

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

JÉSSICA VANESSA DE CARVALHO LISBOA

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T NO GENE *MTHFR* RELACIONADO À
SUPLEMENTAÇÃO DE UMA DIETA COM FOLATO NO STATUS
INFLAMATÓRIO DE MULHERES OBESAS E COM SOBREPESO**

JOÃO PESSOA
2017

JÉSSICA VANESSA DE CARVALHO LISBOA

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T NO GENE *MTHFR* RELACIONADO À
SUPLEMENTAÇÃO DE UMA DIETA COM FOLATO NO STATUS
INFLAMATÓRIO DE MULHERES OBESAS E COM SOBREPESO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição. Linha de pesquisa: Clínica e Epidemiologia aplicada à Nutrição.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria José de Carvalho Costa

JOÃO PESSOA

2017

JÉSSICA VANESSA DE CARVALHO LISBOA

**INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T NO GENE MTHFR RELACIONADO À
SUPLEMENTAÇÃO DE UMA DIETA COM FOLATO NO STATUS
INFLAMATÓRIO DE MULHERES OBESAS E COM SOBREPESO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição.

Dissertação Aprovada em 31/08/2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Maria José de Carvalho Costa

Orientadora – Titular

(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição)



Prof.^a Dr.^a Darlene Camati Persuhn

Membro interno – Titular

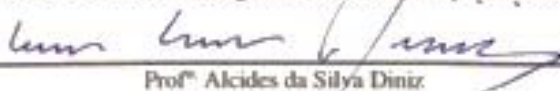
(UFPB/ Centro de Ciências da Saúde/ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição)



Prof.^a Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves

Membro interno – Suplente

(UFPB/ Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição)



Prof.^a Alcides da Silva Diniz

Membro externo – Titular

(UFPE/ Centro de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição)

Prof.^a Dr.^a Naila Francis Paulo de Oliveira

Membro externo – Suplente

(UFPB/ Centro de Ciências Exatas da Natureza / Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Humana)

Catálogo na Publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L769i Lisboa, Jéssica Vanessa de Carvalho.
Influência do polimorfismo C677T no gene MTHFR
relacionado à suplementação de uma dieta com folato no status
inflamatório de mulheres obesas e com sobrepeso / Jéssica
Vanessa de Carvalho Lisboa. - João Pessoa, 2017.
111 f. : il. -

Orientadora: Dr.^a Maria José de Carvalho Costa.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS/PPGCN

1. Nutrição. 2. Polimorfismo C677T. 3. Sobrepeso.
4. Obesidade. 5. Folato. I. Título.

UFPB/BC

CDU - 612.39(043)

AGRADECIMENTOS

A Deus, a Jesus Cristo, a Nossa Senhora e aos anjos, minhas fontes inesgotáveis de alegria, fé, amor, perseverança e esperança que sempre restauraram minhas forças quando precisei, capacitando-me nessa jornada, cuidando e me protegendo de todos os males deste mundo. Aqueles em quem me inspiro e busco ser imagem e semelhança para todos que passam por minha vida, levando sorrisos, amor, ajudando a quem precisa.

Aos meus pais, Rita Amorim de Carvalho Lisboa e José Hailton de Oliveira Lisboa, meus anjos aqui na terra. Vocês são a minha base, pessoas sem as quais jamais teria chegado aonde cheguei; aqueles que nunca mediram esforços para que eu realizasse todos os meus sonhos e objetivos, sempre com muito amor, cuidado, proteção. Vocês são, para mim, a definição do que é o amor.

A minha irmã, Bárbara Nely de Carvalho Lisboa França, minha metade, minha companheira em todos os momentos que sempre me apoiou com muito amor, inteligência - às vezes nem tanta paciência-, mas que nunca me negou auxílio e amparo para que eu tivesse forças e continuasse a desempenhar a profissão que escolhi por vocação.

Ao meu cunhado, Bruno França, por sempre me incentivar e ajudar nos desafios que a Nutrição proporciona, pelo carinho e por ter me ajudado quando precisei, sem hesitar.

A meus familiares: avós, tios, tias, primas e primos que sempre acreditaram em mim, apoiando e valorizando cada etapa da minha vida profissional com muito carinho, união e incentivo moral. A Thalita, prima e amiga de infância, com quem sempre compartilhei momentos da minha vida, não poderia ter sido diferente nestes anos de mestrado, durante os quais além de experiências socorreu nas fases difíceis.

A minha orientadora, professora Dr.^a Maria José de Carvalho Costa, pessoa maravilhosa, iluminada, de fé e de uma sabedoria inigualável, com a qual absorvi muito conhecimento profissional e de vida. Ela que nunca deixou de acreditar em meu potencial e que me acolhera com tanto zelo, apreço e confiança e, por isso, despertou em mim um sentimento de muito carinho.

A Marina Ramalho, parceira de intervenção, que sempre muito dedicada e solícita, assumiu esta missão comigo, possibilitando resultados eficientes.

As amigas Keylha Farias e Nadjenny Ingrid que Deus colocou na minha vida acadêmica e pessoal. Pessoas lindas, tementes a Deus e de corações puros. Agradeço pela

amizade verdadeira, sinergia e cooperação mútua e verdadeira. Compartilhamos momentos, conhecimentos e sobretudo ajudas. Espero tê-las sempre comigo.

A equipe e amigas do NIESN: Raquel Ataíde, Jessica Vicky, Thamires Ribeiro, Carol Severo, Mussara Monteiro e Surama pelo empenho durante o projeto, o qual, além de resultados, gerou amizades para toda uma vida, já que sempre almejamos a felicidade de todas do grupo.

A todos os professores, Mestres e Doutores, que contribuíram de forma tão rica para elaboração do II DISANDNT e a todos os demais integrantes que, com tanta dedicação e persistência, participaram e contribuíram para concretização desta pesquisa.

Aos professores Robson Veras e Darlene Persuhn, pela parceria nos laboratórios Cardiovascular e de Biologia Molecular – LEBIM, respectivamente, os quais viabilizaram a realização das análises com muita seriedade e conhecimento, enriquecendo ainda mais esta pesquisa; à professora Naila Francis que contribuiu de maneira engrandecedora para este estudo, não apenas com sua competência, mas também com atenção e dedicação. Ao professor Alexandre Sérgio, que colaborou de modo significativo com o escopo de melhorar o desenho do estudo, sendo sempre muito atencioso, mediante solução de dúvidas, isso tudo devido ao seu comprometimento com a área de pesquisa científica.

A Rayner Anderson e a Mayara que, com muita paciência, humildade e amor à pesquisa transmitiram o conhecimento que possuíam e nos auxiliaram nas análises dos polimorfismos em laboratório, sem os quais tudo teria sido bem mais difícil.

Aos professores Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves, Flávia Emília Leite de Lima Ferreira, Roberto Teixeira Lima, Alcides da Silva Diniz, Alessio Tony Cavalcanti de Almeida, Ronei Marcos de Moraes, Eliseu Verly Junior, Hubert Vidal, Luciano Pirola que cooperaram grandemente na metodologia como um todo, na estatística, no consumo alimentar etc.

À coordenação e a todos os funcionários do Programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição (PPGCN), Carlos e Marcos, pessoas tão solícitas que, por mais atribuições que tivessem, sempre se mostraram muito educados e atenciosos comigo quando precisei, seja para resolver um grande problema ou apenas pequenos questionamentos.

A CAPES, ao CNPq e ao Ministério da Saúde, por todo apoio concedido para que este e tantos outros projetos se tornassem possíveis de serem desenvolvidos e finalizados, fornecendo, destarte, contribuição para a área da saúde e população.

**“Entrega os teus caminhos ao Senhor,
n’Ele confie e o mais Ele fará.”**

Salmo 37, 5

RESUMO

Introdução: O gene Metilenotetrahidrofolato Redutase (*MTHFR*), quando apresenta o polimorfismo C677T, codifica a enzima MTHFR com atividade reduzida, acarretando na elevação dos níveis séricos de homocisteína, no metabolismo do ácido fólico, podendo desencadear processo inflamatório. Portanto, fazem-se necessárias pesquisas a fim de identificar possíveis relações entre o consumo de folato na minimização destes fatores de risco e a resposta das mulheres obesas com o polimorfismo. **Objetivo:** o estudo teve como objetivo avaliar a influência do polimorfismo C677T no gene *MTHFR* sobre os efeitos da intervenção dietética com folato no processo inflamatório em mulheres com sobrepeso. **Metodologia:** estudo de intervenção, duplo cego, realizado com 48 mulheres adultas obesas ou com sobrepeso, de 20 a 59 anos, selecionadas do estudo de base populacional, intitulado “II Ciclo de Diagnóstico e Intervenção da Situação Alimentar, Nutricional e das Doenças não Transmissíveis mais Prevalentes da População do Município de João Pessoa/PB”. Foram realizadas a avaliação do consumo alimentar com aplicação de Recordatório 24 Horas, análise do polimorfismo C677T e de parâmetros bioquímicos como o ácido fólico, a vitamina B12, a homocisteína, o TNF- α e as Interleucinas e avaliação antropométrica. As 48 mulheres selecionadas foram randomizadas em dois grupos com 24 participantes cada e subestratificadas em 3 grupos de acordo com os genótipos CC, CT e TT. Os grupos receberam, diariamente, durante 8 semanas, uma suplementação dietética com 300g de vegetais, sendo 191 mcg/d de folato para o Grupo 1 e 95 mcg/d para o Grupo 2. A fim de avaliar o efeito do folato contido nesta dieta nos níveis dos marcadores inflamatórios e de que forma o Polimorfismo C677T influenciaria neste processo. A estatística foi realizada pela análise de variância (ANOVA), teste-t de student, Teste de Tukey através do Software R, com significância de p-valor < 0,05. **Resultados:** no grupo 1 que receberam intervenção dietética contendo 191 mcg/d de folato houve aumento significativo nos valores após intervenção do consumo de folato e de ácido fólico plasmático em todos os genótipos (CC, CT, TT). Ainda no G1, mas apenas no genótipo TT, houve redução da homocisteína, TNF- α , IL-6, IL-1 β . No grupo 2 com intervenção contendo 95 mcg/d de folato, houve diferença significativa nos valores de consumo de folato para os genótipos CC e TT, de ácido fólico pós intervenção para os genótipos CT e TT, de 13.32 μ g/mL $\pm$ 3.97 e 15.00 μ g/mL $\pm$ 4.60 para 16.4 μ g/mL $\pm$ 4.95 e 22.62 μ g/mL $\pm$ 6.30, respectivamente; redução nos valores de IL-1 β de 5.43 pg/mL para 1.55 pg/mL no genótipo CT. **Conclusões:** os resultados pós intervenção dietética com folato evidenciaram uma elevação dos valores de ácido fólico, redução de interleucinas, TNF- α , e homocisteína, principalmente no genótipo TT.

Palavras-chave: Interleucinas. Fator de Necrose Tumoral. Intervenção dietética. Polimorfismo. Folato. Sobrepeso. Obesidade.

ABSTRACT

Background: The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR), participates in the metabolism of folic acid, since the gene encodes the MTHFR enzyme that with reduced activity elevates serum levels of homocysteine and can trigger inflammatory process. Therefore, it is necessary a deep research to identify possible relationships between the intake of folate in minimizing these risk factors and the response of obese women to the polymorphism. **Objective:** the study aimed to evaluate the influence of the C677T polymorphism on the MTHFR gene on the effects of nutritional intervention strategies with folate in the inflammatory process in overweight women. **Methods:** A double blind intervention study was carried out with 48 obese or overweight adult women, aged 20 to 59 years, selected from a population-based study entitled "II Cycle of Diagnosis and Intervention of the Food, Nutritional and Non-Communicable Diseases of the Population of the Municipality of João Pessoa / PB", focused on the municipality of João Pessoa. Food consumption was evaluated using a 24-hour Dietary Recall (24HR), also made the test of C677T polymorphism, biochemical parameters such as folic acid, vitamin B12, Homocysteine, TNF- α , Interleukins and anthropometric evaluation. The 48 women divided into two groups with 24 participants and sub-stratified into 3 groups according to the CC, CT and TT genotypes and polymorphism genotyping analysis C677T from the MTHFR gene. These two groups received 300g of vegetables daily for 8 weeks, with 191 mcg/day of folate for Group 1 and 95 mcg/day for Group 2, in order to evaluate the effect of the folate contained in this diet on the levels of the inflammatory markers and in what way the C677T Polymorphism would influence in this process. The statistical analysis was performed by assay of variance (ANOVA), Student's t-test, Tukey's test and simple linear regression using Software R, with p-value significance <0.05. **Results:** a significant increase in folate intake and folic acid intake in all genotypes (CC, CT, TT) was observed in group 1 that received dietary intervention containing 191 mcg / d of folate. TNF- α , IL-6, IL-1 β were also reduced in G1 but only in the TT genotype. In group 2, with an intervention containing 95 mcg / d of folate, there was a significant difference in folate consumption values for the CC and TT genotypes, folic acid post intervention for the CT and TT genotypes, 13.32 $\mu\text{g} / \text{mL} \pm 3.97$ and 15.00 $\text{Mg} / \text{mL} \pm 4.60$ to 16.4 $\mu\text{g} / \text{mL} \pm 4.95$ and 22.62 $\mu\text{g} / \text{mL} \pm 6.30$, respectively; Reduction in IL-1 β post-intervention values from 5.43 pg / ml to 1.55 pg / ml in the CT genotype. **Conclusions:** Based on results after dietary intervention with folate being observed elevation of folic acid values, reduction of interleukins, TNF- α , and homocysteine mainly in the TT genotype.

Keywords: Interleukins. Tumor Necrosis Factor. Dietary intervention. Polymorphism. Folate. Overweight. Obesity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS DISSERTAÇÃO

Figura 1. Genômica Nutricional: a interação gene-nutriente.	18
Figura 2. Representação do Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP)	19
Figura 3. Efeito antioxidante e anti-inflamatório do folato.....	23
Figura 4. Gene MTHFR, polimorfismo C677T e funcionalidade da enzima.....	25
Figura 5. Influência do polimorfismo C677T no metabolismo do ácido fólico	26
Figura 6. Rede complexa de citocinas.....	27
Figura 7. Relação Polimorfismo C677T, obesidade e diversas patologias.	28
Figura 8. Influência do SNP C677T e obesidade na inflamação.....	31
Figura 9. Deficiência de folato e relação com IL-12p70 e IL-10.	32
Figura 10. Característica dos grupos da intervenção.....	36
Figura 11. Quantidade de folato por grupos da intervenção.	36
Figura 12. Fluxograma sobre as etapas do protocolo experimental	37
Figura 13. Procedimentos para análise de polimorfismo	45

LISTA DE TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1. Dieta consumida pelo Grupo 1 contendo 300g de vegetais e 191 mcg/dia de folato.....	38
Tabela 2. Dieta consumida pelo Grupo 2 contendo 300g de vegetais e 95 mcg/dia de folato	39

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1. Características gerais das participantes por grupos antes da intervenção.....	97
Tabela 2. Valores de vitaminas e dos marcadores inflamatórios, separados por genótipos, pré e pós intervenção da dieta com folato	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

II DISANDNT/PB- Segundo Ciclo de Diagnóstico e Intervenção da Situação Alimentar, Nutricional e das Doenças não Transmissíveis mais Prevalentes da População do Município de João Pessoa/PB

DNA- Ácido Desoxirribonucleico

SNPs- (Single Nucleotide Polymorphism) Polimorfismo de Nucleotídeo Único

MTHFR- gene Metilenotetrahidrofolato Redutase

MTHFR- enzima Metilenotetrahidrofolato Redutase

HHcy- (Hyperhomocysteinemia) Hiperhomocisteinemia

5-MTHF- 5-Metilenotetrahidrofolato

Hcy- (Homocysteine) Homocisteína

CT, TT, CC- genótipos formados pelas bases nitrogenadas citosina (C) e timina (T)

SOD- Superóxido Dismutase

GPx- Glutathione Peroxidase

EROs- Espécies Reativas de Oxigênio

IL- Interleucinas

TNF- α - (Tumor Necrosis Factor alpha) Fator de Necrose Tumoral alfa

CBA- Componente Alimentar Bioativo

VNTRs- (Variable Number Tandem Repeat) Variações no Número de Sequências Repetidas

Pb- Par de base

AVC- Acidente Vascular Cerebral

DCV- Doença Cardiovascular

CIMT- (Carotid Intima-Media Thickness) Camadas Média Íntima da Carótida

DTN- Defeitos do Tubo Neural

Apo-E- Apolipoproteína E

GSH- (Glutathione) Glutathione

CAT- Capacidade Antioxidante Total

MDA- Malondialdeído

SAM- S-adenosilmetionina

NMDA- N-metil-d-aspartato

Th1 e Th2- Células T *helper* (auxiliar) CD4

IFN- Interferon

IL-1ra- Receptor antagonista da Interleucina 1

TGF- β - (Transforming Growth Factor Beta) Transformador de Fator de Crescimento Beta

DCNTs- Doenças Crônicas Não-Transmissíveis

NF- κ B- (Nuclear Factor Kappa B) Fator Nuclear Kappa B

CHO, PTN, LIP- Carboidrato, Proteína e Lipídeo

TLR- (Toll-Like Receptor) Receptor do tipo Toll

M1- Macrófago pró-inflamatório

Células NK- Célula Natural Killer

CMI- (Cell-Mediated Immunity) Imunidade Mediada por Células

Treg- Células T reguladoras

MCP-1- (Monocyte Chemoattractant Protein-1) Proteína Quimiotática de Monócitos-1

PCR- Proteína C reativa

PCR- (Polymerase Chain Reaction) Reação em Cadeia de Polimerase

ICAM-1- (Intercellular Adhesion Molecule-1) Moléculas de Adesão Intercelular-1

VCAM-1 – (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) Molécula-1 de Adesão de Célula Vascular

eNOS- (Endothelial Nitric Oxide Synthase) Óxido Nítrico-Sintase Endotelial

IMC- Índice de Massa Corporal

FAPESQ- Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba

MS- Ministério da Saúde

CNPQ- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

R24h- Recordatório 24 horas

MSM- Método de Múltiplas Fontes

EDTA- (Ethylenediamine Tetraacetic Acid) Ácido Etilenodiaminotetracético

TCEP- Agente Redutor Tris-carboxietilfosfina

TCA- (Trichloroacetic Acid) Ácido Tri-cloroacético

SBD-F- 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonato

HPLC- (High-Performance Liquid Chromatography) Cromatografia Líquida de Alto Desempenho

SDS- (Sodium Dodecyl Sulfate) Dodecil Sulfato de Sódio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 ALIMENTAÇÃO E POLIMORFISMO	18
2.2 FOLATO, ÁCIDO FÓLICO E EFEITO ANTIOXIDANTE/ANTIINFLAMATÓRIO	20
2.3 INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T NO GENE <i>MTHFR</i> E METABOLISMO DO ÁCIDO FÓLICO	24
2.4 POLIMORFISMO C677T NO GENE <i>MTHFR</i> E OS MARCADORES INFLAMATÓRIOS	27
3 METODOLOGIA.....	33
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO	33
3.2 QUESTÕES ÉTICAS.....	33
3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	34
3.3.1 Critérios de inclusão.....	34
3.3.2 Critérios de exclusão	35
3.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	35
3.4.1 Composição dietética da intervenção.....	37
3.4.2 Desfecho e acompanhamento.....	39
3.5 COLETA DE DADOS	40
3.5.1 Avaliação nutricional	40
3.5.2 Consumo alimentar	40
3.5.3 Análise bioquímica	41
3.5.3.1 Ácido fólico e vitamina B12.....	42
3.5.3.2 Homocisteína	42
3.5.3.3 <i>TNF-α</i> e Interleucinas.....	43
3.5.4 Coleta e isolamento do DNA de leucócitos	43
3.5.4.1 Análise do polimorfismo C677T do gene <i>MTHFR</i>	44
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	65
ANEXO A – Certidão do Comitê de Ética	66
ANEXO B – Certidão do Comitê de Ética	67
ANEXO C – Lista do Sistema de Equivalentes Atualizada e Modificada para Uso no	

Brasil.....	68
ANEXO D – Ficha de Equivalentes	75
ANEXO E – Ficha de Avaliação Antropométrica	76
ANEXO F - Recordatório Alimentar	77
APÊNDICES	78
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	79
APÊNDICE B – Outros resultados	80
APÊNDICE C – ARTIGO	81

1 INTRODUÇÃO

Desde a descoberta da estrutura do DNA em dupla hélice em 1953, vários avanços científicos relacionados ao Projeto Genoma Humano permitiram o sequenciamento completo do genoma humano (DNA) e a identificação de aproximadamente 1/3 dos genes (25.000) e 3,2 bilhões de pares de bases nitrogenadas (YANG et al., 2013; YOHE et al., 2015).

O Estudo de Ampla Associação do Genoma (GWAS), possibilitou a identificação dos genes ou *locus* das variantes genéticas ou Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs, do inglês Single Nucleotide Polymorphisms) associados ao desenvolvimento de diversas doenças humanas (BENSON, 2016; FERGUSON et al., 2016; GOODWIN; MCPHERSON; MCCOMBIE, 2016; TARAIOLO-GRAOVAC et al., 2016; VAN KARNEBEEK et al., 2016; YUBERO et al., 2016).

Os SNPs são a categoria mais básica de polimorfismo e são originados a partir da troca de uma base nitrogenada por outra em um determinado nucleotídeo de um gene, sendo sua ocorrência de pelo menos 1% em uma população. Acredita-se que o genoma humano tenha pelo menos 10 milhões de SNPs, que podem ocorrer em regiões gênicas ou não gênicas (FENECH et al., 2011; HAYWARD et al., 2012).

O SNP C677T no gene da enzima metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR) que altera as bases nitrogenadas da posição 677 do gene *MTHFR*, ou seja, promove a substituição da citosina pela timina (C→T no nucleotídeo 677), levando à substituição de aminoácidos da proteína (FROSST et al., 1995; KENNEDY et al., 2012; HERNÁNDEZ-GUERRERO et al., 2013). Consequentemente, este polimorfismo altera a estrutura quaternária da proteína, codificando a enzima metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR) com atividade reduzida (LIU et al., 2010; GASPARINI; SUTHERLAND; GRIFFITHS, 2013; MAHER et al., 2013).

Por ser uma enzima essencial no metabolismo do ácido fólico (metabolismo de um carbono), a MTHFR com a capacidade funcional prejudicada na presença do SNP C677T no gene *MTHFR*, tende a reduzir a síntese de 5-metilenotetrahydrofolato (5-MTHF) e influenciar a remetilação da homocisteína (Hcy) em metionina (FROSST et al., 1995; KENNEDY et al., 2012; HERNÁNDEZ-GUERRERO et al., 2013), podendo levar à hiperhomocisteinemia (Hhcy) (MOLL; VARGA, 2015; TSANG et al., 2015).

A hiperhomocisteinemia está associada à produção de radicais livres e inflamação, podendo atenuar a capacidade antioxidante endógena de enzimas como a superóxido dismutase

(SOD) e glutathione peroxidase (GPx), causando um desequilíbrio que propicia o estresse oxidativo (MANGGE et al., 2014; MOLL; VARGA, 2015).

O processo inflamatório relacionado à obesidade e outras doenças crônicas não transmissíveis, aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio, bem como de marcadores inflamatórios como a IL-6, Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), IL-1 β e de outras citocinas IL-12p70, IL-8 (HOLVEN et al., 2006; ZHANG et al., 2006; FUCHS et al., 2009; MURR et al., 2009; WANG et al., 2014; WU et al., 2016).

Esta resposta pode ser mediada em parte pela alta produção de EROs e a inflamação (FUCHS et al., 2001; SCHROECKSNADEL et al., 2004; ZENG; REMICK; WANG, 2005; SUO; WANG, 2015; WU et al., 2016). Condições que relacionadas aos baixos níveis de folato, vem sendo associados à remodelação dos tecidos vasculares, contribuindo para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, defeitos no tubo neural, doenças neurológicas, pressão arterial elevada, glaucoma, cânceres, dentre outras condições (RUBINO et al., 2009; GASPARINI, SUTHERLAND, GRIFFITHS, 2013).

O aumento do consumo de alimentos ricos em nutrientes antioxidantes, anti-inflamatórios e fitoquímicos tem sido proposto como uma medida preventiva para diminuir o risco de várias doenças crônicas causadas pelo estresse oxidativo e inflamação (KAY; HOLUB, 2002). Uma dieta rica em folato, componente essencial no ciclo de metilação do DNA e vitamina B12, parece atuar como antioxidante eliminando do organismo de forma eficiente os radicais livres (JOSHI et al., 2001; HEL et al., 2016) e apresentar possível efeito na prevenção ou controle da resposta imunológica, revertendo a secreção de citocinas derivadas dos monócitos em pacientes com hiperhomocisteinemia. Assim, auxiliaria na neutralização de alguns efeitos do polimorfismo C677T (JACQUES et al., 1996; WANG et al., 2005; HEL et al., 2016).

Logo, o reconhecimento das variantes genéticas e das necessidades nutricionais de cada pessoa frente à resposta dietética (nutrigenética), possibilita a personalização dos padrões de cuidado nutricional, favorecendo assim a prevenção e tratamento de forma individualizada (BENSON, 2016; FERGUSON et al., 2016; GOODWIN; MCPHERSON; MCCOMBIE, 2016; MCDONALD; GLUSMAN; PRICE, 2016; NOECKER; BORENSTEIN, 2016; TARAIOLO-GRAOVAC et al., 2016; VAN KARNEBEEK et al., 2016; YUBERO et al., 2016).

Visto que o polimorfismo C677T no gene *MTHFR* influencia no estresse oxidativo e no processo inflamatório, elevando o risco de doenças crônicas não-transmissíveis, torna-se pertinente identificar possíveis relações entre o consumo alimentar do folato como antioxidante e antiinflamatório, minimizando fatores de riscos, possíveis alterações nos marcadores inflamatórios, bem como a resposta daquelas mulheres obesas ou com sobrepeso que apresentarem o polimorfismo.

Dessa forma, este estudo tem como objetivo geral avaliar a influência do polimorfismo C677T no gene *MTHFR*, relacionada à intervenção dietética com folato nos valores de marcadores inflamatórios em mulheres obesas e com sobrepeso. Por meio dos seguintes objetivos específicos: avaliar o consumo alimentar da casuística, investigar os valores de homocisteína, interleucinas, TNF- α , folato e B12, identificando a presença de polimorfismo C677T do gene *MTHFR*.

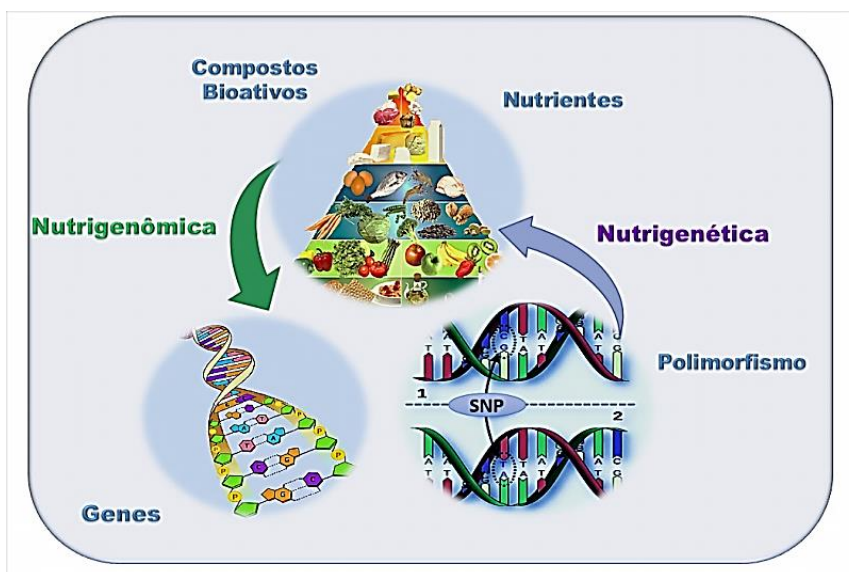
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ALIMENTAÇÃO E POLIMORFISMO

A relação entre saúde e nutrição já está bem consolidada há tempos; no entanto, foi apenas a partir do desenvolvimento de novas tecnologias que o sequenciamento do genoma humano foi possível e a dinâmica dessa relação pode ser estudada. A influência das interações entre a composição genética individual e os fatores ambientais, como os componentes da dieta, tem sido alvo de pesquisas (MÉPLAN, 2015; FERGUSON, 2016).

