outros.

Os shakes RH foram classificados como ricos em potássio, fósforo e vitamina E, e como fontes de ferro, zinco, magnésio, manganês e cálcio, fator bastante positivo, visto que estratégias para redução de peso comumente estão associadas à reduzida ingestão de micronutrientes (MELANSON et al., 2006). Além disso, os shakes RH forneceram também compostos bioativos que, assim como os micronutrientes, estão envolvidos em processos metabólicos e endócrinos essenciais no controle de peso corporal e na prevenção de doenças crônicas (GAILLET; LACAN; ROUANET, 2012).

Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos para as calorias provenientes da ingestão de carboidratos, proteínas e lipídios. Embora não tenha sido observada diferença significativa entre o valor calórico prescrito e a ingestão de calorias, algumas participantes do estudo, em ambas as intervenções, apresentaram ingestão calórica inferior à prescrição. Tal fato pode estar relacionado ao sub-registro alimentar frequentemente observado entre indivíduos com excesso de peso (SCHOELLER; BANDINI; DIETZ, 1990; LICHTMAN *et al.*, 1992; JOHNSON, 2002; JOHNSON *et al.*, 2005; RAYMOND *et al.*, 2012).

O percentual de macronutrientes esteve adequado em relação à AMDR (*Acceptable Macronutrient Distribution Range*) (IOM, 2005). Entretanto, considerando às recomendações da WHO (2003) para prevenção de doenças crônicas a ingestão percentual de lipídios no *baseline* e *endpoint*, em ambas as intervenções, excederam a faixa recomendada, que deve estar entre 15 e 30%. Não houve alteração significativa na ingestão de fibra, que se manteve inferior à recomendação de ingestão adequada superior a 25 g/dia para mulheres com idade entre 19 e 50 anos (WHO/FAO, 2003; IOM, 2005). Assim, apesar de RH conter fibras, a quantidade ingerida não foi suficiente para promover a ingestão ao nível da recomendação. A possibilidade de subestimação dos registros alimentares pode ter contribuído para os valores inferiores à EAR para zinco e selênio em ambas as intervenções.

A ingestão de RH associada à restrição calórica resultou em aumento significativo da ingestão de vitamina E. Isso se deve ao fato de que o produto alimentício contém sementes e outros ingredientes ricos nessa vitamina, contribuindo para valores mais próximos ao valor de EAR para ingestão de vitamina E. A ingestão de manganês também esteve mais aproximada ao valor de AI nessa intervenção. Dessa forma, a inclusão de RH favoreceu o aumento do consumo de vitamina E, e contribuiu para melhor adequação da ingestão de manganês. Tais

micronutrientes são dois potentes antioxidantes que atuam, respectivamente, na proteção da peroxidação de membranas e otimização da defesa antioxidante enzimática (NORDBERG; ARNÉR, 2001).

A maioria dos ingredientes da RH é do grupo dos cereais, pertencentes à família *Gramineae*, mas contém também ingredientes das famílias *Amaranthaceae* (quinoa), *Leguminosae* (farinha de soja), *Linaceae* (semente de linhaça), *Pedaliacea* (gergelim), *Malvaceae* (cacau em pó) e *Sapindaceae* (guaraná em pó). O aumento do consumo de cereais e a introdução de sementes são bastante relevantes, uma vez que os efeitos sobre a redução de peso corporal são mais favoráveis se a ingestão de alimentos de origem vegetal substitui alimentos ricos em gordura ou energia (BOEING et al., 2012).

O plano alimentar prescrito foi elaborado de maneira a contemplar uma alimentação saudável, sendo adequado em porções de frutas e vegetais, o que justifica o aumento no número de famílias botânicas em ambas as intervenções, e aumento significativo no número de porções de famílias específicas, como *Rutaceae* na intervenção RC e *Pedaliaceae*, *Gramineae*, *Linaceae* e *Musaceae* na intervenção RCRH. Contudo, a intervenção RCRH se sobrepôs a intervenção RC, devido à variedade de seus ingredientes constituintes, provenientes de 7 famílias botânicas distintas, o que refletiu também no maior número de porções das famílias *Gramineae* e introdução da família *Linaceae*, em relação a intervenção RC.

Ainda, a ingestão de um produto alimentício com apelo funcional, associado à restrição calórica, pode ter resultado em maior motivação às mudanças de hábitos alimentares e adesão ao maior consumo de vegetais, visto que o número consumido de famílias botânicas foi maior entre as participantes que receberam primeiro a intervenção contendo RH (ordem 2 de tratamento; RCRH-RC).

Ambas as intervenções promoveram mudanças na DB e conseqüentemente no consumo de grupos de alimentos. A intervenção que incluía somente restrição calórica (RC) resultou em redução do consumo de vegetal C, com diminuição da contribuição calórica proveniente da família *Solanaceae* e aumento da família *Euphorbaceae*. A restrição calórica quando associada ao consumo de RH, não resultou em redução da ingestão de nenhum dos grupos alimentares. Verificou-se também aumento do consumo de cereais e introdução do consumo de sementes, que são ingredientes constituintes do produto. A redução no percentual de calorias provenientes da família *Gramineae* ocorreu devido à ingestão de quinoa, da família *Amaranthaceae*.

Os ingredientes da RH forneceram importantes classes de fitoquímicos na dieta das participantes, tais como flavonóides, alcalóides, aminas, terpenos, aminoácidos não protéicos, fenilpropanos, dentre outros, que exercem efeitos benéficos à saúde humana (THOMPSON, 2010). Muitos dos compostos bioativos presentes na RH são reconhecidos por sua elevada capacidade antioxidante, como por exemplo: ácidos fenólicos, flavonóides, proantocianidinas, betalaínas e fenilpropanos (USDA, 2004; NEVEU *et al.*, 2010; THOMPSON, 2010; USDA, 2011).

A presença de tais compostos pode ter favorecido os efeitos da intervenção RCRH sobre a redução de gordura na região central e aumento dos níveis de HDL-c. A redução no perímetro da cintura é bastante relevante, visto que esse parâmetro está diretamente associado aos níveis de marcadores inflamatórios (ACKERMANN *et al.*, 2011) e de estresse oxidativo (FURUKAWA *et al.*, 2004). O efeito adicional sobre os níveis de HDL-c, contribui sobremaneira para redução de complicações metabólicas, devido às propriedades antioxidantes e antiinflamatórias dessa lipoproteína anti-aterogênica (KHERA *et al.*, 2011).

Apesar das participantes terem aumentado a DB da dieta na intervenção RC, passando de $5,5 \pm 1,1$ para $6,7 \pm 2,6$ famílias botânicas, houve aumento da PAS, dos níveis de LDL-c e colesterol total, o que sugere que outros fatores podem ter contribuído para tais efeitos. Por exemplo, estudos têm mostrado elevações nos níveis de cortisol em resposta à modificação do hábito e privação alimentar, o que favorece o aumento da pressão arterial (FRENCH; JEFFERY, 1994; CHAPUT; DOUCET; TREMBLAY, 2012).

Por ser um estudo com participantes de vida livre escolhas alimentares podem favorecer o aumento nos níveis de LDL-c e colesterol total, apesar das orientações fornecidas durante o atendimento nutricional. Como esses efeitos não foram observados para a intervenção RCRH, entende-se que a incorporação de RH à restrição calórica pode ter contribuído para reduzir o estresse emocional relacionado à privação de calorias e também para um perfil mais favorável de lipoproteínas plasmáticas, em decorrência de efeitos de compostos bioativos presentes no produto RH.

O malondialdeído e o 4-hidroxiacetonato são importantes produtos de peroxidação lipídica relacionados à indução de câncer (VALKO *et al.*, 2006). Assim, a redução dos níveis de MDA-HAE durante a intervenção RC poderia ser considerada um efeito positivo. Porém, os níveis iniciais não estavam elevados. Sabe-se que o efeito de bioativos em diminuir marcadores de peroxidação lipídica é dependente da condição basal de estresse oxidativo

(THOMPSON, HENRY J. *et al.*, 2005; THOMPSON, HENRY J *et al.*, 2005; BLOCK *et al.*, 2008), o que não indica ausência de efeito da RH.

O número de famílias botânicas foi negativamente correlacionado à PAS na intervenção RC ($r = -0,58$; $P < 0,01$), mostrando que durante a restrição calórica uma maior variedade de vegetais pode contribuir para ingestão de micronutrientes associados à redução da pressão arterial, como potássio, cálcio e magnésio (MIURA; TORII, 2012).

A maior variedade de alimentos de origem vegetal implica em menor ingestão de alimentos de alto índice glicêmico e elevada carga glicêmica, fatores inversamente relacionados aos níveis de HDL-c (LIU *et al.*, 2001; MA *et al.*, 2006). Esse fato pode explicar a correlação positiva entre o aumento do número de famílias botânicas e níveis de HDL-c, na intervenção RCRH ($r = 0,47$; $P < 0,01$).

Observou-se correlação negativa entre o aumento do número de porções da família *Linaceae* e níveis de LDL-c ($r = -0,60$; $P < 0,01$) e colesterol total ($r = -0,53$; $P < 0,01$), na intervenção RCRH. A linhaça foi o único alimento pertencente a essa família na dieta das voluntárias durante essa intervenção e possui propriedades funcionais que explicam essas associações.

O consumo de sementes não é um hábito alimentar brasileiro, assim como a ingestão de peixes ricos em ácidos graxos poliinsaturados é reduzida no país, principalmente em regiões não litorâneas. Assim, a introdução de linhaça na dieta das participantes é bastante favorável, visto que contem quantidades importantes de ácido alfa-linolênico (CUNNANE *et al.*, 1993). Dessa forma, a ingestão de linhaça pode contribuir para melhorar a razão de ácidos graxos ômega 6: ômega 3 da dieta, cuja adequação está associada a à redução de doenças crônicas (SIMOPOULOS, 2008). Além do ácido alfa-linolênico a linhaça é fonte de fibra insolúvel e ambos podem promover alterações favoráveis no perfil lipídico sérico (CUNNANE *et al.*, 1993).

A família *Linaceae* contem fitoquímicos da classe dos glicosídeos cianogênicos e dos polifenóis (THOMPSON; THOMPSON, 2010). Os glicosídeos cianogênicos são considerados fatores antinutricionais, mas estão presentes na linhaça em quantidades que não promovem riscos à saúde (DAUN *et al.*, 2003). Dentre os composto fenólicos, destaca-se a lignana, um polifenol não flavonóide, associado à redução do risco de doenças cardiovasculares, por meio de modulação das enzimas 7-alfa-hidroxilase e acil CoA colesterol transferase e de receptores de estrógenos, resultando em redução de colesterol total e LDL-c, respectivamente (BRZEZINSKI; DEBI, 1999; ZHANG *et al.*, 2007). Além disso,

concentrações plasmáticas do diglicosídeo secoisolaricesinol, componente da lignana, foram positivamente correlacionadas à redução de colesterol total e LDL-c, em estudo com indivíduos hipoesterolêmicos, que receberam o composto extraído da linhaça por 8 semanas (ZHANG *et al.*, 2007).

Uma alimentação com maior diversidade botânica pode contribuir para a ingestão de vários fitoquímicos em pequenas quantidades, atendendo os princípios da moderação e variedade, o que contribui para potencializar os efeitos quimioprotetores *in vivo* (THOMPSON, 1994; THOMPSON *et al.*, 2006; KOK; BREDÁ; MANSON, 2008). Há estudos, por exemplo, mostrando a ação antiinflamatória e proteção contra o estresse oxidativo de compostos fenólicos (EVANS; HIRSCH; DUSHENKOV, 2006) e flavonóides (TIMMERS *et al.*, 2011) e ação antioxidante e efeito inibitório de ácidos fenólicos em pré-adipócitos (HSU; HUANG; YEN, 2006). Ademais, compostos de origem botânica podem atuar na modulação epigenética, atenuando a progressão de fatores relacionados ao desenvolvimento de síndrome metabólica e outras doenças por mecanismos de reprogramação (KIRK *et al.*, 2008).

No estudo de Thompson *et al.* (2006), as famílias botânicas que constituíram a dieta formulada para fornecer somente 5 famílias foram criteriosamente selecionadas por sua elevada capacidade antioxidante, o que resultou em redução da peroxidação lipídica. Porém, como citado anteriormente, os resultados foram mais acentuados para a dieta composta por 18 famílias botânicas. Nossos resultados quanto à peroxidação lipídica não foram favoráveis para a intervenção RCRH, mesmo tendo sido associada à maior diversidade botânica. Esperava-se também que essa intervenção resultasse em aumento da capacidade antioxidante total do plasma.

Contudo, ressalta-se que os valores basais não indicaram estado de estresse oxidativo. Assim, a ausência de efeito sobre esse parâmetro pode não ter ocorrido por falta de atividade antioxidante da RH e sim pela condição inicial normal das participantes, conforme observado em outros estudos (THOMPSON, HENRY J. *et al.*, 2005; THOMPSON, HENRY J *et al.*, 2005). Ainda, biomarcadores de estresse oxidativo podem estar reduzidos no período de jejum (LABAYEN *et al.*, 2004; PRIOR *et al.*, 2007; RAMÍREZ-VÉLEZ, 2011).

Embora os efeitos da intervenção RH sobre a diversidade botânica da dieta tenham sido favoráveis, não foi observado efeito diferenciado em relação à intervenção RC quanto ao risco metabólico. Isso pode ter ocorrido devido a fatores como quantidade insuficiente de fitoquímicos nos alimentos (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008) e variações inter-individuais

quanto à absorção, metabolismo e excreção de compostos botânicos (POSSEMIERS *et al.*, 2011), o que contribui para baixos níveis circulantes de fitoquímicos, limitando os efeitos finais.

Além disso, no presente estudo as participantes foram orientadas quanto às escolhas alimentares, mas o consumo de famílias botânicas não foi controlado, tendo ocorrido conforme os costumes e preferências. Ressalta-se também que não há conhecimento quanto à DB da dieta do brasileiro, mas por se tratar de um país tropical os alimentos de origem vegetal no Brasil são reconhecidos por seu potencial antioxidante e conteúdo de compostos bioativos (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Portanto, esses alimentos podem apresentar considerável quantidade de metabólitos secundários com efeitos benéficos à saúde, sugerindo que uma proteção prévia pode existir, determinando os valores adequados de CAT e ausência de estresse oxidativo.

Ainda assim, sugere-se que o consumo de um produto natural fonte de fibras e fitoquímicos antioxidantes associado à restrição calórica é favorável, visto que melhora a qualidade da dieta e contribui para modulação positiva de fatores de risco. Porém, a simples inclusão de um alimento composto por ingredientes de diversas famílias botânicas parece não ser suficiente para aumentar a ingestão de fitoquímicos e amplificar seus efeitos. Portanto, se faz necessária a realização de estudos que investiguem o efeito da DB sobre o controle do peso corporal e fatores de risco associados, de maneira a responder questionamentos como quais famílias botânicas, considerando as classes de fitoquímicos, seriam mais indicadas, bem como a quantidade e número de porções a ser oferecida.

6.5 CONCLUSÃO

A RH mostrou ser um alimento rico em famílias botânicas o que resultou em aumento da diversidade botânica e maior ingestão de vitamina E, após sua incorporação à dieta hipocalórica. Entretanto, não houve diferenças acentuadas na associação entre DB da dieta e variáveis de risco metabólico de mulheres obesas quando se comparou duas intervenções com dieta contendo em média 6,5 e 9,3 famílias botânicas.

A intervenção nutricional *per si* promoveu aumento da DB da dieta, e isso mostra que as orientações nutricionais fornecidas aos indivíduos resultam em interpretação correta a respeito da variação da dieta. Fatores como o estado antioxidante inicial das voluntárias e variabilidade inter-individual relacionada ao metabolismo de fitoquímicos bem como o perfil de fitoquímicos da dieta consumida podem explicar os resultados obtidos no presente estudo.

7. ARTIGO II

MODULAÇÃO DE PARÂMETROS DE RISCO METABÓLICO EM RESPOSTA À INGESTÃO DE RAÇÃO HUMANA: UM ESTUDO CONTROLADO RANDOMIZADO *CROSSOVER*

Natália Elizabeth Galdino Alves
Bárbara Nery Enes
Hércia Stampini Duarte Martino
Rita de Cássia Gonçalves Alfenas
Antônio Policarpo Souza Carneiro
Sônia Machado Rocha Ribeiro

RESUMO

Devido à crescente prevalência da obesidade e a dificuldade do seu controle, novas estratégias dietéticas adjuvantes à restrição calórica são necessárias para favorecer o controle metabólico e diminuir o risco de comorbidades. No presente estudo, investigou-se o efeito da ingestão de um produto à base de alimentos vegetais ricos em fitoquímicos, denominado Ração Humana (RH), como substituto do desjejum, sobre parâmetros de risco metabólico em mulheres com sobrepeso e obesidade. Tratou-se de um estudo, simples cego, do tipo *crossover* 2x2 (dois tratamentos e dois períodos). As voluntárias (n=22) participaram em ordem aleatória de 2 períodos experimentais, com duração de cinco semanas, separados por uma semana de *washout*, sendo que cada grupo recebeu as dietas em ordens diferentes. Em cada período experimental foi realizada a ingestão de dieta hipocalórica (restrição de 15% em relação ao EER) associados à ingestão de *shakes* com RH (RCRH) ou sem RH (RC). Parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos foram avaliados no *baseline* e ao final da intervenção. Alguns fatores de risco metabólico foram favoravelmente modulados em ambos os grupos: redução de peso corporal (RC: - 0,74±1,27 kg; P=0,01; RCRH: -0,77±1,3 kg; P=0,02), redução de IMC (RC: -0,27±0,51 kg/m²; P=0,02; RCRH: -0,30±0,52 kg/m²; P=0,01), redução de HOMA-IR (RC: -0,35±0,82; P=0,02, RCRH: -0,41±0,83; P=0,03). Entretanto, modulação

diferenciada entre ambas as intervenções foi observada, pois houve efeito positivo da RCRH sobre a gordura nas regiões central e glúteo-femoral, com reduções significativas no perímetro da cintura – PC ($-2,54 \pm 2,74$ cm; $P < 0,01$) e na gordura ginóide – Ggin ($-0,264 \pm 0,28$ g; $P < 0,01$) e aumento de HDL-c ($0,08 \pm 0,15$ mmol/L; $P = 0,04$). RC diminuiu significativamente a peroxidação lipídica (MDA-HAE: $-0,36 \pm 0,47$ μ M; $P = 0,005$), mas causou aumento de LDL-c ($-0,23 \pm 0,43$ mmol/L; $P = 0,04$) e de pressão arterial sistólica ($6,18 \pm 12,35$ mmHg; $P = 0,03$). Constatou-se a diminuição da gordura ginóide ($-0,264 \pm 0,28$ gramas vs. $0,015 \pm 0,3$ gramas; $P < 0,01$) em resposta ao tratamento RCRH em relação ao RC. Como parte de uma dieta com leve restrição calórica, a ingestão do produto rico em fitoquímicos na forma de *shake*, durante cinco semanas, exerceu efeitos positivos sobre a lipólise regionalizada, reduzindo depósitos de gordura associados ao maior risco metabólico e modificou favoravelmente o perfil de lipoproteínas, aumentando a concentração de HDL-c. Estratégias dietéticas que incluem a modulação de risco metabólico por compostos bioativos naturais devem ser incluídas durante a intervenção nutricional para perda de peso corporal. Apesar de sua elevada capacidade antioxidante, a falta de efeitos de RH sobre marcadores de inflamação e de estresse oxidativo pode ser resultante de fatores relacionados ao tipo de marcador utilizado, ao metabolismo de compostos bioativos, à quantidade ingerida, ao tempo de intervenção, e às características individuais das participantes anteriores ao estudo, tais como estado antioxidante no *baseline*.

Palavras chave: obesidade, perda de peso, restrição calórica, substitutos de refeições, fitoquímicos, estresse oxidativo, inflamação crônica sub-clínica, risco metabólico.

ABSTRACT

MEAL REPLACEMENT BASED ON PLANT FOODS RICH IN PHYTOCHEMICALS AND MODULATION OF METABOLIC RISK FACTORS DURING BODY WEIGHT LOSS: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL.

