



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

CARLA PATRÍCIA NOVAES DOS SANTOS FECHINE

**SUPLEMENTAÇÃO COM FIBRA DIETÉTICA: EFEITOS NA PRESSÃO
ARTERIAL, PERFIL METABOLÔMICO E POLIMORFISMO C677T DO GENE
MTHFR EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO**

João Pessoa

2021

CARLA PATRÍCIA NOVAES DOS SANTOS FECHINE

**SUPLEMENTAÇÃO COM FIBRA DIETÉTICA: EFEITOS NA PRESSÃO
ARTERIAL, PERFIL METABOLÔMICO E POLIMORFISMO C677T DO GENE
MTHFR EM MULHERES COM EXCESSO DE PESO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da
Saúde da Universidade Federal da Paraíba em
cumprimento aos requisitos para obtenção do título
de Doutor em Ciências da Nutrição.

ORIENTADORA: Prof. Dr. Darlene Camati Persuhn

COORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria José Carvalho Costa

João Pessoa

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F291s Fechine, Carla Patricia Novaes Dos Santos.
Suplementação com fibra dietética : efeitos na
pressão arterial, perfil metabólico e polimorfismo
C677T do gene MTHFR em mulheres com excesso de peso /
Carla Patricia Novaes Dos Santos Fechine. - João
Pessoa, 2021.
97 f. : il.

Orientação: Darlene Camati Persuhn.
Coorientação: Maria José Carvalho Costa.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. hipertensão arterial. 2. obesidade. 3. fibra
alimentar. 4. polimorfismo. 5. metabólica. I.
Persuhn, Darlene Camati. II. Costa, Maria José
Carvalho. III. Título.

UFPB/BC

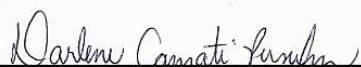
CDU 616.12-008.331.1(043)

CARLA PATRÍCIA NOVAES DOS SANTOS FECHINE

**SUPLEMENTAÇÃO COM FIBRA DIETÉTICA: EFEITOS NA PRESSÃO ARTERIAL,
PERFIL METABOLÔMICO E POLIMORFISMO DO C766T DO GENE MTHFR EM
MULHERES COM EXCESSO DE PESO**

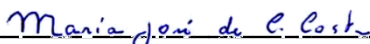
Tese defendida em 19/11/2021

BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Darlene Camati Persuhn

Orientadora – Presidente da Banca examinadora
PPGCN / DN / CCS / UFPB



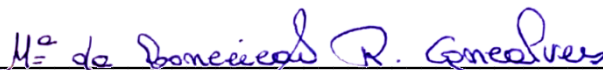
Prof^a. Dr^a. Maria José de Carvalho Costa

Coorientadora
PPGCN / DN / CCS / UFPB



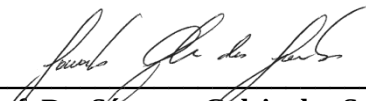
Prof. Dr^a. Rafaela Lira Formiga Cavalcanti de Lima

Examinador interno titular
PPGCN / DN / CCS / UFPB



Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves

Examinador interno Titular
PPGCN / DN / CCS / UFPB



Prof. Dr. Socrates Golzio dos Santos

Examinador externo Titular
PgPNSB / DCF / CCS / UFPB



Prof^a. Dr^a. Rafaella Cristhine Pordeus Luna

Examinador externo Titular
Departamento de Nutrição / CSHNB / UFPI

João Pessoa
2021

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é
senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria
menor se lhe faltasse uma gota”.*

Madre Teresa de Calcuta

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me deu força para concluir esta etapa de minha vida e que me ajudou a não desanimar com as dificuldades vivenciadas.

A minha família, em especial, a minha mãe Maria Edna, ao meu esposo João Fachine e minha filha Maria Luiza, que muitas vezes compreenderam a minha ausência nos momentos de lazer. Obrigada pelo amor, incentivo, força e apoio incondicional para que eu chegasse até aqui.

A professora Darlene Camati Persuhn pela orientação, confiança e atenção que tornaram possível a realização do meu sonho. Sou imensamente grata por todas as considerações pertinentes durante a pesquisa.

A professora Maria José de Carvalho Costa pela orientação tão acolhedora e pela amizade, carinho, atenção e cuidado. A senhora é uma referência na nutrição clínica! Foi uma honra ter sido sua orientanda, e compartilhar momentos de aprendizado tão ricos.