A aplicação destas tecnologias na pesquisa de nutrição acarretou no surgimento da genômica nutricional (Figura 1) que aborda duas vertentes: o efeito da constituição genética do indivíduo na resposta aos nutrientes (nutrigenética) e a modulação da expressão gênica pelos compostos nutricionais (nutrigenômica) (MÉPLAN, 2015; TEBANI et al., 2016).

Figura 1. Genômica Nutricional: a interação gene-nutriente.



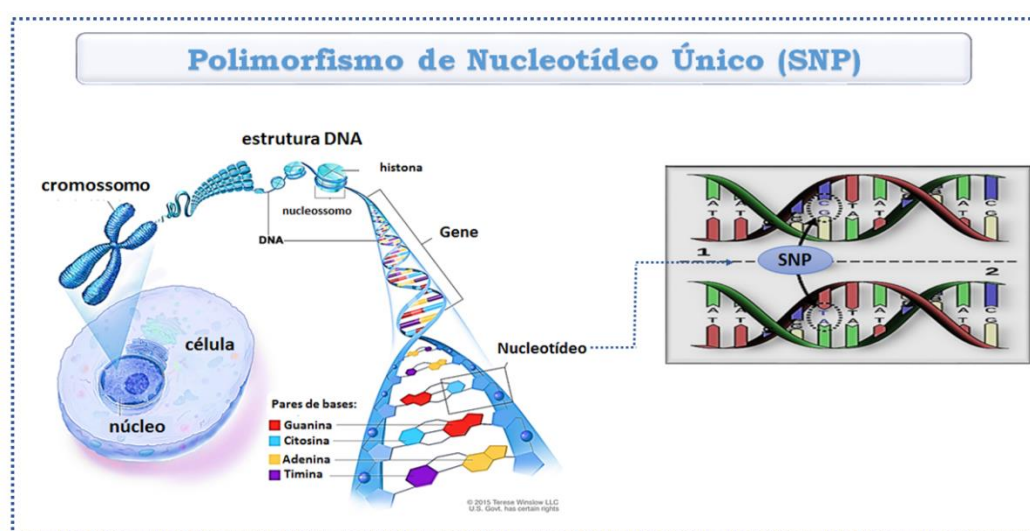
Fonte: Adaptado de Gillies (2005), Ministério da Saúde (2015) e ACECGT Nutrigene (2017); ilustrado por Lisboa (2017).

Sendo assim, quanto aos efeitos nutrigenéticos temos que as variantes (polimorfismos) podem influenciar no metabolismo de um componente alimentar bioativo (CBA)/nutriente ou no seu local de ação, na função enzimática, afetando as concentrações séricas e de metabólitos (EL-SOHEMY, 2007; HAYWARD et al., 2012; KÖHLMEIER et al., 2016), alterando a resposta geral à dieta e regulando o estado nutricional do indivíduo (DAIMIEL; VASGAS;

MOLINA, 2012; LIU et al., 2013; NICULESCU, 2013; MÉPLAN, 2015; JOFFE; HOUGHTON, 2016).

As formas mais comuns de polimorfismos de DNA são deleções, variações no número de sequências repetidas (VNTRs e microsátélites) e um tipo particularmente comum definido pela substituição de uma base de nucleotídeo por outra, o "polimorfismo de nucleotídeo único" (do inglês Single Nucleotide Polymorphism- SNP) (Figura 2) (HAYWARD et al., 2012; TANAKA et al., 2013).

Figura 2. Representação do Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP)



Fonte: adaptado de Winslow (2015), DNA Baser (2015), ilustrado por Lisboa (2017).

Os SNPs são a variante genética mais comum, sendo normalmente encontrados em, pelo menos, 1% de qualquer população distinta, varia sua frequência por grupos étnicos e regiões geográficas (TRUJILLO; DAVIS; MILNER, 2006; BINIA et al. 2014).

Alguns SNPs podem afetar a síntese e a função das proteínas e, portanto, podem alterar os requisitos nutricionais e o metabolismo dos nutrientes (KAPUT; RODRIGUEZ, 2004), além de desempenhar papéis importantes no risco de um indivíduo desenvolver doenças (HESKETH, 2008; HESKETH, 2013; MOCCHEGIANI et al., 2014; WANG; KAUFMAN, 2014; NIEDZIELSKI et al., 2015; NIEDZIELSKI et al., 2016).

Para o gene *MTHFR* importantes SNPs têm sido reconhecidos: C677T (substituição citosina-timina resultando na conversão de uma alanina para valina) e A1298C (substituição da base nitrogenada adenina por citosina resultando na conversão de uma alanina para ácido

glutâmico). A presença do polimorfismo C677T ou Ala222Val está associada à redução da atividade da enzima MTHFR que pode reduzir os níveis de folato e aumentar a concentração de homocisteína no plasma, para a maioria dos estudos e meta-análises encontrados na literatura (SUBBIAH, 2007; STOVER; CAUDILL, 2008; VIRGILI, PEROZZI, 2008; WU et al., 2012; HESKETH, 2013; WILSON et al., 2013).

Dessa forma, o SNP C677T tem sido associado a diversas patologias como o Acidente Vascular Cerebral (AVC), tromboembolismo pulmonar, defeitos do tubo neural, abortos espontâneos e diminuição da viabilidade fetal, doenças cardiovasculares, câncer, esquizofrenia, hipermetilação aberrante DNA e autismo (MEAD, 2007; STOVER; CAUDILL, 2008; SUBBIAH, 2008; ALSHATWI, 2010; CARVALHO et al., 2012; DIAKITE et al., 2012; BASSETT et al., 2013; HESKETH, 2013; WILSON et al., 2013; WEINER; ETZIONI; EGGNER, 2014; YANG et al., 2014; KATO et al., 2015; SHU-JUN; FANG-FANG; JIANG-LI, 2016).

A descoberta de doenças associadas a variantes genéticas tem proporcionado uma melhor compreensão dos efeitos nutricionais / dietéticos na saúde e doença humana (FENECH et al., 2011). Atualmente, é reconhecido que o estudo das interações entre genes e nutrientes é crucial na compreensão dos mecanismos de doenças subjacentes, descoberta de novos biomarcadores de risco para doenças, desenvolvimento de novas políticas alimentares e abordagens terapêuticas adaptadas às necessidades do indivíduo (KÖHLMEIER, 2013; CELIS-MORALES; LARA; MATHERS, 2015; MÉPLAN, 2015; TEBANI et al., 2016).

Estudos humanos tem demonstrado fortes evidências da interação entre os SNPs em vários genes e a resposta metabólica à dieta. Além disso, a análise de SNPs fornece uma ferramenta molecular potencial para investigar o papel da nutrição na saúde humana, doenças e identificação de dietas ideais ou personalizadas (FERGUSON, 2006; KÖHLMEIER et al., 2016; HURGOBIN; EDWARDS, 2017).

Logo, os resultados mostram que existe uma possibilidade de abordagem personalizada para nutrição que está por emergir, oferecendo novas estratégias para a prevenção e tratamento de doenças também em nível populacional (KÖHLMEIER, 2013; CELIS-MORALES; LARA; MATHERS, 2015; MÉPLAN, 2015; TEBANI et al., 2016).

2.2 FOLATO, ÁCIDO FÓLICO E EFEITO ANTIOXIDANTE/ANTIINFLAMATÓRIO

A palavra folato é de origem latina *folium* (folha), nutriente naturalmente derivado de alimentos, principalmente de vegetais folhosos verdes escuros. O ácido fólico, por sua vez, tem várias denominações como vitamina B9, folacin, vitamina M, Folvite, ácido pteroil-L-glutâmico entre outras (PUBCHEM, 2014), uma vitamina hidrossolúvel sinteticamente produzida e encontrada em suplementos e alimentos fortificados, forma sintética do folato (NIH, 2014; SAINI; NILE; KEUM, 2016). Assim embora os termos ácido fólico e folato sejam usados alternadamente, seus efeitos metabólicos são distintos (WIEN et al., 2012; NIH, 2014; SAINI; NILE; KEUM, 2016).

As fontes alimentares de folato são, principalmente, os vegetais (NIH, 2014) como brócolis, aspargos; as frutas cítricas (laranjas, toranjas, morangos); feijões, abacate, ervilhas, ovo, abobrinha, espinafre, soja, lentilhas, quiabo, couve de Bruxelas, nozes e sementes, couve-flor, beterraba, milho, aipo, cenoura e abóbora; produtos cárneos como frango, peru, cordeiro, carne e fígado de porco. O ácido fólico pode ser encontrado nos alimentos enriquecidos (cereais, massas, farinha, grãos e pão) e em suplementos na forma de comprimido ou em pó (CARMEL et al., 2005; CNF, 2010, USDA, 2012; USDA, 2016).

Em termos de consumo alimentar, a recomendação diária da ingestão de ácido fólico no Brasil é de 400 mcg/dia para adolescentes e adultos. Aumentando para 500 mcg/dia as necessidades deste nutriente para lactantes e 600 mcg/dia durante a gestação (NIH, 2014).

A fortificação de alimentos e a utilização de suplementos com ácido fólico para efeitos de promoção da saúde possuem *pool* crescente de evidências auxiliando na prevenção e também no tratamento de doenças, especialmente em ensaios como um medicamento anti câncer. Apesar do efeito da suplementação de ácido fólico durante o período pré concepção na redução da incidência de defeitos do tubo neural (DTN) esteja bem consolidada (YI et al. 2011; MARCHETTA et al., 2015; WHO, 2015; GROSSE et al. 2016), os resultados acerca deste efeito em outras doenças ainda é contraditório, necessitando de novos estudos (LIEW, 2017).

Contudo, o estudo de Kagawa et al. (2017), afirma que a fortificação de ácido fólico foi efetiva não apenas na prevenção de defeitos do tubo neural, mas também nas doenças cardiovasculares, demência, doenças renais e osteoporose, independentemente de polimorfismos genéticos, como o genótipo TT do *MTHFR*.

A eficácia da suplementação de ácido fólico na dieta sobre a redução do risco de doença cardiovascular (DCV), aneurisma aórtico abdominal, tem sido cada vez mais evidenciada em meta-análises com humanos e ratos. Observando-se o aumento das concentrações de folato no

sangue, redução da homocisteína, diminuição da peroxidação de LDL. Afinal, a hiperhomocisteinemia é caracterizada como fator de risco independente para estas doenças, podendo ser influenciada por vários fatores, segundo a literatura, como o estilo de vida, estresse oxidativo, influência do polimorfismo C677T (GARCIA-PINILLA et al., 2007; GAO et al., 2012; QIN et al., 2012, WANG et al., 2012; LI et al., 2016; CHEN; WANG; YU, 2016; VENTURA et al., 2016).

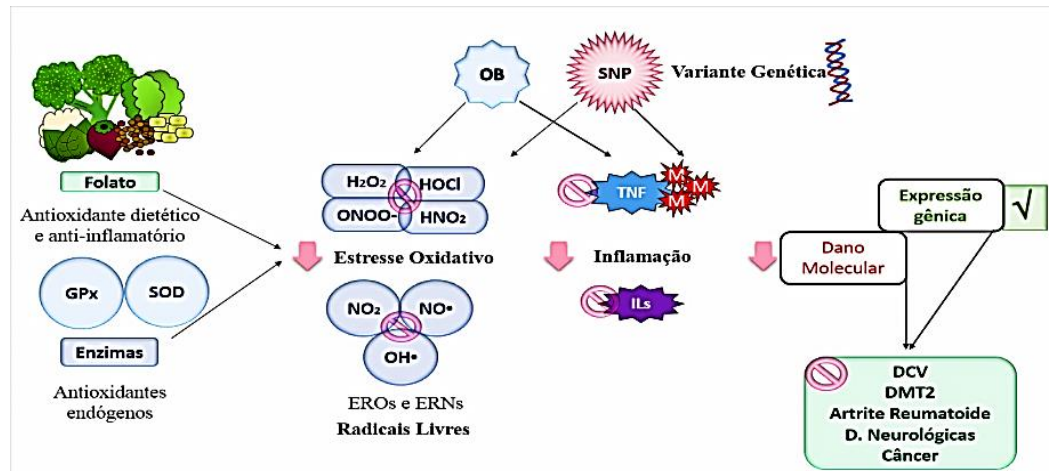
Estudos evidenciam esta relação das concentrações séricas de homocisteína elevadas em indivíduos com o polimorfismo C677T do *MTHFR* pela redução da funcionalidade enzimática codificada, tornando-se fator predisponente para o desenvolvimento de doença arterial coronariana e aterosclerose (CAI et al., 2014; GHAZNAVI et al., 2015).

Em contrapartida, os autores de uma meta-análise com 19 ensaios clínicos randomizados e 47.921 participantes concluíram que a suplementação de vitaminas do complexo B (folato, vitamina B6 e vitamina B12) não teve impacto sobre o risco de doença cardiovascular, infarto do miocárdio, doença cardíaca coronária ou morte cardiovascular, apesar de ter reduzido o risco de acidente vascular cerebral em 12%. Contudo, algumas evidências já mostram que a suplementação de ácido fólico com ou sem vitamina B12 e vitamina B6 pode ajudar a reduzir o risco ou a severidade da doença cardiovascular, demonstrando um possível efeito protetor no acidente vascular cerebral (HUANG et al., 2012).

O consumo ou suplementação adequada de folato ou ácido fólico além de eficaz para DCV e DTN, tem se mostrado essencial para reduzir a probabilidade de desenvolver autismo em crianças, doença de Alzheimer e outras doenças neurológicas, bem como as complicações relacionadas aos polimorfismos do gene *MTHFR* (ALBERT et al., 2008; GAO et al., 2009; ARMITAGE et al., 2010; GAO, S. et al., 2013; COPP; STANIER; GREENE, 2013; HINTERBERGER; FISCHER, 2013; ARAÚJO et al., 2015; LYALL, SCHMIDT; HERTZ-PICCIOTTO, 2014; MARTEL et al., 2015).

O folato e a vitamina B12 são nutrientes necessários para a metilação de Hcy em metionina, e foi sugerido que os níveis plasmáticos reduzidos de folato, vitamina B6 e vitamina B12 estão associados a um nível elevado de Hcy (COLLIN, 2013). Além disso, verificou-se que a hiperhomocisteinemia provoca o esgotamento do Glutathione (GSH) e o comprometimento da capacidade antioxidante total (CAT), indicando uma condição de estresse oxidativo celular, como evidenciado por um aumento nas EROS, malondialdeído (MDA) e Nitritos e Nitratos (Figura 3) (WALY et al., 2016).

Figura 3. Efeito antioxidante e anti-inflamatório do folato.



Fonte: Da Costa et al. (2012); ilustrado por Lisboa (2017).

Por ser um nutriente com possíveis efeitos anti-inflamatório e antioxidantes, o folato pode ser benéfico na prevenção ou controle da resposta inflamatória. Sendo assim, a utilização deste nutriente como estratégia terapêutica na dieta de indivíduos portadores do polimorfismo C677T do *MTHFR* poderia amenizar os efeitos da hiperhomocisteinemia e das citocinas inflamatórias (JACQUES et al., 1996; SAINI; NILE; KEUM, 2016; HEL et al., 2016).

Apesar dos avanços na área da saúde proporcionados pela emergente nutrigenética, ainda há poucos estudos mostrando a associação entre consumo de frutas e vegetais (FV) e risco de DCV, doenças coronarianas e outras doenças crônicas (OKUDA et al., 2015).

Em estudo realizado por Okuda et al. (2015), avaliando esta relação na população Asiática, na qual os hábitos alimentares e a estrutura da doença são diferentes dos países ocidentais, os resultados evidenciaram que elevada ingestão total de frutas e vegetais estava significativamente associada com risco reduzido de mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV) e doenças crônicas não transmissíveis.

O aumento do consumo de alimentos ricos em antioxidantes, micronutrientes e fitoquímicos tem atuado como prevenção para diminuir o risco de várias doenças crônicas causadas por estresse oxidativo e inflamação (KAY; HOLUB, 2002). Antioxidantes são substâncias que tem como função neutralizar as espécies reativas de oxigênio (EROS), evitando que alterem a estrutura ou função de componentes celulares. Sendo assim considerados como protetores, segundo a teoria do radical livre (RUSSELL et al., 2009; VAN DUYNHOVEN et al., 2013).

Uns antioxidantes dietéticos são muito lipofílicos com longas cadeias alquila (vitamina E, carotenóides), já outros são solúveis em água (ácido ascórbico e vitamina do complexo B, como folato) (RUSSELL et al., 2009; VAN DUYNHOVEN et al., 2013).

Esta diversidade química é de grande impacto sobre a biodisponibilidade, metabolismo, e distribuição celular dos antioxidantes. Os lipofílicos podem propiciar acumulação nas membranas celulares e das lipoproteínas em circulação, enquanto que os solúveis em água são mais susceptíveis a penetrar as membranas celulares mesmo sem transportadores. Desse modo, a biodisponibilidade de nutrientes é complexa, pois depende de vários fatores como resistência à digestão, absorção e conversão metabólica pela microbioma intestinal (RUSSELL et al., 2009; VAN DUYNHOVEN et al., 2013).

A literatura é rica em relação às formas de antioxidantes e as doenças cardiovasculares, mas não há consenso quanto aos méritos relativos desta abordagem terapêutica, em parte devido à heterogeneidade entre as populações de estudo, juntamente com a grande variedade de diferentes abordagens antioxidantes realizadas a partir de intervenções dietéticas e para antioxidantes específicos (por exemplo, a vitamina C, vitamina E, folato). Embora Dauchet et al. (2004), ao realizarem o estudo clínico em indivíduos com doenças cardiovasculares, tenham sugerido que dietas ricas em frutas e legumes atuaram como protetores.

Aumentos significativos na capacidade antioxidante total plasmática (CAT) já foram relatados em estudos humanos, após o consumo agudo e a longo prazo tanto de alimentos e bebidas ricos em antioxidantes, como de várias frutas e legumes, vinho tinto e chás (AU-YEUNG et al., 2006; FENG et al., 2011; HEL et al., 2016).

Dessa forma, nutrientes atuam modulando os efeitos resultantes de variantes genéticas pró-inflamatórias (KORNMAN; MARTHA; DUFF, 2004), principalmente os com função antioxidante e provenientes da alimentação. Sendo cruciais no controle do processo inflamatório, afinal, reduzem a estresse oxidativo, doenças crônicas associadas e ajudam a regular a expressão de genes (MANGGE et al., 2014).

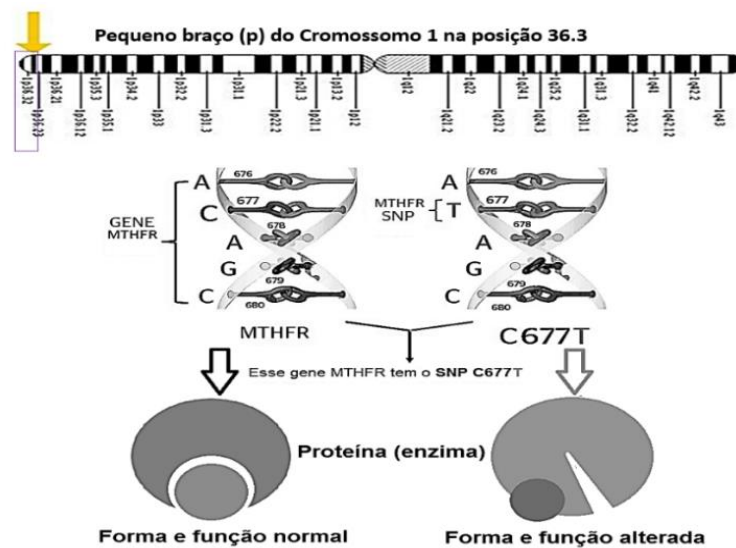
2.3 INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T NO GENE *MTHFR* E METABOLISMO DO ÁCIDO FÓLICO

Dentre os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) mais comuns e que vem sendo bem estudado no gene *MTHFR*, temos o C677T ou rs1801133, presente no cromossomo 1 na posição 1p36.3 (Figura 4), que pode propiciar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares,

defeitos no tubo neural, derrame, pressão arterial elevada, glaucoma, cânceres e outras condições (RUBINO et al., 2009; GASPARINI, SUTHERLAND, GRIFFITHS, 2013; DI RENZO et al., 2014).

Assim este polimorfismo acarreta em uma substituição da base nitrogenada citosina pela timina no nucleotídeo 677 ($C \rightarrow T$), consequentemente, esta substituição muda a estrutura quaternária da proteína e reduz a atividade da enzima, a atividade da enzima MTHFR em indivíduos com o genótipo CT é 65%, enquanto que nos indivíduos com a variante TT a atividade atinge apenas 30% da sua capacidade, ambos comparados com o genótipo CC, resultando em diminuição da metiltetraidrofolato, o único dador de carbono para a conversão de Hcy em metionina (FRISO; CHOI, 2005; LIU et al., 2010; GASPARINI, SUTHERLAND, GRIFFITHS, 2013; MAHER et al., 2013).

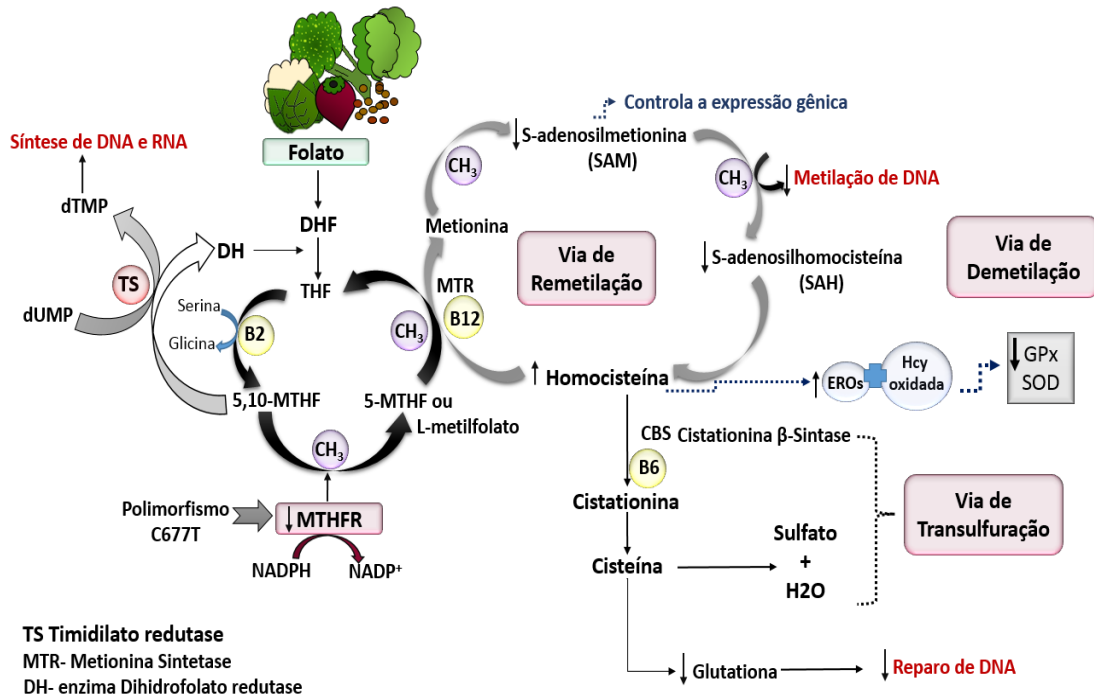
Figura 4. Gene *MTHFR*, polimorfismo C677T e funcionalidade da enzima.



Fonte: adaptado de Gene Cards (2017) e PureGenomics (2017).

A metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR) é a enzima chave no metabolismo do ácido fólico ou metabolismo de um carbono e na via de remetilação. É codificada pelo gene *MTHFR*, catalisando a conversão da homocisteína em metionina, doando um grupo metil e com auxílio de co fatores como vitamina B12, vitamina B6. A MTHFR ainda é responsável pela forma circulante de folato, 5-metil-tetra-hidrofolato, que fornece grupos metil para a metilação de homocisteína para metionina e metionina S - adenosil, o doador de metil comum para a manutenção da metilação de DNA (Figura 5) (FROSTT et al., 1995; MOLL; VARGA, 2015).

Figura 5. Influência do polimorfismo C677T no metabolismo do ácido fólico.



Fonte: Sharp; Little (2004); Hiraoka; Kagawa (2017); ilustrado por Lisboa (2016).

Assim, os principais efeitos da variante C677T podem ser níveis aumentados de homocisteína e uma concomitante diminuição da S-adenosilmetionina (SAM), como relatado na maioria dos estudos. Em excesso, homocisteína é considerada um amino ácido tóxico que compromete a homeostase celular por várias vias envolvendo super-estimulação de N-metil-d-aspartato (NMDA), o estresse oxidativo, danos no DNA, retículo endoplasmático, disfunção mitocondrial e em excesso causa remodelação em tecidos vasculares (ZIEMINSKA; LAZAREWICZ, 2006; PERLA-KAJAN et al., 2007; MOLL; VARGA, 2015).

Zhang et al. (2006), Holven et al. (2006) e McCarty, O'Keefe, DiNicolantonio (2017), observaram em seus estudos uma relação entre concentrações elevadas de homocisteína e uma ativação imunitária com produção de citocinas inflamatórias.

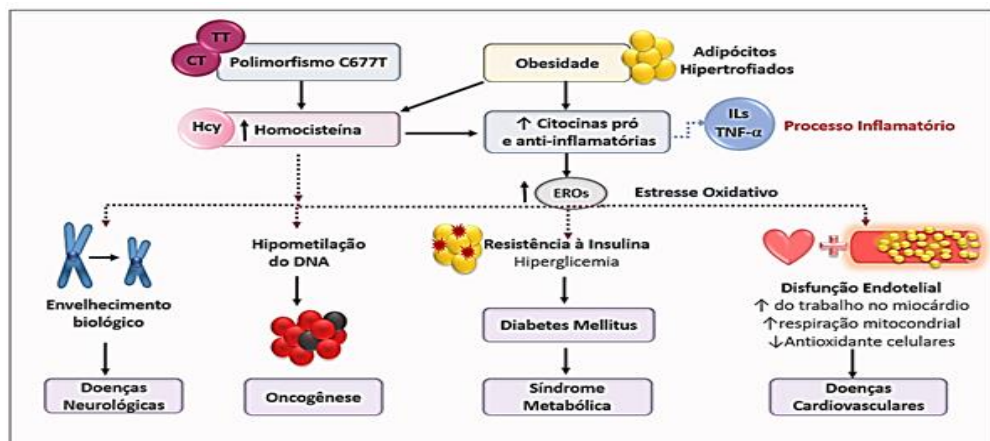
Desse modo, a hiperhomocisteinemia ocasiona um quadro inflamatório, gerando radicais livres e o estresse oxidativo, com espécies reativas de oxigênio (EROS) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) (LÜ et al., 2010; WU et al., 2017). Este quadro de estresse oxidativo propicia o desenvolvimento de diversas doenças, tais como obesidade, doenças cardiovasculares, cânceres, diabetes mellitus e síndrome metabólica (CERIELLO; MOTZ, 2004; RESCIGNO et al., 2017).