Due to the increasing prevalence of obesity and the difficulty of their control, new strategies of caloric restriction diet are necessary to promote metabolic control and reduce the risk of comorbidities. In this study, we investigated the effect of consumption of a product based on plant foods rich in phytochemicals known as Human Ration (HR), as a substitute for breakfast on metabolic risk parameters in overweight women. This is a single-blind, crossover study. The volunteers (n=22) participated in a random order for two five week experimental periods, separated by a washout week. In each trial was performed the consumption of a hypocaloric diet (CR) (15% constraint in relation to the EER) associated with the ingestion of shakes containing HR (CRHR) or not (CR). Clinic-anthropometric and biochemical parameters were evaluated at baseline and at the end of each period of the intervention. Some metabolic risk factors were favorably modulated in both groups: reduction of body weight (CR: -0.74 ± 1.27 kg, $P=0.01$; CRHR: -0.77 ± 1.3 kg, $P=0.02$), lower BMI (CR: -0.27 ± 0.51 kg / m², $P=0.02$; CRHR: -0.30 ± 0.52 kg/m², $P=0.01$), reduction of HOMA-IR (CR: -0.35 ± 0.82 , $P=0.02$, CRHR: -0.41 ± 0.83 , $P=0.03$). However, it was observed a different modulation between the two interventions. There were positive effects of CRHR about fat in the central and gluteus, with significant reductions in waist circumference - PC (-2.54 ± 2.74 cm, $P<0.01$) and gynoid fat - Ggin (-0.264 ± 0.28 g, $P<0.01$) and increased HDL-C (0.08 ± 0.15 mmol / L, $P=0.04$). CR significantly decreased lipid peroxidation (MDA-HAE: -0.36 ± 0.47 mM, $P<0.01$) but increased LDL-c (-0.23 ± 0.43 mmol/L, $P=0.04$) and systolic blood pressure (12.35 ± 6.18 mmHg, $P=0.03$). Compared to CR the treatment CRHR it decreased gynoid fat (-0.264 ± 0.28 g vs. 0.015 ± 0.3 g, $P=0.003$). As part of a diet with mild caloric restriction, ingestion of a product rich in phytochemicals for five weeks, exerted positive effects on lipolysis regionalized, reducing fat deposits associated with higher metabolic risk and favorably modified the lipoprotein profile by increasing the concentration of HDL-c. Dietary strategies that include modulation of metabolic risk by bioactive compounds may be included during the

dietary intervention for weight loss. Despite their high antioxidant capacity, the lack of effect of HR on markers of inflammation and oxidative stress may result from factors related to the type of biomarker used, the metabolism of bioactive compounds, the amount ingested, time of intervention, and individual characteristics of the participants prior to the study, such as antioxidant status at baseline.

Keywords: obesity, weight loss, caloric restriction, meal replacements, phytochemicals, oxidative stress, low-grade inflammation, metabolic risk.

7.1 INTRODUÇÃO

A obesidade atinge proporções alarmantes em todo mundo (WHO, 2011) e apresenta impacto significativo na piora da qualidade de vida e condições de saúde (ABALLAY *et al.*, 2009). A obesidade está associada a várias comorbidades (AZARBAD; GONDER-FREDERICK, 2010), por meio de mecanismos fisiopatológicos diversos, incluindo o estresse oxidativo e a inflamação de baixo grau.

Presume-se que a inflamação e o estresse oxidativo, ambos presentes na obesidade, atuem sinergicamente, causando alterações metabólicas no tecido adiposo e em nível sistêmico. Na condição de estresse oxidativo, há aumento da expressão de genes regulados por sinalização redox (MATSUZAWA-NAGATA *et al.*, 2008), favorecendo a produção de citocinas inflamatórias, que por sua vez, induzem a produção de radicais livres (CHUNG *et al.*, 2009).

Na obesidade, além do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), induzida por altas concentrações de glicose e de ácidos graxos livres (AGL) (STEFANOVIĆ *et al.*, 2008), há evidências da diminuição da defesa antioxidante enzimática (DAMBAL; INDUMATI; KUMARI, 2011). O rompimento da homeostase metabólica do adipócito, por mecanismos inflamatórios e oxidativos, altera a sinalização insulínica (MATSUZAWA-NAGATA *et al.*, 2008), explicando a prevalência da síndrome metabólica entre indivíduos obesos (FORD; GILES; DIETZ, 2002; BASTARD *et al.*, 2006). A resistência insulínica é considerada o principal mecanismo fisiopatológico que liga a obesidade à ocorrência de DCNTs (SHOELSON; HERRERO; NAAZ, 2007).

De fato, o estresse oxidativo é considerado um importante preditor de risco cardiovascular no gênero feminino (VASSALLE *et al.*, 2012). Conjuntamente com a inflamação crônica subclínica estão associados à resistência insulínica, alteração do metabolismo do adipócito e disfunção endotelial (LAHOZA; MOSTAZA, 2007).

Alcançar o peso corporal ideal é fundamental para melhorar a qualidade de vida e condições de saúde e reduzir o risco metabólico que se associa às DCNTs. Para tal, as estratégias propostas devem ser planejadas de forma a garantir que a redução do peso corporal seja gradativa e eficiente – capaz de ser mantida por longo período de tempo, além de favorecer a atenuação das alterações metabólicas associadas. É grande o interesse na busca de estratégias efetivas para controle e perda de peso corporal (KIRK *et al.*, 2012). Nesse

contexto, muitos indivíduos recorrem à estratégias e produtos alimentícios, que prometem “verdadeiros milagres” em relação à redução de peso corporal.

Dentre esses produtos, comercializados no Brasil, cita-se uma mistura ou mix de cereais, sementes e grãos, composta por 14 ingredientes, inicialmente denominada Ração Humana (RH), elaborada e comercializada com a finalidade de manter o corpo nutrido e saudável (BRAGA; MENDONÇA, 2010). Alguns dos ingredientes do produto RH são importantes fontes de fibras, o que pode contribuir para a indução da saciedade, controle glicêmico e normalização dos níveis plasmáticos de colesterol (BABIO *et al.*, 2010). Outros são fonte de compostos bioativos diversos, tais como compostos fenólicos, vitamina E, ácidos graxos poliinsaturados, fitatos e outros, apresentando, portanto, potencial funcional para exercerem efeitos metabólicos favoráveis por meio de mecanismos antiinflamatórios e antioxidantes (SAHYOUN *et al.*, 2006; HEISS *et al.*, 2007; KATCHER *et al.*, 2008; MORAES *et al.*, 2010; SCHINELLA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2011).

Apesar da escassez de pesquisas sobre as propriedades funcionais da RH, esses produtos são amplamente consumidos principalmente por mulheres que desejam perder peso corporal (BRAGA; MENDONÇA, 2010).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão de um produto RH sobre a modulação de fatores de risco metabólicos relacionados à obesidade, com enfoque sobre o estresse oxidativo, inflamação, parâmetros clínico-nutricionais de resistência insulínica e de perfil lipídico aterogênico em mulheres com sobrepeso e obesidade, durante intervenção nutricional para redução de peso corporal.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Participantes

O estudo foi conduzido com mulheres portadoras de sobrepeso ou obesidade, utilizando os seguintes critérios de inclusão: idade entre 24 e 45 anos, IMC entre 25 e 35 kg/m², ingestão regular de produto lácteo no desjejum e ausência da intenção em alterar o padrão de atividade física durante o período do estudo. Não foram incluídas gestantes, lactantes, mulheres menopausadas – amenorréia por período ≥ 12 meses (GRACIA *et al.*, 2005), histerectomizadas, etilistas e/ou tabagistas, portadoras de doença gastrointestinal, hepatopatia crônica, doença renal ou doença endócrina, mulheres que estivessem utilizando medicamentos antiinflamatórios, diuréticos tiazídicos, estatinas, androgênicos, polivitamínicos e/ou polimineral, ou que apresentassem alergia ou intolerância a algum composto do produto. Oscilações no peso corporal superior a 5% nos últimos dois meses (MAKI *et al.*, 2010) e uso de estratégias para controle do peso corporal nos últimos dois meses também foram utilizados como critério de exclusão.

O perfil socioeconômico foi caracterizado no *baseline* por meio de questionário específico. As participantes foram orientadas a manter o perfil de atividade física habitual e durante o período de intervenção tais orientações foram reforçadas e investigadas, por meio da aplicação do Questionário Internacional de Nível de Atividade Física (IPAQ) versão 6, proposto pela WHO (1998), e validado em português por Pardini *et al.* (2001).

7.2.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo clínico de intervenção, randomizado controlado do tipo *crossover 2x2*, simples cego, no qual as participantes foram designadas a ingerir, durante uma intervenção nutricional com restrição calórica dois tipos de *skakes*: *skake* adicionado de RH (intervenção RCRH) e *shake* sem adição de RH (intervenção RC). As participantes (n= 22) foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos (n= 11) experimentais, em dois períodos de tratamento, com duração de cinco semanas cada, separados por uma semana de *washout*. Os

grupos experimentais diferiram quanto à ordem em que as voluntárias participaram nas duas intervenções do estudo: RC-RCRH e RCRH-RC.

7.2.3 Elaboração do produto RH e dos *shakes*

Os ingredientes utilizados para a elaboração da RH e dos *shakes* foram adquiridos no comércio regional, e esses produtos alimentícios foram desenvolvidos no laboratório de Desenvolvimento de Novos Produtos do Departamento de Nutrição e Saúde – Universidade Federal de Viçosa. A oferta de RH na versão de *shakes* foi planejada com o objetivo de oferecer produtos com características físico-químicas mais palatáveis para melhor aceitação e adesão por parte das participantes. Foram elaborados 4 tipos de *shakes* em pó: com adição de RH (*shake* RH) e sem adição de RH (*shake* controle), ambos nos sabores morango e chocolate. Os *shakes* controle e RH não foram elaborados no intuito de serem isoenergéticos e diferiram entre si quanto à composição química e nutricional.

Os tipos e proporções de ingredientes utilizados para a elaboração da RH estão descritos a seguir: fibra de trigo (20%), farinha de soja desengordurada (10%), farinha de arroz integral (8%), aveia em flocos (8%), fubá de milho branco (8%), gérmen de trigo (6%), quinoa real (2%), sementes trituradas de linhaça (10%) e gergelim creme (8%), açúcar mascavo (8%), cacau em pó (2%), guaraná em pó (2%), levedo de cerveja (2%), agar-agar (gelatina sem sabor) (4%).

Os *shakes* foram preparados semanalmente, acondicionados em embalagens plásticas de polipropileno, porcionados em pacotes de 50 gramas cada, para uso individual e diário, rotuladas e mantidas em geladeira à 10° C, até o momento de distribuição para as participantes do estudo. Os ingredientes e a composição química dos *shakes* estão apresentados na **Tabela 10**. Os *shakes* RH foram elaborados para fornecer 8,14% do valor calórico total e os *shakes* controle 4,3% do VCT, fornecendo 16,46 e 4,08%, respectivamente, das necessidades diárias de fibra.

Tabela 10 – Ingredientes e composição química dos *shakes*

<i>Shakes</i>	SRHC	SRHM	SCC	SCM
Ingredientes (g/porção)				
Ração Humana	20	20	-	-
Leite em pó	15	15	15	15
Chocolate em pó (50% cacau)	7	-	7	-
Achocolatado em pó sabor morango	-	10	-	10
Goma Xantana	0,3	0,3	0,3	0,3
Composição química (g/porção)*				
Umidade (g)	2,69±0,21 ^A	3,00±0,22 ^A	1,03±0,06 ^B	0,77±0,01 ^B
Cinzas (g)	1,77±0,01 ^B	1,85±0,02 ^A	1,20±0,01 ^D	1,32±0,03 ^C
Proteínas (g)	8,66±0,35 ^A	8,95±0,00 ^A	4,8±0,09 ^B	4,91±0,13 ^B
Lipídios(g)	4,8±0,09 ^B	6,67±0,62 ^A	1,37±0,09 ^C	1,20±0,10 ^C
Fibra alimentar solúvel (g)	0,81±0,09 ^{AB}	0,95±0,17 ^A	0,45±0,07 ^B	0,79±0,03 ^{AB}
Fibra alimentar insolúvel (g)	3,25±0,87 ^A	3,22±0,40 ^A	0,57±0,17 ^B	0,24±0,15 ^B
Fibra alimentar total (g)	4,06±0,78 ^A	4,17±0,24 ^A	1,02±0,09 ^B	1,02±0,12 ^B
Carboidratos (g)	20,05±0,29 ^A	20,91±0,74 ^A	12,41±0,13 ^C	15,72±0,40 ^B
Calorias (kcal)	157,34±3,5 ^A	174,45±4,26 ^B	81,97±0,40 ^D	93,4±0,07 ^C
Fitoquímicos Antioxidantes (mg/porção)*				
Zinco (mg)	1,84±0,07 ^A	1,57±0,02 ^B	0,62±0,02 ^C	0,56±0,05 ^C
Manganês (mg)	1,29±0,09 ^A	1,27±0,00 ^A	0,22±0,00 ^B	0,25 ± 0,00 ^B
Vitamina E (mg)	1,66±0,04	1,78±0,05	ND	ND
Fitato (mg)	124±10	124±10	ND	ND
Fenólicos totais (mg)	8,55±0,15	8,55±0,15	ND	ND
Taninos condensados (mg)	55,56±0,01	55,56±0,01	ND	ND

*Porção diária de *shake* (SRHC = 42 g; SRHM= 45 g; SCC= 22 g; SCM = 25 g). SRHC: *shake* RH sabor chocolate; SRHM: *shake* RH sabor morango; SCC: *shake* controle sabor chocolate; SCM: *shake* controle sabor morango; ND: não determinado. Médias seguidas de mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$)

7.2.4 Intervenção

Os *shakes* foram distribuídos às participantes semanalmente e ingeridos diariamente como substitutos do desjejum.

Cada participante recebeu um copo graduado com tampa e marcador de volume indicando a quantidade exata de água a ser adicionada (150 mL) para garantir a reconstituição adequada do *shake* e assegurar a diluição recomendada. As participantes foram orientadas a adicionar a água e a mistura de ingredientes em pó necessários ao preparo de uma porção de *shake* ao copo medidor. A seguir, as mesmas foram orientadas a fazer agitação manual por 1 min, tampando devidamente o copo. As voluntárias foram orientadas a consumir todo o conteúdo do *shake*. Caso contrário, o volume não ingerido deveria ser conferido e registrado em formulário próprio e entregue às pesquisadoras.

Foram prescritos planos alimentares individualizados, subtraindo-se 15% da necessidade calórica estimada – *Estimated Energy Requirement* (EER) (IOM, 2005). Para cada participante essa condição objetivou uma perda ponderal variando de 1,5 a 2 kg em cada um dos períodos de intervenção deste estudo. Desta forma, as diferenças calóricas, de macronutrientes e fibras apresentadas pelos *shakes* controle e RH foram compensadas de maneira que a dieta prescrita apresentasse características nutricionais similares. Os planos alimentares foram elaborados por nutricionista e apresentavam distribuição de macronutrientes de acordo com o proposto por IOM (2005). As participantes do estudo receberam também uma lista de substituição de alimentos organizada por grupos alimentares e orientações gerais quanto às escolhas alimentares saudáveis. As participantes foram orientadas a manter o perfil de atividade física habitual durante os dois períodos de intervenção.

7.2.5 Parâmetros avaliados

7.2.5.1 Medidas antropométricas, composição corporal e pressão arterial

Para aferição do peso corporal e estatura, seguiu-se o protocolo proposto por Jelliffe (1966). O IMC foi calculado (QUETELET, 1869) e classificado de acordo com os pontos de corte preconizados pela WHO (2000).

O perímetro da cintura (PC) foi aferido na menor curvatura localizada entre as costelas e a crista ilíaca, com a voluntária de pé, durante a expiração normal, utilizando-se fita métrica inelástica, sem compressão dos tecidos. Quando não foi possível identificar a menor curvatura a medida foi realizada dois centímetros acima da cicatriz umbilical (LOHMAN; ROCHE; MARTORELL, 1998). Valores inferiores a 80cm foram considerados como adiposidade abdominal adequada (ALBERTI et al., 2009).

A composição corporal (gordura corporal total, gordura na região abdominal, gordura na região do tronco e quadril e massa livre de gordura) foi avaliada por meio do método de absormetria radiológica de dupla energia (DEXA) (GE Healthcare®, Lunar ProdigyAdvance, United Kingdom), segundo protocolos de avaliação descritos por Enes (2012).

Aferiu-se a pressão arterial com o indivíduo sentado, seguindo procedimento padronizado e recomendado pela Associação Americana do Coração (do inglês *American Heart Association's* – AHA) (PICKERING et al., 2005). Foi utilizado aparelho de pressão digital automático (G. Tech, Linha Master) recomendado pela Sociedade Brasileira de Hipertensão (SBH, 2004). Três medidas foram realizadas e utilizou-se a média dos valores obtidos. Em casos de medidas discrepantes optou-se por utilizar a média dos dois valores mais próximos.

7.2.5.2 Biomarcadores em soro e plasma

Os parâmetros bioquímicos foram avaliados em soro e plasma obtidos a partir de amostras de sangue (15 mL), coletadas com as participantes em jejum de 12 h, fracionadas em tubos de heparina, EDTA e soro gel, conforme o parâmetro bioquímico a ser analisado. As análises foram realizadas em laboratórios credenciados para análises clínicas pelos seguintes métodos e técnicas: insulina de jejum (eletroquimioluminescência), proteína C reativa ultrasensível (nefelometria), ferritina (quimioluminescência) e contagem total de leucócitos (impedância elétrica). Métodos colorimétricos, utilizando kits comerciais (Bioclin[®]) e analisador automático para química clínica (BS 200, Mindray[®]) foram empregados na determinação de glicemia de jejum (glicose oxidase), triacilgliceróis, HDL-c e LDL-c (enzimático colorimétrico) e colesterol total (enzimático colorimétrico-COD-PAP).

A capacidade antioxidante total (CAT) do plasma foi avaliada por meio do kit *Antioxidant Assay Cayman* (ref. 709001, *Cayman Chemical Company*[®]). O ensaio baseia-se na habilidade dos antioxidantes na amostra em inibir a oxidação do ABTS (2,2-Azino-di-[3-ethyl benzthiazolinesulfonate] a ABTS⁺ pela metimioglobina. A peroxidação lipídica foi avaliada por ensaio colorimétrico utilizando o kit comercial *Bioxytech LPO-586, OxisResearch*[®]. O método baseia-se na reação do reagente cromogênico, N-metil-2-fenilindol (R1), com malondialdeído (MDA) e 4-hidroxiaceto (HAE), ambos produtos da peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados.

7.2.5.3 Risco metabólico

Resistência insulínica

O grau de RI foi avaliado pelo índice *Homeostasis Model Assessment* – HOMA-IR, calculado conforme equação seguinte:

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

Foram considerados adequados os valores de HOMA-IR menores que 2,5 (MATTHEWS *et al.*, 1985).

Presença de componentes da síndrome metabólica

Os componentes da SM foram avaliados considerando os pontos de corte propostos pelos NCEP-ATP III (2007): perímetro abdominal superior a 88 cm, glicemia plasmática de jejum superior a 110 mg/dL, níveis superiores a 150 mg/dL (1,69 mmol/L) para triglicídeos, HDL-c inferior a 50 mg/dL (1,29 mmol/L), pressão arterial sistólica superior a 130 mmHg ou diastólica superior a 85 mmHg. Foram diagnosticadas como portadoras da SM as voluntárias que apresentaram 3 dos componentes citados (NCEP, 2007).

Fatores de risco cardiovascular

Como fatores de risco cardiovascular avaliou-se os níveis séricos de colesterol total (> 200 mg/dL ou 5,17 mmol/L), LDL-c (> 100 mg/dL ou > 2,58 mmol/L), TAG (> 150 mg/dL ou > 1,69 mmol/L), HDL-c (< 50 mg/dL ou 1,29 mmol/L) e pressão arterial (> 120/80 mmHg), segundo recomendações da AHA para prevenção de doenças cardiovasculares em mulheres (MOSCA *et al.*, 2011). Os níveis de proteína C-reativa ultra-sensível também foram avaliados, considerando as categorias de baixo, médio e alto risco de doença cardiovascular (<1 mg/L, 1,0 a 3,0 mg/L e >3 mg/L, respectivamente) (PEARSON *et al.*, 2003).

Estresse oxidativo

Para os parâmetros relacionados ao estresse oxidativo, foram comparados aos valores de peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total do plasma aos valores de referência estabelecidos por Diaz *et al.*(1998), para rastreamento de indivíduos que podem estar em estado de estresse oxidativo (valores acima de 1,33 μ M e abaixo de 1,35 mM, respectivamente). Os resultados obtidos também foram comparados a resultados descritos na literatura científica.