Aos Professores Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves, Hemerson Iury Ferreira Magalhães, Rafaela Lira Formiga Cavalcanti de Lima, Rafaella Cristhine Pordeus Luna, Sócrates Golzio dos Santos, Josean Fachine Tavares por terem aceitado o convite para participar desta banca, contribuindo com as sugestões e com a melhoria da correção da tese.

Obrigada aos amigos que conquistei no doutorado e em especial a minha amiga irmã Mussara Gomes Monteiro, Celso Costa da Silva Júnior, Mayara Karla Nunes, Caroline Severo de Assis, Jairo Alves da Silva, Amana Dore Paiva Sales, Cássia Surama Oliveira da Silva.

Ao Laboratório de Análises Clínicas HEMATO e Hemocentro pela parceria na realização das análises bioquímicas.

Aos professores: Josean Fachine Tavares, Augusto Lopes e Sócrates Golzio por terem aceito esse desafio da pesquisa na área da nutrição e metabólica. Obrigada pela paciência e compromisso.

Aos Técnicos, Evandro e Marcelo, do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), pela parceria na metabolômica. Sem vocês nada disso teria acontecido.

Às mulheres que aceitaram participar da pesquisa, sem as quais não seria possível a realização do estudo de intervenção.

Ao Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Carlos, pelo acolhimento, dedicação e empatia. Obrigada por tudo!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, representado pelo professor Evandro Leite Souza e José Luiz de Brito, pela oportunidade de concluir o doutorado, bem como os professores do programa pelos ensinamentos durante as aulas teóricas da Pós.

RESUMO

A hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica complexa e multifatorial, caracterizada pela elevação persistente da pressão arterial e por alterações metabólicas. Apesar dos avanços na compreensão da fisiopatologia da HA e a implementação de estratégias de prevenção e tratamento eficazes, a HA continua sendo um dos maiores problemas emergentes de saúde pública do mundo. No contexto etiológico estão envolvidos fatores genéticos, estilo de vida, e dentre esses destaca-se a alimentação. A fibra dietética tem sido associada à prevenção de alterações na glicemia, perda de peso, dislipidemias e embora ainda não consensual, no controle da pressão arterial. A regulação da pressão arterial está envolvida com a epigenética que criou novo conceito sobre a herança genética e regulação fenotípica de um organismo e poderá ser melhor compreendida na era pós genômica com a metabolômica que possibilitou melhor identificação sobre relações metabólicas. O estudo teve como objetivo avaliar o perfil metabolômico e a influência do polimorfismo C677T do gene *MTHFR* após suplementação com fibra dietética em mulheres hipertensas com excesso de peso. Estudo de intervenção duplo-cego placebo controlado com formação de dois grupos: o grupo experimental, composto por 14 mulheres hipertensas com excesso de peso suplementado com 12 g/dia de fibra dietética, e o grupo placebo (n=12) suplementado com 12 gramas de amido de milho por 8 semanas. A amostra foi composta por mulheres na faixa etária de 20 a 60 anos. Foram realizadas avaliação antropométrica, análises bioquímicas pré e pós intervenção do colesterol sérico (CT), triglicerídeos (TG), HDLc, LDLc, glicemia de jejum e proteína C reativa, ultrasensível (PCR-us), assim como a análise do perfil metabolômico por meio da técnica de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (^1H RMN) e genotipagem do polimorfismo do gene *MTHFR*. Os resultados obtidos após a análise dos componentes principais (PCA), mostraram que houve aumento nos valores dos seguintes metabólitos de HDL-C de acordo com o deslocamento químico-ppm (0,88, $p=0,0000$; 1,24, $p=0,0010$; 1,28, $p=0,0000$; 4,94, $p=0,258$), colina (3,65, $p=0,0035$) e hidroxibutirato (1,20, $p=0,0010$), bem como redução da pressão arterial sistólica antes e depois da intervenção. A análise do perfil metabolômico por RMN no soro das mulheres hipertensas e com excesso de peso, permitiu identificar metabólitos, facilitando uma melhor compreensão das vias metabólicas, podendo auxiliar no tratamento dessas patologias quando associadas. Em relação à influência do polimorfismo C677T do gene *MTHFR* e o perfil metabolômico em resposta ao consumo de fibra, observou-se que as mulheres com genótipos CT/TT apresentaram maiores reduções nos valores de pressão arterial sistólica após intervenção com fibras, assim como aumento da área de concentração dos picos de vários metabólitos de HDL e do hidroxibutirato no grupo com genótipo CT/TT. Conclui-se que a intervenção com fibra dietética mista reduziu a pressão arterial sistólica, afetou o perfil metabolômico em mulheres com excesso de peso e hipertensão e que o polimorfismo C677T do gene *MTHFR* influenciou esse perfil.