As Interleucinas (IL) podem estimular muitas vias de sinalização e, assim, regulam a transcrição de genes alvo que participam na proliferação e sobrevivência celular (GELALETI et al., 2012). Algumas citocinas podem ter ação pró (célula T *helper* ou auxiliar 1 - Th1), como as interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), interleucina-12p70 (IL-12), interleucina-7 (IL-7), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), interferons (IFN), interleucina-2 (IL-2) e quimiocinas ou anti-inflamatória (célula T *helper* ou auxiliar 2 - Th2) como as a interleucina-4 (IL-4), interleucina-10 (IL-10), interleucina-13 (IL-13), assim como, o receptor antagonista da IL-1 (IL-1ra), TGF- β (Transformador de Fator de Crescimento) de acordo com o ambiente em que estão localizadas (BELOTTO, 2011).

A inflamação é uma causa crônica e sistêmica de diversas doenças relacionadas a idade, incluindo aterosclerose, doenças cardiovasculares, doenças de Alzheimer e câncer. Dados recentes mostram que a inflamação crônica sistêmica contribui para ansiedade, depressão, declínio cognitivo, resistência à insulina e princípio de diabetes mellitus tipo 2 em adultos, obesidade e doença de Parkinson (RESCIGNO et al., 2017).

A obesidade é hoje uma doença crônica que acomete grande parte da população mundial. O excesso de adiposidade característico gera TNF- α e macrófagos que, juntamente com a Hhcy, diminuição da atividade de antioxidantes endógenos, hipometilação, possivelmente efeito do SNP C677T, desencadeiam processos inflamatórios e estresse oxidativo, aumentando risco de desenvolver doenças crônicas não-transmissíveis (DCNTs). (Figura 7) (GARCIA-PINILLA et al., 2007; DE AMORIM; LOPES; PEREIRA, 2011; LIU; LIU, 2012; SUO; WANG et al., 2015; WU et al., 2016).

Figura 7. Relação Polimorfismo C677T, obesidade e diversas patologias.



Fonte: Ceriello, Motz (2004); ilustrado por Lisboa (2016).

A IL-1 β e o TNF- α trabalham de forma sinérgica, pois a IL-1 β sozinha não tem potencial de provocar lesão no tecido ou apoptose na resposta de fase aguda. No entanto, juntos, ativam cascatas do sistema plasmático logo no início do processo inflamatório, com potencial para afetar a ampla rede de mecanismos biológicos deste processo (HEHLGANS; PFEFFER, 2005; SERHAN; CHIANG; VAN DYKE, 2008; LYONS; KENNEDY; ROCHE, 2016).

O TNF- α é uma proteína produzida pelos macrófagos, células endoteliais, fibroblastos e linfócitos T e B logo depois de alguma injúria. Tornando-se um importante mediador no desencadeamento de processos inflamatórios, pois induz produção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-6 (KIM et al., 2008; SORIA et al., 2011). Estimula a síntese de moléculas de adesão endotelial, modula a ativação da cascata de coagulação, através da regulação da expressão da proteína C ativada (CLAUSS et al., 2001; FONG; AHMAD, 2016).

A proteína C - reativa (PCR) tem suas concentrações significativamente elevadas em fase aguda positiva devido a estímulos inflamatórios e síntese hepática induzida pela interleucina- 6 (IL-6) (MELO et al., 2007).

As concentrações elevadas de PCR estimulam a liberação de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , expressão de Molécula-1 de Adesão Intercelular (ICAM-1) e Molécula-1 de Célula Vascular (VCAM-1) pelas células do endotélio, redução a liberação de óxido nítrico basal, considerada o início do desenvolvimento da aterosclerose e hipertensão arterial (MELO et al., 2007).

IL-6, IL-1 β , TNF- α são elevadas na maioria dos estados inflamatórios e tem sido reconhecidas como alvo de intervenção terapêutica. As citocinas inflamatórias associadas às respostas inflamatórias prejudiciais normalmente são membros da família da interleucina-1 (IL-1), a IL-1- α e IL-1 β (SCHELLER et al., 2011; MCCARTYA; O'KEEFEB; DINICOLANTONIOB, 2017).

Um dos fatores pró-inflamatórios mais importante associado à lesão cerebral e risco elevado de doença neurodegenerativa é a interleucina - 1 β (IL-1 β). Pois a inflamação crônica está ligada a atividade da telomerase e o encurtamento do comprimento dos telômeros tendo papel importante no envelhecimento e na doença de Alzheimer (ALLAN, 2000; DIDIER et al., 2003; HAYES et al., 2004; DZIEDZIC et al., 2005; KAUFFMAN et al., 2008; SCHMITZ; CHEW, 2008; BAUNE et al., 2009; FINCH, 2010; DAUNCEY, 2012; DAUNCEY, 2014; SINGHAL et al., 2014; BONFIGLI et al., 2016).

A IL-6 tem atividade pró-carcinogênica por atuar na proliferação de células tumorais, sendo também um dos sinais de ativação do Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B), promovendo a

diferenciação celular e metástase (GERMANO; ALLAVENA; MANTOVANI, 2008; LORUSSO; RÜEGG, 2008; DRYGIN et al., 2011; HAMIDULLAH; CHANGKIJA; KONWAR, 2012).

IL - 4, citocina anti-inflamatória que produz IgE e induz inflamação, contribui assim para a auto-imunidade; também recruta e ativa células imunitárias, possui efeitos antitumorais, inibe a angiogênese, inflamação, trombose e o crescimento de alguns tipos de câncer (GOOCH; LEE; YEE, 1998; GOOCH; CHRISTY; YEE, 2002; NICOLINI; CARPI; ROSSI, 2006; WILCZY'NSKI, 2006; GOMES et al., 2012). Polimorfismos no gene da IL-4 podem alterar os níveis de citocina, causar perturbações no funcionamento do sistema imunológico e ter participação em várias doenças auto-imunes (GALBRAITH; PANDEY, 1995).

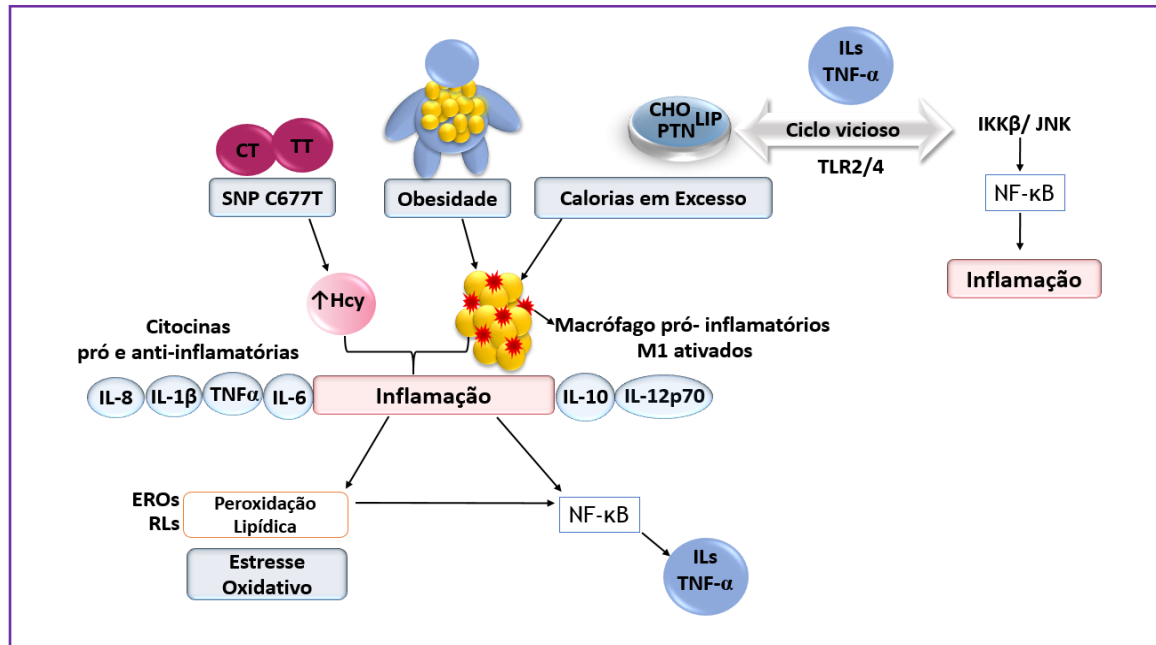
A IL-8 é uma quimiocina pró-inflamatória sintetizada por macrófagos, monócitos, linfócitos T, fibroblastos e células endoteliais e epiteliais após estímulo da IL-1 α , IL-1 β , IL-17, TNF- α ou receptores do tipo Toll (TLRs). É importante na inflamação por promover a quimiotaxia de neutrófilos, basófilos e linfócitos T, regular a diapedese de neutrófilos, promover o recrutamento e ativação destes na inflamação, pela migração de células para outros tecidos na angiogênese e metástase (LANDSKRON et al., 2014). A IL-8 está presente em várias doenças inflamatórias, pois recruta células NK, células T e basófilos (CHENG, 2005; BURKE et al., 2008; BEIGELMAN et al., 2015).

A IL-10, citocina anti-inflamatória, produzida por células Th1 e Th2, com função de inibir a produção e liberação das citocinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-4, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 e IL-18 e suprime o NF- κ B), produzidas por macrófagos, monócitos e células dendríticas (PESTKA et al., 2004; O'GARRA; VIEIRA, 2007; HAMIDULLAH; CHANGKIJA; KONWAR, 2012; STANIC et al., 2015). A inibição da síntese de TNF- α por macrófagos, provocada pela IL-10, reduz a capacidade destas células para eliminar organismos intracelulares (MOORE et al., 2001; HECKEL et al., 2011; MUMM et al., 2011) (PESTKA et al., 2004; O'GARRA; VIEIRA, 2007).

A relação do NF- κ B e função imunológica, inflamação, oncogênese e outras doenças metabólicas vem sendo bem estabelecida em vários estudos, estando associada a integração nutrientes e sistemas patogênicos (BAKER et al., 2011; SOLINAS; KARIN, 2010; TORNATORE et al., 2012; DI DONATO et al., 2012; PERKINS, 2012). O estresse oxidativo é agravado pela produção de várias citocinas inflamatórias, desencadeadas pela ativação da via de sinalização NF- κ B iniciada possivelmente pela hiperhomocisteinemia, obesidade e consumo

excessivo de calorias, tornando-se um ciclo vicioso (Figura 8) (SALDANHA et al., 2013, CONNAUGHTON et al., 2016).

Figura 8. Influência do SNP C677T e obesidade na inflamação.



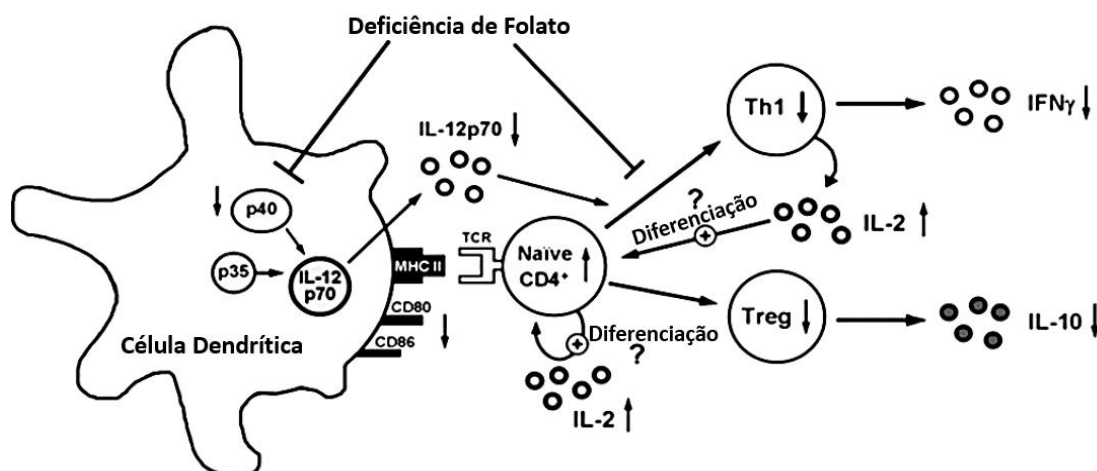
Fonte: Tornatore et al. (2012), ilustrado por Lisboa (2016).

A IL-12 é uma citocina pró-inflamatória, produzida por células dendríticas, macrófagos e linfócitos Th1, nestes a liberação de IL-12 pode induzir a síntese de IL-10. É constituída por subunidades IL-12p35 e IL-12p40, que quando expressas juntas tem-se a forma bioativa IL-12p70 (HUNTER, 2005; BEADLING; SLIFKA, 2006; O'GARRA; VIEIRA, 2007; JONES et al., 2012; SERAFINI; VOSSHENRICH; DI SANTO, 2015; WU; HUANG; LIN, 2017).

A IL-12 é responsável pela geração de células T Th1, indução da produção de IFN-gama a partir de células natural killer (NK) e células T, potencializando a citotoxicidade de NK, a diferenciação de células T em efetores Th1, tendo assim participação importante no desenvolvimento da imunidade mediada por células (CMI) (TRINCHIERI, 2001; JONES et al., 2012; SERAFINI; VOSSHENRICH; DI SANTO, 2015; WU; HUANG; LIN, 2017).

A deficiência de folato tende a reduzir a produção de IL-12p70 e a maturação de células dendríticas (DC), consequentemente reduzindo a produção de IL-10, inibindo a diferenciação de células T CD4+ para a Th1 e Treg de células T CD4+ naïve ou virgens (Figura 9) (WU; HUANG; LIN, 2017).

Figura 9. Deficiência de folato e relação com IL-12p70 e IL-10.



Fonte: Wu; Huang; Lin (2017).

A resposta inflamatória promovida pelos níveis aumentados de homocisteína (Hhcy) pode ter impacto significativo sobre o envelhecimento do cérebro, através da produção de danos neurais e gliose, que são pontos pequenos do cérebro, geralmente em áreas mais profundas, recebem pouco oxigênio, glicose e irrigação sanguínea, desencadear inflamação vascular através da expressão do Fator de Necrose Kappa B (NF- κ B) mediada por citocinas pró-inflamatórias, Proteína Quimiotática de Monócitos-1 (MCP-1) e IL-8 e estarem associados a variante C677T do gene *MTHFR*, caracterizando fator de risco para doenças cardiovasculares e neurológicas (BROD, 2000; WILSON; FINCH; COHEN, 2002; BISWAS et al., 2003; AUSTIN; LENTZ; WERSTUCK, 2004; LAZZERINI et al., 2007; SCHMITZ; CHEW, 2008; FINCH, 2010; SINGHAL et al., 2014; BONFIGLI et al., 2016).

Em estudos envolvendo a variante C677T no gene *MTHFR*, observa-se associação da enzima MTHFR com o aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína, o que representa fator de risco para a doença vascular e doença de Alzheimer, pois acarreta em um estado inflamatório (BRATTSTRÖM; ISRAELSSON; HULTBERG, 1989; RODRIGO et al., 2003; CASAS et al., 2004; STANKOVIC; MAJKIC-SINGH, 2010; SINGHAL et al., 2014; BESSUEILLE; MAGNE, 2015; GUARNER; RUBIO-RUIZ, 2015; BHATTI; BHATTI; REDDY, 2016).

A combinação da inflamação a dieta rica em calorias pode determinar a via metabólica utilizada pela célula, assim, a inflamação pode sofrer reprogramação metabólica, e os metabólitos resultantes deste processo podem se regenerar e causar mais inflamação e estresse oxidativo (LYONS; KENNEDY; ROCHE, 2016).

3 METODOLOGIA

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Estudo de intervenção, duplo cego, randomizado relacionado ao “II Ciclo de Diagnóstico e Intervenção da Situação Alimentar, Nutricional e das Doenças não Transmissíveis mais Prevalentes da População do Município de João Pessoa/PB” (II DISANDNT/PB), uma pesquisa de base populacional financiada pela FAPESQ/MS/CNPQ, iniciada em maio de 2015 e concluída em maio 2016.

Na referida pesquisa, questionários foram preenchidos com várias informações sobre as características socioeconômicas, demográficas, epidemiológicas, avaliação antropométrica, hábitos de vida, bem como aplicados recordatórios alimentares de 24 horas e realizados exames hematológicos e bioquímicos. Proporcionando assim, a formação de um rico banco de dados que abrangeu todos os níveis socioeconômicos e todas as faixas etárias sendo representativo da população das zonas leste e oeste do município de João Pessoa, Paraíba.

Com base nas informações da prefeitura e IBGE (2010), constatou-se que número superior a 10.000 habitantes e a fração amostral é menor que 5%, não sendo necessário o fator de correção de população finita. Assim, a definição da amostra mínima necessária para que os estimadores dos parâmetros populacionais tenha um nível de confiabilidade de 95% (que equivale a um valor crítico tabela, $Z_{\alpha/2}$ de 1,96) foi feita utilizando o seguinte procedimento de cálculo (BOLFARINE; BOLSAB, 2005):

$$n^* = \frac{\hat{\sigma}^2 Z_{\alpha/2}^2}{E^2}$$

Logo,

$$n^* = \frac{2.601,93^2 \times 1,96^2}{332^2} \approx 236$$

3.2 QUESTÕES ÉTICAS

A pesquisa II DISANDNT/PB, a qual vincula-se esta dissertação, foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFPB,

sob o protocolo nº 0559/2013 (ANEXO A), segundo as normas éticas para pesquisa envolvendo seres humanos, constantes da Resolução 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional da Saúde/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

Esta dissertação teve seu desenvolvimento posterior a identificação de quadras sorteadas do município de João Pessoa e após a identificação dos domicílios. Os objetivos do estudo foram apresentados aos moradores das residências por pesquisadores treinados, seguidos da solicitação para participar na pesquisa. Desse modo, respeitando as diretrizes éticas que regem as pesquisas com seres humanos e a fim de validar a participação destes indivíduos, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi assinado por todos para efetuar o consentimento (APÊNDICE A).

A fim de iniciar o presente estudo, os indivíduos participantes foram selecionados a partir da amostra de adultos que aceitaram participar do II DISANDNT/JP. Levando em consideração os critérios de inclusão e os genótipos referentes ao gene *MTHFR* com o polimorfismo C677T, as pesquisadoras convidaram os indivíduos a participar da intervenção, esclarecendo-os sobre os objetivos do estudo que estava em conformidade com as diretrizes éticas, para que estes ao serem elucidados consentissem participação assinando o TCLE.

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB, sob o protocolo de número 0569/15 (ANEXO B) e cadastrado no Clinical Trials, com o número ID: NCT03186196.

3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A presente intervenção foi realizada com amostra total, selecionada por randomização com base em artigos publicados com intervenção dietética versus polimorfismo (CAVALCANTE et al., 2015; GONÇALVES et al., 2016; ISSA et al., 2016), de 48 mulheres adultas com sobrepeso e obesidade, entre 20 e 59 anos de idade, participantes do II DISANDNT.

3.3.1 Critérios de inclusão

- Mulheres de diferentes condições socioeconômicas e com estado cognitivo preservado.

3.3.2 Critérios de exclusão

- Mulheres adultas etilistas, tabagistas ou com distúrbios neuropsiquiátricos;
- Fazendo uso de medicamentos (prednisona, hidrocortisona, dexametasona, cloranfenicol e ácido acetilsalicílico) que interferem no metabolismo do ácido fólico (durante os últimos 3 meses);
- Utilizando suplementos polivitamínicos, minerais, anorexígenos e anabolizantes;
- Com doenças crônicas influentes sobre o sistema endócrino e metabólico;
- Gestantes ou planejando engravidar durante o período do estudo.

3.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

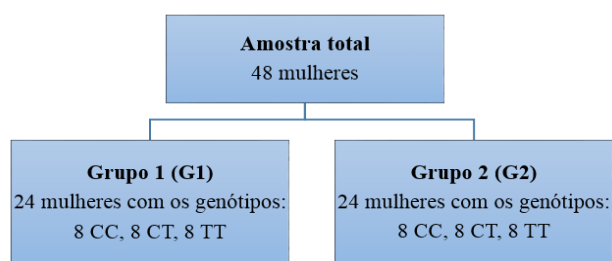
Inicialmente foram avaliados os critérios de elegibilidade e em seguida as mulheres que consentiram participação foram orientadas a manter peso estável, hábitos alimentares e níveis de atividade física constantes em relação aos dados encontrados na linha de base (*baseline*) (SWITZENY et al., 2012). Além destas orientações, passaram pela baseline com plano dietético individual, 1 semana antes do início da intervenção dietética, baseados no modelo “Alterações do Estilo de Vida Terapêuticas” (AEVT), do Programa Nacional de Educação para o Colesterol dos EUA (NCEP) (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002), e nas da Associação Americana do Coração (LICHTENSTEIN et al., 2006).

O cálculo do gasto energético total das participantes foi realizado com base nas fórmulas das Dietary References Intake (DRIs, 2006). Os macronutrientes foram distribuídos conforme o recomendado pela American Heart Association – AHA (2010), Carboidratos 45 – 65% (recomendado 55%), Proteína 10 – 35% (recomendado 15%), Gordura Total 25 – 35% (recomendado 30%). O sistema de equivalentes proposto e adaptado por Costa (COSTA et al., 2013) (ANEXO C e D) foi o utilizado para efetuar cálculo e análise dos nutrientes contidos na dieta recomendada.

Não foram autorizados a participar do estudo as participantes que pretendiam mudar seus hábitos alimentares com exceção do folato, a frequência de atividade física ou peso corporal dentro do período de estudo (SWITZENY et al., 2012). Todas as terapias médicas dos indivíduos continuaram inalteradas ao longo do estudo.

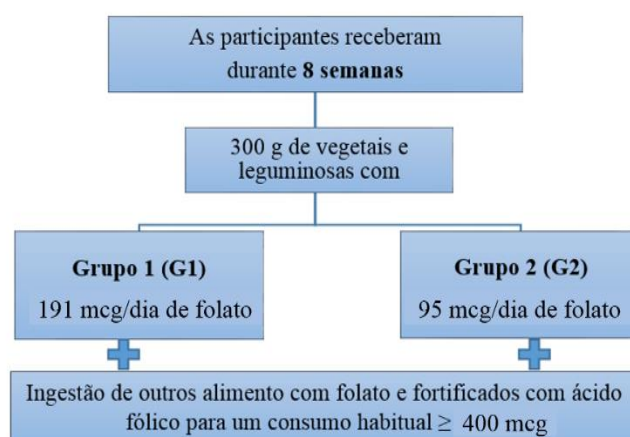
Depois da aplicação do primeiro Recordatório 24h, realização dos exames bioquímicos e análise do polimorfismo C677T no gene *MTHFR*, outro R24h foi aplicado para possibilitar a análise do consumo alimentar antes do período de intervenção. Sendo, as participantes submetidas à *baseline*, para padronizar o consumo alimentar antes do início da intervenção dietética. No final desta semana, cada participante foi alocada nos grupos da intervenção (Grupo 1 – G1: com 24 mulheres, sendo 8 com genótipo CC homozigoto normal, 8 CT heterozigoto e 8 TT homozigoto com alteração, e a mesma distribuição para o Grupo 2 – G2, 24 mulheres, 8CC, 8CT e 8TT), (Figura 10) através de randomização utilizando o Software STATA versão 14.0 para Windows.

Figura 10. Característica dos grupos da intervenção.



Alocadas nos grupos, as participantes iniciaram a intervenção seguindo um plano dietético individual com foco na ingestão de vegetais e leguminosas com folato (191 mcg/dia e 95 mcg/dia de folato), nutriente com ação antioxidante e anti-inflamatória (Figura 11).

Figura 11. Quantidade de folato por grupos da intervenção.

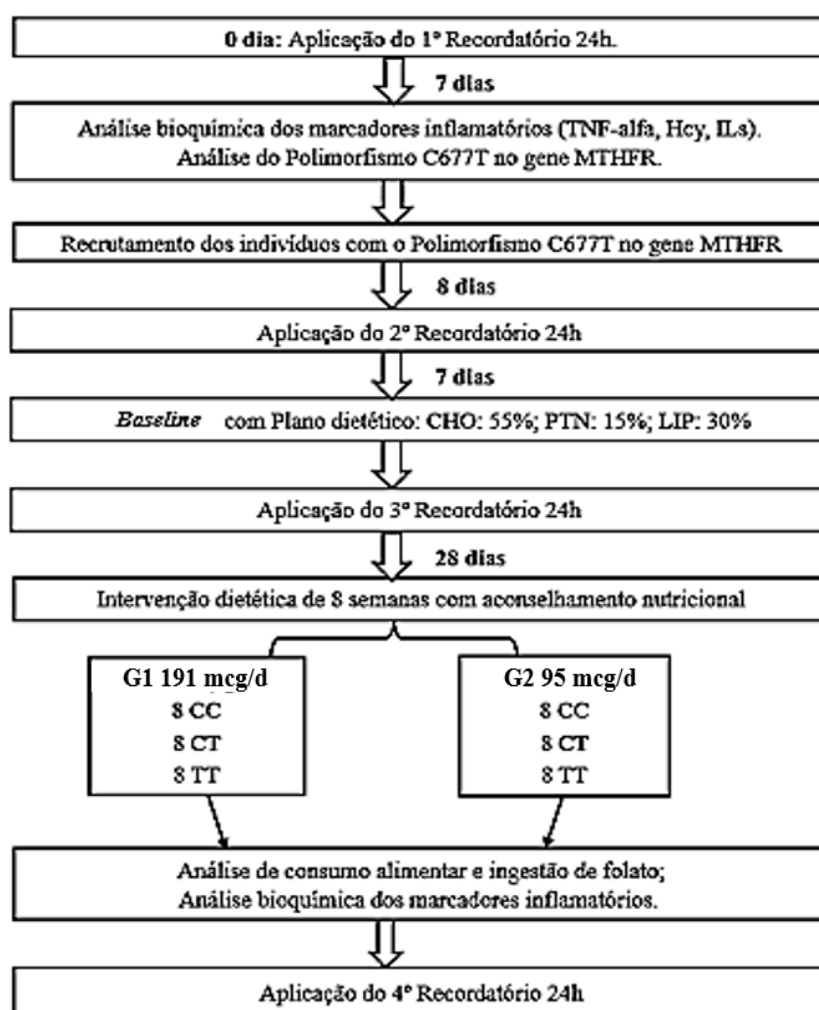


Todas as participantes receberam: sessões de aconselhamento dietético diário nos domicílios e via telefone, realizado pelas duas nutricionistas responsáveis pelo estudo, nas 8

semanas de duração do mesmo; todos os materiais do plano alimentar impressos gratuitamente; os vegetais e leguminosas pré-embalados da intervenção.

Fechando a intervenção dietética, aplicou-se o último Recordatório 24h para verificar a adesão à intervenção e quantificar a ingestão habitual de folato e de nutriente com ação antioxidante e antiinflamatória (Figura 12).

Figura 12. Fluxograma sobre as etapas do protocolo experimental (study profile).



3.4.1 Composição dietética da intervenção

A padronização da pesagem e preparação dos vegetais utilizados na intervenção deste estudo foram realizadas em um restaurante comercial, com supervisão de um profissional nutricionista, do município de João Pessoa/PB, cuja especialidade era a venda de saladas.

Os vegetais preparados pelo restaurante eram devidamente acondicionados em embalagem plástica individual, transportados com refrigeração adequada e entregues pelas pesquisadoras responsáveis que não tinham conhecimento sobre as quantidades que estavam ofertando a cada grupo e nem as participantes sabiam o quanto estavam consumindo. O responsável pela análise estatística também não teve acesso a estas informações. A entrega era diária na residência de cada participante durante 2 meses (08 semanas).