Inflamação crônica subclínica

Considerou-se como indicativo de inflamação crônica sub-clínica a obtenção de valores acima do nível de referência laboratorial para os parâmetros ferritina sérica (> 150 ng/mL) e contagem total de leucócitos (> 11 x 10³ cel/mm³). Para PCR-us utilizou-se o valor de 2,2 mg/L como ponto de corte para classificação de inflamação crônica subclínica, segundo Visser *et al.*(1999).

7.2.6 Análise Estatística

O cálculo do tamanho amostral foi realizado segundo método proposto por Mera, Thompson e Prasad (1998), adotando-se poder estatístico de 80%. Considerou-se como variável principal o percentual de gordura corporal.

Os dados demográficos foram analisados por estatística descritiva. As variáveis contínuas foram submetidas ao teste *Skewness/Kurtosis* para análise quanto à normalidade. Os resultados foram expressos por média ± desvio padrão, e mediana e intervalo interquartil (P25% e P75%), visto que algumas não apresentaram distribuição normal (peso, IMC, MG, PAS, PAD, MDA, insulinemia, colesterol total, LDL-c, ferritina, PCR-us).

Para detectar diferenças significativas antes e após cada intervenção utilizou-se o teste-t de *Student* pareado ou o correspondente não paramétrico *Wilcoxon matched-pairs signed rank*. A comparação entre os tratamentos foi realizada por meio dos testes t de *Student* ou seu correspondente não paramétrico *Mann Whitney*, comparando o delta obtido em cada intervenção, conforme recomendado por Mills et al. (2009). Investigou-se, por meio de testes de correlação de *Pearson* (para as variáveis com distribuição normal) ou seu correspondente não paramétrico *Spearman* (para variáveis com distribuição assimétrica), a associação entre as alterações observadas para marcadores de estresse oxidativo (MDA-HAE e CAT), inflamação (PCR-us, contagem total de leucócitos e ferritina), parâmetros bioquímicos (glicemia, insulinemia, colesterol total, LDL-c, HDL-c, triacilgliceróis) e parâmetros antropométricos (peso, IMC, perímetro da cintura, massa magra, massa livre de gordura e quantidade de gordura na região abdominal e região do tronco).

Possíveis alterações durante o período de *washout* foram avaliadas por meio de teste-t de *Student* pareado ou o correspondente não paramétrico *Wilcoxon matched-pairs signed*

rank, comparando os valores basais no período A e no período B. O efeito da ordem sobre os parâmetros foi avaliado comparando o delta das alterações por teste-t de *Student* ou seu correspondente não paramétrico *Mann Whitney*, em função da ordem (ordem 1 ou ordem 2). A comparação da composição química dos *shakes* utilizados no estudo foi realizada por meio do teste de *Tukey*.

Todas as análises estáticas anteriormente descritas foram realizadas utilizando-se o Stata versão 9.0, adotando-se nível de significância de 5%.

7.3 RESULTADOS

7.3.1 Participantes

Inicialmente, 76 mulheres apresentando IMC entre 25 e 35 kg/m² se mostraram interessadas em participar do estudo. Dessas 32 atenderam aos critérios de inclusão, 27 compareceram às consultas iniciais (*baseline*) e 22 finalizaram todas as etapas do estudo (**Figura 3**).

As características sócio-demográficas da população estudada são apresentadas na **Tabela 11**. A idade média das voluntárias foi de 35,04 anos. A escolaridade média verificada foi de 7,45 anos. A maioria das voluntárias eram casadas ou em união estável, possuindo de 1 a 2 filhos, com renda familiar inferior a três salários mínimos (<1866,00 R\$) e renda per capita inferior a um salário mínimo (<622,00R\$). Considerando a classificação do estado nutricional por meio do IMC, 63,63% das participantes apresentavam sobrepeso e 36,37% obesidade.

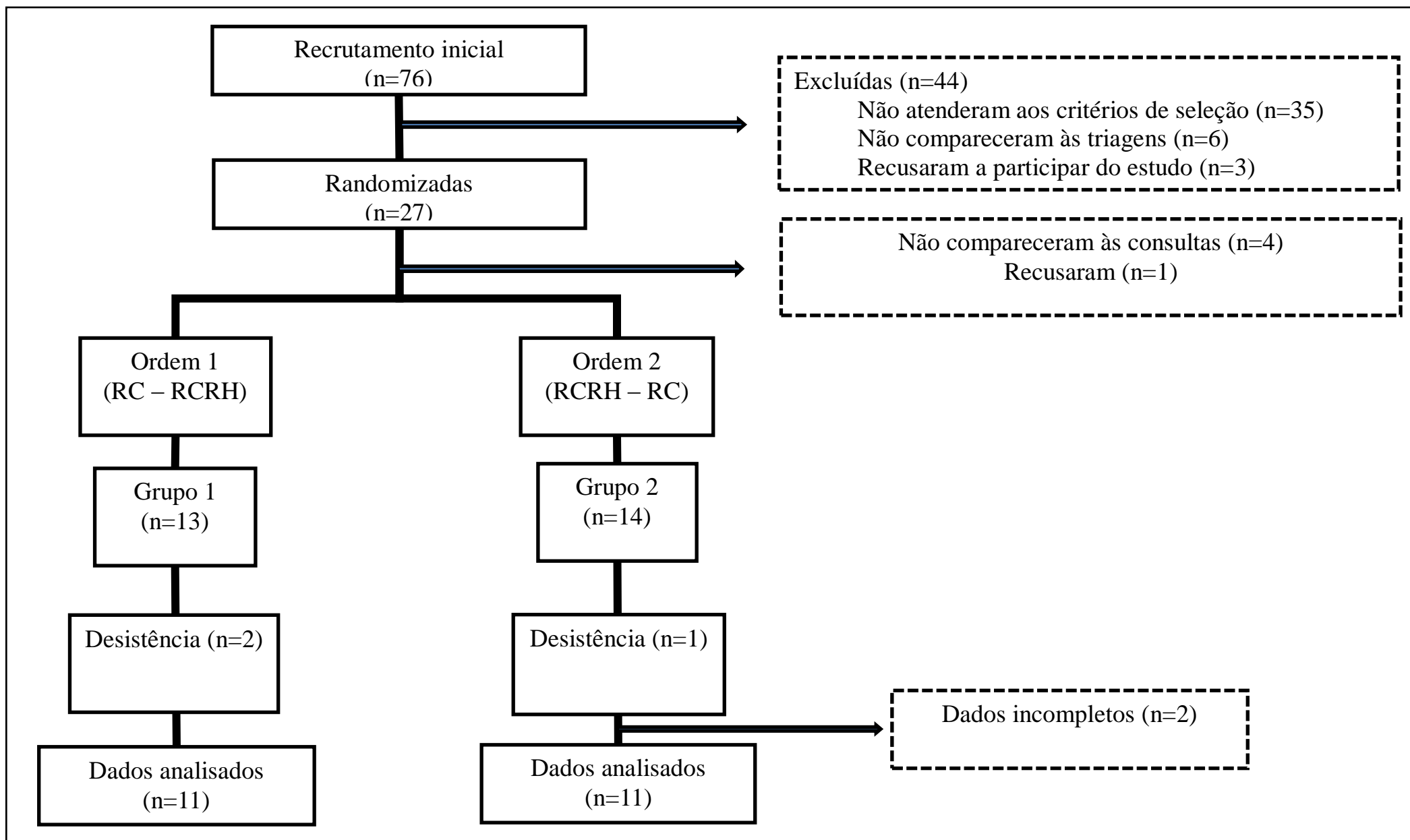


Figura 3 – Fluxograma do estudo

n: número de voluntárias; RC: restrição calórica associada ao consumo de *shake* controle; RCRH: restrição calórica associada ao consumo de *shake* RH109

Tabela 11 – Características demográficas e estado nutricional da população estudada

Características	n=22
Idade (anos), média±DP	35,04± 5.6
Escolaridade (anos), média±DP	7,45± 3,64
Estado civil, n (%)	
Casada/ União estável	19 (86,36)
Solteira/Divorciada/Viúva	3 (13,63)
Número de membros da família, média±DP	3,22 ± 1,17
Número de filhos, n (%)	
Nenhum	5 (22,72)
1 – 2 filhos	14 (63,63)
3 ou mais filhos	3 (13,63)
Renda familiar, n (%)	
1 – 3 salários mínimos	19 (86,36)
3,1 – 6 salários mínimos	3 (13,64)
Renda per capita, n (%)	
< 1 salário mínimo	16 (72,72)
1 – 3 salários mínimos	6 (27,28)
Perfil atividade física	
Ativo (MET: >3000)	12 (54)
Pouco ativo (MET: 600-3000)	10 (46)
Estado nutricional	
Sobrepeso	14 (63,63)
Obesidade	8 (36,37)

MET: equivalente metabólico.

7.3.2 Características gerais da dieta prescrita, aceitação e tolerância dos *shakes*

A dieta prescrita fornecia em média $2048,57 \pm 168,95$ kcal/dia, ou seja, $27,87 \pm 2,7$ kcal por kg de peso atual por dia. Não foi observada diferença estatística entre o valor calórico prescrito e ingestão calórica durante o estudo ($P > 0,05$). No entanto, observou-se que algumas participantes apresentaram registros alimentares com valores inferiores ao valor calórico prescrito. Durante as consultas individuais, verificou-se que o produto testado foi bem aceito, não tendo ocorrido devolução de sobras do mesmo e nenhuma intolerância foi relatada.

A ingestão do *shakes* RH (SRHM e SRHC) forneceu 8,14% do valor calórico total, sendo 21,23% provenientes do conteúdo de proteínas, 31,11% de lipídios e 49,38% de carboidratos. Já a ingestão do *shakes* controle (SCM e SCM) forneceu 4,3% do valor calórico total, das quais 22,12% foram provenientes de proteínas, 13,18% de lipídios e 64,15% de carboidratos.

Quanto à ingestão de fibra, o consumo de *shakes* RH (SRHM e SRHC) contribuiu com 16,46% das necessidades diárias, ao passo que para os *shakes* controle (SCM e SCM) esse percentual foi de apenas 4,08%.

7.3.3 Caracterização das participantes quanto ao risco metabólico no período pré-intervenção

Considerando as características de risco metabólico no *baseline* (**Tabela 12**), somente uma participante foi classificada como resistente à insulina. As participantes do estudo apresentaram alteração de todos os parâmetros utilizados como critérios para o diagnóstico da SM, com exceção da glicemia de jejum, sendo que a frequência de participantes portadoras de síndrome metabólica, considerando a presença de três dos cinco componentes avaliados, foi de 18,2%. A maioria (90,9%) apresentou medida de perímetro da cintura superior (> 88 cm) ao preconizado pelo NCEP (2007) e todas apresentavam adiposidade abdominal inadequada (>80 cm) (ALBERTI *et al.*, 2009).

Os parâmetros de risco cardiovascular inadequados foram HDL-c, LDL-c, PCR-us e pressão arterial. Todas as participantes apresentaram pelo menos um dos parâmetros alterados, sendo a maior frequência observada para os valores de PCR-us (77,3%), seguida por HDL-c (68,2%) e LDL-c (50%).

Os valores médios de ferritina e contagem total de leucócitos estiveram adequados ao valor de referência laboratorial. Já o valor médio de PCR-us caracterizou a ocorrência de inflamação crônica subclínica, visto que esteve superior ao valor proposto por Visser *et al.* (1999). Do total de participantes, 16,6% e 59,1% apresentavam valores superiores ao valor de referência para ferritina e PCR-us, respectivamente, e nenhuma participante apresentou alteração na contagem total de linfócitos.

Os valores médios de MDA-HAE e CAT estiveram adequados, ou seja, inferiores a 1,33 μ M e superiores a 1,35 mM, respectivamente. No entanto, verificou-se que 36,4% das participantes apresentaram valores superiores ao valor de referência para MDA-HAE e inferiores ao recomendado para CAT, sendo que 13,63% apresentaram os dois parâmetros em níveis inadequados e 9,09% dessas apresentaram também valores de PCR-us superiores à 2,2 mg/L.

Não foram verificadas associações significativas entre os parâmetros de risco metabólico no *baseline* ($P>0,05$).

Tabela 12 – Características de risco cardiometabólico das participantes pré-intervenção

Parâmetro	Média ± DP	VR	Frequência (%)
Resistência à insulina			
HOMA-IR	1,95±0,76	<2,5	1 (4,5)
Componentes da SM			
GLIC (mg/dL)	87,45±5,37	<110	0 (0)
HDL-c (mmol/L)	1,21±0,20	>1,29	15 (68,2)
TAG (mmol/L)	1,03±0,36	<1,69	2 (9,1)
PA (mmHg)	123,18±24,44/77,40±9,26	<130/85	8 (36,4)
PC (cm)	97,97±6,83	<88	20 (90,9)
Diagnóstico de SM			
			4 (18,2)
Risco cardiovascular			
CT (mmol/L)	4,37±1,03	<5,17	6 (27,3)
HDL-c (mmol/L)	1,21±0,20	>1,29	15 (68,2)
LDL-c (mmol/L)	2,76±0,93	<2,58	11 (50,0)
TAG (mmol/L)	1,03±0,36	<1,69	2 (9,1)
PCR-us (mg/L)	4,80±5,7	<1	17 (77,3)
PA (mmHg)	123,18±24,44/77,40±9,26	<120/80	8 (36,4)
Inflamação sub-clínica			
PCR-us (mg/L)	4,80±5,7	<2,2	13 (59,1)
Ferritina(ng/mL)	72,78±59,51	<150	3 (16,6)
CTL (cel x10 ³ /mm ³)	6,60± 0,32	<11	0 (0)
Estresse oxidativo			
MDA-HAE (µM)	1,19±0,49	<1,33	8 (36,4)
CAT (mM)	1,61±0,83	>1,35	8 (36,4)

VR: valores de referência (padrões de normalidade: item 6.2.5.3); HOMA-IR: *homeostatic model of assessment of insulin resistance*; GLIC: glicemia de jejum; HDL-c: *high-density lipoprotein*; TAG: triacilgliceróis; PA: pressão arterial; PC: perímetro da cintura; CT: colesterol total; PCR-us: proteína C-reativa ultra-sensível; CTL: contagem total de leucócitos; MDA-HAE: : malondialdeído-4-hidroquialqueno; CAT: capacidade antioxidante total do plasma.

7.3.4 Efeitos da intervenção sobre os parâmetros clínico-antropométricos e de risco metabólico

Os parâmetros clínico-antropométricos antes e após a intervenção estão apresentados na **Tabela 13**. A intervenção RC promoveu redução significativa de peso corporal ($-0,74 \pm 1,27$ kg; $P=0,01$), IMC ($-0,27 \pm 0,51$ kg/m²; $P=0,02$) e aumento da PAS ($6,18 \pm 12,35$ mmHg; $P=0,03$). A intervenção RCRH resultou em redução significativa do peso corporal ($-0,77 \pm 1,3$ kg; $P=0,02$), IMC ($-0,30 \pm 0,52$ kg/m²; $P=0,01$), PC ($-2,54 \pm 2,74$ cm; $P=0,0003$) e gordura ginóide ($-0,264$ gramas; $P<0,01$).

Comparando-se as duas intervenções, embora ambas tenham resultado em efeito similar na redução de variáveis antropométricas, verificou-se que RCRH foi mais efetiva em reduzir a quantidade de gordura ginóide ($0,264$ g vs. $0,015 \pm 0,3$ g; $P=0,003$).

O período de uma semana de *washout* foi suficiente para anular os efeitos observados sobre esses parâmetros ($P>0,05$).

Tabela 13 – Parâmetros clínico-antropométricos das participantes no *baseline* e *endpoint* por tratamento

Variáveis	Restrição Calórica				P ⁽¹⁾	Restrição Calórica+RH				P ⁽²⁾	P ⁽³⁾	
	Baseline		Endpoint			Baseline		Endpoint				
	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média ± DP	Mediana (P25; P75)		Média±DP	Mediana (P25; P75)	Média±DP	Mediana (P25; P75)			
Peso (kg)	72,8±9,5	73,4 (64,1; 80,3)	72,0±9,8	71,3 (63,3; 81,6)	0,01	72,9±9,6	72,4 (64,4; 81,2)	72,1±9,7	72,0 (63,5; 80,9)	0,02	0,93	0,96
IMC (kg/m ²)	28,7±2,9	28,1 (26,3; 31,23)	28,4±3,0	27,8 (26,0; 1,15)	0,02	28,8±2,9	28,6 (25,9; 31,27)	28,46±3,0	28,3 (25,8; 30,9)	0,01	0,86	0,99
PC (cm)	96,0±7,5	95,3 (90; 102,4)	94,9±7,8	94,6 (88,5; 98,0)	0,052	97,1±7,6	96,0 (91,4; 103,5)	94,6±7,6	94,5 (89,0; 102,2)	0,0003	0,05	0,63
MG (%)	40,3±4,02	40,0 (37,3; 44,2)	39,9±4,3	40,2 (38,0; 43,5)	0,96	40,5±4,3	40,4 (37,1; 44,2)	39,8±4,3	39,7 (37,6; 43,6)	0,06	0,16	0,86
MM (%)	56,3±3,9	56,2 (52,82; 59,26)	56,5±4,2	56,1 (53,35; 58,41)	0,40	55,9±4,2	56,1 (52,7; 59,5)	56,7±4,2	57,0 (53,3; 59,2)	0,07	0,17	0,82
GTr (g)	10,7±2,9	10,6 (8,9; 12,5)	11,9±3,3	11,5 (8,9; 15,5)	0,052	11,6±3,6	10,5 (8,5; 13,1)	11,5±3,4	11,0 (8,7; 13,1)	0,83	0,06	0,42
GAnd (g)	1,6±0,3	1,6 (1,3; 1,8)	1,6±0,5	1,6 (1,2; 2,1)	0,20	1,63±0,5	1,5 (1,3; 1,9)	1,58±0,5	1,54 (1,1; 1,8)	0,22	0,06	0,67
GGin (g)	4,83±0,8	4,8 (4,3; 5,5)	4,8±0,9	4,7 (4,3; 5,4)	0,82	4,9±0,9	4,8 (4,3; 5,8)	4,7±0,9	4,7 (4,1; 5,6)	0,0002	0,003	0,58
PAS (mmHg)	120,2±21,3	118,5 (110,0; 120,0)	126,4±21,0	124,0 (115,0; 132,0)	0,03	126,9±24,7	126,0 (1110; 134,0)	124,5±26,0	119,5 (108,0; 136,0)	0,67	0,12	0,16
PAD (mmHg)	78,5±13,4	84,0 (73,0; 80)	75,1±19,5	73,5 (68,0; 84,0)	0,59	74,9±11,10	74,5 (67,0; 80,0)	74,2±11,3	71,0 (66,0; 79,0)	0,79	0,48	0,29

n= 22 voluntárias.

⁽¹⁾Comparação entre *baseline* e *endpoint* em cada intervenção, resultados obtidos por meio do teste t de *Student* pareado ou *Wilcoxon matched-pairs signed rank test* ($P<0,05$)

⁽²⁾Efeito dos tratamentos –comparação do Δ das alterações entre as duas intervenções por meio do teste t de *Student* ($P<0,05$)

⁽³⁾Efeito do *washout* – comparação entre os *baselines* por meio de teste t de *Student* pareado ou *Wilcoxon matched-pairs signed rank test* ($P<0,05$)

IMC: índice de massa corporal; PC: perímetro da cintura; MG: massa gordurosa; MM: massa livre de gordura; GAnd: gordura região abdominal; GTr: gordura região do tronco; Ggin: gordura região glúteo-femoral; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica

As variáveis de risco metabólico nos períodos *baseline* e ao final da intervenção estão apresentados na **Tabela 14**. Ambas as intervenções resultaram em redução significativa do índice HOMA-IR (RC: $-0,35 \pm 0,82$; $P=0,02$, RCRH: $-0,41 \pm 0,83$; $P=0,03$) e a intervenção RCRH promoveu redução nos níveis de insulina ($-1,35 \pm 2,83$ $\mu\text{UI/mL}$; $P=0,04$).

A intervenção RC induziu aumento significativo nos níveis de colesterol total ($0,38 \pm 0,64$ mmol/L ; $P=0,01$) e LDL-c ($0,23 \pm 0,43$ mmol/L ; $P=0,04$), enquanto a intervenção RCRH resultou em aumento dos níveis de HDL-c ($0,08 \pm 0,15$ mmol/L ; $P=0,04$).