Palavras-chave: hipertensão arterial; obesidade; fibra alimentar; polimorfismo; metabolômica.

ABSTRACT

Arterial hypertension (AH) is a complex and multifactorial clinical condition, characterized by persistent elevation of blood pressure and metabolic alterations. Despite advances in the understanding of the pathophysiology of AH and the implementation of effective prevention and treatment strategies, AH remains one of the biggest emerging public health problems in the world. In the etiological context, genetic factors, lifestyle are involved, and among these, food stands out. Dietary fiber has been associated with the prevention of changes in blood glucose, weight loss, dyslipidemia and, although not consensual, with the control of blood pressure. The regulation of blood pressure is involved with epigenetics, which created a new concept about the genetic inheritance and phenotypic regulation of an organism and could be better understood in the post-genomic era with metabolomics that allowed better identification of metabolic relationships. The study aimed to evaluate the metabolomic profile and influence of the C677T polymorphism of the MTHFR gene after dietary fiber supplementation in overweight hypertensive women. A double-blind placebo-controlled intervention study with the formation of two groups: the experimental group, consisting of 14 overweight hypertensive women supplemented with 12 g/day of dietary fiber, and the placebo group (n=12) supplemented with 12 grams of cornstarch for 8 weeks. The sample consisted of women aged between 20 and 60 years. Anthropometric assessment, biochemical analyzes were performed before and after the intervention of serum cholesterol (TC), triglycerides (TG), HDLc, LDLc, fasting glucose and C-reactive protein. ultrasensitive (us-PCR), as well as the analysis of the metabolomic profile through the ^1H Nuclear Magnetic Resonance technique (^1H RMN) and genotyping of the MTHFR gene polymorphism. The results obtained generated an article that was published on the metabolomic profile of hypertensive women with excess weight, supplemented with fiber. It was observed that after principal component analysis (PCA), there was an increase in the values of the following HDL-C metabolites according to the chemical-ppm shift (0.88, $p=0.0000$; 1.24, $p=0.0010$; 1.28, $p=0.0000$; 4.94, $p=0.258$), choline (3.65, $p=0.0035$) and hydroxybutyrate (1.20, $p=0.0010$) as well as a reduction in systolic blood pressure before and after the intervention. The analysis of the metabolomic profile by NMR in the serum of hypertensive and overweight women allowed the identification of metabolites, facilitating a better understanding of the metabolic pathways, which may help in the treatment of these pathologies when associated. Regarding the influence of the C677T polymorphism of the MTHFR gene and the metabolomic profile in response to fiber consumption, it was observed that women with CT/TT genotypes showed greater reductions in systolic blood pressure values after fiber intervention, as well as an increase in blood pressure. peak concentration area of various HDL and hydroxybutyrate metabolites in the CT/TT genotype group. It is concluded that the mixed dietary fiber intervention reduced systolic blood pressure, affected the metabolomic profile in overweight and hypertensive women and that the MTHFR gene C677T polymorphism influenced this profilewomen, and that the C677T polymorphism of the MTHFR gene influenced this profile.

Keywords: arterial hypertension; obesity; dietary fiber; polymorphism; metabolomics

LISTA DE FIGURAS LISTA DE FIGURAS e TABELAS

FIGURAS DA TESE

Figura 1: Mecanismo proposto da ação fibra dietética nas DCV	19
Figura 2: Metabolismo da homocisteína	22
Figura 3: Fluxo de estudos metabolômicos baseados em NMR na descoberta de biomarcadores relacionados a doença	24
Figura 4: Plataformas “Ômicas” na investigação da obesidade	30
Figura 5: Fluxograma do protocolo de intervenção	34
Figura 6: Fluxograma do experimento do perfil metabolômico.....	40

FIGURAS DO ARTIGO 1

Figure 1. Graphical representation of the principal component analysis (PCA) comparing the metabolomic profiles of hypertensive women with excess weight before and after intervention with mixed dietary fiber (blue-preintervention, red-postintervention)	59
Figure 2. Metabolites identified and highlighted based on the principal component analysis (PCA), presented as a loading graph, comparing the metabolic profiles of hypertensive women with excess weight before and after intervention with mixed dietary fiber.....	59
Figure 3. 1D Carr Purcell Meiboom Gill (CPMG) 1H NMR spectrum representative of serum metabolites. * PPM (chemical shift).	60

FIGURAS DO ARTIGO 2

Gráfico 1: Grupo 1 – Distribuição dos metabolitos segundo genótipos antes e após intervenção com fibras dietéticas mistas	76
--	----

Gráfico 2: Grupo 2 – Distribuição dos metabolitos segundo genótipos antes e após intervenção com placebo 77