A seguir, nas tabelas 1 e 2 está especificada a composição desta intervenção nutricional, diferenciadas por grupos e quantidade de folato fornecido.

Tabela 1. Dieta consumida pelo Grupo 1 contendo 300g de vegetais e 191 mcg/dia de folato.

Alimento	Quantidade (g)	Folato (mcg)
Semana 1 e 5		
Lentilha cozida escorrida	110	149,3
Milho doce cozido escorrido	60	13,8
Cenoura Crua	55	10,54
Abobrinha cozida, inclui casca	75	18,2
TOTAL	300	191,8
Semana 2 e 6		
Brócolis cozido escorrido	100	108
Soja madura cozida	100	54
Alface, folha verde	50	19
Ervilha cozida	50	9,5
TOTAL	300	190,5
Semana 3 e 7		
Lentilha cozida escorrida	100	135,75
Acelga	60	8,4
Abóbora cozida escorrida	90	8,1
Beterraba cozida	50	40
TOTAL	300	192,25
Semana 4 e 8		
Beterraba cozida, escorrida	100	80
Soja madura cozida	100	54
Couve Flor cozido escorrido, sem sal	75	30,75
Brócolis cozido, escorrido	25	27
TOTAL	300	191,75

Tabela 2. Dieta consumida pelo Grupo 2 contendo 300g de vegetais e 95 mcg/dia de folato.

Alimento	Quantidade (g)	Folato (mcg)
Semana 1 e 5		
Tomate, verde	75	6,75
Beterraba, cozida, escorrida	50	40
Alface, folhas verdes	25	9,50
Couve flor cozido escorrido, sem sal	75	30,75
Pepino com casca, cru	75	5,25
TOTAL	300	94,75
Semana 2 e 6		
Abóbora cozida escorrida, sem sal	125	11,25
Brócolis cozido escorrido	50	54
Alface, folha verde	25	9,5
Milho doce cozido escorrido	75	11,04
Couve flor cozido escorrido, sem sal	25	10,25
TOTAL	300	96,04
Semana 3 e 7		
Acelga, crua	25	3,5
Pepino com casca, cru	75	5,25
Soja madura cozida	150	81
Tomate, verde	50	4,5
TOTAL	300	94,5
Semana 4 e 8		
Cenoura crua ralada	60	11,5
Ervilha cozida	75	14,25
Alface, folha verde	50	19
Abobrinha cozida, inclui casca	75	18,2
Beterraba cozida escorrida	40	32
TOTAL	300	94,95

3.4.2 Desfecho e acompanhamento

Com o objetivo de verificar se houve alterações nos marcadores previamente detalhados em relação ao período pré-intervenção, novas análises bioquímicas das participantes foram realizadas ao final da intervenção alimentar.

O desfecho da intervenção foi analisado de modo intragrupal. Bem como a comparação entre os grupos, possibilitando a verificação de possíveis diferenças a partir da quantidade de folato ingerida.

3.5 COLETA DE DADOS

Realizada pela equipe do II DISANDNT/PB, composta de pesquisadores (alunos de graduação e graduados do curso de Nutrição, mestrandos e doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição - PPGCN da UFPB), devidamente treinados no início da coleta de dados. Esta equipe foi responsável pela aplicação de questionários de consumo alimentar e análises bioquímicas durante as visitas nas residências.

Antes de iniciar a intervenção, foram selecionadas mulheres adultas do banco de dados do II DISANDNT/PB para a realização da genotipagem do polimorfismo C677T do gene *MTHFR*, respeitando os critérios de inclusão e de exclusão e apresentando um dos três genótipos possíveis para este polimorfismo (CC, CT ou TT).

3.5.1 Avaliação nutricional

As medidas de peso e altura foram aferidas em triplicata para utilização da média desses três valores (ANEXO E). Também foi realizado o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), por meio da fórmula do peso corporal (kg) dividido pelo quadrado da altura (metros), sendo o estado nutricional classificado pelos pontos de corte para adultos (20 a 59 anos) da Organização Mundial de Saúde (OMS): $<18.5 \text{ kg/m}^2$ (baixo peso), $18.5\text{-}24.9 \text{ kg/m}^2$ (peso normal), $25.0\text{-}29.9 \text{ kg/m}^2$ (excesso de peso), $30.0\text{-}39.9 \text{ kg/m}^2$ (obesidade), e $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ (extremamente obesas) (WHO, 2000).

3.5.2 Consumo alimentar

A avaliação do consumo alimentar foi realizada mediante aplicação de quatro Recordatórios Alimentar 24 horas (R24h), separados por um intervalo de 15 dias e incluindo um dia do final de semana (ANEXO F).

Os recordatórios foram preenchidos pela equipe segundo relato dos indivíduos entrevistados, contemplando as seguintes informações: hora da refeição, identificação da bebida ou do alimento ingeridos com as características específicas como tipo, ingredientes das preparações, a marca, o modo de preparo, a quantidade consumida, o tamanho da porção e as medidas caseiras. Para conhecimento do consumo habitual, no II DISANDNT.

Para quantificação do tamanho das porções consumidas de modo eficaz e redução das possíveis falhas de memória dos entrevistados, foi utilizado um álbum com figuras de alimentos representando as medidas caseiras em diferentes dimensões (pequena, média, grande e extragrande). Sendo estes desenhados de acordo com o peso real do consumo médio dos alimentos validados para esta população (ASCIUTTI et al., 2005; PEREIRA et al., 2013).

Todos os ingredientes e as quantidades das preparações dos alimentos foram detalhados, sendo os alimentos analisados pelo Dietwin, software de Nutrição que possui em torno de 5230 alimentos e várias receitas. Todos cadastrados com base na 4ª versão das tabelas da TACO e do DIETWIN, uma compilação das tabelas: IBGE, USDA, CENEXA, Alemã, Repertório Geral dos Alimentos e Fichas Técnicas de Receita. Para análise do consumo alimentar do folato foram utilizados a tabela USDA (2015) e o Dietwin.

A fim de estimar a variabilidade do consumo habitual/diário de nutrientes e corrigir a variância intrapessoal, foram utilizados os recordatórios de R24h e o Método de Fonte Múltipla (Multiple Source Method - MSM) disponível online (<https://msm.dife.de/tps/msm/>), foi utilizado. O Método de Fonte Múltipla (MSM) trata-se de um novo método estatístico do European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC, 2012) para estimar a ingestão dietética usual de nutrientes e alimentos para as populações e também para os indivíduos, incluindo alimentos consumidos episodicamente.

3.5.3 Análise bioquímica

A coleta das amostras de sangue foi realizada na residência de cada participante da intervenção, previamente avisadas e submetidas a um jejum de 12 horas, por uma equipe por equipe treinada e coordenada por uma enfermeira. O sangue coletado da veia braquial, com auxílio de um garrote, posicionado na linha média do braço, foi mantido em tubos estéreis de 4 mL à vácuo, um com ativador de coágulo para analisar o soro e o outro para analisar o plasma com anticoagulante Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA), sendo conservados em caixa térmica com gelo por no máximo duas horas.

Foram realizadas análises bioquímicas das concentrações de ácido fólico, vitamina B12, homocisteína (Hcy), Fator de Necrose Tumoral (TNF- α), citocinas pró-inflamatórias: interleucinas IL-1 β , IL – 6, IL – 8, IL – 12p70; interleucina anti-inflamatória IL – 10, ao final da aplicação do 3º Recordatório 24 horas (R24h) e da avaliação antropométrica, durante a coleta

de dados do II DISANDNT/JP, bem como após a conclusão da intervenção nutricional do presente estudo.

As amostras foram inicialmente centrifugadas até que se obtivesse o soro no Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e a Saúde, do Departamento de Educação Física da UFPB. Após centrifugação, os soros foram armazenados em tubos Eppendorf, plásticos e estéreis, estocados a -20 °C para posterior análise. O soro de cada amostra foi analisado no laboratório de Farmacologia Cardiovascular do Cbiotec da UFPB e também no laboratório Roseanne Dore.

3.5.3.1 *Ácido Fólico e vitamina B12*

O método de Quimioluminescência foi utilizado para os procedimentos de análise das concentrações séricas de ácido fólico, cujo valor de referência > 3.10 ng/mL e a sensibilidade analítica de 0.5 ng/mL, realizadas no Laboratório Clínico Roseanne Dore. As concentrações séricas de vitamina B12 foram avaliadas através por imunoensaio de electroquimioluminescência com valor de referência de 180 pg/mL a 914 pg/mL.

3.5.3.2 *Homocisteína*

O método de Pfeiffer; Huff; Gunter (1999) e Nunes et al. (2000) foi o selecionado para a medição da concentração sérica de homocisteína através da cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC – *high performance liquid chromatography*) com detecção fluorimétrica e eluição isocrática, sendo realizada no Laboratório Clínico Roseanne Dore, utilizando os valores de 5.32 – 15.22 mmol/L como referência.

Assim, o plasma é tratado com agente redutor tris-carboxietilfosfina (TCEP) que possibilita quantificar a Homocisteína total, por meio da separação da Hcy em duas moléculas, bem como daquelas ligadas às proteínas plasmáticas. Posteriormente, a reação e precipitação das proteínas é interrompida com a utilização de ácido tri-cloro acético (TCA), e em seguida são centrifugados mais uma vez para separação das proteínas. Após a centrifugação, transfere-se o sobrenadante para outro recipiente, que reagirá com o 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonato (SBD-F), um agente específico para marcação fluorescente do átomo de enxofre.

Na etapa final, após a incubação, o produto é injetado no equipamento de Cromatografia Líquida de Alto Desempenho-HPLC utilizando coluna de fase reversa. Efetuando a detecção da fluorescência dos compostos separados em aproximadamente 7 minutos com auxílio do detector ajustado para excitação 385nm e emissão 515nm.

3.5.3.3 *TNF- α e Interleucinas*

A análise bioquímica foi realizada após término de aplicação do R24h. Foram feitas análises das citocinas pró-inflamatórias: interleucinas IL-1 β e IL – 6 e Fator de Necrose Tumoral (TNF- α). As coletas sanguíneas foram realizadas nos domicílios por uma equipe, devidamente treinadas e coordenado por uma enfermeira, e todos os indivíduos foram informados sobre a necessidade de jejum de 12 horas.

As amostras foram inicialmente centrifugadas até que se obtivesse o soro no Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e a Saúde, do Departamento de Educação Física da UFPB. Após centrifugação, os soros foram armazenados em tubos Eppendorf, plásticos e estéreis, estocados a -20 °C para posterior dosagem.

O soro de cada amostra foi avaliado no laboratório de Farmacologia Cardiovascular do Cbiotec da UFPB e também no laboratório Roseanne Dore.

A dosagem quantitativa do TNF- α e das Interleucinas foi realizada com 25 μ L do soro da amostra incubando por 3 horas a temperatura ambiente com agitação, foi realizada através de um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente IMMULITE/IMMULITE 1000 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA).

O valor de referência é de não detectável a 8.1 pg/mL para TNF- α e para as interleucinas os valores de referência de 0 a 15 pg/mL para IL-1 β , de 0 a 5.9 pg/mL para IL-6 (ELEFTERIADES, 1997; KROEGEL; ANTHONY, 1997; SAVARIS, 1998; XIROUCHAKI et al., 2002; BENITEZ et al., 2004; JUNQUEIRA et al., 2005).

3.5.4 Coleta e isolamento do DNA de leucócitos

Os leucócitos utilizados para coleta isolamento de DNA foram obtidos por punção venosa na coleta de sangue total em tubo estéreis de 4mL com 7,2 mg de K3-EDTA.

Todas as amostras sanguíneas coletadas foram analisadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular Aplicada do Departamento de Biologia Molecular da UFPB, seguindo os procedimentos de forma adaptada do protocolo de Miller; Dykes; Polesky (1988).

Inicialmente, para lisar as hemácias sem desintegrar os leucócitos, uma solução de lise 1, composta de 10 mM Tris-HCl pH 8, 5 mM EDTA, 0,3 M sacarose, Triton-X-100 1%, foi usada para diluição das amostras de sangue, posteriormente centrifugadas à 3.200 rpm para descarte do sobrenadante.

A fim de se obter o precipitado de leucócitos puros este procedimento com solução de lise 1 e centrifugação foi realizado três vezes. Posteriormente, este mesmo precipitado de leucócitos foi novamente suspenso em uma solução de lise 2 com 10 mM Tris-HCl pH 8, 0,5% dodecil sulfato de sódio (SDS), 5 mM EDTA, 0,2 µg de proteinase K (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e seguiu para 7 horas de incubação em banho-maria a uma temperatura de 55°C. Em seguida, foi adicionado 500 µl da solução aquosa contendo 1 mM EDTA e 7,5 M acetato de amônio, realizada mais uma centrifugação com duração de 10 minutos a 14.000g (força da gravidade) e temperatura de 4°C. O sobrenadante (700 µl) foi transferido para outro tubo estéril onde a precipitação do DNA foi efetuada adicionando 540 µl do isopropanol.

Finalmente, alguns últimos procedimentos sequenciais foram utilizados no precipitado do DNA para obtenção do isolamento: lavagem com etanol 70%, centrifugação por 5 minutos a 12.000 g (força da gravidade), secagem e ressuspensão em tampão Tris-EDTA pH 8,0 (Adaptado de MILLER; DYKES; POLESKY, 1988).

Caso não fosse possível executar todos estes procedimentos referentes à extração do DNA no mesmo dia, as amostras eram armazenadas no freezer a -20°C.

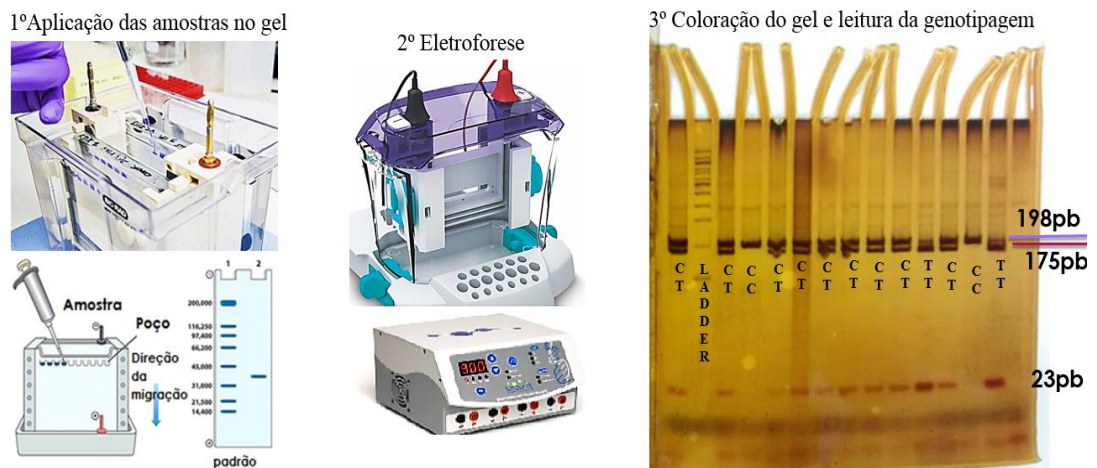
3.5.4.1 Análise do polimorfismo C677T do gene *MTHFR*

O polimorfismo C677T no gene *MTHFR* foi analisado por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction – PCR). Foram utilizadas os iniciadores (primers): 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3' (sense) e 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3' (antisense) (FROSST et al., 1995). Em seguida, o processo de amplificação foi conduzido em termociclador com uma condição de desnaturação inicial por 10 minutos a 94°C, 35 ciclos de desnaturação também a 94°C, por 30 segundos, seguida de anelamento a 61°C em 30 segundos, extensão de 30 segundos à 72°C com etapa extra de extensão final (10 minutos) à 72°C.

Após todas estas etapas, obteve-se um produto de 198 pb que posteriormente sofreu digestão com a enzima *HinfI*, responsável por reconhecer e clivar o alelo T polimórfico dividindo-o em dois fragmentos: um de 175 pb e outro menor com 23 pb. Diferentemente do alelo ancestral C que continua com 198 pb.

Para análise dos genótipo, as amostras foram analisadas em gel de poliacrilamida a 12% com eletroforese. Por fim, o gel foi corado com nitrato de prata 0,5% que possibilitou a leitura dos genótipos, como mostra a Figura 13 (ARRUDA et al., 1997).

Figura 13. Procedimentos para análise de polimorfismo.



3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Verificou-se que a distribuição dos dados não tinham fortes desvios de assimetria ou caldas inflacionadas. Logo, pode-se utilizar o Teorema Central do Limite, que diz que, para o tamanho de amostra suficientemente grande neste específico caso $\pm n = 48$, a média amostral tem uma distribuição aproximadamente normal.

As características da amostra foram expressas através de uma estatística descritiva. A simetria das variáveis foi verificada separadamente, uma por uma, adequando-se ao uso do Teorema Central do Limite.

Para analisar os valores iniciais e finais após intervenção dietética, as variáveis normais e/ou não normais foram analisadas de acordo com o Teste-t de Student. O teste-t de Student pode ser usado em variáveis não normais, desde que, para o tamanho da amostra a variável esteja próxima da normalidade de forma que a média amostral tenha distribuição normal com

a mesma média da variável e variância como sendo a variância da variável dividida pelo tamanho da amostra. O que garante o Teorema Central do Limite, que diz que para uma amostra total significativamente grande a média amostral tem uma distribuição aproximadamente normal.

Para comparação das variáveis dos dois grupos por genotipagem foi utilizado o teste de comparação múltiplo de médias ou análise de variância (ANOVA). Em seguida, para se determinar qual (is) o (s) par (es) de médias diferentes após a realização da ANOVA, foi realizado um teste não-planejado, teste a posteriori ou teste pos hoc, neste caso o teste de Tukey (HSD), comparando médias duas a duas. A análise residual dos modelos estava dentro dos pressupostos para as variáveis do estudo.

A hipótese nula é que não há diferença entre os verdadeiros valores das médias populacionais do grupo 1 e do grupo 2 e a hipótese alternativa é que há diferença significativa entre tais médias.

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do Software R versão 3.3.2 (disponível em: <https://cran.r-project.org/>), adotando-se o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese de nulidade.

REFERÊNCIAS

ACECGT. ACECGT Nutrigene. **DNA and Nutritional Genomics**: Single Nucleotide Polymorphisms (SNP). Disponível em: <https://www.acecgtnutrigene.com/genomics.htm>, 2017.

AHA (American Heart Association): **Dietary Guidelines for American**. 2010. Disponível em: https://www.heart.org/idc/groups/heart-public/@wcm/@adv/documents/downloadable/ucm_312853.pdf.

ALBERT, C. M. et al. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 299, n. 17, p. 2027-2036, 2008.

ALLAN, S. M. Cortical cell death induced by IL-1 is mediated via actions in the hypothalamus of the rat. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n.10, p. 5580–5585, 2000.

ALSHATWI, A. A. Breast cancer risk, dietary intake, and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) single nucleotide polymorphisms. **Food and chemical toxicology**, v. 48, n. 7, p. 1881-1885, 2010.

ALZOLIBANI, A. A.; ZARI, S.; AHMED, A. A. Epidemiologic and genetic characteristics of alopecia areata (part 2). **Acta Dermatovenerologica Alpina Pannonica Adriatica**, v. 21, n. 1, p. 15–19, 2012.

ARAÚJO, J. R. et al. Folates and aging: Role in mild cognitive impairment, dementia and depression. **Ageing Research Reviews**, v. 22, p. 9–19, 2015.

ARMITAGE, J. M. et al. Effects of homocysteine-lowering with folic acid plus vitamin B12 vs placebo on mortality and major morbidity in myocardial infarction survivors: a randomized trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 303, n. 24, p. 2486-2494, 2010.

ARRUDA, V. R. et al. The mutation ala677val in the MTHFR gene: A risk factor for arterial disease and venous thrombosis. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 77, p. 818–821, 1997.

ASCIUTTI, L. S. R. et al. **Manual de porções média em tamanho real baseado no atoumprograma dietsys para estudo de base populacional**. UFPB, 2005.

AUSTIN, R. C.; LENTZ, S. R.; WERSTUCK, G. H. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. **Cell Death and Differentiation Journal**, v. 11, n. 1, p. 56–64, 2004.

AU-YEUNG, K. K. et al. Folic acid inhibits homocysteine-induced superoxide anion production and nuclear factor kappa B activation in macrophages. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 84, n. 1, p. 141-147, 2006.

- BAKER, R.G. et al. NF- κ B, inflammation, and metabolic disease. **Cell Metabolism**, v. 5, n. 1, p. 11–22, 2011.
- BASSETT, J. K. et al. Dietary intake of B vitamins and methionine and colorectal cancer risk. **Nutrition and Cancer**, v. 65, n. 6, p. 659-667, 2013.
- BAUNE, B. T. et al. Association between cytokines and cerebral MRI changes in the aging brain. **Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology**, v. 22, n. 1, p. 23–24, 2009.
- BEADLING, C.; SLIFKA, M. K. Regulation of innate and adaptive immune responses by the related cytokines IL-12, IL-23, and IL-27. **Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis**, v. 54, p. 15-24, 2006.
- BEIGELMAN, A. et al. Randomized trial to evaluate azithromycin's effects on serum and upper airway IL-8 levels and recurrent wheezing in infants with respiratory syncytial virus RSV bronchiolitis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 5, p. 1171-1178, 2015.
- BELOTTO, M. F. Efeito do exercício físico sobre o estado inflamatório de diabéticos. **Lecturas, Educación Física y Deportes (Revista Digital)**, v. 16, n. 159, 2011.
- BENSON, M. Clinical implications of omics and systems medicine: Focus on predictive and individualized treatment. **Journal of Internal Medicine**, v. 279, p. 229–240, 2016.
- BESSUEILLE, L.; MAGNE, D. Inflammation: A culprit for vascular calcification in atherosclerosis and diabetes. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, p. 2475–2489, 2015.
- BHATTI, J. S.; BHATTI, G. K.; REDDY, P. H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 5, p. 1066-1077, 2016.
- BINIA, A. et al. Geographical and ethnic distribution of single nucleotide polymorphisms within genes of the folate/homocysteine pathway metabolism. **Genes Nutrients**, v. 9, n. 5, p. 421, 2014.
- BISWAS, D. K. et al. Apoptosis caused by chemotherapeutic inhibition of nuclear factor- κ B activation. **Cancer Research**, v. 63, n. 2, p. 290–295, 2003.
- BOLFARINE, H.; BUSSAB, W. O. **Elementos de amostragem**. São Paulo: Edgard Blücher. p. 274, 2005.
- BONFIGLI, A. R. et al. Leukocyte telomere length and mortality risk in patients with type 2 diabetes. **Oncotarget**, v. 7, n. 32, p. 50835–50844, 2016.

BRATTSTRÖM, L.; ISRAELSSON, B.; HULTBERG, B. Plasma homocysteine and methionine tolerance in early-onset vascular disease. **Haemostasis**, v. 19, n. 1, p. 35–44, 1989.

BROD, S. A. Unregulated inflammation shortens human functional longevity. **Inflammation Research**, v. 49, n. 11, p. 561–570, 2000.

BURKE, S. M. et al. Human mast cell activation with virus-associated stimuli leads to the selective chemotaxis of natural killer cells by a CXCL8-dependent mechanism. **Blood**, v. 111, n. 12, p. 5467–76, 2008.

CAI, W. et al. Association between Hcy levels and the CBS844ins68 and MTHFR C677T polymorphisms with essential hypertension. **Biomedical Reports**, v. 2, n. 6, p. 861–868, 2014.

CARMEL, R. et al. Folic Acid. **Modern Nutrition in Health and Disease**, p. 470–481, 2005.

CARNICER, R. et al. Folic acid supplementation delays atherosclerotic lesion development in apoE-deficient mice. **Life Sciences**, v. 80, n. 7, p. 638–43, 2007.

CARVALHO, B. R. et al. Interaction of MTHFR C677T and A1298C, and MTR A2756G gene polymorphisms in breast cancer risk in a population in Northeast Brazil. **Anticancer Research**, v. 32, p. 4805–4811, 2012.

CASAS, J. P. et al. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke. Thirty-two genes involving approximately 18000 cases and 58000 controls. **Archives of Neurology**, v. 61, p. 1652–1662, 2004.

CAVALCANTE, I. G. M. et al. Effect of vitamin D3 supplementation and influence of BsmI polymorphism of the VDR gene of the inflammatory profile and oxidative stress in elderly women with vitamin D insufficiency. **Experimental Gerontology**, v. 66, p. 10–16, 2015.

CELIS-MORALES, C.; LARA, J.; MATHERS, J.C. Personalising nutritional guidance for more effective behaviour change. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 74, p. 130–138, 2015.

CERIELLO, A.; MOTZ, E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revised. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 24, n. 5, p. 816–23, 2004.

CNF. **Canadian Nutrient File (Dietitian of Canada)**, 2010. Disponível em: <www.hc-sc.gc.ca/fn-an/nutrition/fiche-nutri-data/index-eng.php>.

CHEN, Y. Y.; WANG, B. N.; YU, X. P. Correlation between the 677C>T polymorphism in the methylene tetrahydrofolate reductase gene and serum homocysteine levels in coronary heart disease. **Genetics and Molecular Research: GMR**, v. 15, n. 1, p. 1–6, 2016.

CHENG, C. R. Inflammatory response to anesthesia and ways to attenuate it. **Advances in Anesthesia**, v. 23, p. 107-41, 2005.

CLAUSS, M. et al. A permissive role for tumor necrosis factor in vascular endothelial growth factor-induced vascular permeability. **Blood**, v. 97, p. 1321-9, 2001.

COLLIN, S. M. Folate and B12 in prostate cancer. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 60, p. 1-63, 2013.

CONNAUGHTON, R. M. et al. Nutritional issues in adolescence and adulthood Impact of anti-inflammatory nutrients on obesity-associated metabolic-inflammation from childhood through to adulthood. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, p. 115–124, 2016.

COPP, A. J.; STANIER, P.; GREENE, N. D. Neural tube defects: Recent advances, unsolved questions, and controversies. **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 8, p. 799–810, 2013.

COSTA, M. J. C. C. et al. **Nutrição clínica: uso do sistema de equivalentes na prática dietoterápica**. 2 ed. João Pessoa: Editora da UFPB. 2013.

DA COSTA, L. A. et al. Genetic Determinants of Dietary Antioxidant Status: Recent Advances in Nutrigenetics and Nutrigenomics. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 108, p. 179-200, 2012.

DAIMIEL, L.; VASGAS, T.; MOLINA, A. R. Nutritional genomics for the characterization of the effect of bioactive molecules in lipid metabolism and related pathways. **Electrophoresis**, v. 33, p. 2266–89, 2012.

DAUCHET, L. et al. Frequency of fruit and vegetable consumption and coronary heart disease in France and Northern Ireland: the PRIME study. **The British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 6, p. 963–72, 2004.

DAUNCEY, M. J. Nutrition, the brain and cognitive decline: insights from epigenetics. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 11, p. 1179–1185, 2014.

DAUNCEY, M. J. Recent advances in nutrition, genes and brain health. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 71, n. 4, p. 581–591, 2012.

DE AMORIM, K. S.; LOPES, A. S.; PEREIRA, I. A. Impacto do exercício físico nos níveis de homocisteína, um fator de risco para aterosclerose: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 16, n. 1, 2011.

DI DONATO, J. A. et al. NF- κ B and the link between inflammation and cancer. **Immunological Reviews**, v. 246, p. 379–400, 2012.

DI RENZO, L. et al. C677T gene polymorphism of MTHFR and metabolic syndrome: response to dietary intervention. **Journal of Translational Medicine**, v. 12, n. 329, 2014.