Os níveis de MDA-HAE foram significativamente reduzidos pela intervenção RC ($-0,36 \pm 0,47$ μM ; $P=0,005$).

Nenhuma das intervenções promoveu alteração significativa nas concentrações séricas de PCRus, ferritina, contagem total de leucócitos, triacilgliceróis, capacidade antioxidante total do plasma (CAT).

Comparando-se as duas intervenções não foram verificadas diferenças significativas de efeitos sobre os parâmetros de risco metabólico.

Ao final do período de *washout*, verificou-se aumento dos níveis de glicemia após o período A ($P=0,01$). Porém os valores permaneceram em níveis adequados. Para os outros parâmetros descritos esse período foi suficiente para anular os efeitos observados na intervenção anterior ($P>0,05$).

Tabela 14 – Parâmetros de risco metabólico das participantes no *baseline* e *endpoint* por tratamento

Variáveis	Restrição calórica				P ⁽¹⁾	Restrição Calórica+RH				P ⁽²⁾	P ⁽³⁾	
	Baseline		Endpoint			Baseline		Endpoint				
	Média ± DP	Mediana (P25; P75)	Média ± DP	Mediana (P25; P75)		Média±DP	Mediana (P25; P75)	Média±DP	Mediana (P25; P75)			
GLIC (mmol/L)	4,70±0,44	4,66 (4,5; 4,94)	4,53±0,71	4,50 (4,16; 4,94)	0,19	4,90±0,39	4,75 (4,61; 5,22)	4,57±0,38	4,75 (4,61; 5,22)	0,21	0,88	0,01
INSU (µUI/mL)	8,7±3,8	8,7 (5,5; 10,7)	7,7±4,1	7,0 (5,2; 9,3)	0,10	8,5±3,7	8,2 (6,2; 10,8)	6,7±2,8	6,7 (5,2; 9)	0,04	0,70	0,98
HOMA-IR	1,8±0,9	1,5 (1,0; 2,5)	1,48±1,1	1,3 (0,8; 1,5)	0,01	2,0±0,8	2,0 (1,4; 2,4)	1,5±0,7	1,5 (1,0; 1,98)	0,03	0,80	0,56
PCR-us (mg/L)	4,30±5,6	3,0 (1,6; 5,1)	4,90±6,2	3,0 (0,7; 6,3)	0,53	4,70±5,7	2,9 (1,3; 5,8)	3,80±3,2	2,60 (1,3; 5,2)	0,97	0,77	0,95
FERT (ng/mL)	69,54±58,6	50,6 (14,6; 92,3)	67,9±55,5	38,8 (23,3; 95,4)	0,20	66,6±57,1	43,1 (24,1; 93,5)	66,9±53,6	57,1 (25,5; 78,6)	0,85	0,09	0,84
CTL (celx10 ³ /mm ³)	6,5±2,1	6,6 (5,7; 7,7)	6,6±1,5	6,7 (5,7; 7,6)	0,40	6,6±1,4	6,4 (5,8; 7,2)	6,7±1,5	6,8 (5,5; 8,1)	0,69	0,88	0,81
TAG (mmol/L)	1,03±0,38	1,00 (0,72;1,08)	1,09±0,46	1,02 (0,87; 1,20)	0,47	1,10±0,40	1,09 (0,79; 1,35)	1,07±0,37	1,09 (0,73; 1,26)	0,70	0,35	0,61
CT (mmol/L)	4,44±0,87	4,26 (3,74; 4,68)	5,06±1,08	4,68 (4,03; 5,19)	0,01	4,49±1,03	4,39 (3,62; 4,96)	4,78±1,08	4,44 (3,89;5,58)	0,14	0,63	0,73
LDL-c (mmol/L)	2,66±0,87	2,53 (2,14; 2,99)	2,89±0,93	2,76 (2,45;2,89)	0,04	2,74±0,82	2,68 (2,01; 3,33)	2,81±0,98	2,61 (2,04; 3,87)	0,51	0,69	0,63
HDL-c (mmol/L)	1,24±0,2	1,27 (1,08; 1,39)	1,27±0,20	1,29 (1,08; 1,39)	0,40	1,21±7,8	1,18 (1,03; 1,29)	1,29±0,23	1,26 (1,08; 1,47)	0,04	0,24	0,58
MDA-HAE (µM)	1,0±0,4	1,0 (0,64; 1,27)	0,6±0,3	0,7 (0,38; 0,86)	0,005	1,0±0,6	1,0 (0,42; 1,47)	0,8±0,4	0,7 (0,45; 1,0)	0,33	0,41	0,79
CAT (mM)	1,6±1,2	1,5 (0,75; 2,1)	1,7 ±1,0	1,4 (1,0; 2,3)	0,95	1,6±0,7	1,4 (0,9; 2,3)	1,5±0,9	1,4 (0,8; 1,9)	0,81	0,54	0,98

n= 22 voluntárias.

⁽¹⁾Comparação entre *baseline* e *endpoint* em cada intervenção, resultados obtidos por meio do teste t de *Student* pareado ou *Wilcoxon matched-pairs signed rank test* (P<0,05)

⁽²⁾Efeito dos tratamentos –comparação do Δ das alterações entre as duas intervenções por meio do teste t de *Student* ou *Mann Whitney* (P<0,05)

⁽³⁾Efeito do *washout* – comparação entre os *baselines* por meio de teste t de *Student* pareado ou *Wilcoxon matched-pairs signed rank test* (P<0,05)

GLIC: glicemia de jejum; INSU: insulinemia de jejum; HOMA-IR: *homeostatic model of assessment of insulin resistance*; PCR-us: proteína C reativa ultra-sensível; FERT: ferritina; CTL: contagem total de leucócitos;

TAG: triacilgliceróis; CT: colesterol total; LDL-c: *low-density lipoprotein*; HDL-c: *high-density lipoprotein*; MDA: malondialdeído; HAE: 4-hidroquialqueno; CAT: capacidade antioxidante total do plasma

A **Figura 4** ilustra o perfil de efeitos das duas intervenções sobre variáveis de risco metabólico associado à resistência à insulina, risco cardiovascular, SM, inflamação crônica sub-clínica e estresse oxidativo.

A redução do índice HOMA-IR, após intervenções RC e RCRH (-19,4% e -20,5%, respectivamente) (**Figura 4A**), contribuiu para a diminuição do percentual de participantes portadoras de RI, de 27,3% para 4,5% e de 18,2% para 9,09% após as intervenções RC e RCRH, respectivamente.

O efeito da RCRH para elevar os níveis de HDL-c (6,8%) (**Figura 4B**) e reduzir o perímetro da cintura (-2,6%) (**Figura 4C**) influenciou na redução do percentual de portadoras de SM, passando de 27,3% no *baseline* para 18,3%, ao final da intervenção. Já para a intervenção RC, o percentual de SM aumentou de 18,3% para 27,3%, sendo que o número de participantes com pressão arterial elevada aumentou de 13,6% para 31,8%, refletindo no significativo aumento observado na PAS (5,1%) (**Figura 4D**). Os outros componentes da SM, glicemia (**Figura 4E**) e triacilgliceróis (**Figura 4B**), não apresentaram alterações significativas durante o estudo.

Com relação ao risco cardiovascular, verificou-se o efeito favorável da RCRH sobre a elevação dos níveis de HDL-c (6,8%) e o efeito negativo da intervenção RC em aumentar os níveis de LDL-c (9%) (**Figura 4B**). Considerando a classificação de risco para doença cardiovascular por meio da concentração de PCR-*us*, embora não tenha havido alteração significativa durante o estudo (**Figura 4F**), o percentual de participantes com médio e alto risco reduziu de 81,8% para 72,7% após intervenção RC, e aumentou de 77,3% para 81,8% após intervenção RCRH, considerando o critério proposto pela *American Heart Association* para prevenção de doenças cardiovasculares em mulheres (MOSCA *et al.*, 2011). Quando utilizado o critério para classificação de inflamação sub-clínica, observou-se que o percentual de participantes com valores de PCR-*us* acima do valor de referência apresentou pequeno aumento (54,54% para 59,09%) na intervenção RC e se manteve inalterado na intervenção RCRH (59,09%).

Quanto ao estresse oxidativo, embora o efeito das intervenções para reduzir a peroxidação lipídica tenha sido significativos apenas na intervenção RC (-32,4%) (**Figura 4G**), o percentual de participantes com níveis elevados de MDA-HAE foi reduzido em ambas as intervenções (RC: 18,2% para 0%; RCRH: 27,3% para 9,09%). Para a CAT não ocorreram alterações significativas em ambas as intervenções (**Figura 4H**) e o percentual de participantes com CAT inferior ao valor de referência se manteve

inalterado durante a intervenção RC (40,9%) e aumentou de 40,9% para 45,5% durante intervenção RCRH.

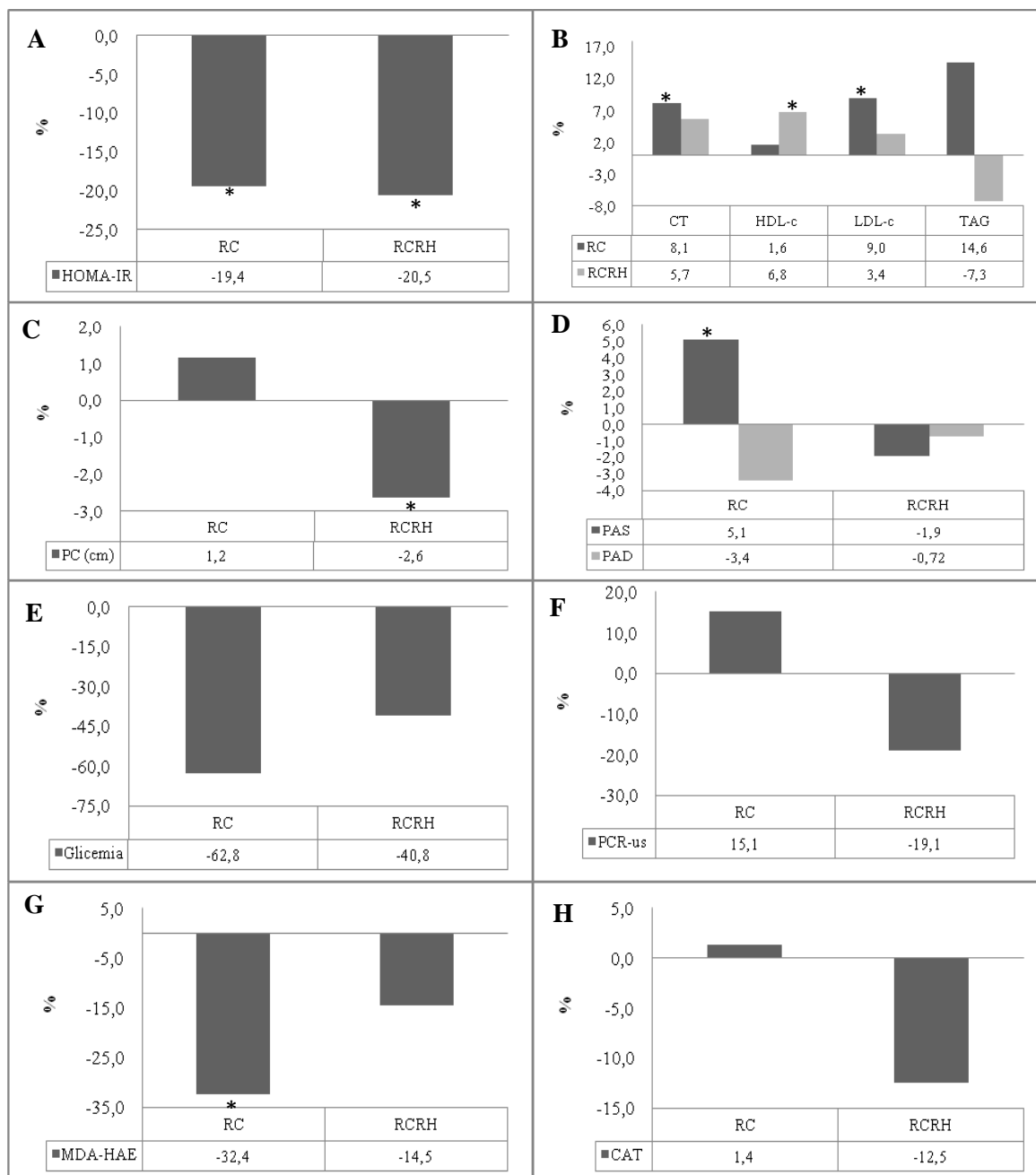


Figura 4 – Alterações (percentual) de variáveis de risco metabólico

HOMA- IR (A), nível de lipídios sanguíneos (B), perímetro da cintura (C), pressão arterial (D), glicemia de jejum (E), PCR-us (F), PCR-us(F), MDA-HAE (G) e CAT (H)

*Alteração significativa, comparando os valores do *baseline* e *endpoint* em cada intervenção por meio de teste t de Student pareado ou *Wilcoxon matched-pairs signed rank test* ($P < 0,05$). RC: restrição calórica; RCRH: restrição calórica + ração humana; HOMA-IR: *homeostatic model of assessment of insulin resistance*; CT: colesterol total; HDL-c: *high-density lipoprotein*; LDL-c: *low-density lipoprotein*; TAG: triacilgliceróis; PCR-us: proteína C reativa ultra-sensível; CTL: contagem total de leucócitos; MDA: malondialdeído; HAE: 4-hidroquialqueno; CAT: capacidade antioxidante total do plasma; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PC: Perímetro da cintura

7.3.5 Associação entre alterações observadas em parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos

Correlações significativas foram verificadas entre as alterações observadas para alguns dos parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos relacionados com estresse oxidativo e inflamação (**Tabela 15**).

Alterações no perímetro da cintura foram diretamente correlacionadas com alterações no biomarcador de estresse oxidativo, em ambas as intervenções (RC: $r=0,50$; $P=0,03$, RCRH: $r=0,55$; $P=0,02$). Em outras palavras, as reduções no perímetro da cintura foram acompanhadas por diminuição dos níveis de MDA-HAE. Já a CAT do plasma foi inversamente correlacionada ao biomarcador de estresse oxidativo apenas na intervenção RC ($r=-0,56$; $P=0,03$), ou seja, quanto mais elevada a CAT menores os níveis de MDA-HAE.

As alterações da gordura na região do tronco e região abdominal apresentaram correlação direta com as alterações do biomarcador de inflamação, na intervenção RC ($r=0,45$; $P=0,04$ e $r=0,47$; $P=0,03$, respectivamente). Assim, nessa intervenção, reduções nos parâmetros de distribuição de gordura corporal foram acompanhadas por reduções nos níveis de PCR-us.

Tabela 15 – Correlações entre as alterações em parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos

Parâmetros	RC		RCRH	
	r	P	r	P
MDA-HAE – PC	0,50	0,03	0,55	0,02
MDA-HAE – CAT	-0,56	0,03	-0,06	0,83
PCR-us – Gtr	0,45	0,04	-0,36	0,09
PCR-us – GAb	0,47	0,03	-0,22	0,33

r = Coeficiente de correlação, obtido por meio de teste de correlação de *Pearson* ou correspondente *Spearman*. MDA-HAE: malondialdeído + HAE: 4-hidroquinalqueno; PC: perímetro da cintura; CAT: capacidade antioxidante total do plasma; PCR-us: proteína C-reativa ultra-sensível; Gtr: gordura na região do tronco; GAb: gordura na região abdominal

7.3.6 Efeito da ordem sobre parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos

A ordem de aplicação dos tratamentos influenciou alguns dos parâmetros avaliados (**Tabela 16**). Para as participantes submetidas à ordem 1 (RC-RCRH), verificou-se aumento significativo de gordura na região do tronco ($0,620 \pm 2,72$; $P=0,04$) e da PAS ($2,54 \pm 15,30$ mmHg; $P=0,04$). Para as participantes que iniciaram o estudo com a intervenção contendo RH (ordem 2 – RCRH-RC), observou-se redução significativa de gordura na região glútea ($-0,118 \pm 0,40$ g; $P=0,002$), do perímetro da cintura ($-2,42 \pm 3,36$ cm; $P=0,01$), e aumento significativo de HDL-c ($0,07 \pm 0,16$ mmol/L; $P=0,04$).

Tabela 16 – Efeito da ordem sobre parâmetros clínico-antropométricos e metabólicos

Parâmetros	Ordem RC-RCRH		Ordem RCRH-RC	
	Diferença	<i>P</i>	Diferença	<i>P</i>
GTr (g)	$0,620 \pm 2,72$	0,04	0,547	0,62
GGin (g)	$-0,137 \pm 0,23$	0,27	$-0,118 \pm 0,40$	0,002
PC (cm)	$-1,25 \pm 1,77$	0,94	$-2,42 \pm 3,36$	0,01
PAS (mmHg)	$2,54 \pm 15,30$	0,04	$1,18 \pm 21,39$	0,71
HDL-c (mmol/L)	$0,03 \pm 0,14$	0,64	$0,07 \pm 0,16$	0,04

Comparação do Δ das alterações entre as duas intervenções por meio do test t de *Student*, GTr: Gordura região do tronco; GGin: gordura região glúteo-femoral; PC: perímetro da cintura; PAS: pressão arterial sistólica; HDL-c: *high-density lipoprotein*; MDA: malondialdeído; HAE: 4-hidroquialqueno; LDL-c: *low-density lipoprotein*

7.4 DISCUSSÃO

No Brasil, dados populacionais evidenciam maior prevalência de obesidade para o gênero feminino (IBGE, 2010). Na região central do país os dados de prevalência de síndrome metabólica, em ambos os gêneros, são alarmantes (DUTRA *et al.*, 2012). Nesse estudo investigou-se o potencial de um substituto de refeição, à base de alimentos de origem vegetal, popularmente conhecido como Ração Humana (RH), em modular parâmetros de risco metabólico relacionados à obesidade, quando associado a uma dieta com leve restrição calórica e distribuição normal de macronutrientes.

As características sócio-demográficas das participantes do estudo mostraram perfil favorável à ocorrência de excesso de peso e comorbidades associadas. Estudos mostram que mulheres em idade reprodutiva apresentam risco elevado para o ganho de peso e obesidade (LEVINE *et al.*, 2007; LOMBARD *et al.*, 2009), sendo ainda maior para a faixa etária de 25 a 45 anos (LOMBARD *et al.*, 2009). Outro fator contribuinte está relacionado à paridade, pois o nascimento de um único filho aumenta o risco de desenvolvimento de excesso de peso por um período de dez anos quando comparado a nuliparidade (MADDAH; NIKOOYEH, 2009).

No Brasil, verificou-se que o nível educacional está inversamente relacionado à presença de síndrome metabólica (DUTRA *et al.*, 2012). A baixa escolaridade influencia negativamente a renda e essa, por sua vez, apresenta impacto negativo sobre as condições de saúde, educação e alimentação (JOLLIFFE, 2011), favorecendo o maior consumo de alimentos ricos em carboidratos e gorduras, seja pela falta de conhecimento ou por serem economicamente mais acessíveis. Além disso, o perfil de atividade física reduzido, observado no presente estudo, favorece a ocorrência do balanço energético positivo e contribui para o excesso de peso corporal e pode estar associado à ausência de tempo livre e recursos econômicos para a prática de atividades desportivas e de lazer (BALL; CRAWFORD, 2006).

Associado às características sócio-demográficas, observou-se no *baseline* alterações em marcadores séricos considerados fatores de risco metabólico. Valores alterados de HDL-c e perímetro da cintura são importantes fatores de risco para a SM (NCEP, 2007). Níveis de HDL-c abaixo do recomendado são também fatores de risco para doença cardiovascular, assim como valores elevados de LDL-c, PCR-us e pressão

arterial (MOSCA *et al.*, 2011). Os valores médios de MDA-HAE e CAT apresentados pelas participantes deste estudo não indicaram a ocorrência de estado de estresse oxidativo. Porém, observou-se a presença de inflamação crônica sub-clínica, evidenciada pelos valores elevados de PCR-us.

A intervenção nutricional utilizada no presente estudo incluiu duas estratégias amplamente empregadas para controlar o peso corporal, as quais são a restrição calórica e a substituição de alguma refeição por um produto com alegação funcional, para auxiliar na perda de peso.