TABELAS DOS ARTIGO 1

Table 1. Clinical and demographic characteristics of the sample of hypertensive women recruited from the Blood Donor Center of João Pessoa, PB, Brazil..... 58

Table 2. Comparison of the blood pressures and lipid profiles of hypertensive women with excess weight, recruited from the Blood Donor Centre of João Pessoa, PB, Brazil, before and after intervention with mixed dietary fiber..... 58

Table 3. Comparison between metabolites before and after intervention with mixed dietary fiber in women recruited from the Blood Donor Centre of João Pessoa, PB, Brazil.. 60

TABELAS DO ARTIGO 2

Tabela 1: Valores pressóricos e de metabólitos significativamente destacados* por genótipos em mulheres hipertensas e com excesso de peso após suplementação com fibra dietética mista..... 75

Tabela 2: Metabolitos, destacados com base na intensidade dos picos, após análise dos componentes principais, que não apresentaram diferença estatística, por genótipos após intervenção com fibras (G1) e placebo (G2) 76

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

HA	Hipertensão Arterial
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
MTHFR	Metileno tetrahidrofolato redutase
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
HDL	Lipoproteína de alta densidade
FD	Fibra dietética
PCA	Análise dos componentes principais
CT	Colesterol total
DCV	Doença cardiovascular
HMDB	Banco de dados do metaboloma humano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL E FIBRA	15
3.2 HIPERTENSÃO E POLIMORFISMO C677T DO GENE MTHFR.....	21
3.3 HIPERTENSÃO ARTERIAL E METABOLÔMICA	23
3.4 OBESIDADE E METABOLÔMICA	27
4 ABORDAGEM METODOLÓGICA.....	33
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO	33
4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA	33
4.3 PROCEDIMENTOS DA PESQUISA.....	34
4.3.1 Análise dos parâmetros bioquímicos	36
4.3.2 Avaliação antropométrica.....	37
4.4 ISOLAMENTO DE DNA DE LEUCÓCITOS	38
4.5 ANÁLISE DO POLIMORFISMO C677T	39
4.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL METABOLÔMICO.....	39
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5 RESULTADOS	42
REFERÊNCIAS	43
APÊNDICES	53
APÊNDICE A – ARTIGO 1	54
APÊNDICE B – ARTIGO 2.....	67
APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	87
APÊNDICE D – QUESTIONÁRIOS	89
ANEXOS	93
ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP.....	94

1 INTRODUÇÃO

A Hipertensão Arterial (HA) é uma condição clínica complexa, poligênica e multifatorial, caracterizada pela elevação persistente da pressão arterial e por alterações metabólicas (FRISO *et al.*, 2015; MALTA *et al.*, 2017; OPARIL *et al.*, 2018). As novas diretrizes definem a HA como pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 130 mmHg ou pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 80 mmHg (ACC/AHA, 2017; WHELTON, 2018; UNGER *et al.*, 2020).

A prevalência de HA vem aumentando em países em desenvolvimento, em virtude de ser uma doença assintomática em suas fases iniciais. Aliado a isso, a falta de informação, por parte da população, contribui para seu baixo controle (MOURA *et al.*, 2015; TORTORELLA *et al.*, 2017; UNGER *et al.*, 2020). Essa morbidade afeta mais de um bilhão de pessoas no mundo, sendo um dos principais fatores de risco (FR) modificáveis para doenças cardiovasculares, como infarto do miocárdio (MOUTON *et al.*, 2021), acidente vascular encefálico (AVE), e doenças renais, resultando em 10,4 milhões de mortes no mundo a cada ano (UNGER *et al.*, 2020), com um crescimento mundial de 60% dos casos para 2025 (WISE; CHARCHAR, 2016; MALTA *et al.*, 2017; MARQUES; MACKAY; KAYE, 2018).

O excesso de peso, principalmente quando associado ao aumento da adiposidade visceral, é uma das principais causas de HA, acompanhadas de várias alterações nos níveis hormonal, inflamatório e endotelial (JIANG, 2016; SERAVALLE; GRASSI, 2017; STEVENS *et al.*, 2020). Assim como o excesso de peso está associado a HA, a dieta também tem um papel importante no controle desta morbidade (CAI *et al.*, 2016), visto que o baixo consumo de alimentos ricos em fibras, dentre outros nutrientes consumidos em quantidades inadequadas, é considerado fator de risco para o desenvolvimento da HA (MARTINS *et al.*, 2010).