DIAKITE, B. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and breast cancer risk in Moroccan women. **African Health Sciences**, v. 12, p. 204-209, 2012.

DIDIER, N. et al. Secretion of interleukin-1beta by astrocytes mediates endothelin-1 and tumour necrosis factor-alpha effects on human brain microvascular endothelial cell permeability. **Journal of Neurochemistry**, v. 96, p. 246–254, 2003.

DINARELLO, C. A.; SIMON, A.; VAN DER MEER, J. W. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. **Nature reviews. Drug Discovery**, v. 11, n. 8, p. 633-52, 2012.

DNABASER. **Single nucleotide polymorphism analysis and mutation detection**. Disponível em: <http://www.dnabaser.com/articles/SNP/SNP-Single-nucleotide-polymorphism.png>, 2015.

DRYGIN, D. et al. Protein kinase CK2 modulates IL-6 expression in inflammatory breast cancer. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 415, n. 1, p. 163–167, 2011.

DZIEDZIC, T.; SLOWIK, A.; PERA, J.; SZCZUDLIK, A. Interleukin 1 beta polymorphism (– 511) and risk of stroke due to small vessel disease. **Cerebrovascular Diseases**, v. 20, p. 299–303, 2005.

ELEFTERIADES, J. A. Mini-CABG: A step forward or backward: The Pro point of view. **Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, v. 11, p. 661-8, 1997.

EL-SOHEMY, A. Nutrigenetics. **Forum of Nutrition**, v. 60, p. 25–30, 2007.

EPIC - European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (2012). **Método de Múltiplas Fontes online (Multiple Source Method - MSM)**. Disponível em: <https://msm.dife.de/tps/msm/>.

FENECH, M. et al. Nutrigenetics and nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 4, n. 2, p. 69-89, 2011.

FENG, D. et al. Folic acid inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages by suppressing MAPKs and NF-kappaB activation. **Inflammation Research**, v. 60, p. 817-822, 2011.

FERGUSON, L. R. et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalised Nutrition: Part 1 – Fields of Precision Nutrition. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 9, p. 12–27, 2016.

FERGUSON, L. R. Nutrigenomics: integrating genomics approaches into nutrition research. **Molecular Diagnosis and Therapy**, v. 10, p. 101-108, 2006.

FINCH, C. E. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: evolution of the human lifespan and diseases of aging: roles of infection, inflammation, and nutrition. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, p. 1718–1724, 2010.

FONG, L. Y.; AHMAD, Z. Lbps 01-15 asiatic acid protects against tnf-[alpha]-induced endothelial barrier dysfunction in human aortic endothelial cells. **Journal of Hypertension**, v. 34, p. 178-179, 2016.

FRISO, S.; CHOI, S. W. Gene-nutrient interactions in one-carbon metabolism. **Current Drug Metabolism**, v. 6, n. 1, p. 37–46, 2005.

FROSST, P. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. **Nature Genetics**, v. 10, n. 1, p. 111-113, 1995.

FUCHS, D. et al. Is hyperhomocysteinemia due to oxidative depletion of folate rather than to insufficient dietary intake? **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 39, n. 8, p. 691–694, 2001.

FUCHS, D. et al. The role of neopterin in atherogenesis and cardiovascular risk assessment. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 4644-4653, 2009.

GALBRAITH, G. M. P.; PANDEY, J. P. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene polymorphism in alopecia areata. **Human Genetics**, v. 96, n. 4, p. 433-436, 1995.

GAO, C. M. et al. MTHFR polymorphisms, dietary folate intake and risks to breast cancer. **Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi**, v. 43, p. 576-580, 2009.

GAO, L. et al. Role of uncoupled endothelial nitric oxide synthase in abdominal aortic aneurysm formation: treatment with folic acid. **Hypertension**, v. 59, n. 1, p. 158–66, 2012.

GAO, S. et al. Diet folate, DNA methylation and polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase in association with the susceptibility to gastric cancer. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 14, p. 299-302, 2013.

GARCIA-PINILLA, J. M. et al. Influence of high homocysteine and low folate plasmatic levels in medium-term prognosis after acute coronary syndromes. **International Journal of Cardiology**, v. 118, n. 2, p. 220–6, 2007.

GASPARINI, C. F.; SUTHERLAND, H. G.; GRIFFITHS, L. R. Studies on the pathophysiology and genetic basis of migraine. **Current Genomics**, v. 14, p. 300-315, 2013.

GELALETI, G. B. et al. Interleukin-8 as a prognostic serummarker in canine mammary gland neoplasias. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 146, n. 2, p. 106–112, 2012.

GENECARDS. GeneCards: Human gene database: Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR). Disponível em: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=mthfr>, 2017.

GERMANO, G.; ALLAVENA, P.; MANTOVANI, A. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. **Cytokine**, v. 43, n. 3, p. 374–379, 2008.

GILLIES, P. J. Nutrigenomics: the rubicon of molecular nutrition. **Journal of American Diet Association**, v. 103, p. 50-55, 2005.

GHAZNAVI, H. et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with hyperhomocysteinemia and deep vein thrombosis in the Iranian population. **Vascular Specialist International**, v. 31, n. 4, p. 109-114, 2015.

GONÇALVES, M. C. R. Supplementation with Watermelon Extract Reduces Total Cholesterol and LDL Cholesterol in Adults with Dyslipidemia under the Influence of the MTHFR C677T Polymorphism. **Journal of the American College of Nutrition (Print)**, v. 35, n. 6, p. 514-520, 2016.

GOMES, M. et al. Influence of functional genetic polymorphism (–590C/T) in non-small cell lung cancer (NSCLC) development: the paradoxal role of IL-4. **Gene**, v. 504, n. 1, p. 111–115, 2012.

GOOCH, J. L.; LEE, A. V.; YEE, D. Interleukin 4 inhibits growth and induces apoptosis in human breast cancer cells. **Cancer Research**, v. 58, n. 18, p. 4199–4205, 1998.

GOOCH, J. L.; CHRISTY, B.; YEE, D. STAT6 mediates interleukin-4 growth inhibition in human breast cancer cells. **Neoplasia**, v. 4, n. 4, p. 324–331, 2002.

GOODWIN, S.; MCPHERSON, J. D.; MCCOMBIE, W. R. Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies. **Nature Reviews Genetics**, v. 17, p. 333–351, 2016.

GUARNER, V.; RUBIO-RUIZ, M. E. Low-grade systemic inflammation connects aging, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Interdisciplinary Topics in Gerontology and Geriatrics**, v. 40, p. 99–106, 2015.

GROSSE, S. D. et al. Retrospective assessment of cost savings from prevention: Folic acid fortification and spina bifida in the U.S. *American Journal of Preventive Medicine*, v. 50, n. 1, p. S74–S80, 2016.

HAMIDULLAH, B.; CHANGKIJIA, R.; KONWAR, R. Role of interleukin-10 in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 133, n. 1, p. 11–21, 2012.

HAYES, A. et al. A polymorphic variation in the interleukin 1A gene increases brain microglial cell activity in Alzheimer's disease. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 75, p. 1475–1477, 2004.

HAYWARD, A. et al. SNP discovery and applications in *Brassica napus*. **Journal of Plant Biotechnology**, v. 39, p. 1-12, 2012.

HECKEL, M. C. et al. Human breast tumor cells express IL-10 and IL-12p40 transcripts and proteins, but do not produce IL-12p70. **Cellular Immunology**, v. 266, n. 2, p. 143–153, 2011.

HEHLGANS, T.; PFEFFER, K. The intriguing biology of the tumor necrosis factor/ tumor necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. **Immunology**, v. 115, p. 1-20, 2005.

HEL, Z. Y. et al. Original Article Folic acid inhibits hypoxia-induced THP-1 cells inflammation by suppressing NF- κ B signaling pathway. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 9, n. 7, p. 13615-13624, 2016

HERNÁNDEZ-GUERRERO, C. et al. Prevalence of metilentetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, consumption of vitamins B6, B9, B12 and determination of lipidic hydroperoxides in obese and normal weight Mexican population. **Nutrición Hospitalaria**, v. 28, n. 6, p. 2142-2150, 2013.

HESKETH, J. E. Nutrigenomics and Selenium: Gene Expression Patterns, Physiological Targets, and Genetics. **Annual Review of Nutrition**, v. 28, n. 1, p. 157–177, 2008.

HESKETH, J. Personalised nutrition: how far has nutrigenomics progressed? **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 5, p. 430–435, 2013.

HINTERBERGER, M.; FISCHER, P. Folate and Alzheimer: When time matters. **Journal of Neural Transmission (Vienna)**, v. 120, n. 1, p. 211–224, 2013.

HIRAOKA, M.; KAGAWA, Y. Genetic polymorphisms and folate status. **Congenital Anomalies**, 2017.

HOLVEN, K. B. et al. Increased levels of C-reactive protein and interleukin-6 in hyperhomocysteinemic subjects. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 66, n. 1, p. 45–54, 2006.

HUANG, T. et al. Meta-analysis of B vitamin supplementation on plasma homocysteine, cardiovascular and all-cause mortality. **Clinical Nutrition**, v. 31, n. 4, p. 448-454, 2012.

HUNTER, C. A. New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, p. 521-531, 2005.

HURGOBIN, B.; EDWARDS, D. SNP Discovery Using a Pangenome: Has the Single Reference Approach Become Obsolete? **Reviews in Biology**, v.6, n.1, p.21, 2017.

ISSA, C. T. M. I. et al. Relationship between cardiometabolic profile, vitamin D status and BsmI polymorphism of the VDR gene in non-institutionalized elderly subjects. **Experimental Gerontology**, v. 81, p. 56-64, 2016.

JACQUES, P. F. et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. **Circulation**, v. 93, n. 1, p. 7-9, 1996.

- JOFFE, Y. T.; HOUGHTON, C. A. A Novel Approach to the Nutrigenetics and Nutrigenomics of Obesity and Weight Management. **Current Oncology Reports**, v. 18, n. 7, p. 43, 2016.
- JONES, L. L. et al. Distinct subunit pairing criteria within the heterodimeric IL-12 cytokine family. **Molecular Immunology**, v. 51, p. 234-44, 2012.
- JOSHI, R. et al. Free radical scavenging behavior of folic acid: evidence for possible antioxidant activity. **Free radical biology & medicine**, v. 30, n. 12, p. 1390–1399, 2001.
- JUNQUEIRA, C. L. C. et al. Associação de Marcadores Inflamatórios e Níveis Tensionais em Indivíduos Hipertensos com Diabetes Mellitus Tipo 2. **Revista da SOCERJ**, v. 18, n. 5, 2005.
- KAGAWA, Y. et al. Medical cost savings in Sakado City and worldwide achieved by preventing disease by folic acid fortification. **Congenital Anomalies**, 2017.
- KAPUT, J.; RODRIGUEZ, R. L. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. **Physiology Genomics**, v. 16, p. 166–177, 2004.
- KATO, S. et al. Comparative Genomic Insights into Ecophysiology of Neutrophilic, Microaerophilic Iron Oxidizing Bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1265, 2015.
- KAUFFMAN, M. A. et al. Association study between interleukin 1 beta gene and epileptic disorders: a HuGe review and meta-analysis. **Genetics in Medicine**, v. 10, p. 83–88, 2008.
- KAY, C. D.; HOLUB, B. J. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. **The British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 4, p. 389-98, 2002.
- KENNEDY, D. A. et al. Folate Intake, MTHFR Polymorphisms, and the Risk of Colorectal Cancer: A Systematic Review and MetaAnalysis. **Journal of Cancer Epidemiology**, v. 2012, p. 1-24, 2012.
- KIM, S. et al. Circulating levels of inflammatory cytokines and risk of colorectal adenomas. **Cancer Research**, v. 68, n. 1, p. 323–328, 2008.
- KÖHLMEIER, M. et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalized Nutrition: Part 2 - Ethics, Challenges and Endeavors of Precision Nutrition. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v. 9, n. 1, p. 28-46, 2016.
- KÖHLMEIER, M. Practical uses of nutrigenetics. In: KÖHLMEIER, M. (ed). **Nutrigenetics: Applying the Science of Personalized Nutrition**. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 307–333.
- KORNMAN, K. S.; MARTHA, P. M.; DUFF, G. W. Genetic variations and inflammation: a practical nutrigenomics opportunity. **Nutrition**, v. 20, p. 44-49, 2004.

KROEGEL, C.; ANTHONY, V. B. Immunobiology of pleural inflammation: potential implications for pathogenesis, diagnosis and therapy. **The European Respiratory Journal**, v. 10, p. 2411-18, 1997.

LANDSKRON, G. et al. Chronic Inflammation and Cytokines in the Tumor Microenvironment. **Journal of Immunology Research**, v. 2014:149185, 2014.

LAZZERINI, P. et al. Hyperhomocysteinemia, inflammation and autoimmunity. **Autoimmunity Reviews**, v. 6, p. 503–509, 2007.

LI, Y. et al. Folic Acid Supplementation and the Risk of Cardiovascular Diseases: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Journal American Heart Association**, v. 5, n. 8 p. e003768, 2016.

LICHTENSTEIN, A. H.; et al. Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006: A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committee. **Circulation**, v. 114, n. 1, p. 82-96, 2006.

LIEW, S. C. Folic acid and diseases – supplement it or not? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 62, n. 1, p. 90-100, 2017.

LIU, A. et al. Analysis of the MTHFR C677T variant with migraine phenotypes. **Biomedical Central research notes**, v. 3, p. 213-218, 2010.

LIU, Y. et al. Association of dietary intake of folate, vitamin B6 and B12 and MTHFR genotype with breast cancer risk. **Asian Pacific journal of cancer prevention**, v. 14, p. 5189-5192, 2013.

LIU, Y. L.; LIU, L. Research on fat diet-induced obesity and plasma resistin levels of obesity-resistant rats. **The Journal of Medical Research**, v. 9, p. 171–172, 2012.

LORUSSO, G.; RÜEGG, C. The tumor microenvironment and its contribution to tumor evolution toward metastasis. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 130, n. 6, p. 1091–1103, 2008.

LÜ, J. et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 14, p. 840–860, 2010.

LYALL, K.; SCHMIDT, R. J.; HERTZ-PICCIOTTO, I. Maternal lifestyle and environmental risk factors for autism spectrum disorders. **International Journal of Epidemiology**, v. 43, n. 2, p. 443-464, 2014.

LYONS, C. L.; KENNEDY, E. B.; ROCHE, H. M. Metabolic Inflammation-Differential Modulation by Dietary Constituents. **Nutrients**, v. 8, n. 5, p. 247, 2016.

MAHAM, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 13ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. .

MAHER, B. H. et al. Analysis of 3 common polymorphisms in the KCNK18 gene in an Australian Migraine Case-control cohort. **Gene**, v. 528, p. 343-346, 2013.

MANGGE, H. et al. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. **World Journal of Cardiology**, v. 6, n. 6, p. 462-477, 2014.

MARCHETTA, C. M.; et al. 2015. Assessing the association between natural food folate intake and blood folate concentrations: a systematic review and Bayesian meta-analysis of trials and observational studies. **Forum Nutrition**, v. 7, p. 2663–2686.

MARTEL, M.; et al. Split-Dose Preparations Are Superior to Day-Before Bowel Cleansing Regimens: A Meta-analysis. **Gastroenterology**, v. 149, n. 1, p. 79–88, 2015.

MASSA, N. M. et al. Supplementation with Watermelon Extract Reduces Total Cholesterol and LDL Cholesterol in Adults with Dyslipidemia under the Influence of the MTHFR C677T Polymorphism. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 35, n. 6, p. 514-520, 2016.

MCCARTYA, M. F.; O'KEEFEB, J. H.; DINICOLANTONIOB, J. J. Interleukin-1beta may act on hepatocytes to boost plasma homocysteine – The increased cardiovascular risk associated with elevated homocysteine may be mediated by this cytokine. **Medical Hypotheses**, v. 102, p. 78–81, 2017.

MCDONALD, D.; GLUSMAN, G.; PRICE, N. D. Personalized nutrition through big data. **Nature Biotechnology**, v. 34, p. 152-154, 2016.

MEAD, M. N. Nutrigenomics: The Genome–Food Interface. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 12, p. 582–589, 2007.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428-435, 2008.

MELO, S. E. S. F. C. et al. Hipertensão arterial, aterosclerose e inflamação: o endotélio como órgão-alvo. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 14, n. 4, p. 234-238, 2007.

MÉPLAN, C. Review Selenium and Chronic Diseases: A Nutritional Genomics Perspective. **Nutrients**, v. 7, n. 5, p. 3621-3651, 2015.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Pirâmide alimentar. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/>>, 2015.

MOCHEGANI, E. et al. Micronutrient–gene interactions related to inflammatory/immune response and antioxidant activity in ageing and inflammation: A systematic review. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 136-137, p. 29-49, 2014.

MOLL, S.; VARGA, E. A. Homocysteine and MTHFR Mutations. **Circulation**, v. 132, p. 6-9, 2015.

MOORE, K. W. et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annual Review of Immunology**, v. 19, p. 683-765, 2001.

MUMM, J. B. et al. IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance. **Cancer Cell**, v. 20, n. 6, p. 781–796, 2011.

MURR, C. et al. Inverse association between serum concentrations of neopterin and antioxidants in patients with and without angiographic coronary artery disease. **Atherosclerosis**, v. 202, p. 543-549, 2009.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND T. OF H. B. C. IN A. (ADULT T. P. I. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, v. 106, n. 25, p. 3143–421, 2002.

NICOLINI, A.; CARPI, A.; ROSSI, G. Cytokines in breast cancer. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 17, n. 5, p. 325–337, 2006.

NICULESCU, M. D. Are We Ready for Personalized Dietary Guidelines? **Journal of Human Nutrition & Food Science**, v. 1, p. 1013, 2013.

NIEDZIELSKI, P. et al. Selenium species in selenium fortified dietary supplements. **Food Chemistry**, v. 190, p. 454–459, 2016.

NIEDZIELSKI, P. et al. Supplementation of cultivated mushroom species with selenium: bioaccumulation and speciation study. **European Food Research and Technology**, v. 241, n. 3, p. 419–426, 2015.

NIH, Dietary supplement fact sheet. Folate. Health Information. **Office of Dietary Supplements**, US National Institutes of Health, 2014. Disponível em: <<http://ods.od.nih.gov/factsheets/Folate-HealthProfessional>>.

NOECKER, C.; BORENSTEIN, E. Getting personal about nutrition. **Trends in Molecular Medicine**, v. 22, p. 83-85, 2016.

NUNES, E. C. et al. Standardization of homocysteine determination by high pressure liquid chromatography and application on coronary artery disease patients. **Jornal Brasileiro de Patologia**, v. 36, p. 166-173, 2000.

O'GARRA, A.; VIEIRA, P. TH1 cells control themselves by producing interleukin-10. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 6, p. 425-428, 2007.

OKUDA, N. et al. Fruit and vegetable intake and mortality from cardiovascular disease in Japan: a 24-year follow-up of the NIPPON DATA 80 Study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 4, p. 482–8, 2015.

PEREIRA, D. et al. Association between obesity and calcium: phosphorus ratio in the habitual diets of adults in a city of Northeastern Brazil: an epidemiological study. *Nutrition Journal*, v. 12, p. 90, 2013.

PERKINS, N. D. The diverse and complex roles of NF- κ B subunits in cancer. **Natural Reviews Cancer**, v. 12, p. 121–132, 2012.

PERLA-KAJÁN, J.; TWARDOSKI, T.; JAKUBOWSKI, H. Mechanisms of homocysteine toxicity in humans. **Amino Acids**, v. 32, n. 4, p. 561–72, 2007.

PESTKA, S. et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. **Annual Review of Immunology**, v. 22, p. 929-79, 2004.

PFEIFFER, C. M.; HUFF, D. L.; GUNTER, E. W. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory setting. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 290-2, 1999.

PUBCHEM. Folic acid. **Open Chemistry Database**, 2014. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.

PUREGENOMICS. Education and research: what single nucleotide polymorphisms are?. Disponível em: <http://www.puregenomics.com/whatsnppage.aspx>, 2017.

QIN, X. et al. Effect of folic acid supplementation on the progression of carotid intima-media thickness: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Atherosclerosis**, v. 222, n. 2, p. 307-13, 2012.

RESCIGNO, T. et al. A. Bioactive Nutrients and Nutrigenomics in Age-Related Diseases. Review. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 105, 2017.

RIBEIRO, M. R.; COSTA, M. J. C. Influência do polimorfismo C677T no gene *MTHFR* e da dieta com folato no estresse oxidativo, perfil lipídico e homocisteína em mulheres com sobrepeso e obesidade. João Pessoa, Paraíba, 2017.

RODRIGO, R. et al. Homocysteine and essential hypertension. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 43, p. 1299–1306, 2003.

RUBINO, E. et al. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with migraine: a meta-analysis. **Cephalalgia**, v. 29, p. 818-825, 2009.

RUSSELL, W. R.; SCOBBIEL, L.; DUTHIE, G. G. Selective bioavailability of phenolic acids from Scottish strawberries. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 53, n. 1, p. 85–91, 2009.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; KEUM, Y. S. Folates: Chemistry, analysis, occurrence, biofortification and bioavailability. **Food Research International**, v. 89, p. 1–13, 2016.

SALDANHA, J. F. et al. Resveratrol: Why is it a promising therapy for chronic kidney disease patients? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, 2013.

SCHMITZ, T.; CHEW, L. J. Cytokines and myelination in the central nervous system. **The Scientific World Journal**, v. 8, p. 1119–1147, 2008.

SCHELLER, J. et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1813, n. 5, p. 878–888, 2011.

SCHROECKSNADEL, K. et al. Moderate hyperhomocysteinemia and immune activation. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 107–118, 2004.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N.; VAN DYKE, T. E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. **Nature reviews Immunology**, v. 8, n. 5, p. 349–361, 2008

SERAFINI, N.; VOSSHENRICH, C. A.; DI SANTO, J. P. Transcriptional regulation of innate lymphoid cell fate. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, p. 415–428, 2015.

SHARP, L.; LITTLE, J. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism and Colorectal Neoplasia: A HuGE Review. **American Journal of Epidemiology**, v. 159, n. 5, p. 423–443, 2004.

SHU-JUN, W.; FANG-FANG, N.; JIANG-LI, T. The mitochondrial genome of the *Vespa bicolor* Fabricius (Hymenoptera: Vespidae: Vespinae). **Mitochondrial DNA. Part A, DNA mapping, sequencing, and analysis**, v. 27, n. 2, p. 875–6, 2016.

SINGHAL, G. et al. Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: A focused review. **Frontiers in Neuroscience**, v. 8, n. 315, 2014.

SOLINAS, G.; KARIN, M. JNK1 and IKKb: molecular links between obesity and metabolic dysfunction. **FASEB Journal**, v. 24, p. 2596–2611, 2010.

SORIA, G. et al. Inflammatory mediators in breast cancer: coordinated expression of TNF α & IL-1 β with CCL2 & CCL5 and effects on epithelial-to-mesenchymal transition. **BioMedical Central Cancer**, v. 11, n. 130, 2011.

STANIC, B. et al. IL-10 overexpressing B cells regulate innate and adaptive immune responses. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, p. 771–80, 2015.

STANKOVIC, S.; MAJKIC-SINGH, N. Genetic aspects of ischemic stroke: coagulation, homocysteine, and lipoprotein metabolism as potential risk factors. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 47, p. 72–123, 2010.

STOVER, P. J.; CAUDILL, M. A. Genetic and Epigenetic Contributions to Human Nutrition and Health: Managing Genome-Diet Interactions. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, n. 9, p. 1480-1487, 2008.

SUBBIAH, M. T. Nutrigenetics and nutraceuticals: the next wave riding on personalized medicine. **Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine**, v. 149, n. 2, p. 55–61, 2007.

SUBBIAH, M. T. R. Understanding the Nutrigenomic Definitions and Concepts at the Food–Genome Junction. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 12, n. 4, p. 229–235, 2008.

SUO, L. N.; WANG, W. Effect of liraglutide on serum omentin1 and insulin resistance of high-fat diet-induced obese rats. **Journal of Chinese Medical University**, v. 21, p. 1129–1131, 2015.

SWITZENY, O. J. et al. Vitamin and antioxidant rich diet increases MLH1 promoter DNA methylation in DMT2 subjects. **Clinical Epigenetics**, v. 4, n. 1, p. 19, 2012.

TANAKA, T. et al. Genome-wide meta-analysis of observational studies shows common genetic variants associated with macronutrient intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 97, p. 1395–402, 2013.

TARAILO-GRAOVAC, M. et al. Exome sequencing and the management of neurometabolic disorders. **The New England Journal of Medicine**, v. 374, p. 2246–2255, 2016.

TEBANI, A. et al. Review: Omics-Based Strategies in Precision Medicine: Toward a Paradigm Shift in Inborn Errors of Metabolism Investigations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, p. 1555, 2016.

TORNATORE, L. et al. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. **Trends in Cell Biology**, v. 22, n. 11, 2012.

TRINCHIERI, G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, n. 2, p. 133-146, 2001.

TRUJILLO, E.; DAVIS, C.; MILNER, J. Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, p. 403–413, 2006.

TSANG, B. L. et al. Assessing the association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T polymorphism and blood folate concentrations: a systematic review and meta-analysis of trials and observational studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 101, n. 6, p. 1286-94, 2015.

USDA. U. S. Department of Agriculture Agricultural Research Service, 2012. Disponível em: <USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25>.

USDA. U. S. Department of Agriculture Agricultural Research Service, 2015. Disponível em: <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>>.

USDA. U. S. Department of Agriculture Agricultural Research Service, 2016. Disponível em: <USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25>.

VAN DUYNHOVEN, J. et al. Interactions of black tea polyphenols with human gut microbiota: implications for gut and cardiovascular health. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 98, n. 6, p. 1631–41, 2013.

VAN KARNEBEEK, C. D. et al. Nans-mediated synthesis of sialic acid is required for brain and skeletal development. **Nature Genetics**, v. 48, p. 777–784, 2016.

VENTURA, P. et al. Hyperhomocysteinemia and MTHFR C677T polymorphism in patients with portal vein thrombosis complicating liver cirrhosis. **Thrombosis Research**, v. 141, p. 189-195, 2016.

VIRGILI, F.; PEROZZI, G. How Does Nutrigenomics Impact Human Health? **International Union of Biochemistry and Molecular Biology life**, v. 60, n. 5, p. 341–44, 2008.

WALY, M. I. et al. Low nourishment of B-vitamins is associated with hyperhomocysteinemia and oxidative stress in newly diagnosed cardiac patients. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 1, p. 46–51, 2016.

WANG, G. et al. Folic acid reverses hyper-responsiveness of LPS-induced chemokine secretion from monocytes in patients with hyperhomocysteinemia. **Atherosclerosis**, v. 179, n. 2, p. 395–402, 2005.

WANG, M.; KAUFMAN, R. J. The impact of the endoplasmic reticulum protein folding environment on cancer development. **Nature Reviews Cancer**, v. 14, n. 9, p. 581–597, 2014.

WANG, Z. G. et al. Association of dietary intake of folate and MTHFR genotype with breast cancer risk. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 5446-5451, 2015.

WANG, Z. M. et al. Folate and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies. **Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 10, p. 890-899, 2012.

WEINER, A. B.; ETZIONI, R.; EGGNER, S. E. Ongoing Gleason grade migration in localized prostate cancer and implications for use of active surveillance. **European Urology**, v. 66, p. 611–612, 2014.

WHO (World Health Organization). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organization**, v. 894, p. 11-253, 2000.

WHO (World Health Organization). Guideline: Optimal Serum and Red Blood Cell Folate Concentrations in Women of Reproductive Age for Prevention of Neural Tube Defects. **Geneva: World Health Organization**, 2015.