A restrição calórica de 15% em relação ao EER resultou em déficit médio de 360 kcal/dia e ingestão média de $2048,57 \pm 168,95$ kcal/dia. A meta de perda de peso durante o estudo (11 semanas) era de 4 a 5%. Porém, as participantes apresentaram uma perda ponderal média de 1,9%, variando de 0,16 a 4,66%. Não foi observada diferença significativa entre o valor calórico prescrito e as calorias ingeridas. Porém, uma possível subestimação dos registros alimentares, comum entre indivíduos com excesso de peso (SCHOELLER; BANDINI; DIETZ, 1990; LICHTMAN *et al.*, 1992; JOHNSON, 2002; JOHNSON *et al.*, 2005; RAYMOND *et al.*, 2012), e observada para algumas participantes do estudo, pode ter contribuído para que a redução de peso corporal esperada não tenha sido alcançada.

Além disso, a restrição calórica aplicada pode ter sido insuficiente, visto que níveis mais severos de restrição estão relacionados a uma maior perda de peso corporal. Por exemplo, em estudo de intervenção utilizando substituto de refeição associado à dieta de 1200 calorias por dia, durante 12 semanas, a perda de peso esperada (4,2 kg), foi superada em 1,8 kg (METZNER; FOLBERTH-VOGELE *et al.*, 2011). Ainda, estudos que empregaram restrição calórica de 500 calorias por dia, em relação às necessidades calóricas, observaram perda de peso em torno de 3,6 a 4,9%, durante 12 semanas de intervenção com cereais integrais (KATCHER *et al.*, 2008; MAKI *et al.*, 2010). Em estudo *crossover* Rave *et al.* (2007) observaram perda de peso corporal de 2,56% em 4 semanas de intervenção com cereais integrais e dieta de 1700 kcal/dia, enquanto no presente estudo esperava-se uma perda de peso de 2 a 2,7% por período de intervenção (5 semanas) e o resultado alcançado foi de apenas 1,09%.

Entretanto, optou-se por uma leve restrição calórica por acreditar que uma intensa perda de peso corporal poderia mascarar os efeitos do produto RH e ainda, a restrição leve evita a desistência dos participantes, sendo também mais adequada para um período curto de *washout*. Além disso, restrições calóricas muito severas, têm sido

associadas ao aumento dos níveis de cortisol (TOMIYAMA *et al.*, 2010). Esse hormônio estimula o acúmulo de gordura na região central, favorecendo a ocorrência de síndrome metabólica e problemas clínicos associados, dentre eles a hipertensão arterial (ADAM; EPEL, 2007).

Ao final de cinco semanas, ambas as intervenções, restrição calórica leve sem RH e com RH, promoveram a diminuição de risco metabólico, reduzindo peso corporal, IMC e índice HOMA-IR. A redução de peso corporal, e conseqüentemente do IMC, pode ter contribuído para redução no índice HOMA-IR, e tais efeitos são atribuídos à restrição calórica aplicada. Entretanto, a ingestão de RH associada à ingestão de dieta hipocalórica foi necessária para que a redução dos depósitos de gordura na região glúteo-femoral e dos níveis de insulina ocorresse.

Sabe-se que o perímetro da cintura correlaciona-se positivamente com os níveis de marcadores inflamatórios (ACKERMANN *et al.*, 2011) e de estresse oxidativo (FURUKAWA *et al.*, 2004). Portanto, a redução nesse parâmetro diminui o risco de complicações metabólicas e é considerado mais essencial que a perda de peso em si (TANKÓ *et al.*, 2005). Os efeitos da intervenção RCRH sobre a redução de gordura na região central, evidenciado pela redução no PC ($2,54 \pm 2,74$ cm vs, $-1,12 \pm 2,57$ cm), estão de acordo com os resultados verificados por Maki *et al.* (2010) que observaram efeito mais acentuado para intervenção com cereais integrais em relação ao consumo de cereais refinados associados à restrição calórica ($3,3 \pm 0,4$ cm vs, $1,9 \pm 0,4$ cm). Ao contrário, no estudo de Katcher *et al.* (2008) o grupo que recebeu cereais integrais e o grupo controle apresentaram redução similar, tanto para peso corporal quanto para o perímetro da cintura. Tais resultados foram atribuídos à restrição calórica de 500 calorias ao dia. Porém, foi observada redução mais acentuada no percentual de gordura abdominal para o grupo que recebeu cereais integrais.

As alterações na distribuição de gordura corporal podem ter contribuído para a redução nos níveis de insulina, visto que, a obesidade abdominal está associada a anormalidades no perfil glicídico e lipídico, e conseqüentemente à hiperinsulinemia e resistência à insulina, como observado por Abbasi *et al.*, (2012), que encontrou forte associação entre os níveis de insulinemia de jejum e o perímetro da cintura.

A intervenção RCRH aumentou os níveis de HDL-c em 6,6% ($0,08 \pm 0,15$ mmol/L), o que pode ser atribuído aos fitoquímicos presentes na RH. Mietus-Snyder *et al.* (2012) também observaram aumento nos níveis de HDL-c (6,2%) após consumo de barra rica em fibras, cujos efeitos foram atribuídos ao sinergismo entre os compostos

presentes. Os mecanismos pelos quais os compostos bioativos, com destaque para os polifenóis, exercem efeito positivo sobre os níveis de HDL-c não estão totalmente esclarecidos. Sugere-se que alguns compostos sejam capazes de aumentar a expressão de apolipoproteína A1, a principal proteína que compõe a HDL-c, favorecendo sua síntese (BABA *et al.*, 2007).

O efeito da RCRH sobre os níveis de HDL-c é metabolicamente favorável em mulheres com excesso de peso, pois trata-se de uma lipoproteína anti-aterogênica, com efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes (KHERA *et al.*, 2011), e importante fator determinante de peroxidação lipídica quando em níveis reduzidos (ZELZER *et al.*, 2011). Em estudo recente com a RH, utilizada como substituto do desejo, porém sem restrição calórica, observou-se redução dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis, LDL-c e colesterol total, mas não foram observadas alterações nos níveis de HDL-c (ROCHA *et al.*, 2012). Os efeitos somatórios da restrição calórica, da bioatividade dos fitoquímicos e qualidade de lipídios da RH podem explicar a alteração favorável na concentração de HDL-c das participantes.

Efeito negativo sobre o perfil de lipídios séricos foi observado para intervenção RC que resultou em elevação dos níveis de LDL-c em 8,6% ($0,23 \pm 0,43$ mmol/L) e também de colesterol total em 8,5% ($0,38 \pm 0,64$ mmol/L). Kristensen *et al.* (2012) comparando os efeitos da restrição calórica (déficit de ~300 kcal/dia) associada ao consumo de cereais verificaram aumento nos níveis de LDL-c e colesterol total (~5,5%) para o grupo que recebeu cereais refinados, e não observaram alterações para o grupo que consumiu cereais integrais. A divergência entre esses resultados pode ser explicada pela presença de fibras na RH e nos cereais integrais, cujo consumo resulta em efeitos benéficos sobre o metabolismo lipídico, por meio de mecanismos relacionados ao aumento da viscosidade, a fermentação colônica, com resultante produção de ácidos graxos de cadeia curta, e redução da absorção de colesterol intestinal (GALISTEO; DUARTE; ZARZUELO, 2008).

Ressalta-se que no presente estudo o plano alimentar foi elaborado respeitando-se as recomendações para ingestão de gordura total e colesterol. As participantes receberam orientações verbais e por escrito para norteá-las quanto às suas escolhas alimentares respeitando as porções propostas. Porém, trata-se de um estudo com voluntárias de vida livre, o que dificulta o controle total sobre a ingestão alimentar, e pode ter refletido negativamente sobre os níveis de LDL-c e colesterol total durante a intervenção RC, sugerindo que os fitonutrientes presentes na RH contribuíram para um

perfil sérico de lipídios mais favorável. Ambas as intervenções não resultaram em efeito sobre os níveis de triacilgliceróis.

Além do efeito negativo sobre os níveis de LDL-c e colesterol total, a intervenção RC promoveu também aumento da pressão arterial sistólica ($6,18 \pm 12,35$ mmHg). Porém elevações na pressão arterial podem ser decorrentes de outros fatores, como por exemplo, estresse emocional (LOURES *et al.*, 2002). Assim, esse aumento pode estar relacionado ao aumento dos níveis de cortisol, ainda que em restrição calórica leve, em resposta a emoções negativas por privação e modificações do hábito alimentar (FRENCH; JEFFERY, 1994; CHAPUT; DOUCET; TREMBLAY, 2012).

Apesar da comprovação de que a RH é um alimento com elevada capacidade antioxidante, fonte de micronutrientes e de compostos bioativos importantes para manutenção do equilíbrio redox, a intervenção RCRH não alterou nenhum dos parâmetros relacionados ao estresse oxidativo. Estudos mostram que o efeito nulo sobre a peroxidação lipídica pode ser devido ao estado de estresse oxidativo prévio e não pela falta de atividade antioxidante da intervenção (THOMPSON, HENRY J. *et al.*, 2005; THOMPSON, HENRY J *et al.*, 2005). Tal fato pode explicar a ausência de efeito da intervenção RCRH sobre a peroxidação lipídica, visto que, os valores de MDA-HAE encontrados ($0,6$ a $1 \mu\text{M}$) estão inferiores, por exemplo, ao valor de referência descrito por DIAZ *et al.*, (1998) que recomenda como adequados os valores inferiores à $1,33 \mu\text{M}$.

Dois outros aspectos devem ser considerados. Primeiro, é que existem evidências de que os biomarcadores de estresse oxidativo podem estar mais elevados em períodos pós-prandiais, podendo estar reduzidos no período de jejum (LABAYEN *et al.*, 2004; PRIOR *et al.*, 2007; RAMÍREZ-VÉLEZ, 2011). Segundo, há sugestões de que os bioativos com potencial antioxidante podem de fato, exercer estímulos pró-oxidantes benéficos ao organismo, induzindo a expressão de genes relacionados à otimização de mecanismos antioxidantes endógenos (EVANS; HIRSCH; DUSHENKOV, 2006; HSU; HUANG; YEN, 2006; OHARA *et al.*, 2009). Isso indica que, dentro de limites fisiológicos ajustáveis, concentrações mais elevadas de marcadores de estresse oxidativo nem sempre devem ser interpretados como prejudiciais ao organismo, pois podem ser úteis no sentido de estimular as defesas antioxidantes das células (HALLIWELL, 2012).

Entretanto, a peroxidação de lipídios foi modulada pela intervenção RC, a qual reduziu significativamente os valores de MDA-HAE ($-0,36 \pm 0,47 \mu\text{M}$). A diminuição de

MDA-HAE na intervenção RC representou um ponto positivo, uma vez que o malondialdeído e o 4-hidroxiacetonilqueno são importantes produtos de peroxidação lipídica relacionados à indução de câncer, estando o primeiro relacionado a efeitos mutagênicos e carcinogênicos, enquanto o HAE afeta vias de transdução de sinal (VALKO *et al.*, 2006). Porém, é difícil avaliar a dimensão do efeito, porque não há referências desses parâmetros para categorizar riscos e os níveis iniciais de MDA-HAE não estavam elevados.

Assim como em outros estudos em que se verificou associação positiva entre marcadores de estresse oxidativo e obesidade abdominal (FURUKAWA *et al.*, 2004; ROBERTS *et al.*, 2006; POU *et al.*, 2007; AMIRKHIZI *et al.*, 2010), no presente estudo observou-se que reduções no perímetro da cintura foram acompanhadas por diminuição dos níveis de MDA-HAE, em ambas as intervenções.

Embora o excesso de peso e adiposidade abdominal estejam associados à redução da CAT (AMIRKHIZI *et al.*, 2010; HERMSDORFF; PUCHAU *et al.*, 2011), a alimentação brasileira é bastante diversificada e rica em compostos bioativos (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Esse fato pode explicar os valores verificados para CAT superiores ao recomendado por DIAZ *et al.* (1998) (>1,35 mM) e acima dos valores verificados por Puchau *et al.* (2010) para indivíduos adultos eutróficos (1,13 e 1,11 mM), em ambas as intervenções. As intervenções não resultaram em alterações significativas para CAT durante o estudo. Assim, a ausência de efeito da intervenção RCRH sobre esse parâmetro pode ser atribuída à adequada CAT apresentada pela maioria das participantes antes da intervenção e também aos efeitos transitórios de compostos bioativos que podem não ser detectados em amostras de sangue coletadas em períodos de jejum, como sugerido por Heneman *et al.* (2007).

O percentual de participantes com níveis elevados de MDA-HAE foi reduzido em ambas as intervenções, enquanto que para a CAT o percentual de participantes com níveis inadequados permaneceu inalterado. A restrição calórica leve, associada à ingestão adequada de micronutrientes e fitoquímicos, funciona como um agente de hormese (efeito benéfico ao organismo em resposta a um estressor de baixa intensidade) (POLJSK, 2011), sendo capaz de promover redução do estresse oxidativo, pois promove um transporte de elétrons mais eficiente na cadeia respiratória mitocondrial, reduzindo a produção de espécies reativas de oxigênio (SOHAL; WEINDRUCH, 1996). Porém, mecanismos homeostáticos determinam a quantidade de atividade antioxidante permitida, por meio de mecanismos compensatórios (diminuição na taxa de síntese ou

absorção de antioxidantes), fazendo com que a capacidade antioxidante permaneça inalterada (POLJSÁK, 2011).

Além disso, as alterações na CAT do plasma foram positivamente associadas às alterações nos níveis de MDA-HAE na intervenção RC, o que corrobora a premissa de que, em níveis adequados, há um equilíbrio entre oxidantes e pró-oxidantes (ĎURAČKOVÁ; GVOZDJÁKOVÁ, 2008; HALLIWELL, 2012).

Com relação à inflamação crônica sub-clínica não houve alteração nos níveis de PCR-us, ferritina e contagem total de leucócitos. Os valores médios de PCR-us (3,8 a 4,9 mg/L) indicaram alto risco para doença cardiovascular ($> 3,0$ mg/L) (PEARSON *et al.*, 2003) e inflamação crônica subclínica ($> 2,2$ mg/L) (VISSER *et al.*, 1999) e foram superiores ao verificado em estudo com indivíduos eutróficos (0,8 mg/L) (PRÜLLER *et al.*, 2012) e inferiores aos valores observados por Katcher *et al.* (2008) em adultos obesos (~ 6 mg/L).

A PCR-us é um marcador sensível de inflamação sub-clínica em indivíduos com excesso de peso que frequentemente apresentam níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF-alfa que induzem a produção hepática de PCR (YUDKIN *et al.*, 2000; TRAYHURN; WOOD, 2004). Níveis elevados de PCR estão relacionados ao acúmulo de gordura visceral, à inflamação, resistência à insulina, síndrome metabólica e diabetes mellitus (POU *et al.*, 2007; GOWRI *et al.*, 2010), o que explica a correlação positiva observada entre as reduções nos níveis de PCR-us e reduções nos parâmetros de distribuição de gordura corporal, no presente estudo.

Sugere-se que a avaliação dos níveis de ferritina auxilie na análise precoce de candidatos para intervenção agressiva contra fatores de risco cardiovascular (GONZALEZ *et al.*, 2006). Isso porque esse reagente de fase aguda tem sua produção aumentada em macrófagos, hepatócitos e adipócitos, induzida por citocinas como a IL-1B e TNF- α , que estão em concentrações aumentadas em indivíduos com excesso de peso corporal (ROGERS, 1996). No presente estudo, apesar do excesso de peso corporal, os níveis de ferritina estiveram dentro da faixa descrita como valor de referência laboratorial.

Para a contagem total de leucócitos também verificou-se valores dentro da faixa de normalidade ($4,5 \times 10^3$ a 11×10^3 cel/mm³). Esse parâmetro tem sido investigado como mediador inflamatório na obesidade (PEARSON *et al.*, 2003; SHASTRI; PAUNIKAR; BAIG, 2012), sendo considerado como uma ferramenta simples, de baixo custo e de

considerável poder prognóstico para síndrome metabólica (SHASTRI; PAUNIKAR; BAIG, 2012).

A intervenção RCRH resultou em maior contribuição para redução do número de participantes em risco, visto que reduziu o percentual de portadoras de síndrome metabólica e de risco cardiovascular, enquanto que para a intervenção RC o percentual de ambos foi aumentado. O percentual de participantes com níveis alterados de MDA-HAE e de participantes em médio e alto risco para doença cardiovascular avaliado pelos níveis de PCR-us foi reduzido em ambas as intervenções.

A avaliação do efeito da ordem dos tratamentos permitiu observar que as participantes que iniciaram o estudo com a intervenção RC apresentaram aumento de gordura na região do tronco e da pressão arterial e redução nos níveis de MDA-HAE. Já aquelas que receberam primeiro a intervenção RCRH apresentaram redução de gordura ginóide, do perímetro da cintura e aumento significativo de HDL-c, efeitos já observados durante as cinco semanas de intervenção.

Esses resultados sugerem que a presença de alimentos fontes de compostos bioativos em estratégias para controle de peso corporal pode contribuir para melhores efeitos em fases iniciais de tratamento. O que representa grande valor clínico, pois indicam primeiro que durante um programa de perda de peso, podem ocorrer alterações fisiológicas desfavoráveis, com influências negativas sobre o risco metabólico e segundo, que a qualidade da dieta pode exercer efeitos importantes para auxiliar a resposta metabólica. Assim, há que se pensar em estratégias saudáveis para o tratamento da obesidade e sobrepeso, com enfoque não somente na redução de peso corporal em si, mas principalmente na modulação favorável de parâmetros de risco metabólico.

Ressalta-se que o período de uma semana de *washout* entre os dois tratamentos foi adequado, considerando que os parâmetros avaliados retornaram aos níveis basais antes de iniciar o período B de intervenção, exceto para os valores de glicemia de jejum que apresentaram ligeiro aumento. Acredita-se que esse aumento tenha sido ocasionado por outras causas não associadas à intervenção, uma vez que não houve diferença significativa comparando aos valores finais e na comparação entre os tratamentos.

A associação de restrição calórica associada à ingestão de alimentos fontes de fibra pode resultar em maiores benefícios na redução do estresse oxidativo, devido ao efeito das fibras solúveis sobre o aumento do *clearance* de LDL-c (ALLER *et al.*, 2004). Além das fibras, a RH contém ingredientes que possuem compostos bioativos (CBAs) com importante atividade antioxidante como os minerais selênio, zinco e

manganês (como co-fatores de antioxidantes), vitamina E (antioxidantes direto) (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008), além de fitonutrientes, como fitatos e compostos fenólicos (SANT'ANA *et al.*, 2000; LLORACH-ASUNCIÓN *et al.*, 2010; MORAES *et al.*, 2010; KHAN *et al.*, 2011).

Esses compostos podem levar a supressão da inflamação e favorecer expressão de genes relacionados à proteção antioxidante (EVANS; HIRSCH; DUSHENKOV, 2006; HSU; HUANG; YEN, 2006; OHARA *et al.*, 2009). Sabe-se que o fornecimento de vários antioxidantes em baixas concentrações é preferível em relação à suplementação em doses elevadas de um único antioxidante (THOMPSON, 1994; KOK; BREDA; MANSON, 2008), isso porque há o efeito do sinergismo (KOK; BREDA; MANSON, 2008).

Portanto, uma intervenção dietética que associe restrição calórica ao consumo de alimentos fontes de fibra e de nutrientes bioativos apresenta elevado potencial para redução de fatores de risco para DCNTs e adequação do peso corporal. Porém, observou-se na comparação entre os tratamentos que somente os efeitos da RCRH sobre a redução de gordura ginóide foram significativos. Embora não tenham sido estatisticamente significativos, avaliando o conjunto de efeitos e as propriedades funcionais da RH, considera-se favorável seu efeito sobre importantes variáveis de risco metabólico, associadas à resistência à insulina, síndrome metabólica e risco cardiovascular, ao promover redução de peso corporal e IMC conjuntamente à redução da adiposidade abdominal e glúteo-femoral e elevação dos níveis de HDL-c.

É difícil prever a ação dos CBAs *in vivo* devido a fatores que podem afetar sua atividade, indicando que a quantidade presente no alimento pode não ser suficiente para alcançar concentrações adequadas no plasma e tecidos-alvos após a metabolização (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008). A biodisponibilidade desses compostos pode ser reduzida por fatores como: complexidade da matriz alimentar, forma química, estrutura e quantidade de CBAs na dieta e na mucosa intestinal, bem como o tempo de trânsito intestinal, taxa de esvaziamento gástrico, metabolismo, grau de conjugação e ligação com proteínas de transporte no sangue e tecidos (JACOBS; TAPSELL, 2007).