Segundo Tiffon (2018) polimorfismos gênicos influenciam na resposta a dieta e a dieta influencia os níveis de metilação dos genes podendo levar a mudanças na expressão gênica, interferindo no metabolismo e favorecendo o desenvolvimento de doenças crônicas (TIFFON, 2018). Assim, o desenvolvimento de modelos de intervenção que foquem no estudo da prevenção e tratamento de doenças crônicas, particularmente tendo como base a informação genética, e sobre os metabólitos envolvidos, é essencial na atualidade, visto que o metaboloma pode produzir novos biomarcadores de risco para hipertensão e obesidade, levando a melhores estratégias de prevenção e tratamento.

Quanto à relação entre polimorfismo e hipertensão, os polimorfismos A1298C e C677T do gene MTHFR estão associados ao risco de hipertensão, particularmente quando

acompanhados de obesidade (LI *et al.*, 2017), no entanto, não existem na literatura consultada estudos de intervenção com fibra relacionando essas duas variáveis.

Segundo Onuh e Aliani (2020), a utilização da plataforma metabolômica como parte das investigações nutricionais tem aumentado rapidamente nos últimos anos. Assim, o uso de perfis de metabólitos na hipertensão tem gerado um interesse crescente desde que foi estabelecido pela primeira vez que existe uma associação entre os perfis de metabólitos séricos e PA. A metabolômica que relaciona diretamente uma resposta química mensurável para um evento biológico, vinculando o genótipo ao fenótipo de um organismo, é uma ferramenta tecnológica cada vez mais utilizada na ciência da nutrição, com objetivo de monitorar estratégias de tratamento, como intervenções dietéticas (MARSHALL; POWERS, 2017; LEE, 2017; ALEKSANDROVA, 2020).

Nesse contexto, considerando que a associação da metabolômica e polimorfismo ainda não foram estudados em relação ao consumo de fibras alimentares em mulheres hipertensas com sobrepeso e obesidade, o presente estudo poderá subsidiar estratégias de prevenção e tratamento no controle da HA, além de auxiliar sobre as recomendações relacionadas ao consumo de fibra alimentar nessa população. Assim, estudos atuais na literatura relacionando obesidade e hipertensão, polimorfismo e perfil metabolômico, ainda estão no início e necessitam de melhor evidência e interpretação, principalmente quando associado aos metabólitos da fibra.

Nesse sentido, o estudo teve como objetivo geral avaliar o perfil metabolômico e a influência do polimorfismo C677T do gene MTHFR após suplementação com fibra dietética em mulheres hipertensas com excesso de peso. E como objetivos específicos: analisar os valores de pressão arterial, proteína C reativa, perfil lipídico e glicemia de jejum; identificar e quantificar metabólitos em mulheres hipertensas, com sobrepeso e obesidade, pré e pós intervenção com fibras e analisar a influência do polimorfismo C677T no gene MTHFR nos dois grupos estudados após intervenção com fibra dietética.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL E INGESTÃO DE FIBRA DIETÉTICA

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é uma doença crônica e multifatorial (HOH; ABDUL RAHMAN; YUSOFF, 2019; LERMAN *et al.*, 2019), caracterizada por elevação sustentada dos níveis pressóricos (OPARIL *et al.*, 2018), de condição complexa, possivelmente influenciada pela interação entre fatores genéticos, epigenéticos e/ou ambientais (LOUCA; MENNI; PADMANABHAN, 2020). É o principal fator de risco para doenças cardiovasculares (DCV) (CAREY *et al.*, 2018), mundialmente comum e que produz morbimortalidade significativas (LERMAN *et al.*, 2019). Acomete cerca de um bilhão de pessoas no mundo (MILLS *et al.*, 2016) correspondendo a quase um terço de todos os adultos nos Estados Unidos (MERAI *et al.*, 2016). Trata-se de problema de saúde pública mundial, pois dados de prevalência apontam para tendência ascendente (FARAPTI *et al.*, 2020).

A HAS é qualificada por pressão arterial persistentemente alta nas artérias sistêmicas, sendo expressa como a razão entre a Pressão Arterial Sistólica (PAS) (a pressão que o sangue exerce sobre as paredes arteriais quando o coração se contrai) e a Pressão Arterial Diastólica (PAD) (a pressão quando o coração relaxa) (OPARIL *et al.*, 2018). A PAS é influenciada por vários fatores, incluindo estresse oxidativo, disfunção endotelial, tônus muscular, sensibilidade ao sal, anormalidade da função simpática e elevada atividade do sistema renina-angiotensina (RODRIGO *et al.*, 2007; GRASSI *et al.*, 2008; HARVEY; MONTEZANO *et al.*, 2016; MORDI *et al.*, 2016; STEWART *et al.*, 2015).