WIEN, T. N. et al. Cancer risk with folic acid supplements: A systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal Open**, v. 2, n. 1, 2012.

WILCZYŃSKI, J. R. Cancer and pregnancy share similar mechanisms of immunological escape. **Chemotherapy**, v. 52, n. 3, p. 107–110, 2006.

WILSON, C. J.; FINCH, C. E.; COHEN, H. J. Cytokines and cognition—the case for a head-to-toe inflammatory paradigm. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 50, p. 2041–2056, 2002.

WILSON, R. S. et al. Life-span cognitive activity, neuropathologic burden, and cognitive aging. **Neurology**, v. 81, n. 4, p. 314–321, 2013.

WINSLOW, T. **Medical and scientific illustration**. 2015. Disponível em: <<http://www.teresewinslow.com/port.asp>>.

WU, C.H.; HUANG, T. C.; LIN, B. F. Folate deficiency affects dendritic cell function and subsequent T helper cell differentiation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 41, p. 65–72, 2017.

WU, P. et al. Serum TNF- α , GTH and MDA of high-fat diet-induced obesity and obesity resistant rats. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 3, p. 333–336, 2016.

WU, X. Y. et al. Interactions between MTHFR C677T-A1298C variants and folic acid deficiency affect breast cancer risk in a Chinese population. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 13, p. 2199–2206, 2012.

YANG, D. et al. Dietary intake of folate, B-vitamins and methionine and breast cancer risk among Hispanic and non-Hispanic white women. **PLoS One**, v. 8, n. 2, 2014.

YANG, Y. et al. Reactive oxygen species in the immune system. **International Reviews of Immunology**, v. 32, n. 3, p. 249–70, 2013.

YI, Y. 2011. Economic burden of neural tube defects and impact of prevention with folic acid: a literature review. **European Journal of Pediatrics**, v. 170, n. 11, p. 1391–1400.

YOHE, S. et al. Clinical validation of targeted next-generation sequencing for inherited disorders. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 139, p. 204–210, 2015.

YUBERO, D. et al. Targeted next generation sequencing in patients with inborn errors of metabolism. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, 2016.

ZENG, X. K.; REMICK, D. G.; WANG, X. Homocysteine induces production of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in cultured human whole blood. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 25, n. 11, p. 1419–1425, 2005.

ZHANG, J. M.; AN, J. Cytokines, Inflammation and Pain. **International Anesthesiology Clinics**, v. 45, n. 2, p. 27–37, 2007.

ZHANG, L. et al. Homocysteine stimulates nuclear factor kappa B activity and interleukin-6 expression in rat vascular smooth muscle cells. **Cell Biology International**, v. 30, n. 7, p. 592–597, 2006.

ZIEMINSKA, E.; LAZAREWICZ, J. W. Excitotoxic neuronal injury in chronic homocysteine neurotoxicity studied in vitro: the role of NMDA and group I metabotropic glutamate receptors. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 66, n. 4, p. 301–9, 2006.

XIROUCHAKI, M. D. et al. Diagnostic value of interleukin-1a, interleukin-6 and tumor necrosis factor in pleural effusions. **Chest**, v. 121, p. 815-20, 2002.

ANEXOS

ANEXO A – Certidão do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 12ª Reunião realizada no dia 10/12/2013, o Projeto de pesquisa intitulado: **“II CICLO DE DIAGNÓSTICO E INTERVENÇÃO DA SITUAÇÃO ALIMENTAR, NUTRICIONAL E DAS DOENÇAS NÃO TRANSMISSÍVEIS MAIS PREVALENTES DA POPULAÇÃO DO MUNICÍPIO DE JOÃO PESSOA/PB”** da pesquisadora Maria José de Carvalho Costa. Prot. Nº 0559/13. CAAE: 20883813.0.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do resumo do estudo proposto à apreciação do Comitê.


Dr. Eliane Marques U. Costa
Coordenadora CER/CCS/PB
Mat. STAPE: 0332618

ANEXO B – Certidão do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 10ª Reunião realizada no dia 19/11/2015, o Projeto de pesquisa intitulado: **“INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T NO GENE MTHFR E DA DIETA RICA EM ANTIOXIDANTES NO PROCESSO INFLAMATÓRIO”**, da pesquisadora Marina Ramalho Ribeiro, Prot. nº 0569/15, CAAE: 50365715.9.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do resumo do estudo proposto à apreciação do Comitê.


Andree Márcia da S. Lima
Mat. SAPE 1117510
Secretaria do CEP/CCS-UFPB

ANEXO C - Lista do Sistema de Equivalentes Atualizada e Modificada para Uso no Brasil

1 - 8QUIVALENTES CEREAIS

Corresponde a 15 g de carboidratos, 3 g de Proteína, 0-1 g de lipídios e 80 calorias. Para crianças em idade pré-escolar uma porção corresponde a 75 kcal, aproximadamente 1 equivalente do adulto.

Abreviaturas:

Pães, cereais e grãos, vegetais ricos em amido, biscoitos (PCGVRAB)

Feijão, ervilha, lentilha (FEL)

Alimentos Amiláceos preparados com Gordura (APG)

PÃES

Cereal cozido integral*	½ xícara	≅15grs
Pão doce	¼ unidade	≅15 grs
Pão de cachorro quente ou Hamburgo	½ unidade	≅25grs
Pão francês, integral, centeio *	¼ unidade	≅15grs
Pão light	2/4 unidade 2 fatias	≅25grs
Torrada	2 fatias finas	≅25grs

CEREAIS E GRÃOS

Arroz cozido ou cevada	1/3 xícara	≅60 grs
Aveia*	2 c. de sopa rasa	≅20 grs
Cuscuz*	½ fatia pequena	≅60 grs
Cereal sem açúcar	¾ xícara	≅30 grs
Cereal com açúcar	½ xícara	≅15 grs
Granola , baixo teor de gordura	¼ xícara	≅20 grs
Farinha de mandioca	2 c. de sopa rasa	≅20 grs
Farinha de rosca	1 c. de sopa cheia	≅15 grs
Farinha de trigo	2 c. de sopa rasa	≅20 grs
Farelo de trigo, de cereais	½ xícara	≅30 grs
Gérmen de trigo *	3 c. de sopa rasa	≅30 grs
Tapioca	1 unidade pequena	≅20 grs

VEGETAIS RICOS EM AMIDO

Abóbora inverno	1 xícara	≅ 90 grs
Banana de São Tomé	1 unidade pequena	≅ 90 grs
Batata doce cozida	½ unidade pequena	≅70 grs
Batata inglesa cozida	1 unidade pequena	≅90 grs
Ervilhas verdes	½ xícara	≅50 grs
Espaguete cozido	1 porção pequena	≅50 grs
Inhame	½ fatia pequena	≅60 grs
Macaxeira	½ raiz pequena	≅60 grs
Maisena	2 c. de sopa cheia	≅20 grs
Milho verde*	1 média ou ½ espiga grande	≅60 grs
Farinha Láctea	1 c. de sopa cheia	≅15 grs
Neston	2 c. de sopa rasa	20grs

***Alimentos com 3 ou mais gramas de fibras por porção.**

“Leia também os estudos sobre o controle de colesterol no capítulo 1”

BISCOITOS E LANCHES

Crackers, farinha integral sem gordura	2 – 4 unidades	≅15 grs
Pipoca	1 saco pequeno ou ≅ 3 xícaras	≅ 15 grs
Pretzels		≅15 grs
Torradas dietéticas	4 unidades	≅15 grs
Palitos de centeio	4 unidades	

FEIJÕES, ERVILHAS E LENTILHAS

Para a criança em idade pré-escolar uma porção corresponde a ¼ da porção do adulto, entre ½ e 1 colher de sopa de feijão.

Feijoada simples ou qualquer tipo de feijão	½ concha pequena ou ½ xícara	≅50 grs
Feijão verde *	1 concha pequena	≅30 grs
Grão de bico	½ xícara	≅50 grs
Sopa de feijão	1 xícara	≅50 grs

ALIMENTOS AMILÁCEOS PREPARADOS COM GORDURA

Batata inglesa frita	1 unidade pequena	≅90 grs
Biscoitos doces	4 unidades	≅16 grs
Bolacha, trigo integral com gordura	4 – 6 unidades	≅30 grs
Bolachas: Cream Cracker	2 unidades	≅14 grs
Água sal-integral	2 unidades	≅14 grs
Bolo de trigo/milho	½ fatia pequena	≅20 grs
Broa de milho	1 unidade média	≅60 grs
Crackes amanteigado	2 unidades	≅16 grs
Macarronada	1 porção média ou ½ xícara	≅80 grs
Muffim	1 unidade pequena	≅45 grs
Purê de batata	½ xícara	≅40 grs
Panqueca (10 cm)	2 unidades	≅
Pipoca de Microondas	1 saco pequeno ou ≅ 3 xícaras	≅15 grs
Torradas integrais, adição de gordura	2 unidades	≅35 grs

“Leia também os estudos sobre o controle de colesterol em relação ao consumo de feijão no capítulo 1”

2 - EQUIVALENTE FRUTA

Corresponde a 15 g de carboidratos e 60 calorias. Para crianças em idade pré-escolar uma porção de fruta equivale a 35 kcal, aproximadamente 1/2 equivalente do adulto.

FRUTAS FRESCAS, CONGELADAS E ENLATADAS SEM AÇÚCAR

Acerola***	¾ de xícara	24 unidades	100g
Araçá	½ xícara	10 unidades	100g
Abacaxi enlatado***		1/3 xícara	45g
Abacaxi fresco ***		3/4 xícara	86g
Ameixas frescas		2 unidades	30g
Banana grande		½ unidade	120g
Cajá ***	3/4 de xícara	5 unidades grandes	86g
Caju ******		1 pequeno	≅90g
Cajarana		1 média	130g
Carambola		3 ½ unidades	207g
Seriguela ***		4 ½ unidades	42g
Cereja grande, fresca		12 unidades	≅100g
Cerejas enlatadas		½ xícara	100g
Damasco enlatado ******		½ xícara	≅25g
Damasco cru ******		4 unidades	≅25g
Figo, fresco		2 unidades	≅104g
Framboesas, frescas		¾ xícara	
Goiaba ******		1 média	≅135g
Jabuticaba		12 unidades	≅60g
Jaca		6 bagos médios	≅60g
Jambo ***		2 médios	≅150 g
Laranja pequena ***		1 unidade	≅175g
Laranja baía ***		½ unidade	≅140g
Maçã crua		1 unidade média	≅120g
Mamão papaia ******		1 fatia pequena	≅90g
Manga pequena ******		½ unidade	≅100g
Melancia		1 fatia média	≅200g

Melão, cubos ●●●***	1 xícara	≅70g
Melão médio ●●●***	1/8 unidade	≅30g
Morango fresco ●●●	3 médios	≅50g
Pêra	½ grande	≅120g
Pêssego ●●●***	1 médio	≅60g
Pêssego enlatado ●●●***	2 metades	≅90g
Pinha	1 pequena	≅140g
Romã	2 unidades	≅210g
Sapoti	1 pequeno	≅80g
Tangerina	2 unidades	≅155g
Uvas pequenas	15 unidades	≅45g
Kiwi grande ●●●***	1 unidade	≅105
FRUTAS SECAS		
Ameixa média	3 unidades	≅20g
Passas	2 c. de sopa	≅36g
SUCOS DE FRUTAS		
Abacaxi	2 fatias médias 1/3 xícara	≅75mL
Ameixa	1 unidade média 1/3 xícara	≅75mL
Laranja	½ xícara	≅110mL
Limão	1/3 xícara	≅75mL
Maracujá	½ xícara	≅110mL
Uva	1/3 xícara	≅75mL

* 3 ou mais gramas de fibras por porção

●● Boa fonte de vitamina C

*** Boa fonte de vitamina A

“Leia também os estudos sobre os flavonóides da uva, interação da vitamina C com o ferro e a lista do teor de potássio nos frutos do Nordeste, nos capítulos 1 e 5”

3 – EQUIVALENTE LEITE

Corresponde a 12 g de carboidratos, 8 g de proteínas, 0-8 g de lipídios e 90-150 kcal. Para crianças em idade pré-escolar uma porção de leite equivale a 120 kcal, ou seja, 1 equivalente de leite semi-desnatado do adulto.

LEITE DESNATADO 90 kcal (0-3 g de lipídios por porção)

Leite desnatado	1 xícara
Leite 0,5%	1 xícara
Leitelho, semidesnatado ou desnatado	1 xícara
Leite em pó desnatado	1 xícara
Iogurte natural, desnatado	½ xícara
Iogurte sabores, desnatado, adoçado com edulcorantes não nutritivos e frutose	1 xícarat

LEITE SEMIDESNATADO 120 kcal (5 g de lipídio por porção)

Leite 2%	1 xícara
Iogurte, natural, semidesnatado	¼ xícara
Leite fermentado	1 xícara
Leite de soja	1 xícara

LEITE INTEGRAL 150 kcal (8 g de lipídios por porção)

Leite evaporado desnatado	½ xícara
Leite integral	1 xícara
Leite evaporado integral	½ xícara
Leite de cabra	1 xícara
Kefir	1 xícara
Iogurte, natural, feito com leite integral	¾ xícara

“Ler também estudo sobre prébiótico e probióticos capítulo 1”

4 – DOCES SOBREMESAS E OUTROS CARBOIDRATOS

Cada substituição de carboidrato corresponde a 15 g, ou 1 cereal, ou 1 fruta ou 1 fruta + leite de 70 kcal. Para crianças em idade pré-escolar uma porção desse grupo corresponde a 55 kcal, aproximadamente a 1 colher de sopa rasa de açúcar.

ALIMENTO	QUANTIDADE	SUBSTITUIÇÃO
Açúcar	1 colher de sopa	1 carboidrato
Barra de granola	1 barra	1 carboidrato, 1 gordura
Barra de granola sem gordura	1 barra	1,5 carboidratos
Barra energética esportiva	1 barra (60grs)	2 carboidrato, 1 gordura
Bebida esportiva	1 copo (220ml)	2 carboidrato, 1 gordura
Batatas fritas em rodelas	12-18 (30 grs)	1 carboidrato, 2 gorduras
Bolo com glacê	1/12 do bolo	2 carboidratos, 1 gordura
Bolo sem glacê	1/12 do bolo	1 carboidrato, 1 gordura
Sorvete instantâneo sem casquinha (frozen yogurt)	½ xícara	1 carboidrato, 1 gordura
Gelatina regular	½ xícara	1 carboidrato
Geleia ou gelatina regular	1 colher de sopa	1 carboidrato
Iogurte congelado, baixo teor de gordura, sem gordura	1/3 xícara	1 carboidrato, 0-1 gordura
Iogurte congelado sem gordura, sem adicionar açúcar	½ xícara	1 carboidrato
Iogurte de baixo teor de gordura com fruta	1 xícara	3 carboidratos, 0-1 gordura
Leite achocolatado integral	1 xícara	2 carboidratos, 1 gordura
Mel	1 colher de sopa	1 carboidrato
Molho de salada sem gordura	¼ de xícara	1 carboidrato
Papo de anjo sem glacê	1/12 do bolo	2 carboidratos
Pudim regular (feito c/ leite de baixo teor de gordura)	½ xícara	2 carboidratos
Pudim s/ açúcar (feito c/ leite de baixo teor de gordura)	½	1 carboidratos
Sonho	1 medio (45g)	1 carboidrato 2 gorduras
Rocambole doce ou dinamarquês	75 grs	2½ carboidratos, 2 gorduras
Sorvete	½ xícara	1 carboidrato, 2 gorduras
Sorvete leve	½ xícara	1 carboidrato, 1 gordura
Sorvete sem gordura e sem açúcar adicionado	½ xícara	1 carboidrato
Sorvete de frutas, picolé	½ xícara	2 carboidratos
Torta de frutas, duas massas	1/6 de torta	3 carboidratos, 2 gorduras
Wafers de baunilha	5 unidades	1 carboidrato, 2 gorduras

5 – EQUIVALENTE VEGETAIS

Uma porção corresponde a 5 g de carboidrato, 2 g de proteína e 25 calorias. Para crianças em idade pré-escolar uma porção de vegetais equivale a 8 kcal, ou seja, 1/3 do equivalente do adulto.

½ xícara de legumes cozidos ou suco de legumes

1 xícara de legumes crus

Acelga	Chuchu
Abobrinha, cozida	Endiva
Abóbora madura***	Espinafre cozido***
Alface***	Feijão (verde italiano)
Aipo	Folhas (mostarda, nabo)***
Alho poro	Maxixe
Agrião***	Nabo***
Alcachofra (½ médio)	Palmito
Aspargos	Pepino
Berinjela	Pimentas (verde)
Beterraba	Pimentão
Broto de feijão	Quiabo
Brócolis***	Rabanete
Cebola	Repolho (cozido)
Cenoura***	Ruibarbo
Cogumelos, cozidos	Tomate 1 – grande
Couve de Bruxelas	Tomate/suco vegetal***

Couve-flor

Vagem***

*** Boa fonte de vitamina A

*“Leia também estudos sobre os oligossacarídeos, no capítulo 1”.***6 – EQUIVALENTE CARNE****CARNE MUITO MAGRA E SUBSTITUTOS****Uma porção corresponde a 7 g de proteína, 0-1 g de lipídios e 35 kcal.**

Aves	Frango ou peru (carne branca sem pele)	≅ 30grs
Peixe	Bacalhau fresco ou cozido, atum fresco ou enlatado em água **	≅ 30grs
Queijo	Queijo sem gordura**	≅ 30grs
Ovo	Clara de ovo	2 unidades
Outros	Carnes processadas com 1 g ou menos de gordura	≅ 30grs

Contar como uma troca de carne muito magra e uma de amido

Grãos Feijões, ervilhas, lentilhas secas (cozidas) ½ xícara

CARNES MAGRAS E SUBSTITUTOS**Uma porção corresponde a 7 g de proteína, 3 g de lipídios e 55 kcal.**

Carne bovina	Magra com gordura removida (chã, alcatra, filé de lombo, lombinho, assado de costela ou alcatra, carne moída)	≅ 30grs
Carne de porco	Carne de porco magra, presunto fresco, presunto enlatado, file de costeleta e de lombo central	≅ 30grs
Cordeiro	Assado, perna e costela	≅ 30grs
Aves	Frango, peru (carne escura, sem pele), frango (carne branca com pele), pato ou ganso doméstico (bem removida a gordura, sem pele)	≅ 30grs
Peixe	Arenque (não cremoso ou defumado), cavala fresca ou congelada	≅ 30 grs
	Atum (fresco ou enlatado** em óleo, escoado)	≅ 30 grs
	Ostras	6 unidades
	Salmão (fresco ou enlatado** escoado), bagre	≅ 30 grs
	Sardinhas (enlatadas escoadas ou frescas)	2 médias
Queijo	Queijo tipo ricota de 4,5% de gordura	¼ xícara
	Parmesão ralado	2 colheres
	Queijos com 3g ou menos de gordura por 30grs	≅ 45grs
Outros	Fígado, coração (rico em colesterol), carnes processadas com 3g ou menos de gordura	≅ 30grs

CARNES DE TEOR MÉDIO DE GORDURA E SUBSTITUTOS**Uma porção corresponde a 7 g de proteína, 5 g de lipídios e 75 kcal. Para crianças em idade pré-escolar uma porção de equivale a 65 kcal, aproximadamente 1 equivalente do adulto.**

Carne bovina	Carne bovina moída, bolo de carne, carne bovina salgada, costelas curtas, categorias de primeira de carne com a gordura removida, tal como costela de primeira	≅ 30grs
Carne de porco	Lombo de cima, costeleta	≅ 30grs
Cordeiro	Costela assada, moída	≅ 30grs
Aves	Carne escura de frango (com pele), peru moído ou frango moído, frango frito (com pele)	≅ 30grs
Peixe	Qualquer produto de peixe frito	≅ 30grs
Queijo	1 Mussarela, qualho comum	≅ 30grs
	Ricota	¼ xícara
Outros	Ovo (rico em colesterol, limitar a 3 por semana) ..	1
	Salsicha** com 5g ou menos de gordura por 30grs	≅ 30grs
	Leite de soja	1 xícara

CARNES DE ALTO TEOR DE GORDURA E SUBSTITUTOS**Uma porção corresponde a 7 g de proteína, 8 g de lipídios e 100 kcal.**

Carne de porco	Ponta de costeleta de porco com pouca carne, carne de porco moída, lingüiça** de porco	≅ 30grs
Queijo	Todos os queijos regulares, tal como reino, manteiga, etc.	≅ 30grs
Outros	Lingüiça**, salame**	≅ 30grs
	Cachorro quente** (peru ou frango)	1
	Bacon**	3 fatias
	Rim (rico em colesterol)	≅ 30grs
Contar como uma troca de carne de alto teor de gordura mais uma troca de gordura		
	Cachorro quente (carne bovina, de porco, ou combinação)	1 unidade
	Pasta de amendoim (contém gordura insaturada) ..	2 colheres de sopa

** Alimentos com 400 mg ou mais de sódio por porção.

“Leia também os estudos sobre o ômega-3, queijo de cabra, ovos enriquecidos com ômega-3 carnes defumadas, no capítulo 1”.

7 – EQUIVALENTE GORDURA

Uma porção corresponde a 5 g de lipídios e 45 kcal. Para crianças em idade pré-escolar uma porção de equivale a 37 kcal, aproximadamente 1 equivalente do adulto, que corresponde a aproximadamente 1 colher de chá rasa de gordura.

GORDURAS MONOINSATURADAS

Abacate	Unidade média	1/8
Óleo	Canola, azeite de oliva, amendoim	1 colher de chá
Azeitonas	Maduras (pretas)	8 grandes
	Verdes**, inchadas	10 grandes
Nozes	Amêndoas, castanha de caju	6 nozes
	Misturadas (50% amendoins)	6 nozes
	Amendoins	10 nozes
Pasta	Pasta de amendoim, macia ou pedaçada	2 colheres de chá
Sementes	Gergelim	1 colher de sopa

GORDURAS POLINSATURADAS

Margarina	Pote, tablete	1 colher de chá
	Baixo teor de gordura (30% a 50% de óleo vegetal)	1 colher de sopa
Maionese	Regular	1 colher de chá
	Teor de gordura reduzido	1 colher de sopa
Óleo	Milho, açafrão, de soja	1 colher de chá
Molho	Regular	1 colher de sopa
Salada**	Teor de gordura reduzido	2 colheres de sopa
Sementes	Abóbora e girassol	1 colher de sopa

GORDURAS SATURADAS

Bacon	Cozido	1 fatia
	Gordura	1 colher de chá
Manteiga	Tira	1 colher de chá
	Batida	2 colheres de chá
	Teor de gordura reduzido	1 colher de sopa
Miúdos de porco		
	Fervidos (15 gr)	2 colheres de sopa
Coco		2 colheres de sopa
Nata		2 colheres de sopa
Queijo cremoso	Regular	1 colher de sopa
	Teor de gordura reduzido	2 colheres de sopa
Banha ou toucinho		1 colher de chá

“Leia também os estudos sobre o Glucerna e os ácidos graxos trans no capítulo 1”.

8 – ALIMENTOS LIVRES

BEBIDAS

Água gaseificada	Água tônica
Bouillon ou caldo de carne sem gordura	Chá/café (até 3 xícaras por dia)
Bouillon, baixo teor de sódio	Chocolate em pó, s/açúcar (1 c. sopa)
Bebidas carbonatadas (sem açúcar)	
SUBSTITUTOS DOCES	
Bala, dura sem açúcar	Geléia sem açúcar (2 c. de chá)
Gelatina, sem açúcar	Panqueca, calda, s/açúcar (1-2 c. sopa)
Goma de mascar sem açúcar	Substitutos do açúcar (aspartame, sacarina, etc.)
CONDIMENTO	
Catchup (1 c. de sopa)	Picles, azedo ou em conserva, sem açúcar
Mostarda	Molho de salada com baixo teor calórico (2 c. sopa)
Vinagre	
TEMPEROS	
Alho	Molho inglês
Ervas	Molho de soja
Especiarias	Molho de pimenta ardida
Pimenta	

9 – LISTA DE ALIMENTOS DE COMBINAÇÃO

ALIMENTO	TAMANHO DA PORÇÃO	TROCAS POR PORÇÃO
“Nuggets” de frango	6	1 carboidrato, 2 carnes de teor médio de gordura, 1 gordura
Peito e asa de frango, empanados e fritos	1 de cada	1 carboidrato, 4 carnes de teor médio de gordura, 2 gorduras
Sanduíche de peixe/molho	1	3 carboidratos, 1 carne de teor médio de gordura, 3 gorduras
Batatas fritas, finas	20-25	2 carboidratos, 2 gorduras
Hambúrguer regular	1	2 carboidratos, 2 carnes de teor médio de gordura
Hambúrguer grande	1	2 carboidratos, 3 carnes de teor médio de gordura, 1 gordura
Cachorro quente com pãozinho	1	1 carboidrato, 1 carne de teor médio de gordura, 1 gordura
Pizza individual	1	5 carboidratos, 3 carnes de teor médio de gordura, 3 gorduras
Cone de sorvete	1 médio	2 carboidratos, 1 gordura
Pizza mussarela	1 fatia	2 carboidratos, 2 carnes de teor médio de gordura, 1 gordura

Fonte: MAHAN, K. L.; ESCOTT-STUMP, S., 2013; adaptado por COSTA, M. J. C. et al., 2013.

ANEXO D – Ficha de Equivalentes

[illegible]

ANEXO E – Ficha de Avaliação Antropométrica**NO CASO DE ADULTOS (20 a 59 anos): (Nº:___)**

Peso atual:_____ (em kg)	Altura atual:_____ (em m)
Circunferência do braço:_____ (em cm)	Dobra cutânea tricipital:_____ (em cm)
Circunferência da cintura: _____ (em cm)	Circunferência do quadril:_____ (em cm).

ANEXO F - Recordatório Alimentar

[] 1º [] 2º [] 3º

Caso Nº: _____ Nome: _____ nº _____

Refeições/Alimentos		Medida Caseira	Tamanho da porção	Valor em gramas/ml	Observações
Café da Manhã					Preencher as medidas mostrando o álbum de medidas caseiras.
Lanche					Para mensurar o valor de g/ml das medidas caseiras, considerar o valor da porção média do QFCA, Se for pequena, / 2 Se for grande, + ½ Se for extra-grande, X 2
Almoço					(p25 – p50 – p75 – p100)
Lanche					Descrever quantidades de alimentos por preparação: Papas, sopas, macarronada, feijoada, etc. E colocar neste recordatório, perguntado a responsável pela preparação, para quantas pessoas será dividida.
Jantar					Descrever neste recordatório se consome chá, caso sim, que tipo de chá, como também quantidade de água e horário.
Lanche Noturno					Descrever o tipo de cocção: - Fritura - Grelhado - Cozido - Assado
Preferências Alimentares:					
Aversões Alimentares:					

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências da Saúde
Núcleo Interdisciplinar de Estudos em Saúde e Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Tendo em vista o desenvolvimento do estudo sob o título “Segundo ciclo sobre o diagnóstico e intervenção da situação alimentar, nutricional, serviços de saúde e de doenças não-transmissíveis mais prevalentes da população do município de João Pessoa/PB”, a ser realizado com a população do município de João Pessoa/PB, vimos por meio deste, solicitar sua colaboração na participação deste estudo.

Trata-se de um estudo populacional que irá analisar informações familiares sobre condições socioeconômicas, consumo alimentar, doenças mais prevalentes, qualidade dos alimentos consumidos e higiene dentária. Participarão do estudo, crianças menores de 2 anos de idade, crianças, adolescentes, adultos, mulheres gestantes e idosos. Para obtenção de dados e informações serão aplicados, por uma visitadora devidamente capacitada, questionários por meio de visitas domiciliares, a serem agendadas conforme sua autorização e conveniência.