Os efeitos dos compostos bioativos sobre os marcadores avaliados podem estar condicionados ao estado metabólico inicial das participantes e ainda a RH contém nutrientes capazes de exercer efeitos favoráveis sobre marcadores de risco metabólico.

7.5 CONCLUSÃO

O tratamento com RH associada à restrição calórica, por cinco semanas, foi mais efetivo que a restrição calórica sem RH somente quanto à redução de gordura na região glúteo-femoral. Entretanto, a RH modulou importantes fatores de risco associados à resistência à insulina, SM e risco cardiovascular, pois além do peso corporal e IMC promoveu redução também do perímetro da cintura e contribuiu para elevação dos níveis de HDL-c.

Assim, considera-se que a RH pode ser um importante coadjuvante durante o tratamento para redução de peso corporal por suas propriedades funcionais em modular fatores de risco relacionados às doenças crônicas não transmissíveis.

8. REFERÊNCIAS

- ABALLAY, L. R., *et al.* Overweight and obesity: Prevalence and their association with some social characteristics in a random sample population-based study in Córdoba city, Argentina. **Obesity Research & Clinical Practice**, v.3, n.2, p.75-83. 2009.
- ABBASI, F., *et al.* Body mass index and waist circumference associate to a comparable degree with insulin resistance and related metabolic abnormalities in South Asian women and men. **Diabetes and Vascular Disease Research**, January 25, 2012. 2012.
- ABETE, I., *et al.* Different dietary strategies for weight loss in obesity: role of energy and macronutrient content. **Nutrition Research Reviews**, v.19, n.1, p.5-17. 2006.
- ACKERMANN, D., *et al.* Waist circumference is positively correlated with markers of inflammation and negatively with adiponectin in women with metabolic syndrome. **Nutrition Research**, v.31, n.3, p.197-204. 2011.
- ADAM, T. C. e EPEL, E. S. Stress, eating and the reward system. **Physiology & Behavior**, v.91, n.4, p.449-458. 2007.
- ADAMS, E. J., *et al.* Food Insecurity Is Associated with Increased Risk of Obesity in California Women. **Journal of Nutrition**, v.133, n.4, p.1070-1074. 2003.
- ALBERTI, K. G. M. M., *et al.* Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v.120, n.16, p.1640-1645. 2009.
- ALLER, R., *et al.* Effect of soluble fiber intake in lipid and glucose levels in healthy subjects: a randomized clinical trial. **Diabetes research and clinical practice**, v.65, n.1, p.7-11. 2004.
- ALLISON, D. B., *et al.* A novel soy-based meal replacement formula for weight loss among obese individuals: a randomized controlled clinical trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.57, n.4, p.514-522. 2003.
- ALMEIDA, G. A. N. D., *et al.* Percepção de tamanho e forma corporal de mulheres: estudo exploratório. **Psicologia em Estudo**, v.10, p.27-35. 2005.
- ALVAREZ-JUBETE, L., *et al.* Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. **Food Chemistry**, v.119, n.2, p.770-778. 2010.
- AMIRKHIZI, F., *et al.* Evaluation of oxidative stress and total antioxidant capacity in women with general and abdominal adiposity. **Obesity Research & Clinical Practice**, v.4, n.3, p.209-216. 2010.
- ANDERSSON, A., *et al.* Whole-Grain Foods Do Not Affect Insulin Sensitivity or Markers of Lipid Peroxidation and Inflammation in Healthy, Moderately Overweight Subjects. **The Journal of Nutrition**, v.137, n.6, p.1401-1407. 2007.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC International.** Gaithersburg, MD, USA,: Association of Analytical Communities. 2002

ASHLEY, J., *et al.* Nutrient adequacy during weight loss interventions: a randomized study in women comparing the dietary intake in a meal replacement group with a traditional food group. **Nutrition Journal**, v.6, n.1, p.12. 2007.

AZARBAD, L. e GONDER-FREDERICK, L. Obesity in Women. **Psychiatric Clinics of North America**, v.33, n.2, p.423-440. 2010.

BABA, S., *et al.* Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.85, n.3, March 2007, p.709-717. 2007.

BABIO, N., *et al.* Dietary fibre: influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile. **Nutrición Hospitalaria**, v.25, n.3, p.327-340. 2010.

BALL, K. e CRAWFORD, D. Socio-economic factors in obesity: a case of slim chance in a fat world? . **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.15, n.1, p.15-20. 2006.

BASTARD, J. P., *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European Cytokine Network** v.17, n.1, p.4-12. 2006.

BASTOS, D. H. M., *et al.* Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia & Metabolismo**, v.53, p.646-656. 2009.

BAZZANO, L. A., *et al.* Dietary intake of whole and refined grain breakfast cereals and weight gain in men. **Obesity Research & Clinical Practice**, v.13, n.11, p.1952-1960. 2005.

BHATNAGAR, M. K., *et al.* Assessment of insulin resistance using surrogate markers in patients of metabolic syndrome. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v.In Press, Corrected Proof. 2010.

BIRKETVEDT, G., *et al.* Long-term effect of fibre supplement and reduced energy intake on body weight and blood lipids in overweight subjects. **Acta Medica (Hradec Kralove)**, v.43, n.4. 2000.

BLOCK, G., *et al.* The effect of vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress depends on baseline level. **Free Radical Biology and Medicine**, v.45, n.4, p.377-384. 2008.

BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v.181, n.4617, p.1199-1200. 1958.

BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. **Methods in Enzymology**. LESTER, P.: Academic Press. 335: 3-14 p. 2001.

BOEING, H., *et al.* Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. **European Journal of Nutrition**, v. DOI: 10.1007/s00394-012-0380-y, p.1-27. 2012.

BONDIA-PONS, I., *et al.* Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v.Epub ahead of print, p.1-11. 2012.

BRAGA, E. D. O. e MENDONÇA, L. G. Discussão do uso racional da Ração Humana, com enfoque para seus principais constituintes: linhaça e quinoa. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.2, n.1, p.32-43. 2010.

BRASIL. Alimentos regionais brasileiros. **Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição**. 2002.

_____. RDC No- 27, DE 6 DE AGOSTO. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. ANVISA. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 16 de jan, 1998.** , v.Seção 1. nº 11-E. p.1-3. 1998.

BRIGHENTI, F., *et al.* Total antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. **British Journal of Nutrition**, v.93. 2005.

BROWNLEE, I. A., *et al.* Markers of cardiovascular risk are not changed by increased whole-grain intake: the WHOLEheart study, a randomised, controlled dietary intervention. **British Journal of Nutrition**, v.104, n.1, p.125-134. 2010.

BROWNLEE, M. The Pathobiology of Diabetic Complications. **Diabetes**, v.54, n.6, June 1, 2005, p.1615-1625. 2005.

BRZEZINSKI, A. e DEBI, A. Phytoestrogens: the “natural” selective estrogen receptor modulators? **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v.85, n.1, p.47-51. 1999.

BURNS, R. E. Method for Estimation of Tannin in Grain Sorghum 1. **Agronomy Journal**, v.63, n.3, p.511-512. 1971.

CARRATÙ, B. e SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. **Ann Istituto Superiore di Sanità**, v.41, n.1. 2005.

CARVALHO, M. H. C. D., *et al.* Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.50, p.304-312. 2006.

CDC. CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Can eating fruits and vegetables help people to manage their weight? **Research to practice series**, nº 1 2005.

CERCATO, C., *et al.* Systemic hypertension, diabetes mellitus, and dyslipidemia in relation to body mass index: evaluation of a Brazilian population. **Revista do Hospital das Clínicas**, v.59, p.113-118. 2004.

CERIELLO, A. e MOTZ, E. 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, May 1, 2004, p.816-823. 2004.

CHAPUT, J. P., *et al.* Obesity: a disease or a biological adaptation? An update. **Obesity Reviews**, p.no-no. 2012.

CHEN, P. R., *et al.* Dietary sesame reduces serum cholesterol and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolemia. **Nutrition Research**, v.25, n.6, p.559-567. 2005.

CHO, A.-S., *et al.* Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.3, p.937-943. 2010.

CHUNG, H. Y., *et al.* Molecular inflammation: Underpinnings of aging and age-related diseases. **Ageing Research Reviews**, v.8, n.1, p.18-30. 2009.

CROZIER, A., *et al.* **Secondary Metabolites in Fruits, Vegetables, Beverages and Other Plant-based Dietary Components**: Blackwell Publishing Ltd. 2007. 208-302 p. (Plant Secondary Metabolites)

CRUJEIRAS, A. B., *et al.* Differential Expression of Oxidative Stress and Inflammation Related Genes in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Response to a Low-Calorie Diet: A Nutrigenomics Study. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v.12, n.4, p.251-261. 2008.

_____. A role for fruit content in energy-restricted diets in improving antioxidant status in obese women during weight loss. **Nutrition**, v.22, n.6, p.593-599. 2006.

CUNNANE, S. C., *et al.* High alpha-linolenic acid flaxseed (*Linum usitatissimum*): some nutritional properties in humans. **British Journal of Nutrition**, v.69, n.2, p.443-53. 1993.

D'ARCHIVIO, M., *et al.* Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress development. **European Journal of Clinical Investigation**, v.42, n.1, p.70-78. 2012.

DAMBAL, S. S., *et al.* Role Of Oxidative Stress In Obesity With An Insight Into Type II Diabetes Mellitus. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.5, n.1, p.52-54. 2011.

DAUN, J. K., *et al.* Structure, Composition, and Variety Development of Flaxseed. In: HOMPSON, L. U. e CUNNANE, S. C. (Ed.). **Flaxseed in Human Nutrition**, 2003. Structure, Composition, and Variety Development of Flaxseed, p.1-40

DE SOUZA, R. J., *et al.* Effects of 4 weight-loss diets differing in fat, protein, and carbohydrate on fat mass, lean mass, visceral adipose tissue, and hepatic fat: results from the POUNDS LOST trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.95, n.3, March 1, 2012, p.614-625. 2012.

DECKER, E. A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, n.6, p.241-248. 1998.

DEFRONZO, R. A. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. **International Journal of Clinical Practice**, v.143, p.9-21. 2004.

DIAZ, J., *et al.* Reference Intervals for Four Biochemistry Analytes in Plasma for Evaluating Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in Human Plasma. **Clinical Chemistry**, v.44, n.10, p.2215-2217. 1998.

ĎURAČKOVÁ, Z. e GVOZDJÁKOVÁ, A. Oxidants, Antioxidants and Oxidative Stress **Mitochondrial Medicine**. GVOZDJÁKOVÁ, A.: Springer Netherlands: 19-54 p. 2008.

DUTRA, E. S., *et al.* Metabolic syndrome in central Brazil: prevalence and correlates in the adult population. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v.4, n.1, p.20. 2012.

ELLIS, R. e MORRIS, R. Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chromatography. **Cereal Chemistry**, v.63, n.1, p.58-59. 1986.

EMBRAPA. Catálogo brasileiro de hortaliças. **Embrapa Hortaliças**. 2010.

ENES, B. N. **Efeito de uma mistura de cereais, sementes e grãos (“Ração Humana”) no estado nutricional de ferro e zinco, na composição corporal e na saúde óssea.** (Dissertação - Mestrado em Ciência da Nutrição). Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012. 132 p.

ENRIGHT, L. e SLAVIN, J. No effect of 14 day consumption of whole grain diet compared to refined grain diet on antioxidant measures in healthy, young subjects: a pilot study. **Nutrition Journal**, v.9, n.1, p.12. 2010.

ESPÍN, J. C., *et al.* Nutraceuticals: Facts and fiction. **Phytochemistry**, v.68, n.22–24, p.2986-3008. 2007.

EVANS, D. A., *et al.* Phenolics, inflammation and nutrigenomics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, n.15, p.2503-2509. 2006.

- FARDET, A., *et al.* Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? **Journal of cereal science**, v.48, n.2, p.258-276. 2008.
- FETT, C. A., *et al.* Estilo de vida e fatores de risco associados ao aumento da gordura corporal de mulheres. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15, p.131-140. 2010.
- FORD, E. S. e GILES, W. H. A Comparison of the Prevalence of the Metabolic Syndrome Using Two Proposed Definitions. **Diabetes Care**, v.26, n.3, March 1, 2003, p.575-581. 2003.
- FORD, E. S., *et al.* Prevalence of the Metabolic Syndrome Among US Adults: Findings From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Journal of the American Medical Association**, v.287, n.3, January 16, 2002, p.356-359. 2002.
- FRARY, C. D. e JOHNSON, R. K. Energia In: MAHAN, L. K. e ESCOTT-STUMP, S. K. (Ed.). **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo: Rocca, 2005. Energia p.20-34
- FRENCH, S. A. e JEFFERY, R. W. Consequences of dieting to lose weight: Effects on physical and mental health. **Health Psychology**, v.13, n.3, p.195-212. 1994.
- FUNG, T. T., *et al.* Whole-grain intake and the risk of type 2 diabetes: a prospective study in men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, n.3, September 1, 2002, p.535-540. 2002.
- FURLAN-VIEBIG, R. e PASTOR-VALERO, M. Development of a food frequency questionnaire to study diet and non-communicable diseases in adult population. **Revista de Saúde Pública** v.38, n.4, p.481. 2004.
- FURUKAWA, S., *et al.* Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v.114, n.12, p.1752-1761. 2004.
- GAILLET, S., *et al.* Dietary antioxidants: from micronutrients and phytochemicals to enzymes – preventive effects on early atherosclerosis and obesity. In: LUSHCHAK, D. V. (Ed.). **Oxidative Stress – Environmental Induction and Dietary Antioxidants 2012**. Dietary antioxidants: from micronutrients and phytochemicals to enzymes – preventive effects on early atherosclerosis and obesity, p.323
- GALISTEO, M., *et al.* Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.19, n.2, p.71-84. 2008.
- GOMES, J. C. e OLIVEIRA, G. F. Fotometria de Chama e Espectrofotometria de Absorção Atômica. In: GOMES, J. C. e OLIVEIRA, G. F. (Ed.). **Análises físico-químicas de alimentos**. Viçosa: Editora UFV, 2011. Fotometria de Chama e Espectrofotometria de Absorção Atômica, p.244

- GOÑI, I. e SERRANO, J. The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, n.11, p.1877-1881. 2005.
- GONZALEZ, A. S., *et al.* Metabolic syndrome, insulin resistance and the inflammation markers C-reactive protein and ferritin. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.60, n.6, p.802-809. 2006.
- GOWRI, V., *et al.* High-sensitivity C-reactive protein is a marker of obesity and not of polycystic ovary syndrome per se. **Fertility and Sterility**, v.In Press, Corrected Proof. 2010.
- GRACIA, C. R., *et al.* Defining menopause status: creation of a new definition to identify the early changes of the menopausal transition. **Menopause**, v.12, n.2, p.128-135. 2005.
- GRAF, E. e EATON, J. W. Dietary suppression of colonic cancer. Fiber or phytate? **Cancer**, v.15, n.56, p.717-718. 1985.
- GRUNDY, S. M. The Metabolic Syndrome Atlas of Atherosclerosis and Metabolic Syndrome. In: GRUNDY, S. M. (Ed.): Springer New York, 2011. The Metabolic Syndrome Atlas of Atherosclerosis and Metabolic Syndrome, p.1-26
- GU, L., *et al.* Procyanidin and Catechin Contents and Antioxidant Capacity of Cocoa and Chocolate Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.11, 2006/05/01, p.4057-4061. 2006.
- GUINAZE, M., *et al.* Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v.32, p.2098-2103. 2009.
- HAFFNER, S. e TAEGTMEYER, H. Epidemic Obesity and the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v.108, n.13, September 30, 2003, p.1541-1545. 2003.
- HALLIWELL, B. The antioxidant paradox: less paradoxical now? **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.[Epub ahead of print]. 2012.
- HAMEDANI, A., *et al.* Reduced energy intake at breakfast is not compensated for at lunch if a high-insoluble-fiber cereal replaces a low-fiber cereal. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.89, n.5, May 1, 2009, p.1343-1349. 2009.
- HARRISON, D. G. Oxidative Stress and Vascular Inflammation. In: (Ed.). **Inflammatory Diseases of Blood Vessels**: Wiley-Blackwell, 2012. Oxidative Stress and Vascular Inflammation, p.94-104
- HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondarymetabolism. **Phytochemistry**, v.68, p.2831-2846. 2007.
- HEISS, C., *et al.* Sustained increase in flow-mediated dilation after daily intake of high-flavanol cocoa drink over 1 week. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.49, n.2, p.74-80. 2007.

HENEMAN, K. M., *et al.* Soy protein with and without isoflavones fails to substantially increase postprandial antioxidant capacity. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, n.1, p.46-53. 2007.

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.

_____. A legume-based hypocaloric diet reduces proinflammatory status and improves metabolic features in overweight/obese subjects. **European Journal of Nutrition**, v.50, n.1, p.61-69. 2011.

_____. A legume-based hypocaloric diet reduces proinflammatory status and improves metabolic features in overweight/obese subjects. **European Journal of Nutrition**, v.50, n.1, p.61-69. 2011.

HILTUNEN, L. A. Are there associations between coffee consumption and glucose tolerance in elderly subjects? **European Journal of Clinical Nutrition**, v.60, n.10, p.1222-1225. 2006.

HOLST, B. e WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. **Current Opinion in Biotechnology - Elsevier**, v.19, n.2, p.73-82. 2008.

HOTAMISLIGIL, G. S. ER stress, chronic inflammation, and metabolic disease **Falk Symposium**, v.181, p.32. 2012.

HOTAMISLIGIL, G. S., *et al.* Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v.259, n.87, p.87-91. 1993.

HSU, C.-L., *et al.* Inhibitory Effect of Phenolic Acids on the Proliferation of 3T3-L1 Preadipocytes in Relation to Their Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.12, p.4191-4197. 2006.

_____. Gallic Acid Induces Apoptosis in 3T3-L1 Pre-adipocytes via a Fas- and Mitochondrial-Mediated Pathway. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.18, p.7359-7365. 2007.

_____. Phenolic Compounds Rutin and o-Coumaric Acid Ameliorate Obesity Induced by High-Fat Diet in Rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.2, p.425-431. 2009.

HSU, C.-L. e YEN, G.-C. Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. **British Journal of Nutrition** v.98 n.4, p.727-735. 2007.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa de orçamento familiar (POF) - 2008-2009. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. **Disponível em:**

http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=1699 2010.

IOM. INSTITUTE OF MEDICINE. Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes: energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. **Washington, DC: National Academy**, p.1357. 2005.

ISAKSSON, H., *et al.* Whole grain rye breakfast — Sustained satiety during three weeks of regular consumption. **Physiology & Behavior**, v.105, n.3, p.877-884. 2012.

JACOBS, D. R. e TAPSELL, L. C. Food, Not Nutrients, Is the Fundamental Unit in Nutrition. **Nutrition Reviews**, v.65, n.10, p.439-450. 2007.

JACOBS, D. R. J. e GALLAHER, D. D. Whole grain intake and cardiovascular disease: a review. **Curr Atheroscler Re**, v.6, n.6, p.415-423. 2004.

JANG, Y., *et al.* Consumption of Whole Grain and Legume Powder Reduces Insulin Demand, Lipid Peroxidation, and Plasma Homocysteine Concentrations in Patients With Coronary Artery Disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.21, n.12, December 1, 2001, p.2065-2071. 2001.

JELLIFE, D. B. The assessment of the nutritional status of the community (with special reference to field surveys in developing regions of the world). **Monograph Series of the World Health Organization**, v.3, n.53, p.256-71. 1966.

JOHNSON, R. K. Dietary Intake[mdash]How Do We Measure What People Are Really Eating? **Obesity**, v.10, n.s11, p.63S-68S. 2002.

JOHNSON, R. K., *et al.* Participation in a behavioral weight-loss program worsens the prevalence and severity of underreporting among obese and overweight women. **Journal of the American Dietetic Association**, v.105, n.12, p.1948-1951. 2005.

JOLLIFFE, D. Overweight and poor? On the relationship between income and the body mass index. **Economics & Human Biology**, v.9, n.4, p.342-355. 2011.

JOSHI, R., *et al.* Free radical reactions and antioxidant activities of sesamol: pulse radiolytic and biochemical studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.2696-2703. 2005.

JUNTUNEN, K. S., *et al.* High-fiber rye bread and insulin secretion and sensitivity in healthy postmenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, n.2, February 1, 2003, p.385-391. 2003.