As diretrizes do *Hypertension Clinical Guidelines* definiram a HAS como PAS $\geq$ 130 mmHg e/ou Pressão Arterial Diastólica (PAD) $\geq$ 80 mmHg (WILLIAMS *et al.*, 2018). Mundialmente, 3,5 bilhões de adultos apresentam níveis de PAS >110 -115 mmHg e 874 milhões de adultos têm uma PAS de ≥ 140 mmHg, desta forma, aproximadamente um em cada quatro adultos tem hipertensão (FOROUZANFAR *et al.*, 2017).

Apesar dos avanços na compreensão da fisiopatologia da HAS e a implementação de estratégias de prevenção e tratamento eficazes, continua sendo um dos maiores problemas emergentes de saúde pública do mundo, visto que tem alta prevalência e baixas taxas de controle (MALACHIAS *et al.*, 2016). A prevalência de hipertensão arterial sistêmica vem aumentando em países em desenvolvimento, em virtude de ser uma doença assintomática em suas fases iniciais. Além disso, a hipertensão tem maior prevalência em mulheres e minorias em países predominantemente ocidentais, como o Reino Unido e EUA. Aliado a isso, a falta de

informação, por parte da população, contribui para seu baixo controle (TORTORELLA *et al.*, 2017; MOURA *et al.*, 2015).

Em 2013, a organização mundial de saúde (OMS), observou que a prevalência da HAS em adultos acima de 25 anos foi em torno de 35% nas Américas. Há uma projeção que a prevalência da hipertensão aumente em torno de 60% até o ano de 2025 com quase 1,5 milhões mortes anualmente (9,4% do total de mortes) (KEARNEY *et al.*, 2005; CASTILLO, 2016), desencadeando um impacto considerável socioeconômico (JUSIC; DEVAUX, 2019).

No Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA- BRASIL) realizado em 2015, verificou-se prevalência de 35,8% entre os 15.103 participantes das regiões Nordeste, Sul e Sudeste do país (CHOR *et al.*, 2015). A maior prevalência foi identificada na África de 46% entre os adultos, em contraste com 35% dos americanos (WHO, 2013) e aproximadamente 23% entre os canadenses (ASTWOOD *et al.*, 2012).

Eghbali *et al.* (2018) observaram que a prevalência da hipertensão entre indivíduos adultos foi maior em países de renda baixa e média (aproximadamente 40,0%) do que em países de renda alta (35,0%). Em outro estudo realizado em 2010, a prevalência de hipertensão foi de 28,5% (27,3% a 29,7%) em países de renda elevada e 31,5% (30,2% a 32,9%) naqueles de renda baixa e média, como o Brasil (MILLS *et al.*, 2016). Esses resultados indicam uma crescente disparidade da saúde na prevalência de HAS mundial (MILLS *et al.*, 2016).

Dados do Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (BRASIL, 2020) registrou aumento da prevalência de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) como Hipertensão Arterial (HA) no conjunto das 27 cidades. A pesquisa também mostrou que, no período entre 2006 e 2019, a prevalência da HA subiu de 22,6% para 24,5%, e o perfil de maior prevalência foi entre mulheres com 65 anos ou mais, chegando a acometer 59,3% dos adultos com 65 anos ou mais, sendo 55,5% dos homens e 61,6% das mulheres (BRASIL, 2020).

A HAS é uma condição cardiovascular (CV) comum que afeta as mulheres em todas as fases do seu ciclo de vida e contribui de forma significativa para a morbimortalidade, embora o tratamento eficaz melhore os resultados CV (WENGER *et al.*, 2019). É uma doença responsável por cerca de 1 em 5 mortes de mulheres nos Estados Unidos (MOZAFFARIAN *et al.*, 2015; BENJAMIN *et al.*, 2017).

Pesquisadores sugerem que a hipertensão é considerada um fator de risco mais significativo em mulheres (WENGER *et al.*, 2019) e suas taxas de controle são maiores em mulheres do que em homens ≥ 18 anos, e indivíduos com idade ≥ 60 anos, são mais vulneráveis

a várias comorbidades, como hipertensão e diabetes, além do sedentarismo (BENJAMIN *et al.*, 2017; GBD 2015).