Nesse sentido, solicitamos sua participação e/ou autorização à participação de crianças e idosos de sua família, para a realização de:

- ☐ Responder informações socioeconômicas e consumo alimentar;
- ☐ Submeter-se, e a seus familiares (criança, adolescente, adulto e idoso) à tomada de medidas de peso, altura, circunferência e dobras cutâneas, para avaliação nutricional
- ☐ Coleta de sangue, de adultos e idosos para análise bioquímica de Hemograma Completo, Glicemia, Vitamina A e E, Vitamina B12, Ácido Fólico, PCR, Glicemia, Alfa 1 – glicoproteína ácida, Homocisteína, Malondialdeído, ROS, Interleucinas.
- ☐ Genética - Polimorfismo

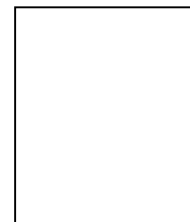
Destacamos neste termo que:

- Sua participação se dará de forma voluntária, sem prejuízo de qualquer natureza, seja para sua pessoa ou de seus familiares, que por acaso venham a acessar os serviços de saúde;
- Poderá, a qualquer momento, não mais participar do estudo, seja durante o fornecimento dos dados ou mesmo depois de já registrados nos questionários;
- Receberá todas as informações necessárias ao total esclarecimento sobre a natureza e procedimentos desenvolvidos no estudo, particularmente àqueles que dizem respeito à sua participação direta e/ou de seus familiares.

Esclarecemos ainda que, durante todo o desenvolvimento do estudo, seguiremos o que determina a Resolução 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde que trata sobre ética em pesquisa envolvendo seres humanos. Por esta razão, pedimos que, após esclarecido e de livre vontade, assine este termo, uma vez que concorda em colaborar voluntariamente neste estudo, e que não tem nenhuma dúvida sobre sua participação.

Participante ou responsável: _____

Profª. Dra. Maria José Carvalho Costa
Responsável pela Pesquisa



Impressão dactiloscópica (polegar direito)

Contato:
UFPB/NIESN. Campus Universitário. Centro de Ciência da Saúde.
Castelo Branco s/n. CEP: 58.059-900. João Pessoa/PB. E-mail: mjc.costa@terra.com.br.
Fone: (083) 3235-5333 – 3216-7417.

APÊNDICE B – Outros Resultados

Tabela 1. Variáveis inflamatórias. Percentual por grupos G1 vs G2.

Intervenção	Grupo 1 (n= 24)		Grupo 2 (n= 24)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Hcy (μ mol/L)	4% (1) INF 96 % (23) NINF	100% (24) NINF	25% (6) INF 75 % (18) NINF	21% (5) INF 79% (19) NINF
TNF- α (pg/ml)	25% (6) INF 75% (18) NINF	4% (1) INF 96% (23) NINF	25% (6) INF 75% (18) NINF	13% (3) INF 87% (21) NINF
IL1 β (pg/ml)	8% (2) INF 92% (22) NINF	100% (24) NINF	100% (24) NINF	100% (24) NINF
IL6 (pg/ml)	29% (7) INF 71% (17) NINF	8% (2) INF 92% (22) NINF	29% (7) INF 71% (17) NINF	21% (5) INF 79 % (19) NINF
IL8 (pg/ml)	100% (24) INF	67% (16) INF 33% (5) NINF	100 % (24) INF	92% (22) INF 8% (2) NINF
IL12p70 (pg/ml)	75% (18) INF 25% (6) NINF	54% (13) INF 46% (11) NINF	71% (17) INF 29% (7) NINF	38% (9) INF 62% (15) NINF
IL10 (pg/ml)	13% (3) INF 87% (21) NINF	4% (1) INF 96% (23) NINF	13% (3) INF 87% (21) NINF	13% (2) INF 87% (22) NINF

APÊNDICE C – ARTIGO

Intervenção dietética com folato reduz valores de TNF- α e interleucinas em mulheres obesas,
com sobrepeso e Polimorfismo C677T do gene *MTHFR*

TÍTULO DA REVISTA: American Journal of Clinical Nutrition

ABREVIACÃO DO TÍTULO (ISO 4): Am. J. Clin. Nutr.

EDITOR: American Society for Nutrition (United States)

ÁREA: Nutrição (Nutrition)

QUALIS: A1

ISSN: 0002-9165 (print); 1938-3207 (web)

FATOR DE IMPACTO: 6.926 (2016/2017)

HISTÓRIA DE PUBLICAÇÃO: 1952–presente

FREQUÊNCIA: mensal

INTERVENÇÃO ALIMENTAR COM FOLATO REDUZ OS VALORES DE TNF- α E INTERLEUCINAS EM MULHERES OBESAS E COM SOBREPESO E POLIMORFISMO C677T DO GENE *MTHFR* ^{1, 2, 3, 4}

Jéssica Vanessa de C Lisboa¹, Keylha Querino F Lima¹, Marina R Ribeiro¹, Carla Patrícia N dos Santos Fechine¹, Raquel Patrícia A Lima¹, Mussara Gomes C Alves Monteiro¹, Rafaella Cristhine P Luna¹, Rayner Anderson F do Nascimento², Naila Francis P de Oliveira³, Darlene C Persuhn⁴, Robson C Veras⁴, Maria da Conceição R Gonçalves⁴, Flávia Emília L de Lima Ferreira⁴, Roberto T Lima⁴, Alexandre S da Silva⁴, Alcides da S Diniz⁵, Alessio Tony C de Almeida⁶, Ronei M de Moraes⁷, Eliseu V Junior⁸, Hubert Vidal⁹, Luciano Pirola⁹, e Maria José de C Costa⁴.

¹ Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal da Paraíba;

² Pós-graduação em Biologia Molecular e Humana, Centro de Ciências Exatas da Natureza (CCEN), Universidade Federal da Paraíba;

³ Professor Doutor do Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Ciências Exatas da Natureza (CCEN), Universidade Federal da Paraíba;

⁴ Professor Doutor do Programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal da Paraíba;

⁵ Professor Doutor do Programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE);

⁶ Professor Doutor do Departamento de Economia, Centro de Ciências Sociais Aplicada (CCSA), Universidade Federal da Paraíba;

⁷ Professor Doutor do Programa de Pós Graduação em Modelos de Decisão em Saúde, Centro de Ciências Exatas da Natureza (CCEN), Universidade Federal da Paraíba;

⁸ Professor Doutor do Departamento de Epidemiologia do Instituto de Medicina Social, Universidade Estadual do Rio de Janeiro;

⁹ PhD, Pesquisador da Universidade de Lyon, Laboratório CARMEN- Villeurbanne, França;

Nota do autor: Fontes de Suporte: Figura 1 Suplementar está disponível no final deste documento; *A quem devem ser endereçadas as correspondências. E-mail: jessicavlisboa@hotmail.com.

RESUMO

Introdução: O polimorfismo C677T no gene *MTHFR* leva à codificação da enzima MTHFR com atividade reduzida para o metabolismo do ácido fólico, elevando os níveis séricos de homocisteína e podendo desencadear processo inflamatório e estresse oxidativo, precursores de doenças crônicas não transmissíveis. No entanto, a minimização destes fatores de risco através da alimentação diária rica em folato em mulheres com excesso de peso ainda não foi estudada.

Objetivos: O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do polimorfismo C677T no gene *MTHFR* sobre os efeitos da intervenção dietética com folato no processo inflamatório em mulheres com sobrepeso e obesidade.

Métodos: Estudo de intervenção, duplo cego, randomizado realizado com 48 mulheres adultas obesas ou com sobrepeso selecionadas de um estudo de base populacional, sendo realizadas as avaliações do consumo alimentar, utilizando Recordatório alimentar de 24 horas,

antropométrica, bioquímicas e análises de genotipagem do polimorfismo C677T do gene *MTHFR*. Os indivíduos foram randomizados em dois grupos que receberam, diariamente, durante 8 semanas, 300g de vegetais, sendo 191 mcg/dia de folato para o Grupo 1 e 95 mcg/dia para o Grupo 2. A estatística foi realizada pela análise de variância (ANOVA), teste-t de student e Teste de Tukey através do Software R, com significância para p-valor < 0,05.

Resultados: no grupo 1 que receberam intervenção dietética contendo 191 mcg/dia de folato houve aumento significativo nos valores após intervenção do consumo de folato e de ácido fólico plasmático em todos os genótipos (CC, CT, TT). Ainda no G1, mas apenas no genótipo TT, houve redução da homocisteína, TNF- α , IL-6, IL-1 β . No grupo 2 com intervenção contendo 95 mcg/dia de folato, houve diferença significativa nos valores de consumo de folato para os genótipos CC e TT, de ácido fólico pós intervenção para os genótipos CT e TT, de 13.32 μ g/mL $\pm$ 3.97 e 15.00 μ g/mL $\pm$ 4.60 para 16.4 μ g/mL $\pm$ 4.95 e 22.62 μ g/mL $\pm$ 6.30, respectivamente e redução de IL-1 β de 5.43 pg/mL para 1.55 pg/mL no genótipo CT.

Conclusões: este estudo se faz importante, pois com base nos resultados pós intervenção dietética com folato observando-se elevação dos valores de ácido fólico e redução de interleucinas, TNF- α e homocisteína principalmente no genótipo TT. Este estudo foi registrado no ClinicalTrials.gov como NCT03186196.

Palavras-chave: Interleucinas. Fator de Necrose Tumoral. Intervenção dietética. Polimorfismo. Folato. Sobrepeso. Obesidade.

INTRODUÇÃO

O processo inflamatório, predisposto pela obesidade, juntamente com o polimorfismo C677T, tendem a elevar os níveis de homocisteína. O citado polimorfismo contribui para o aumento de variáveis inflamatórias como IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-12p70, IL-8 (1-6). Assim, a deficiência do consumo de folato deve ser evitada, fornecendo-se quantidade suficiente deste nutriente (mediante 400 mcg de folato) em função de manter o equilíbrio do sistema imunológico contra infecções e inflamações (imunomodulação) (7-9).

Neste sentido, uma dieta rica em folato, nutriente com efeito anti-inflamatório, tende a atuar como antioxidante (10, 11), prevenindo ou controlando a resposta inflamatória, bem como regulando os valores de homocisteína e neutralizando alguns efeitos do polimorfismo C677T (12, 13, 11). Visto que ainda não há consenso na relação entre o ácido fólico e a homocisteína (14), mas que o ácido fólico isolado pode causar um efeito anti-inflamatório, regulando a via de sinalização inflamatória do NF- κ B, revertendo a hipóxia induzida pelas IL-1 β e IL-8, atuando como possível protetor pra diversas doenças como as cardiovasculares (15, 11, 9).

Verificar o efeito ainda não estudado de uma intervenção alimentar e não de suplementos com folato nos valores de TNF- α e interleucinas em mulheres com sobrepeso e obesidade em relação ao polimorfismo C677T do gene *MTHFR*, foi o objetivo deste estudo. Afinal, o alimento está presente no cotidiano das pessoas, tornando o aporte deste nutriente contínuo, biodisponível e sem efeitos colaterais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização do Estudo

Estudo de intervenção, duplo cego, randomizado, relacionado ao “II Ciclo de Diagnóstico e Intervenção da Situação Alimentar, Nutricional e das Doenças não Transmissíveis mais Prevalentes da População do Município de João Pessoa/PB” (II DISANDNT/PB), uma pesquisa de base populacional financiada pela FAPESQ/MS/CNPQ, iniciada em maio de 2015 e concluída em maio 2016.

Na referida pesquisa, questionários foram preenchidos com várias informações sobre as características socioeconômicas, demográficas, epidemiológicas, avaliação antropométrica, hábitos de vida, bem como aplicados recordatórios alimentares de 24 horas e realizados exames hematológicos e bioquímicos. Proporcionando assim, a formação de um rico banco de dados que abrangeu todos os níveis socioeconômicos e todas as faixas etárias sendo representativo da população das zonas leste e oeste do município de João Pessoa, Paraíba.

Com base nas informações da prefeitura e IBGE (2010), constatou-se que número superior a 10.000 habitantes e a fração amostral é menor que 5%, não sendo necessário o fator de correção de população finita. Assim, a definição da amostra mínima necessária para que os estimadores dos parâmetros populacionais tenha um nível de confiabilidade de 95% (que equivale a um valor crítico tabela, $Z_{\alpha/2}$ de 1,96) foi feita utilizando o seguinte procedimento de cálculo (16):

$$n^* = \frac{\hat{\sigma}^2 Z_{\alpha/2}^2}{E^2}$$

Logo,

$$n^* = \frac{2.601,93^2 \times 1,96^2}{332^2} \approx 236$$

Levando em consideração os critérios de inclusão e os genótipos referentes ao gene *MTHFR* com o polimorfismo C677T, as pesquisadoras convidaram os indivíduos a participar da intervenção, esclarecendo-os sobre os objetivos do estudo que estava em conformidade com

as diretrizes éticas, para que estes ao serem elucidados consentissem participação assinando o TCLE. O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB, sob o protocolo de número 0569/15 e cadastrado no Clinical Trials, com o número ID: NCT03186196.

População e amostra

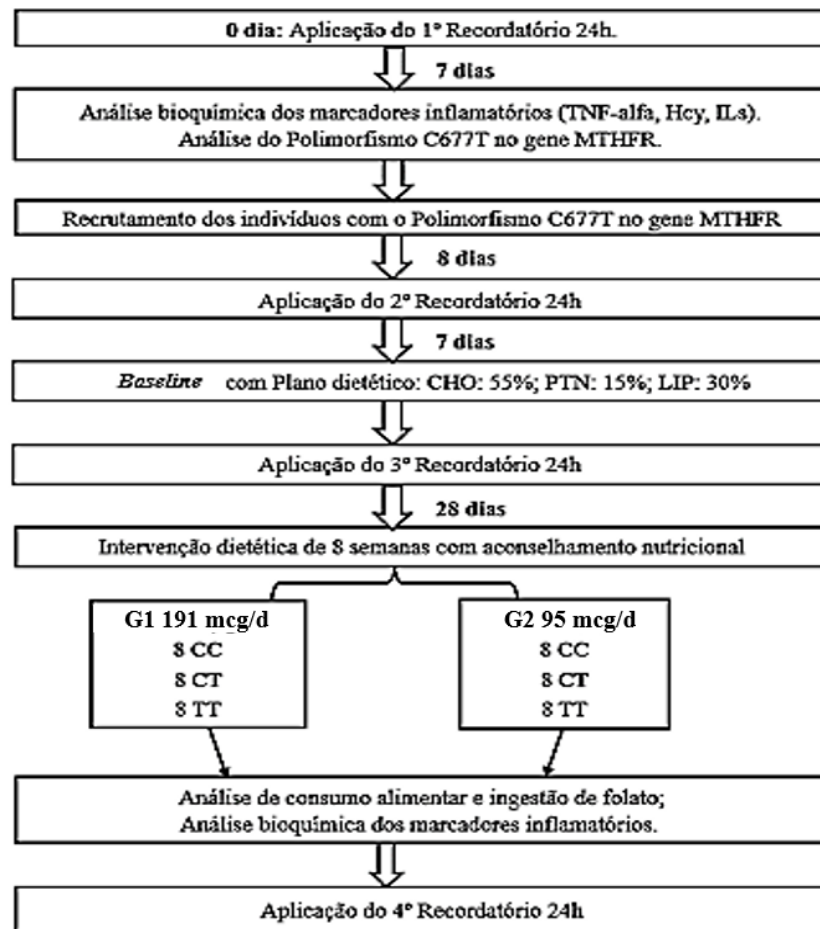
A intervenção foi realizada com amostra total, selecionada aleatoriamente com base em artigos publicados com intervenção dietética versus polimorfismo (17-19), de 48 mulheres adultas com sobrepeso e obesidade entre 20 e 59 anos de idade, participantes do II DISANDNT. Thus, setting the minimum sample required for the estimators of the population parameter, the following calculation procedure was used:

$$\mu = \frac{(Z\alpha/2 + Z\beta/2)^2 \times (dp1^2 + dp2^2)}{(\mu1 - \mu2)^2}$$

Critérios de inclusão: mulheres de diferentes condições socioeconômicas e estado cognitivo preservado.

Critérios de exclusão: mulheres adultas etilistas, tabagistas ou com distúrbios neuropsiquiátricos; fazendo uso de medicamentos (prednisona, hidrocortisona, dexametasona, cloranfenicol e ácido acetilsalicílico) que interferem no metabolismo do ácido fólico (durante os últimos 3 meses); utilizando suplemento de polivitamínicos, minerais, anorexígenos e anabolizantes; com doenças crônicas influentes sobre o sistema endócrino e metabólico; gestantes ou planejando engravidar durante o período do estudo.

Figura 1. Fluxograma do estudo (study profile).



Protocolo Experimental

Inicialmente foram avaliados os critérios de elegibilidade e em seguida as mulheres que consentiram participação foram orientadas a manter peso estável, hábitos alimentares e níveis de atividade física constantes em relação aos dados encontrados na linha de base (*baseline*) (20). Além destas orientações, passaram pela baseline com plano dietético individual, 1 semana antes do início da intervenção dietética, baseados no modelo “Alterações do Estilo de Vida Terapêuticas” (AEVT), do Programa Nacional de Educação para o Colesterol dos EUA (NCEP) (21), e nas da Associação Americana do Coração (22).

O cálculo do gasto energético total foi realizado com base nas Dietary References Intake (DRIs) (7). Os macronutrientes foram distribuídos conforme o recomendado pela American Heart Association – AHA (23). O sistema de equivalentes proposto por Costa (24). foi o utilizado para efetuar cálculo e análise dos nutrientes contidos na dieta recomendada, com Carboidratos: 45 – 65% (recomendado 55%), Proteína: 10 – 35% (recomendado 15%), Gordura Total: 25 – 35% (recomendado 30%).

Não foram autorizados a participar do estudo as participantes que pretendiam mudar seus hábitos alimentares com exceção do folato, a frequência de atividade física ou peso corporal dentro do período de estudo (20). Todas as terapias médicas dos indivíduos continuaram inalteradas ao longo do estudo.

Depois da aplicação do primeiro Recordatório 24h, realização dos exames bioquímicos e análise do polimorfismo C677T no gene *MTHFR*, outro R24h foi aplicado para possibilitar a análise do consumo alimentar antes do período de intervenção. Na *baseline* foi padronizado o consumo alimentar das participantes antes do início da intervenção dietética.

No final desta semana, cada participante, do total de 48 mulheres, foram alocadas nos grupos da intervenção (Grupo 1 – G1: com 24 mulheres, sendo 8 com genótipo CC homozigoto normal, 8 CT heterozigoto e 8 TT homozigoto com alteração, e a mesma distribuição para o Grupo 2 – G2, 24 mulheres 8 CC, 8 CT e 8 TT), através de randomização utilizando o Software STATA versão 14.0 para Windows.

Já alocadas nos grupos, as participantes iniciaram a intervenção seguindo um plano dietético individual com foco na ingestão de 300g de vegetais e leguminosas contendo folato (191 mcg/dia para o G1 e 95 mcg/dia de folato para o G2).

Foram incentivadas a consumir alimentos fortificados com ácido fólico para atingir a EAR (≥ 400 mcg/dia de folato). A EAR, segundo as DRIs, é o valor de referência

correspondente à mediana da distribuição das necessidades de um nutriente em um grupo de indivíduos saudáveis do mesmo sexo e estágio de vida (7).

Composição dietética da intervenção

A padronização da pesagem e preparação dos vegetais utilizados na intervenção deste estudo foi realizada por um restaurante comercial do município de João Pessoa/PB, cuja especialidade é a venda de saladas, com supervisão de um profissional nutricionista.

Os vegetais eram devidamente acondicionados em embalagem plástica individual, transportados com refrigeração adequada e entregues todos os dias pelas pesquisadoras responsáveis, que não tinham conhecimento dos alimentos, quantidades, nem do grupo de cada participantes, nas residências durante 2 meses (08 semanas).

Coleta de Dados

Realizada pela equipe do II DISANDNT/PB, composta de pesquisadores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição - PPGCN da UFPB, devidamente treinados no início da coleta de dados. Esta equipe foi responsável pela aplicação de questionários de consumo alimentar (recordatório alimentar 24h e questionário de frequência alimentar) e análises bioquímicas durante as visitas nas residências.

Avaliação nutricional

As medidas de peso e altura foram aferidas em triplicado para utilização da média desses três valores. Também foi realizado o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), por meio da fórmula do peso corporal (kg) dividido pelo quadrado da altura (metros) (25).

Consumo alimentar

A avaliação do consumo alimentar foi realizada mediante aplicação de quatro Recordatórios Alimentar 24 horas (R24h), separados por um intervalo de 15 dias e incluindo um dia do final de semana.

Os recordatórios foram preenchidos pela equipe segundo relato dos indivíduos entrevistados, contemplando as seguintes informações: hora da refeição, identificação da bebida ou do alimento ingeridos com as características específicas como tipo, ingredientes das preparações, a marca, o modo de preparo, a quantidade consumida, o tamanho da porção e as medidas caseiras.

Para quantificação do tamanho das porções consumidas de modo eficaz e redução das possíveis falhas de memória dos entrevistados, foi utilizado um álbum com figuras de alimentos representando as medidas caseiras em diferentes dimensões (pequena, média, grande e extragrande). Sendo estes desenhados de acordo com o peso real do consumo médio dos alimentos validados para esta população (26, 27).

Todos os ingredientes e as quantidades das preparações dos alimentos foram detalhados, sendo os alimentos analisados pelo Dietwin, software de Nutrição que possui em torno de 5230 alimentos e várias receitas. Todos cadastrados com base na 4ª versão das tabelas da TACO e do DIETWIN, uma compilação das tabelas: IBGE, USDA, CENEXA, Alemã, Repertório Geral dos Alimentos e Fichas Técnicas de Receita. Para análise do consumo alimentar do folato foram utilizados a tabela USDA (28) e o Dietwin.

A fim de estimar a variabilidade do consumo habitual/diário de nutrientes e corrigir a variância intrapessoal, foram utilizados os recordatórios de R24h e o Método de Fonte Múltipla (Multiple Source Method - MSM) disponível online (<https://msm.dife.de/tps/msm/>), foi utilizado. O Método de Fonte Múltipla (MSM) trata-se de um novo método estatístico do European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (29, 30) para estimar a ingestão dietética usual de nutrientes e alimentos para as populações e também para os indivíduos, incluindo alimentos consumidos episodicamente.

Análise bioquímica

A coleta das amostras de sangue foi realizada na residência, previamente avisadas e submetidas a um jejum de 12 horas, por uma equipe por equipe treinada e coordenada por uma enfermeira. O sangue coletado da veia braquial, com auxílio de um garrote, posicionado na linha média do braço, foi mantido em tubos estéreis de 4 mL à vácuo, um com ativador de coágulo para analisar o soro e o outro para analisar o plasma com anticoagulante Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA), sendo conservados em caixa térmica com gelo por no máximo duas horas.

Foram realizadas análises bioquímicas dos valores de ácido fólico, vitamina B12, homocisteína (Hcy), Fator de Necrose Tumoral (TNF- α), citocinas pró-inflamatórias: interleucinas IL-1 β , IL – 6 ao final da aplicação do 4º Recordatório 24 horas (R24h) e da avaliação antropométrica, durante a coleta de dados do II DISANDNT/JP, bem como após a conclusão da intervenção nutricional.

O método de Quimioluminescência foi utilizado para os procedimentos de análise das concentrações séricas de ácido fólico, cujo valor de referência > 3.10 ng/mL e a sensibilidade analítica de 0.5 ng/mL, realizadas no Laboratório Clínico Roseanne Dore. As concentrações

séricas de vitamina B12 foram avaliadas por imunoensaio de electroquimioluminescência com valor de referência de 180 pg/mL a 914 pg/mL.

O método de Pfeiffer; Huff; Gunter (31) e Nunes et al. (32) foi o selecionado para a medição da concentração sérica de homocisteína através da cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC – *high performance liquid chromatography*) com detecção fluorimétrica e eluição isocrática, sendo realizada no Laboratório Clínico Roseanne Dore, utilizando os valores de 5.32 – 15.22 mmol/L como referência.

A dosagem quantitativa do TNF- α e das Interleucinas foi realizada com 25 μ L do soro da amostra incubando por 3 horas a temperatura ambiente com agitação, foi realizada através de um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente IMMULITE/IMMULITE 1000 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA). O valor de referência é de não detectável a 8.1 pg/mL para TNF- α e para as interleucinas os valores de referência foram de 0 a 15 pg/mL para IL-1 β , de 0 a 5.9 pg/mL para IL-6 (33-37).

Coleta e isolamento do DNA de leucócitos

Os leucócitos utilizados para coleta isolamento de DNA foram obtidos por punção venosa na coleta de sangue total em tubo estéreis de 4ml com 7,2 mg de K3-EDTA.

Todas as amostras sanguíneas coletadas foram analisadas no LEMNC do Departamento de Biologia Molecular da UFPB, seguindo o protocolo adaptado de Miller; Dykes; Polesky (38).

Inicialmente, para lisar as hemácias, uma solução de lise 1, composta de 10 mM Tris-HCl pH 8, 5 mM EDTA, 0,3 M sacarose, Triton-X-100 1%, foi usada para diluição das amostras de sangue, posteriormente centrifugadas à 3.200 rpm para descarte do sobrenadante.

A fim de se obter o precipitado de leucócitos puros, este procedimento com solução de lise 1 e centrifugação foi realizado três vezes. Posteriormente, este mesmo precipitado de leucócitos foi novamente suspenso em uma solução de lise 2 com 10 mM Tris-HCl pH 8, 0,5% dodecil sulfato de sódio (SDS), 5 mM EDTA, 0,2 µg de proteinase K (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e seguiu para 7 horas de incubação em banho-maria a uma temperatura de 55°C. Em seguida, foi adicionado 500 µl da solução aquosa contendo 1 mM EDTA e 7,5 M acetato de amônio, realizada mais uma centrifugação com duração de 10 minutos a 14.000g (força da gravidade) e temperatura de 4°C. O sobrenadante de 700 µl foi transferido para outro tubo estéril onde a precipitação do DNA foi efetuada adicionando 540 µl do isopropanol.

Finalmente, alguns últimos procedimentos sequenciais foram utilizados no precipitado do DNA para obtenção do isolamento: lavagem com etanol 70%, centrifugação por 5 minutos a 12.000 g (força da gravidade), secagem e ressuspensão em tampão Tris-EDTA pH 8,0 (38).

Caso não fosse possível executar todos estes procedimentos referentes à extração do DNA no mesmo dia, as amostras eram armazenadas no freezer a -20°C.

Análise do polimorfismo C677T do gene MTHFR

Foram utilizados dois iniciadores (primers) (39):

5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3' (sense);

5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3' (antisense).

Em seguida, o processo de amplificação foi conduzido em termociclador com uma condição de desnaturação inicial por 10 minutos a 94°C, 35 ciclos de desnaturação também a 94°C, por 30 segundos, seguida de anelamento a 61°C em 30 segundos, extensão de 30 segundos à 72°C com etapa extra de extensão final (10 minutos) à 72°C.

Após todas estas etapas, obteve-se um produto de 198 pb que posteriormente sofreu digestão com a enzima *Hinfl*, responsável por reconhecer e clivar o alelo T polimórfico dividindo-o em dois fragmentos: um de 175 pb e outro menor com 23 pb. Diferentemente do alelo ancestral C que continua com 198 pb.

Para análise dos genótipos, as amostras foram analisadas em gel de poliacrilamida a 12%. Por fim, o gel foi corado com nitrato de prata 0,5% que possibilitou a leitura dos genótipos (40).