KASOTE, D. M., *et al.* Antioxidant Activity of Phenolic Components from n-Butanol Fraction (PC-BF) of Defatted Flaxseed Meal. **American Journal of Food Technology**, v.6, n.7, p.604-612. 2011.

KATCHER, H. I., *et al.* The effects of a whole grain–enriched hypocaloric diet on cardiovascular disease risk factors in men and women with metabolic syndrome. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.87, n.1, January 1, 2008, p.79-90. 2008.

KEOGH, J. B. e CLIFTON, P. M. The role of meal replacements in obesity treatment. **Obesity Reviews**, v.6, n.3, p.229-234. 2005.

KHAN, N., *et al.* Regular consumption of cocoa powder with milk increases HDL cholesterol and reduces oxidized LDL levels in subjects at high-risk of cardiovascular disease. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v.x, n.0, p.1-10. 2011.

KHERA, A. V., *et al.* Cholesterol Efflux Capacity, High-Density Lipoprotein Function, and Atherosclerosis. **New England Journal of Medicine**, v.364, n.2, p.127-135. 2011.

KHOURY, D. E., *et al.* Beta Glucan: Health Benefits in Obesity and Metabolic Syndrome. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v.2012, p.1-28. 2012.

KIRK, H., *et al.* Botanicals as epigenetic modulators for mechanisms contributing to development of metabolic syndrome. **Metabolism**, v.57, Supplement 1, n.0, p.S16-S23. 2008.

KOH-BANERJEE, P. e B., R. E. Whole grain consumption and weight gain: a review of the epidemiological evidence, potential mechanisms and opportunities for future research. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.62, n.01, p.25-29. 2003.

KOH-BANERJEE, P., *et al.* Changes in whole-grain, bran, and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, n.5, November 1, 2004, p.1237-1245. 2004.

KOK, T. M. D., *et al.* Mechanisms of combined action of different chemopreventive dietary compounds. **European Journal of Nutrition**, v.47, n.2, p.51-59. 2008.

KRISTENSEN, M., *et al.* Wholegrain Compared with Refined Wheat Decreases the Percentage of Body Fat Following a 12-Week, Energy-Restricted Dietary Intervention in Postmenopausal Women. **The Journal of Nutrition**, April 1, 2012. 2012.

LAAKSONEN, D. E., *et al.* Dietary carbohydrate modification enhances insulin secretion in persons with the metabolic syndrome. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.82, n.6, December 1, 2005, p.1218-1227. 2005.

LABAYEN, I., *et al.* Basal and postprandial substrate oxidation rates in obese women receiving two test meals with different protein content. **Clinical Nutrition**, v.23, n.4, p.571-578. 2004.

LAHOZA, C. e MOSTAZA, J. Atherosclerosis as a systemic disease. **Revista Española de Cardiología**, v.60, p.184-95. 2007.

LAPOINTE, A., *et al.* Dietary intervention promoting high intakes of fruits and vegetables: Short-term effects on eating behaviors in overweight-obese postmenopausal women. **Eating Behaviors**, v.11, n.4, p.305-308. 2010.

LATTA, M. e ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, n.6, p.1313-1315. 1980.

LECHLEITNER, M., *et al.* Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors. **Journ of Internal Medicine**, v.248, n.1, p.67-76. 2000.

LEVINE, M. D., *et al.* Weight Gain Prevention among Women[ast]. **Obesity**, v.15, n.5, p.1267-1277. 2007.

LEY, C., *et al.* Sex- and menopause-associated changes in body-fat distribution. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.55, n.5, May 1, 1992, p.950-954. 1992.

LICHTMAN, S. W., *et al.* Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects. **The New England Journal of Medicine**, v.327, p.1893-1898. 1992.

LIEDTKE, S., *et al.* Postmenopausal Sex Hormones in Relation to Body Fat Distribution. **Obesity**, v.20, n.5, p.1088-95. 2012.

LIMA, É. S. e ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.37, n.3, set/dez, p.303. 2001.

LIU, S., *et al.* Dietary glycemic load assessed by food-frequency questionnaire in relation to plasma high-density-lipoprotein cholesterol and fasting plasma triacylglycerols in postmenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.3, March 1, 2001, p.560-566. 2001.

_____. A prospective study of whole-grain intake and risk of type 2 diabetes mellitus in US women. **American Journal of Public Health**, v.90, n.9, 2000/09/01, p.1409-1415. 2000.

LLORACH-ASUNCIÓN, R., *et al.* Methodological aspects for metabolome visualization and characterization: A metabolomic evaluation of the 24 h evolution of human urine after cocoa powder consumption. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.51, n.2, p.373-381. 2010.

LOHMAN, T. G., *et al.* Anthropometric standardization reference manual. **Champaign: Human Kinetics Pub**, v.24, n.8, p.952. 1998.

LOMBARD, C., *et al.* Preventing weight gain: the baseline weight related behaviors and delivery of a randomized controlled intervention in community based women. **BMC Public Health**, v.9, n.1, p.2. 2009.

LOURES, D. L., *et al.* Mental stress and cardiovascular system. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v.78, n.525-530. 2002.

- MA, Y., *et al.* Association between Carbohydrate Intake and Serum Lipids. **Journal of the American College of Nutrition**, v.25, n.2, April 2006, p.155-163. 2006.
- MACHADO, M. M. e NAVARRO, A. C. Suplementação dom "Ração Humana" e o perfil metabólico de mulheres praticantes de exercício físico com idades entre 58 a 71 anos. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva** v.4, n.19, p.59-68. 2010.
- MADDAH, M. e NIKOOYEH, B. Weight retention from early pregnancy to three years postpartum: a study in Iranian women. **Midwifery**, v.25, n.6, p.731-737. 2009.
- MAJHENIČ, L., *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. **Food Chemistry**, v.104, n.3, p.1258-1268. 2007.
- MAKI, K. C., *et al.* Whole-Grain Ready-to-Eat Oat Cereal, as Part of a Dietary Program for Weight Loss, Reduces Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Adults with Overweight and Obesity More than a Dietary Program Including Low-Fiber Control Foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v.110, n.2, p.205-214. 2010.
- MARTÍN, A. R., *et al.* Overweight and obesity: The role of education, employment and income in Spanish adults. **Appetite**, v.51, n.2, p.266-272. 2008.
- MATSUZAWA-NAGATA, N., *et al.* Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. **Metabolism**, v.57, n.8, p.1071-1077. 2008.
- MATTHEWS, D., *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v.28, n.7, p.412-419. 1985.
- MAXSON, E. D. e ROONEY, L. M. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. *Cereal Chem.*, v.49, p.719-729. 1972. **Cereal Chemistry** v.49, p.719-729. 1972.
- MCCORD, J. M. e EDEAS, M. A. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.59, n.4, p.139-142. 2005.
- MELANSON, K. J., *et al.* Consumption of Whole-Grain Cereals during Weight Loss: Effects on Dietary Quality, Dietary Fiber, Magnesium, Vitamin B-6, and Obesity. **Journal of the American Dietetic Association**, v.106, n.9, p.1380-1388. 2006.
- MERA, R., *et al.* How to calculate sample size for an experiment: a case-based description. **Nutritional Neuroscience**, v.1, n.1, p.87-91. 1998.
- METZNER, C., *et al.* Effect of a conventional energy-restricted modified diet with or without meal replacement on weight loss and cardiometabolic risk profile in overweight women. **Nutrition & Metabolism**, v.8, n.1, p.64. 2011.

_____. Effect of a conventional energy-restricted modified diet with or without meal replacement on weight loss and cardiometabolic risk profile in overweight women. **Nutrition & Metabolism**, v.8, n.1, p.1-9. 2011.

MIETUS-SNYDER, M. L., *et al.* A nutrient-dense, high-fiber, fruit-based supplement bar increases HDL cholesterol, particularly large HDL, lowers homocysteine, and raises glutathione in a 2-wk trial. **The FASEB Journal**, May 1, 2012. 2012.

MILLS, E., *et al.* Design, analysis, and presentation of crossover trials. **Trials**, v.10, n.1, p.1-6. 2009.

MIURA, K. e TORII, S. Diet, Nutrients, and the Prevention of Hypertension. **Current Nutrition Reports**, v.1, n.2, p.87-92. 2012.

MOLYNEUX, R. J., *et al.* Phytochemicals: The good, the bad and the ugly? **Phytochemistry**, v.68, n.22–24, p.2973-2985. 2007.

MORAES, É. A., *et al.* Protein and food qualities of brown faxseed whole four from the raw and heat-treated seeds **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.4, p.531-536. 2010.

_____. In vivo protein quality of new sorghum genotypes for human consumption. **Food Chemistry**, v.134, n.3, p.1549-1555. 2012.

MORRIS, D. H. e VAISEY-GENSER, M. Flaxseed. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**, v.10, n.2, p.2525-2531. 2003.

MOSCA, L., *et al.* Effectiveness-Based Guidelines for the Prevention of Cardiovascular Disease in Women—2011 Update. **Circulation**, February 14, 2011. 2011.

MUELLER-CUNNINGHAM, W. M., *et al.* An ad libitum, very low-fat diet results in weight loss and changes in nutrient intakes in postmenopausal women. **Journal of the American Dietetic Association**, v.103, n.12, p.1600-1606. 2003.

MYHRSTAD, M. C. W., *et al.* Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the γ -glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. **Free Radical Biology and Medicine**, v.32, n.5, p.386-393. 2002.

NA, H.-K. e SURH, Y.-J. Intracellular signaling network as a prime chemopreventive target of (–)-epigallocatechin gallate. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.50, n.2, p.152-159. 2006.

NACZK, M. e SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, n.5, p.1523-1542. 2006.

NAGAH, A. M. e SEAL, C. J. In vitro procedure to predict apparent antioxidant release from wholegrain foods measured using three different analytical methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, n.7, p.1177-1185. 2005.

NAGASAKA, R., *et al.* Anti-inflammatory effects of hydroxycinnamic acid derivatives. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.358, n.2, p.615-619. 2007.

_____. [gamma]-Oryzanol recovers mouse hypoadiponectinemia induced by animal fat ingestion. **Phytomedicine**, v.18, n.8-9, p.669-671. 2011.

NAGENDRA PRASAD, M. N., *et al.* Health Benefits of Rice Bran - A Review. **J Nutr Food Sci**, v.1, n.3, p.1-8. 2011.

NCEP, N. C. E. P. Adult Treatment Panel III. Lipid management of CAD. **Available at: <http://www.connecticare.com/Provider/Lipid-ManagementCAD.pdf>**. 2007.

NEVEU, V., *et al.* Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. **Database**, v.2010, January 1, 2010. 2010.

NORDBERG, J. e ARNÉR, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v.31, n.11, p.1287-1312. 2001.

OHARA, K., *et al.* Oral administration of [gamma]-aminobutyric acid and [gamma]-oryzanol prevents stress-induced hypoadiponectinemia. **Phytomedicine**, v.18, n.8-9, p.655-660. 2011.

_____. The effects of hydroxycinnamic acid derivatives on adiponectin secretion. **Phytomedicine**, v.16, n.2-3, p.130-137. 2009.

OLIVEIRA, V. B., *et al.* Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v.48, n.1, p.170-179. 2012.

PACCAUD, F., *et al.* Dyslipidemia and abdominal obesity: an assessment in three general populations. **Journal of clinical epidemiology**, v.53, n.4, p.393-400. 2000.

PADDON-JONES, D., *et al.* Protein, weight management, and satiety. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.87, n.5, May 1, 2008, p.1558S-1561S. 2008.

PAPATHANASOPOULOS, A. e CAMILLERI, M. Dietary Fiber Supplements: Effects in Obesity and Metabolic Syndrome and Relationship to Gastrointestinal Functions. **Gastroenterology**, v.138, n.1, p.65-72.e2. 2010.

PARDINI, R., *et al.* Validação do questionário internacional de nível de atividade física (IPAQ - versão 6): estudo piloto em adultos jovens brasileiros. **Ciência e Movimento** v.9, n.3, p.45-51. 2001.

PEARSON, T. A., *et al.* Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. **Circulation**, v.107, n.3, p.499-511. 2003.

PEREIRA, M. A., *et al.* Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.75, n.5, May 1, 2002, p.848-855. 2002.

PEREZ-JIMENEZ, J. e SAURA-CALIXTO, F. Literature Data May Underestimate the Actual Antioxidant Capacity of Cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.12, 2005/06/01, p.5036-5040. 2005.

PHILIPPI, S. T., *et al.* Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. **Revista de Nutrição**, v.12, n.1, p.65-80. 1999.

PHILLIPS, K. M., *et al.* Total Antioxidant Content of Alternatives to Refined Sugar. **Journal of the American Dietetic Association**, v.109, n.1, p.64-71. 2009.

PICKERING, T. G., *et al.* Recommendation for blood pressure measurement in humans and experimental animals. *Part 1*: Blood pressure measurement in humans. A statement for professionals from the subcommittee of professional and public education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. **Circulation**, v.45, p.142-161. 2005.

PINHEIRO, A. B. V., *et al.* **Tabela para Avaliação do Consumo Alimentar em Medidas Caseiras**. São Paulo: Atheneu. 2001

POLJSAK, B. Strategies for Reducing or Preventing the Generation of Oxidative Stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2011, p.15. 2011.

PORTARIA Nº 27, D. D. J. D. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 16 de jan, 1998** Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. 11: 1-3 p. 1998, 13 de jan.

POSSEMIERS, S., *et al.* The intestinal microbiome: A separate organ inside the body with the metabolic potential to influence the bioactivity of botanicals. **Fitoterapia**, v.82, n.1, p.53-66. 2011.

POU, K. M., *et al.* Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue Volumes Are Cross-Sectionally Related to Markers of Inflammation and Oxidative Stress. **Circulation**, v.116, n.11, p.1234-1241. 2007.

PRICE, M. L., *et al.* A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, n.5, p.1214-1218. 1978.

PRIOR, R. L., *et al.* Plasma Antioxidant Capacity Changes Following a Meal as a Measure of the Ability of a Food to Alter In Vivo Antioxidant Status. **Journal of the American College of Nutrition**, v.26, n.2, April 2007, p.170-181. 2007.

PRÜLLER, F., *et al.* Trunk weighted obesity, cholesterol levels and low grade inflammation are main determinants for enhanced thrombin generation. **Atherosclerosis**, v.220, n.1, p.215-218. 2012.

PUCHAU, B., *et al.* Dietary total antioxidant capacity is negatively associated with some metabolic syndrome features in healthy young adults. **Nutrition**, v.26, n.5, p.534-541. 2010.

QUETELET, A. *Physique sociale: ou, essai sur Le développement des facultés de l'homme.* Brussels, Belgium: C. Muquardt. 5: 358-363 p. 1869.

RAMÍREZ-VÉLEZ, R. Postprandial lipemia induces endothelial dysfunction and higher insulin resistance in healthy subjects. **Endocrinología y Nutrición (English Edition)**, v.58, n.10, p.529-535. 2011.

RANDLE, P. J., *et al.* The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet**, v.1, p.785-789. 1963.

RAVE, K., *et al.* Improvement of insulin resistance after diet with a whole-grain based dietary product: results of a randomized, controlled cross-over study in obese subjects with elevated fasting blood glucose. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.929-936. 2007.

RAYMOND, N. C., *et al.* Comparisons of Energy Intake and Energy Expenditure in Overweight and Obese Women With and Without Binge Eating Disorder. **Obesity**, v.20, n.4, p.765-772. 2012.

RAYNOR, H. A., *et al.* Dietary energy density and successful weight loss maintenance. **Eating Behaviors**, v.12, n.2, p.119-125. 2011.

REYNOLDS, T. The evolution of chemosystematics. **Phytochemistry**, v.68, n.22-24, p.2887-2895. 2007.

RHEE, Y. e BRUNT, A. Flaxseed supplementation improved insulin resistance in obese glucose intolerant people: a randomized crossover design. **Nutrition Journal**, v.10, n.1, p.44. 2011.

ROBERTS, C. K., *et al.* Effect of a short-term diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation, MMP-9, and monocyte chemotactic activity in men with metabolic syndrome factors. **Journal of Applied Physiology**, v.100, n.5, p.1657-1665. 2006.

ROCHA, J. L. M., *et al.* Human Ration does not alter weight and body composition, but improves the lipidic profile of overweight woman. **Nutrición Hospitalaria**, v.(no prelo) Artigo aceito para publicação. 2012.

ROGERS, J. Ferritin translation by interleukin-6: the role of sequences upstream of the start codons of the heavy and light subunit genes. **Blood**, v.87, n.6, March 15, 1996, p.2525-2537. 1996.

SAHYOUN, N. R., *et al.* Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.83, n.1, January 1, 2006, p.124-131. 2006.

SANT'ANA, L. F. D. R., *et al.* Valor Nutritivo e Fatores Antinutricionais de Multimisturas Utilizadas como Alternativa Alimentação. **Brazilian Journal Food Technology**, v.3, p.129-135. 2000.

SAURA-CALIXTO, F., *et al.* Contribution of cereals to dietary fibre and antioxidant intakes: Toward more reliable methodology. **Journal of cereal science**, v.50, n.2, p.291-294. 2009.

SAVAGE, D. B., *et al.* Disordered Lipid Metabolism and the Pathogenesis of Insulin Resistance. **Physiological Reviews**, v.87, n.2, April 1, 2007, p.507-520. 2007.

SBH. Sociedade Brasileira de Hipertensão, SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia, SBEM – Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, ABEO – Associação Brasileira para Estudos da Obesidade. I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. **Hipertensão**, v.7, n.4. 2004.

SCALBERT, A. e WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130, p.2073-2085. 2000.

SCHINELLA, G., *et al.* Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. **Food Research International**, v.43, n.6, p.1614-1623. 2010.

SCHOELLER, D. A., *et al.* Inaccuracies in self-reported intake identified by comparison with the doubly labelled water method. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.68, n.7, p.941-949. 1990.

SERRANO, J., *et al.* Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. **Food Research International**, v.40, n.1, p.15-21. 2007.

SHANNON, J., *et al.* Food and Botanical Groupings and Risk of Breast Cancer: A Case-Control Study in Shanghai, China. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v.14, n.1, January 1, 2005, p.81-90. 2005.

SHASTRI, N., *et al.* Association of obesity with total leucocyte count in patients of metabolic syndrome. **International Journal of Biological and Medical Research**, v.3, n.1, p.1399-1401. 2012.

SHI, H., *et al.* Sexual differences in the control of energy homeostasis. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.30, n.3, p.396-404. 2009.

SHOELSON, S. E., *et al.* Obesity, Inflammation, and Insulin Resistance. **Gastroenterology**, v.132, n.6, p.2169-2180. 2007.

SICHERI, R. e MOURA, E. C. D. Análise multinível das variações no índice de massa corporal entre adultos **Revista de Saúde Pública**, v.43, p.90-97. 2009.

SILVA, E. R., *et al.* Antioxidant capacity and chemical composition of whole grains of cream and black sesame. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.736-742. 2011.

SIMOPOULOS, A. P. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v.233, n.6, June 1, 2008, p.674-688. 2008.

SINGH, A., *et al.* Obesity and dyslipidemia. **International Journal of Biological and Medical Research**, v.2, n.3, p.824-828. 2011.

SINGLETON, V. L., *et al.* Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: LESTER, P. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, v. Volume 299, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, p.152-178

SLAVIN, J. L. Dietary fiber and body weight. **Nutrition** v.21, n.3, p.411-418. 2005.

SLAVIN, J. L., *et al.* Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, n.3, September 1, 1999, p.459S-463S. 1999.

SOHAL, R. S. e WEINDRUCH, R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. **Science**, v.273, n.5271, p.59-63. 1996.

SON, M. J., *et al.* Effect of Oryzanol and Ferulic Acid on the Glucose Metabolism of Mice Fed with a High-Fat Diet. **Journal of Food Science**, v.76, n.1, p.H7-H10. 2011.

SOSULSKI, F., *et al.* Free, Esterified, and Insoluble-Bound Phenolic-Acids. Composition of Phenolic-Acids in Cereal and Potato Flours. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, n.2, p.337-340. 1982.

STEFANOVIĆ, A., *et al.* The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v.79, n.1, p.156-163. 2008.

STUBBS, R. e KUSAL WICKREMESEKERA, S. Insulin Resistance in the Severely Obese and Links with Metabolic Co-morbidities. **Obesity Surgery**, v.12, n.3, p.343-348. 2002.