Os fatores de risco, comuns e específicos, em relação ao sexo, tem a capacidade de impactar o desenvolvimento da hipertensão e DCV em mulheres (WENGER *et al.*, 2019). Os fatores de risco comuns compreendem obesidade, sedentarismo, aumento da ingestão de sal, diabetes e uso de álcool (WENGER *et al.*, 2019). Estudos indicam que vários processos específicos também favorecem ao desenvolvimento de HAS entre as mulheres, por exemplo, receptores de estrogênio e ativação do sistema nervoso simpático (SNS) (HAY, 2016). Segundo Kabootari *et al.* (2019), mulheres com sobrepeso e obesidade apresentaram risco de desenvolver HAS duas vezes maior do que homens.

Pesquisadores observaram que a fisiopatologia da HAS é intensamente influenciada pelo sexo (GOÏTA *et al.*, 2020). Neste sentido, vários fatores tem a capacidade de controlar a pressão arterial (PA), tais como hormônios sexuais como estrogênios, o metabolismo do óxido nítrico (NO), o sistema renina-angiotensina-aldosterona, o sistema imunológico, a função renal e o transporte de sódio, contribuindo dessa forma em apresentar diferenças de acordo com o sexo (COLAFELLA; DENTON, 2018; AHMED *et al.*, 2019).

Na pré-menopausa as mulheres apresentam PA mais baixa do que os homens, destacando que os homens são mais propensos a hipertensão (GOÏTA *et al.*, 2020). No entanto, após a menopausa, a incidência de hipertensão é quatro vezes maior em mulheres, enquanto que em homens da mesma idade é apenas três vezes maior (BENJAMIN *et al.*, 2017).

No Segundo Estudo de Saúde de Enfermeiras, *Nurses Health Study II*, estudo de coorte prospectivo iniciado em 1991, que acompanhou 83.882 mulheres saudáveis com idades entre 25 e 41 anos durante 14 anos, observou-se que a obesidade foi o fator de risco mais significativo para o desenvolvimento da HAS em mulheres (FORMAN; STAMPFER; CURHAN, 2009).

A HAS induzida por obesidade resulta de uma complexa interação de fatores genéticos, comportamentais e ambientais e da relação entre esses fatores e o nível socioeconômico e o estilo de vida. Apresenta ainda relação com alterações graves na fisiologia CV e renal, resultantes de elevações no volume plasmático, retenção tubular de sódio e frequência cardíaca, bem como uma diminuição inicial na resistência vascular sistêmica (DLAMINI *et al.*, 2019).

A HAS está consistentemente relacionada ao sobrepeso/obesidade, com aumento de duas a seis vezes na prevalência (WENGER *et al.*, 2019). A perda de peso está diretamente associada à redução da PA em hipertensos (ECKEL *et al.*, 2014).

Evidências epidemiológicas têm revelado associação entre hipertensão e fatores dietéticos, sendo um elevado teor de fibra dietética considerado um componente importante das

abordagens dietéticas vasoprotetoras. A fibra alimentar tem sido considerada um nutriente alimentar benéfico, com efeitos protetores em várias doenças, como doenças cardiovasculares. Assim, também se observa na literatura a relação entre fibra alimentar e diminuição do risco para hipertensão (WHELTON; HYRE.; PEDERSEN, 2005; CHEN *et al.*, 2013; EVANS *et al.*, 2015; SUN *et al.*, 2018)

Destaca-se que a dieta é considerada um dos principais fatores que contribuem para o rápido aumento na incidência de distúrbios metabólicos, como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares (Swinburn *et al* 2004 *apud* O’GORMAN; GIBBONS; BRENNAN, 2013). Nesse sentido, a fibra dietética como parte de uma dieta saudável, pode exercer um efeito protetor no sistema cardiovascular. Os grãos integrais, ricos em fibras, apresentam uma mistura única de componentes bioativos, tais como amidos resistentes, vitaminas, minerais, fitoquímicos e antioxidantes (LATTIMER; HAUB, 2010).

A fibra tem sido associada à prevenção de várias doenças e distúrbios cardiovasculares. Os benefícios da fibra dietética para a saúde têm sido estudados por muito tempo e receberam destaque nas últimas décadas. Uma maior ingestão de fibra alimentar está associado a menor risco de doenças cardiovasculares, desempenha um papel importante na saúde intestinal, na saciedade e perda de peso (BABIO *et al.*, 2010). Estudos mostram que a ingestão dietética de fibras e vegetais está associada com menor incidência de HA, mas os mecanismos envolvidos ainda não foram bem elucidados (ALJURAIBAN *et al.*, 2015; ALEIXANDRE; MIGUEL, 2016; MARQUES *et al.*, 2017).