Análise estatística

Verificou-se que a distribuição dos dados não tinham fortes desvios de assimetria ou caldas inflacionadas. Logo, pode-se utilizar o Teorema Central do Limite, que diz que, para o tamanho de amostra suficientemente grande neste específico caso $\pm n = 48$, a média amostral tem uma distribuição aproximadamente normal.

As características da amostra foram expressas através de uma estatística descritiva. A simetria das variáveis foi verificada separadamente, uma por uma, adequando-se ao uso do Teorema Central do Limite.

Para analisar os valores iniciais e finais após intervenção dietética, as variáveis normais e/ou não normais foram analisadas de acordo com o Teste-t de Student. O teste-t de Student pode ser usado em variáveis não normais, desde que, para o tamanho da amostra a variável esteja próxima da normalidade de forma que a média amostral tenha distribuição normal com a mesma média da variável e variância como sendo a variância da variável dividida pelo tamanho da amostra. O que garante o Teorema Central do Limite, que diz que para uma amostra total significativamente grande a média amostral tem uma distribuição aproximadamente normal.

Para comparação das variáveis dos dois grupos por genotipagem foi utilizado o teste de comparação múltiplo de médias ou análise de variância (ANOVA). Em seguida, para se determinar qual (is) o (s) par (es) de médias diferentes após a realização da ANOVA, foi realizado um teste não-planejado, teste a posteriori ou teste pos hoc, neste caso o teste de Tukey (HSD), comparando médias duas a duas. A análise residual dos modelos estava dentro dos pressupostos para as variáveis do estudo.

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do Software R versão 3.3.2 (disponível em: <https://cran.r-project.org/>), adotando-se o nível de significância de 5% para rejeição da hipótese de nulidade.

RESULTADOS

Na amostra constituída por 48 mulheres com sobrepeso e obesidade a amplitude dos dados situou-se entre 20 e 59 anos para idade, com média de 44.60 anos (± 10.80), 59 - 121kg para o peso pré intervenção, com média de 76.27 kg (± 12.36), de 1,41m a 1,73 m para altura, com média de 1,58 m (± 0.07), de 26 - 50 kg/m² para o índice de massa corporal (IMC) com média de 30.17 kg/m² (± 3.98).

A homocisteína de 5 - 46 $\mu\text{mol/L}$, com média de 12.14 $\mu\text{mol/L}$ (± 8.41), para o folato no G1 pré intervenção foi de 73.6 - 231.6 mcg e no pós foi de 212.2 - 433.8 mcg; já no G2 foi de 91.1 - 250.1 mcg no pré e de 171.2 - 415.2 mcg no pós média de 147.65 mcg pré intervenção e de 331.85 mcg pós intervenção, sendo $p > 0.05$ para todas as variáveis apresentadas.

A distribuição das médias antes da intervenção foi similar entre os dois grupos, em termos de Sobrepeso 27.92 (± 1.04) no G1 e 28.16 (± 1.21) no G2 (p-valor de 0.1281) e para obesidade 33.12 (± 2.29) no G1 e 34.31 (± 6.12) no G2 (p-valor de 0.3994).

Observa-se na Tabela 1 que não houve diferença significativa entre os grupos antes da intervenção (p-valor > 0.05).

Tabela 1. Características gerais das participantes por grupos antes da intervenção alimentar.

	Grupo 1	Grupo 2	p-Valor
Variáveis	(191 mcg/dia)	(95 mcg/dia)	
Idade (anos)	44.88 ± 12.47	44.33 ± 9.26	0.8802
IMC (kg/m ²)	29.88 ±3.01	30.47 ± 4.82	0.6236
Folato (mcg)	144.40 ±43.47	150.90 ±42.73	0.6034
Ácido Fólico (µg/ml)	14.32 ±4.46	13.83 ±4.13	0.6222
Vitamina B12 (pg/mL)	253.14 ±103.58	304.66 ±133.05	0.1417
Homocisteína (µmol/L)	9.64 ± 2.44	11.65 ± 5.99	0.1404
TNF-α (pg/mL)	6.51 ±7.90	6.14 ±7.26	0.8661
IL-1β (pg/mL)	5.11 ±4.92	3.88 ±3.90	0.3429
IL-6 (pg/mL)	4.49 ±3.47	4.42 ±3.85	0.9894

*Valores expressos em média e desvio padrão (± DP). TNF-α =Fator de Necrose Tumoral alfa; IMC= Índice de Massa Corporal; IL= Interleucina.

Conforme os dados descritos na tabela 2, no G1 ocorreu aumento das concentrações de folato e ácido fólico em todos os genótipos e redução de todas as variáveis inflamatórias, no genótipo TT na pós intervenção. No G2, observou-se aumento dos valores de folato nos genótipos CC e TT, e aumento dos valores de ácido fólico nos genótipos CT e TT, como também redução dos valores de IL-1 β no genótipo CT.

Tabela 2. Valores das vitaminas, homocisteína e dos marcadores inflamatórios, separados por genótipos da MTHFR, pré e pós intervenção da dieta com folato.

	G1			191 mcg/d					
	Pré	Pós	P valor	Pré	Pós	P valor	Pré	Pós	P valor
	CC	CC		CT	CT		TT	TT	
Folato (mcg)	132.0± 32.73	352.0± 73.07	0.0000*	128.0± 41.17	410.0± 372.35	0.0000*	184.0± 34.54	376.0± 68.32	0.0000*
AF (µg/ml)	12.94± 5.29	22.21± 7.26	0.0033*	13.48± 1.61	18.11± 3.10	0.0016*	16.52± 5.11	25.48± 4.35	0.0046*
Vi. B12 (µg/ml)	251.8± 113.13	237.5± 52.69	0.7174	261.2± 139.79	258.0± 113.03	0.8429	246.3± 52.71	228.6± 78.15	0.6492
Hcy (µmol/L)	8.97 ± 1.52	7.60± 1.79	0.1207	9.91± 3.70	8.01± 2.27	0.2374	10.05± 1.66	7.11± 0.77	0.0005*
TNF-α (pg/mL)	7.73± 12.34	5.46± 9.38	0.5132	5.02± 4.59	1.66± 2.31	0.1614	6.78± 5.24	1.66± 0.53	0.0004*
IL6 (pg/mL)	3.93± 4.70	3.63± 3.41	0.8980	3.86± 3.76	1.84± 2.03	0.2224	5.67± 0.93	0.66± 0.74	0.0000*
IL1β (pg/mL)	3.17± 5.74	17.62± 1.63	0.2610	6.85± 5.82	3.01± 3.43	0.1565	5.32± 2.20	1.73± 2.47	0.0007*
	G2			95 mcg/d					
	Pré	Pós	P valor	Pré	Pós	P valor	Pré	Pós	P valor
	CC	CC		CT	CT		TT	TT	
Folato (mcg)	149.0± 14.43	292.0± 65.24	0.0004*	170.0± 50.43	254.0± 85.27	0.0910	154.0± 53.84	316.0± 63.06	0.0003*
AF (µg/ml)	13.18± 4.08	14.88± 3.79	0.1318	13.32± 3.97	16.4± 4.95	0.0011*	15.00± 4.60	22.62± 6.30	0.0249*
Vi. B12 (µg/ml)	268.6± 92.63	271.0± 92.16	0.3185	345.5± 179.14	355.2± 202.59	0.7991	299.8± 118.65	273.6± 83.60	0.3162
Hcy (µmol/L)	13.61± 13.10	7.83± 2.51	0.2408	10.98± 6.11	9.86± 4.43	0.6812	19.33± 12.75	14.91± 10.40	0.4603
TNF-α (pg/mL)	5.80± 8.33	4.45± 3.54	0.6489	9.52± 8.63	2.84± 2.09	0.0517	3.10± 2.34	4.30± 6.99	0.5959
IL6 (pg/mL)	4.26± 5.10	4.48± 2.29	0.9184	5.16± 1.60	2.82± 2.96	0.0685	3.85± 4.39	3.29± 3.07	0.8310
IL1β (pg/mL)	3.50± 4.44	3.85± 1.78	0.8280	5.43± 4.50	1.55± 1.79	0.0224*	2.71± 2.34	3.69± 4.58	0.6713

*Todos os valores expressos em média e desvio padrão (±DP). Teste t student independente.

G1: 191 mcg/dia de folato; G2: 95 mcg/dia de folato. AF: ácido fólico (µg/mL); Vit.=

Vitamina; IL- interleucina; TNF: Fator de Necrose Tumoral; Hcy: homocisteína.

DISCUSSÃO

A intervenção com alimentos contendo folato interferiu positivamente no status inflamatório da casuística, ao comparar-se os mesmos genótipos antes e após intervenção, influenciando predominantemente no G1 (191 mcg/dia) e no genótipo TT com redução nos valores de homocisteína, TNF- α , IL-6 e IL-1 β . Observando-se também aumento nos valores de folato e ácido fólico em todos os genótipos desse grupo. No Grupo 2, observou-se aumento dos valores de folato no genótipo CC e TT e de ácido fólico nos genótipos CT e TT. Embora tenha havido aumento de ácido fólico, não observou-se redução de Hcy ou dos parâmetros inflamatórios em TT ou outro genótipo.

Ainda em relação ao folato, os grupos G1 e G2 apresentaram baixo consumo deste nutriente pré intervenção atingindo em torno de 32-46% da EAR de 400 mcg/ dia por genótipo, sendo maior consumo no grupo TT (G1) com 46% e o menor no CT (G1) com 32% da EAR. Na pós intervenção, os valores do consumo de folato em G1 e G2 aumentaram, ficando na faixa de 63,5%-102,5% da EAR, sendo maior no CT do G1 com 102,5% e menor no CT do G2 com 63,5% da EAR.

Quanto aos valores de ácido fólico não ocorreu aumento no genótipo CC do G2, devido, provavelmente, ao consumo deste nutriente ter sido mais baixo neste grupo pós intervenção com uma diferença, embora não estatística, no consumo de – 17% em comparação ao genótipo CC no G1 (352-292 mcg). Sendo verificado aumento nos portadores do genótipo TT, nos grupos 2 e 1, corroborando com Tsang et al. (41).

Estes resultados sugerem que para que exista um efeito sobre os níveis de Hcy em TT, o consumo de folato precisa ser significativo, e ainda, que pode existir uma relação entre o estresse oxidativo representado neste trabalho pela homocisteína e mediadores inflamatórios, indicando que os benefícios bioquímicos de uma dieta rica em folato será melhor observado em

portadores da versão termolábil e portanto menos funcionante da MTHFR. Afinal, a biodisponibilidade do folato é baixa em pessoas com polimorfismo genético (42).

Com quantidades em relação a EAR entre 87,5% a 102,5%, oriundos da alimentação habitual e intervenção, provavelmente se consegue efeitos positivos na saúde com base nos resultados encontrados, corroborando com Kagawa et al. (43). Quanto a efetividade e aderência à intervenção, estas são possíveis visto que as quantidades de vegetais e leguminosas consumidas apesar de elevadas (300g/dia) são as recomendadas, perfazendo aproximadamente 5 porções/dia baseados no modelo “Alterações do Estilo de Vida Terapêuticas” (AEVT), do Programa Nacional de Educação para o Colesterol dos EUA (NCEP) (21), e nas da Associação Americana do Coração (22). Portanto, possíveis de serem consumidas no dia a dia se houver mudança de hábito alimentar e a maioria não possui alto custo.

Neste estudo, observa-se que a redução do metabólito homocisteína foi observada no grupo que recebeu 191 mcg e que apresentava o genótipo TT. Contudo, não observou-se diferença nos níveis de homocisteína entre os genótipos pré intervenção, sugerindo que o efeito observado é genótipo dependente.

A homocisteína (Hcy) é um metabólito da via de remetilação da metionina, e tem sido considerada um potencial indicador do funcionamento da formação de metil-THF, que atua como doador de grupo metil para esta conversão. Logo, estudos apontam, maiores níveis de homocisteína em torno de 20% a mais, associados ao baixo nível de folato na presença do genótipo TT da MTHFR, que apresenta atividade catalítica reduzida em 70% (39).

Hcy induz produção de leucócitos e adesão endotelial, migração transendotelial de leucócitos e lesão endotelial mediada por leucócitos, que seletivamente muda o padrão de expressão da proteína de quimioatração de monócitos (MCP-1) e interleucinas; estas sinalizam neutrófilos e respostas celulares com liberação de citocinas e agonistas inflamatórios como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (44, 45).

Estresse oxidativo/inflamação pode ser desencadeado por múltiplas vias metabólicas. A Hcy é apenas um metabólito relacionado. Segundo Saldanha et al. (46) e Connaughton et al. (47) o estresse oxidativo é agravado pela produção de várias citocinas inflamatórias, desencadeadas pela ativação da via de sinalização NF- κ B iniciada pelo próprio estresse, pela hiperhomocisteinemia, pela obesidade e também consumo excessivo de calorias, tornando-se um ciclo vicioso. O TNF- α é um importante marcador inflamatório, que induz citocinas mediadoras IL-1 β e IL-6 (48, 49) O TNF- α e a IL-1 β agem de forma sinérgica, pois IL-1 β por si só não induz lesão ao tecido ou apoptose na resposta de fase aguda, no entanto, consegue potencializar os efeitos do TNF- α (50-52).

Talvez o efeito observado se justifique porque apenas em TT há um déficit de folato resultante da molécula com menor atividade na via de remetilação, consequentemente levando a níveis limitantes de CH₃ – folato. Quando a disponibilidade de folato foi suficiente, para reduzir de forma significativa a Hcy, observou-se o efeito nos parâmetros inflamatórios, sugerindo que um efeito é consequência do outro.

No genótipo TT, com o aumento estatístico dos valores de ácido fólico, bem como do consumo de folato dietético proveniente de intervenção alimentar com vegetais e leguminosas fontes de folato, podem ter contribuído para a redução dos valores de homocisteína, do TNF e das interleucinas.

Considerando que a nutrigenética explica a interação das variantes genéticas com nutrientes ou compostos bioativos personalizando o padrão de cuidado nutricional e individualizando as diversas necessidades nutricionais (53, 54) o presente estudo se faz importante, pois com base nos resultados pós intervenção dietética com folato observando-se elevação dos valores de ácido fólico e redução do agente pró inflamatório homocisteína e interleucinas e TNF- α , principalmente no genótipo TT da MTHFR, o que deverá subsidiar estratégias de intervenção personalizada para prevenção de

hiperhomocisteinemia e de inflamação em indivíduos com sobrepeso ou obesidade. Corroborando com Kagawa et al. (43), que enfatiza a importância desse cuidado nutricional individualizado.

Os resultados deste estudo evidenciam a importância do consumo de folato pela população que possui este polimorfismo, especialmente os indivíduos com o genótipo TT, visando melhora nos níveis dos marcadores inflamatórios.

Dessa forma, observando o efeito positivo das concentrações de folato próximas das recomendações frente os valores das interleucinas IL-6, IL-1 β , TNF- α e de homocisteína, evidenciamos a importância das orientações dietéticas personalizadas, especialmente nos indivíduos com o genótipo TT. Também constatado no Projeto Folato de Sakado, no qual o governo, na intenção de reduzir custos e visando a saúde da população incentivou o consumo de alimentos com folato e ricos em ácido fólico (43).

Limitações

As principais limitações do estudo estão relacionadas ao tamanho limitado da amostra e ao curto prazo de experimentação nutricional. A mudança efetiva para hábitos alimentares que incorporem quantidades adequadas de nutrientes como ácido fólico passa por processos educativos que demandam investimentos e esforços do poder público e que nem sempre mostram efeitos a curto prazo. Contudo, os resultados deste estudo demonstram a importância de aliar informações próprias de cada indivíduo no momento de estabelecer metas de consumo de nutrientes estratégicos com vistas a respostas biológicas específicas.

CONCLUSÃO

Houve efeito benéfico do consumo de folato em mulheres com sobrepeso e obesidade sobre a redução dos marcadores inflamatórios (TNF- α , IL-6 e IL1 β) e homocisteína no genótipo TT do polimorfismo C677T no gene *MTHFR*. Observamos nas mulheres que consumiram 191 mcg/dia de folato, advindos da intervenção dietética de vegetais, que os níveis de ácido fólico aumentaram em todos os genótipos e os níveis de homocisteína reduziram no genótipo TT.

REFERÊNCIAS

1. Holven KB, Aukrust P, Retterstol K, Hagve TA, Mørkrid L, Ose L, Nenseter MS. Increased levels of C-reactive protein and interleukin-6 in hyperhomocysteinemic subjects. *Scand J Clin Lab Invest* 2006;**66**(1):45–54.
2. Zhang L, Zhang L, Jin M, Hu X, Zhu J. Homocysteine stimulates nuclear factor kappa B activity and interleukin-6 expression in rat vascular smooth muscle cells. *Cell Biol Int* 2006;**30**(7):592–597.
3. Fuchs D, Avanzas P, Arroyo-spliguero R, Jenny M, Consuegra-Sanchez L, Kaski JC. The role of neopterin in atherogenesis and cardiovascular risk assessment. *Curr Med Chem* 2009;**16**:4644-4653.
4. Murr C, Winklhofer-Roob BM, Schroecksnadel K, Maritschnegg M, Mangge H, Böhm BO, Winkelmann BR, März W, Fuchs D. Inverse association between serum concentrations of neopterin and antioxidants in patients with and without angiographic coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2009;**202**:543-549.

5. Wang M, Kaufman RJ. The impact of the endoplasmic reticulum protein folding environment on cancer development. *Nat Rev Cancer* 2014;**14**(9):581–597.
6. Wu P, Zhang F, Dai Y, Han L, Chen S. Serum TNF- α , GTH and MDA of high-fat diet-induced obesity and obesity resistant rats. *Saudi Pharm J* 2016;**24**(3):333–336.
7. National Academy Of Sciences. Dietary Reference Intakes: Folate, other B Vitamins and Choline. Washington, D.C., Proc Natl Acad Sci U S A 1998.
8. Liew SC. Folic acid and diseases – supplement it or not? *Rev Assoc Med Bras* 2017;**62**(1):90-100.
9. Wu CH, Huang TC, Lin BF. Folate deficiency affects dendritic cell function and subsequent T helper cell differentiation. *J Nutr Biochem* 2017;**41**:65–72.
10. Joshi R, Adhikari S, Patro BS, Chattopadhyay S, Mukherjee T. Free radical scavenging behavior of folic acid: evidence for possible antioxidant activity. *Free Radic Biol Med* 2001;**30**(12):1390–1399, 2001.
11. Hel Z, Xu J, Denning WL, Helton ES, Huijbregts RPH, Heath SL, Overton ET, Christmann BS, Elson CO, Goepfert PA, Mestecky J. Dysregulation of Systemic and Mucosal Humoral Responses to Microbial and Food Antigens as a Factor Contributing to Microbial Translocation and Chronic Inflammation in HIV-1 Infection. *PLoS Pathog* 2016;**13**(1): e1006087.

12. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;**93**(1):7-9.

13. Wang G, Dai J, Mao J, Zeng X, Yang X, Wang X. Folic acid reverses hyper-responsiveness of LPS-induced chemokine secretion from monocytes in patients with hyperhomocysteinemia. *Atherosclerosis* 2005;**179**(2):395–402.

14. Feng D, Zhou Y, Xia M, Ma J. Folic acid inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages by suppressing MAPKs and NF-kappaB activation. *J Inflamm Res* 2011;**60**:817-822.

15. Bandarra D, Biddlestone J, Mudie S, Müller HJ, Rochal S. HIF-1 α restricts NF- κ B-dependent gene expression to control innate immunity signals. *Dis Model Mech* 2015;**8**(2):169-181.

16. Bolfarine H, Bussab WO. *Elementos de amostragem*. São Paulo: Edgard Blücher. p. 274, 2005.

17. de Medeiros Cavalcante IG, Silva AS, Costa MJ, Persuhn DC, Issa CT, de Luna Freire TL, Gonçalves MCR. Effect of vitamin D3 supplementation and influence of BsmI polymorphism of the VDR gene of the inflammatory profile and oxidative stress in elderly women with vitamin D insufficiency. *Exp Gerontol* 2015;**66**:10-16.

18. Gonçalves MCR. Supplementation with Watermelon Extract Reduces Total Cholesterol and LDL Cholesterol in Adults with Dyslipidemia under the Influence of the MTHFR C677T Polymorphism. *J Am Coll Nutr* 2016; **35**(6):514-520.

19. Issa CTMI, Silva AS, Toscano LT, Gonçalves MCR. Relationship between cardiometabolic profile, vitamin D status and BsmI polymorphism of the VDR gene in non-institutionalized elderly subjects. *Exp Gerontol* 2016;**81**:56-64.

20. Switzeny OJ, Müllner E, Wagner K, Brath H, Aumüller E, Haslberger AG. Vitamin and antioxidant rich diet increases MLH1 promoter DNA methylation in DMT2 subjects. *Clin Epigenetics* 2012;**4**(1):19.

21. National Cholesterol Education Program (Ncep) Expert Panel On Detection, Evaluation, And T. Of H. B. C. In A. (ADULT T. P. I. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;**106**(25):3143–421.

22. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, Franklin B, Kris-Etherton P, Harris WS, Howard B, et al. Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006: A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation* 2006;**114**(1):82-96.

23. AHA (American Heart Association): *Dietary Guidelines for American*. 2010. Disponível em: https://www.heart.org/idc/groups/heart-public/@wcm/@adv/documents/downloadable/ucm_312853.pdf.

24. Costa MJCC. *Nutrição clínica: uso do sistema de equivalentes na prática dietoterápica*. 2 ed. João Pessoa: Editora da UFPB. 2013.

25. Who (World Health Organization). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organization* 2000;**894**:11-253.

26. Asciutti LSR. *Manual de porções média em tamanho real baseado no programa dietsys para estudo de base populacional*. João Pessoa: Editora da UFPB, 2005.

27. Pereira D, Lima RP, De Lima R, Gonçalves MC, De Moraes LCS, Franceschini SC, Filizola R, De Moraes R, Asciutti LS, Costa MJ. Association between obesity and calcium:phosphorus ratio in the habitual diets of adults in a city of Northeastern Brazil: an epidemiological study. *Nutr J* 2013;**12**:90.

28. USDA. U. S. *Department of Agriculture Agricultural Research Service*: fontes de folato, 2015. Disponível em: < <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>>.

29. MSM. The Multiple Source Method. *Departament of Epidemiology of the German Institute of Human Nutrition Potsdam*. <https://msm.dife.de/tps/msm/> Acessado em Novembro 17, 2016.

30. EPIC - European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (2012). *Método de Múltiplas Fontes online (Multiple Source Method - MSM)*. Disponível em: <<https://msm.dife.de/tps/msm/>>.
31. Pfeiffer CM, Huff DL, Gunter EW. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory setting. *Clin Chem* 1999;**45**(2):290-2.
32. Nunes EC, et al. Standardization of homocysteine determination by high pressure liquid chromatography and application on coronary artery disease patients. *J Bras Patol* 2000;**36**:166-173.
33. Elefteriades JA. Mini-CABG: A step forward or backward: The Pro point of view. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997;**11**:661-8.
34. Kroegel C, Anthony VB. Immunobiology of pleural inflammation: potential implications for pathogenesis, diagnosis and therapy. *Eur Respir J* 1997;**10**:2411-18.
35. Xirouchaki MD, Tzanakis N, Bouros D, Kyriakou D, Karkavitsas N, Alexandrakis M, Siafakas NM. Diagnostic value of interleukin-1a, interleukin-6 and tumor necrosis factor in pleural effusions. *Chest* 2002;**121**:815-20.
36. Benitez JM, Barros RT, Cevallos CVG, Rizzo LV, Kokron C, Woronik V, Kalil J, Barros MT. Comparação da secreção de citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) entre pacientes com nefropatia da IgA e deficiência de IgA. *Rev Bras Alergia Imunopatol* 2004;**27**(3). Disponível em: < <http://www.asbai.org.br/revistas/Vol273/Comparacao.pdf> >.

37. Junqueira CLC, SanfAnna PRP, Junqueira ASM, Oliveira JMF, Romêo Filho LJM. Associação de Marcadores Inflamatórios e Níveis Tensionais em Indivíduos Hipertensos com Diabetes Mellitus Tipo 2. *Rev SOCERJ* 2005;**18**(5):392-396.

38. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;**16**(3).

39. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genet* 1995;**10**(1):111-113.

40. Arruda VR, Von Zube PM, Chiparini LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF, et al. The mutation ala677val in the MTHFR gene: A risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 1997;**77**:818–821.

41. Tsang BL, Devine OJ, Cordero AM, Marchetta CM, Mulinare J, Mersereau P, Guo J, Qi YP, Berry RJ, Rosenthal J, Crider KS, et al. Assessing the association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T polymorphism and blood folate concentrations: a systematic review and meta-analysis of trials and observational studies. *Am J Clin Nutr* 2015;**101**(6):1286-94.

42. Hiraoka M, Kato K, Saito Y, Yasuda K, Kagawa Y. Gene-nutrient and gene–gene interactions of controlled folate intake by Japanese women. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;**316**:1210–1216.

43. Kagawa Y, Hiraoka M, Kageyama M, Kontai Y, Yurimoto M, Nishijima C, Sakamoto K. Medical cost savings in Sakado City and worldwide achieved by preventing disease by folic acid fortification. *Congenit Anom* 2017;**1**:1741-4520.

44. Singhal G, Jaehne EJ, Corrigan F, Toben C, Baune BT. Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: A focused review. *Front Neurosci* 2014;**8**(315).

45. Bonfigli AR, Spazzafumo L, Prattichizzo F, Bonafè M, Mensà E, Micolucci L, Giuliani A, Fabbietti P, Testa R, Boemi M, et al. Leukocyte telomere length and mortality risk in patients with type 2 diabetes. *Oncotarget* 2016;**7**(32):50835–50844.

46. Saldanha JF, Leal VO, Stenvinkel P, Carraro-Eduardo JC, Mafra D. Resveratrol: Why is it a promising therapy for chronic kidney disease patients? *Oxid Med Cell Longev* **2013**;2013.

47. Connaughton RM, McMorrow AM, McGillicuddy FC, Lithander FE, Roche EM. Nutritional issues in adolescence and adulthood Impact of anti-inflammatory nutrients on obesity-associated metabolic-inflammation from childhood through to adulthood. *Proc Nutr Soc* 2016;**75**:115–124.

48. Kim S, Keku TO, Martin C, Galanko J, Woosley JT, Schroeder JC, Satia JA, Halabi S, Sandler RS. Circulating levels of inflammatory cytokines and risk of colorectal adenomas. *Cancer Res* 2008;**68**(1):323–328.

49. Soria G, Ofri-Shahak M, Haas I, Yaal-Hahoshen N, Leider-Trejo L, Leibovich-Rivkin T, Weitzenfeld P, Meshel T, Shabtai E, Gutman M, Ben-Baruchet A. Inflammatory mediators in breast cancer: coordinated expression of TNF α & IL-1 β with CCL2 & CCL5 and effects on epithelial-to-mesenchymal transition. *BMC Cancer* 2011;**11**(130).
50. Hehlhans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumor necrosis factor/ tumor necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology* 2005;**115**:1-20.
51. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol* 2008;**8**(5):349-361.
52. Lyons CL, Kenned EB, Roche HM. Metabolic Inflammation-Differential Modulation by Dietary Constituents. *Nutrients* 2016;**8**(5):247.
53. Mcdonald D, Glusman G, Price ND. Personalized nutrition through big data. *Nat Biotechnol* 2016;**34**:152-154.
54. Noecker C, Borenstein E. Getting personal about nutrition. *Trends Mol Med* 2016;**22**:83-85.