TAKINUTRI. <http://www.takinutri.com.br>. Acessado em: 28 de agosto 2010.

TANKÓ, L. B., *et al.* Enlarged Waist Combined With Elevated Triglycerides Is a Strong Predictor of Accelerated Atherogenesis and Related Cardiovascular Mortality in Postmenopausal Women. **Circulation**, v.111, n.15, April 19, 2005, p.1883-1890. 2005.

THOM, E. The Effect of Chlorogenic Acid Enriched Coffee on Glucose Absorption in Healthy Volunteers and Its Effect on Body Mass When Used Long-term in Overweight and Obese People. **The Journal of International Medical Research**, v.35, n.6, p.900-908. 2007.

THOMPSON, H. J. Vegetable and Fruit Intake and the Development of Cancer: A Brief Review and Analysis. In: WATSON, R. R. e PREEDY, V. R. (Ed.). **Bioactive Foods in**

Promoting Health: Fruits and Vegetables: British Library, 2010. Vegetable and Fruit Intake and the Development of Cancer: A Brief Review and Analysis, p.19-36

THOMPSON, H. J., *et al.* Dietary Botanical Diversity Affects the Reduction of Oxidative Biomarkers in Women due to High Vegetable and Fruit Intake. **The Journal of Nutrition**, v.136, n.8, p.2207-2212. 2006.

_____. In Vivo Investigation of Changes in Biomarkers of Oxidative Stress Induced by Plant Food Rich Diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.15, 2005/07/01, p.6126-6132. 2005.

_____. 8-Isoprostane F2 α excretion is reduced in women by increased vegetable and fruit intake. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.82, n.4, October 1, 2005, p.768-776. 2005.

THOMPSON, L. U. Antioxidants and hormone-mediated health benefits of whole grains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** v.34, n.5, p.473-497. 1994.

THOMPSON, M. D. e THOMPSON, H. J. **Botanical Diversity in Vegetable and Fruit Intake: Potential Health Benefits**. 2010 (Bioactive Foods in Promoting Health Fruits and Vegetables)

TIMMERS, S., *et al.* Calorie Restriction-like Effects of 30 Days of Resveratrol Supplementation on Energy Metabolism and Metabolic Profile in Obese Humans. **Cell Metabolism**, v.14, n.5, p.612-622. 2011.

TOMIYAMA, A. J., *et al.* Low Calorie Dieting Increases Cortisol. **Psychosomatic Medicine**, v.72, n.4, May 2010, p.357-364. 2010.

TOUYAROU, P., *et al.* Monotonous consumption of fibre-enriched bread at breakfast increases satiety and influences subsequent food intake. **Appetite**, v.58, n.2, p.575-581. 2012.

TRAYHURN, P. e WOOD, I. S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **British Journal of Nutrition**, v.92, n.03, p.347-355. 2004.

TRINIDAD, T. P., *et al.* The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre **British Journal of Nutrition**, v.103, p.569-574. 2010.

TURRENS, J. F. Superoxide Production by the Mitochondrial Respiratory Chain. **Bioscience Reports**, v.17, n.1, p.3-8. 1997.

USDA. Database for the Proanthocyanidin Content of Selected Foods. **U.S. Department of Agriculture**. 2004.

_____. Database for the Flavonoid Content of Selected Foods **U.S. Department of Agriculture** 2011.

VALKO, M., *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v.160, n.1, p.1-40. 2006.

VALTUENA, S., *et al.* Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation, and liver function without altering markers of oxidative stress. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.87, n.5, May 1, 2008, p.1290-1297. 2008.

VASSALLE, C., *et al.* Sex-related differences in association of oxidative stress status with coronary artery disease. **Fertility and Sterility**, v.97, n.2, p.414-419.e2. 2012.

VISSER, M., *et al.* Elevated C-Reactive Protein Levels in Overweight and Obese Adults. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v.282, n.22, p.2131-2135. 1999.

WARD, M., *et al.* Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. **QJM**, v.90, n.8, August 1, 1997, p.519-524. 1997.

WATERMAN, P. G. The current status of chemical systematics. **Phytochemistry**, v.68, n.22-24, p.2896-2903. 2007.

WEISBERG, S. P., *et al.* CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. **The Journal of Clinical Investigation**, v.116, n.1, p.115-124. 2006.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **WORLD HEALTH ORGANIZATION TECHNICAL REPORT SERIES**, v.894, p.1-253. 2000.

WHO, W. H. O. Obesity: preventing and managing the global epidemic. p.p.1-253. 2005.

_____. Obesity and overweight. **Fact Sheet 311. Geneva:WHO**, p.Updated March 2011. 2011.

WHO/FAO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. **WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Report, Geneva**, v.(WHO – Technical Report Series, n. 916). 2003.

WILDE, P. E. e PETERMAN, J. N. Individual Weight Change Is Associated with Household Food Security Status. **Journal of Nutrition**, v.136, n.5, May 1, 2006, p.1395-1400. 2006.

WILLIAMS, P. G., *et al.* Cereal grains, legumes, and weight management: a comprehensive review of the scientific evidence. **Nutrition Reviews**, v.66, n.4, p.171-182. 2008.

WILLIAMSON, G. e HOLST, B. Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction? **British Journal of Nutrition**, v.99, n.Supplements 3, p.S55-S58. 2008.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v.64, n.1, p.3-19. 2003.

_____. Plant secondary metabolism: Diversity, function and its evolution. **Natural Product Communications** v.3, p.1205–1216. 2008.

XIAO, C. W. Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. **The Journal of Nutrition**, v.138, n.6, June 2008, p.1244S-1249S. 2008.

YOGEV, Y. e CATALANO, P. M. Pregnancy and Obesity. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v.36, n.2, p.285-300. 2009.

YUDKIN, J. S., *et al.* Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? **Atherosclerosis**, v.148, n.2, p.209-214. 2000.

ZELLNER, D. A., *et al.* Food selection changes under stress. **Physiology & Behavior**, v.87, n.4, p.789-793. 2006.

ZELZER, S., *et al.* High density lipoprotein cholesterol level is a robust predictor of lipid peroxidation irrespective of gender, age, obesity, and inflammatory or metabolic biomarkers. **Clinica Chimica Acta**, v.412, n.15–16, p.1345-1349. 2011.

ZHANG, W., *et al.* Dietary flaxseed lignan extract lowers plasma cholesterol and glucose concentrations in hypercholesterolaemic subjects. **British Journal of Nutrition**, v.99, p.1301–1309. 2007.

ANEXOS

ANEXO A – Questionário Internacional de Atividade Física

ANEXO 5

Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Nutrição e Saúde

Questionário Internacional de Nível de Atividade Física
(IPAQ – versão 6)

Nome:

-

Data: ____/____/____

Idade : _____ Sexo: F () M ()

Ocupação:

Nós queremos saber quanto tempo você gasta fazendo atividade física em uma semana NORMAL. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que você não seja ativo. Para responder, considere as atividades como: meio de transporte, no trabalho, exercício e esporte.

1a. Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades **LEVES** ou **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos, que façam você suar **POUCO** ou aumentam **LEVEMENTE** sua respiração ou batimentos do coração, como nadar, pedalar ou varrer:

(a) ____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

1b. Nos dias em que você faz este tipo de atividade, quanto tempo você gasta fazendo essas atividades **POR DIA**?

(a) ____ horas ____ minutos (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2a . Em quantos dias de uma semana normal, você realiza atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos , que façam você suar **BASTANTE** ou aumentem **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração, como correr e nadar rápido ou fazer jogging:

(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2b. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta fazendo essas atividades **POR DIA**?

(a) _____ horas _____ minutos (b) Não quero responder (c) Não sei responder

ATIVIDADE FÍSICA NO TRABALHO

Pensando em todas as atividades que você tem feito no trabalho durante uma semana normal:

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

Sim () Não ()

1b. Quantos dias de uma semana normal você trabalha? _____ dias

Durante um dia normal de trabalho, quanto tempo você gasta: _____

1c . Andando rápido: _____ horas _____ minutos

1d. Fazendo atividades de esforço moderado como subir escadas ou carregar pesos leves: _____ horas _____ minutos

1e. Fazendo atividades vigorosas como trabalho de construção pesada ou trabalhar com enxada, escavar: _____ horas _____ minutos

ATIVIDADE FÍSICA EM CASA

Agora, pensando em todas as atividades que você tem feito em casa durante uma semana normal:

2a . Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades dentro da sua casa por pelo menos 10 minutos de esforço moderado como aspirar, varrer ou esfregar:

(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2b. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta fazendo essas atividades **POR DIA?** _____ horas _____ minutos

2c. Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades no jardim ou quintal por pelo menos 10 minutos de esforço **MODERADO** como varrer, rastelar, podar:

(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2d. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta **POR DIA?** _____ horas _____ minutos

2e. Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades no jardim ou quintal por pelo menos 10 minutos de esforço **VIGOROSO** ou forte como carpir, arar, lavar o quintal:

(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

2f. Nos dias que você faz este tipo de atividades quanto tempo você gasta **POR DIA?** _____ horas _____ minutos

ATIVIDADE FÍSICA COMO MEIO DE TRANSPORTE

Agora pense em relação a caminhar ou pedalar para ir de um lugar a outro em uma semana normal:

3a. Em quantos dias de uma semana normal você caminha de forma rápida por pelo menos 10 minutos para ir de um lugar para outro? (Não inclua as caminhadas por prazer ou exercício)

(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

3b. Nos dias que você caminha para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta caminhando? (Não inclua as caminhadas por prazer ou exercício) _____ horas _____ minutos

3c. Em quantos dias de uma semana normal você pedala rápido por pelo menos 10 minutos para ir de um lugar para outro? (Não inclua o pedalar por prazer ou exercício)
(a) _____ dias por **SEMANA** (b) Não quero responder (c) Não sei responder

3d. Nos dias que você pedala para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta pedalando? (Não inclua o pedalar por prazer ou exercício) _____ horas _____ minutos

Por favor, coloque as suas observações, críticas e sugestões em relação a este questionário (construção e clareza das perguntas, formatação, dificuldades, tempo para responder, etc):

ANEXO B – Questionário de Frequencia Alimentar

	Quantidade	Nunca ou < 1 mês	1-3 por mês	1 por sem,	2-4 por sem,	5-6 por sem,	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
I, Leite e produtos lácteos										
1, Leite integral										
2, Leite desnatado ou semi-desnatado										
3, Creme de leite										
4, Iogurte natural/ polpa										
5, Queijos brancos										
6, Queijos amarelos										
II, Carnes, pescados e ovos										
7, Ovo (frito/ mexido/ poche)										
8, Frango (cozido/ assado/ frito)										
9, Carne bovina (bife/ panela)										
10, Estrogonofe										
11, Panqueca de carne										
12, Hambúrguer/ cheeseburger										

13, Carne suína (lombo/ bisteca)										
14, Fígado										
15, Vísceras de frango (miúdos)										
16, Mortadela, presunto										
17, Lingüiça/ salsicha										
18, Bacon/ toucinho										
19, Peixe (cozido/ assado/ frito)										
20, Atum/sardinha em conserva										
21, Camarão										
III, Verduras e legumes										
22, Alface/ escarola										
23, Acelga										
24, Repolho										
25, Agrião/ Almeirão										
26, Brócolis/ couve-flor/ couve										
27, Tomate										
28, Cenoura										

29, Abóbora										
30, Alho/ cebola										
31, Legumes: jiló/ berinjela/ pepino										
32, Legumes: abobrinha/ beterraba										
IV, Frutas e sucos naturais										
33, Laranjas/ Mexerica										
34, Suco de laranja										
35, Suco de limão										
36, Bananas										
37, Suco de maracujá										
38, Abacaxi/ Suco										
39, Maça/ Pêra										
40, Mamão papaya/ Suco										
41, Morangos										
42, Caqui										
43, Abacate										
44, Melão/Melancia/ Suco										

45, Suco de caju										
46, Suco de acerola										
47, Uvas										
48, Manga/ Suco										
49, Outras Frutas: pêssego/ figo/ ameixa										
50, Oleaginosas (amendoim, castanhas)										
51, Azeitonas										
V, Pães cereais, tubérculos e leguminosas										
52, Pão francês										
53, Pão de forma/ caseiro/ bisnaga										
54, Pão integral/ diet										
55, Cereais matinais										
56, Milho verde										
57, Batata cozida/ purê/ assada										
58, Batatas fritas										

59, Arroz cozido										
60, Polenta										
61, Mandioca cozida										
62, Farinhas/ farofa										
63, Macarrão/ massas/ instantâneo										
64, Feijão cozido										
65, Feijão branco/ ervilha/ lentilha										
VI, Óleos e gorduras										
67, Óleo de soja/ milho/ canola/ girassol										
68, Margarina										
69, Manteiga										
VII, Doces, salgadinhos e guloseimas										
70, Chocolates variados										
71, Achocolatado										
72, Sobremesas cremosas (pudim/ manjar)										
73, Doce de frutas (calda/ barra)										

74, Sorvetes cremosos										
75, Doces de bar (amendoim/ leite/ suspiro)										
76, Salgadinhos de bar (esfiha/ coxinha/ pastel)										
77, Biscoito salgado água e sal/ cream cracker										
78, Biscoito doce maisena /leite/ maria										
79, Biscoito doce recheado										
80, Bolo simples										
81, Bolo/torta recheado/ com frutas										
82, Torta salgada										
83, Pizza										
84, Pão de queijo										
VIII, Bebidas										
85, Refrigerantes (cola/ limão/ laranja/ guaraná)										
86, Cerveja										
87, Vinho										
88, Outras bebidas alcoólicas: pinga/ uísque										

89, Chá mate/ preto infusão										
90, Café (com açúcar/ sem açúcar)										
91, Suco artificial em pó										
IX, Preparações e Miscelâneas										
92, Açúcar para adição										
93, Sopa legumes/ feijão/ canja										
94, Molho de Maionese										
95, Salada de legumes com maionese										
96, Molhos industrializados: catchup/ mostarda										
97, Molho de tomate										
98, Extrato de soja										

ANEXO C – Certificado de Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

ANEXO I



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 008/2011/Comitê de Ética

Viçosa, 18 de fevereiro de 2011.

Prezada Professora:

Cientificamos V. S^a. de que o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em sua 1ª Reunião de 2011, realizada em 18-2-2011, analisou e aprovou, sob o aspecto ético, o projeto de pesquisa intitulado *Estudo sobre as propriedades funcionais da ração humana*.

Atenciosamente,


Professor Gilberto Pádua Rosado
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Presidente

Professora
Sônia Machado Rocha Ribeiro
Departamento de Nutrição e Saúde

/rhs.

ANEXO D – Autorização Secretaria Municipal de Saúde



Prefeitura Municipal de Viçosa

Praça do Rosário, 05 - Centro - CEP 36.570-000 - Viçosa - MG

Tel.: Geral: (31) 3891-3714 - Fax.: (31) 3891-7648

CNPJ: 18.132.449/0001-79

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a realização da Pesquisa Científica com indivíduos do sexo feminino, com obesidade e sobrepeso, idade entre 30 e 45 anos, que freqüentam o Programa de Saúde da Família do Bairro Silvestre.

A Pesquisa será realizada pelas mestrandas do Programa de Pós-graduação em Ciência da Nutrição da Universidade Federal de Viçosa **Bárbara Nery e Natália Galdino**, sob a orientação das Professoras Sônia Maria Machado Ribeiro e Hércia Stampini Duarte Martino, com a autorização por escrito dos participantes.

Viçosa, 16 de dezembro de 2010.


Rita Maria Gomide
Secretária Municipal de Saúde

APÊNDICES

APÊNDICE A – Questionário Socioeconômico

1, Nome:

2, Estado civil: () solteira () casada () divorciada () viúva

3, Profissão:

4, Data de nascimento:

5, Quantos anos você estudou?

() Nenhum

() < 1

() 1 a 3

() 4 a 7

() 8 a 10

() 11 a 14

() 15 ou mais

6, Com quantas pessoas você reside?

() 1 () 2 () 3 () 4 () 5 ou mais

7, Qual é a sua renda mensal?

() não tem renda

() < 1 salário mínimo

() 1,1 a 3 salários mínimos

() 3,1 a 6 salários mínimos

() 6,1 a 10 salários mínimos

() > 10 salários mínimos

8, Qual é a renda mensal do seu grupo familiar?

() não tem renda

() < 1 salário mínimo

() 1,1 a 3 salários mínimos

() 3,1 a 6 salários mínimos

APÊNDICE B – Curva analítica para determinação da capacidade antioxidante total do plasma

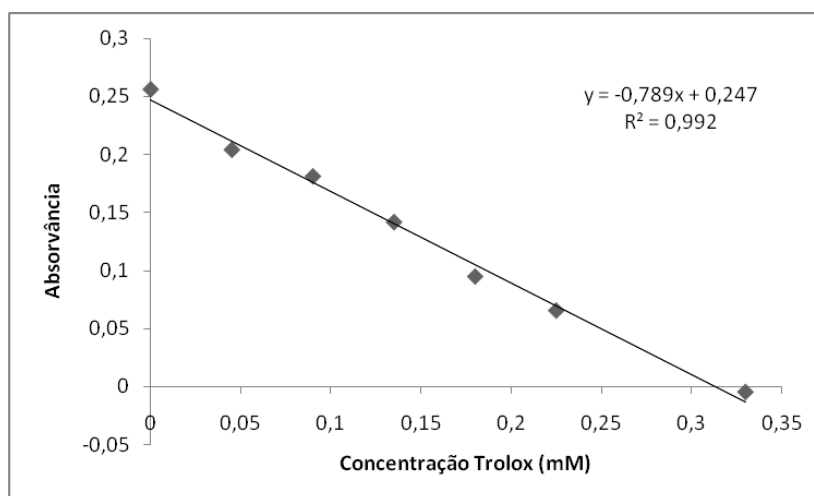


Figura 5 – Curva padrão trolox

APÊNDICE C – Curva analítica para determinação de malondialdeído e 4-hidroxiálqueno por ensaio LPO-586

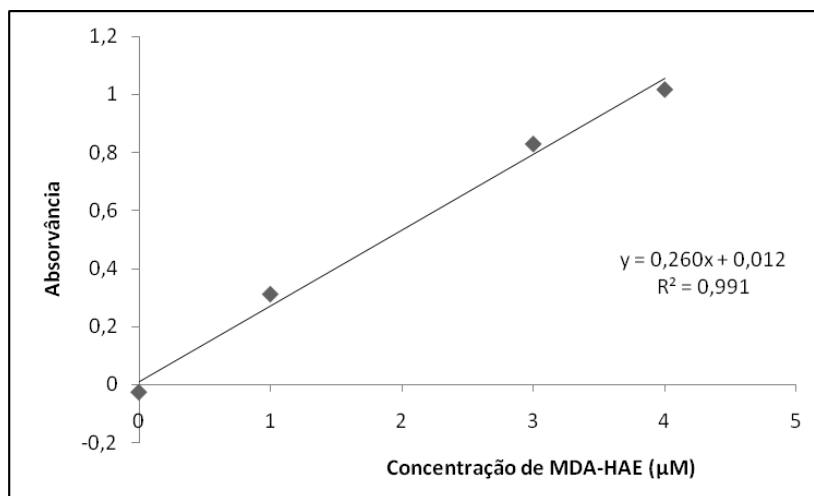


Figura 6 – Curva padrão 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMPO) (LPO586)

APÊNDICE D - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

“Concordo voluntariamente em me submeter a uma pesquisa, que tem como objetivo avaliar o efeito da ração humana sobre na perda de peso e saúde óssea de mulheres com sobrepeso e obesidade, onde será aferido as medidas antropométricas (peso, altura e perímetro da cintura), de composição corporal, de ingestão alimentar decorrentes de intervenção nutricional de 77 dias, Receberei a Ração Humana que deverá substituir o café da manhã, As outras refeições serão ingeridas conforme o habitual, em condições de vida livre, Tenho conhecimento de que não terei nenhum tipo de vantagem econômica ou material por participar do estudo, Estou ciente de que poderei abandonar a pesquisa em qualquer etapa de seu desenvolvimento, Concordo com a divulgação de meus dados no meio científico, sempre resguardando minha individualidade e identificação, Estou suficientemente informado pelos membros do presente estudo, sobre as condições em que irão ocorrer a elaboração e distribuição das refeições teste, sob responsabilidade da professora Hércia Stampini Durte Martino, e sua equipe de trabalho,

Assinaturas:

Responsável pelo projeto

NOME DO PESQUISADOR

Voluntário