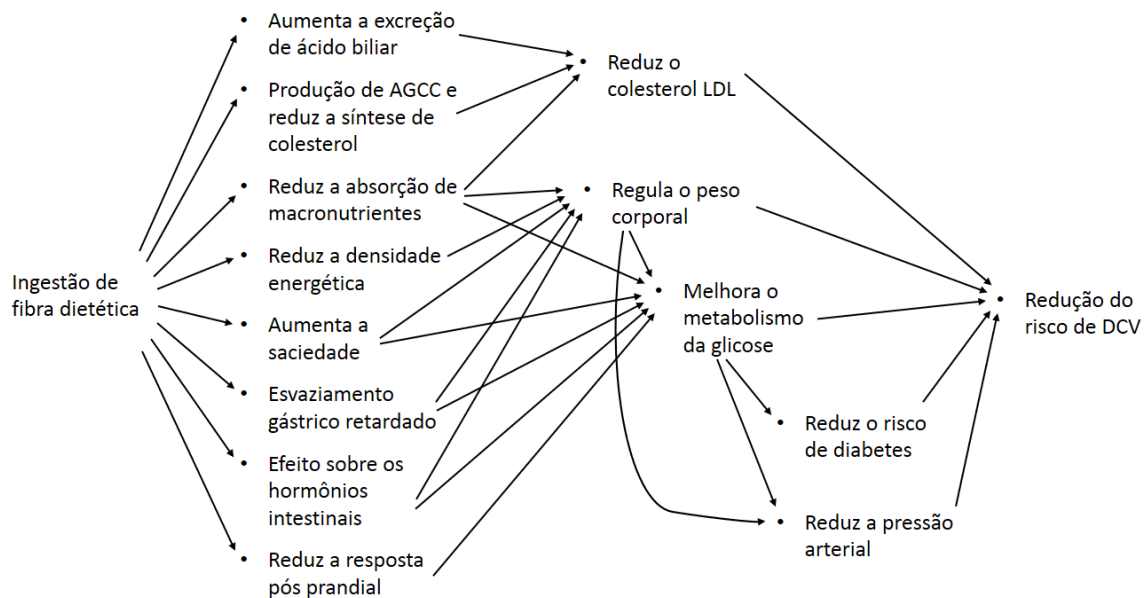
Estudos transversais demonstraram que a maior ingestão de fibras alimentares está inversamente associada a menor risco de hipertensão (DONG *et al.*, 2019). Um estudo realizado com homens e mulheres com mais de 18 anos de idade, baseado em um banco de dados de larga escala representativo nacionalmente e sistema de classificação atualizado para hipertensão em 2017, revelou que a ingestão de fibra alimentar total, cereal e vegetal estava associada a menor risco de hipertensão na população dos EUA. Porém, nesse mesmo estudo não foi encontrado associação significativa de fibra alimentar de frutas e hipertensão (SUN *et al.*, de 2018).

Em uma meta-análise com ensaios clínicos randomizados, os pesquisadores identificaram que a suplementação de fibra dietética reduz a pressão arterial (STREPPPEL, 2005). Observando-se uma outra meta-análise, realizada com de 24 ensaios clínicos randomizados, incluindo a suplementação de fibra com dose média de 11,5 g/dia, ocorreu redução da pressão arterial sistólica (PAS) em 1,13 mmHg e da pressão arterial diastólica (PAD) em 1,26 mmHg. (WHELTON *et al.*, 2005)

Vários mecanismos fisiológicos têm sido propostos quanto ao efeito da redução da PA a partir do consumo de fibras. Os efeitos hipolipidêmicos e hipoglicêmicos (CLARCK *et al.*, 2020) parecem estar ligados à parte solúvel da fibra alimentar e à sua capacidade de aumentar a viscosidade no intestino, retardando a absorção de nutrientes e inibindo a absorção de colesterol e ácidos biliares (JOYCE *et al.*, 2019) (Figura 1).

Segundo Joyce *et al.* (2019), a síntese e excreção de ácidos biliares é a principal via pela qual o colesterol é efetivamente eliminado do corpo. Assim, o consumo de fibra alimentar parece melhorar os níveis séricos de lipídios e essa redução pode estar associada à melhora da vasodilatação endotelial e estresse oxidativo, consequentemente, à diminuição dos níveis de PA. Nesse sentido, estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos envolvidos nos efeitos benéficos propostos do consumo de fibras nos níveis pressóricos (ALEIXANDRE; MIGUEL, 2016; BERETTA *et al.*, 2018).

Figura 1: Mecanismo proposto da ação fibra dietética nas DCV.



Fonte: Adaptado de SATIJA; HU, 2012.

Em relação a ingestão de fibras a recomendação é de 14 g de fibra total por 1000 kcal de ingestão de energia, ou aproximadamente 25 g/dia para mulheres adultas e 38 g/dia para homens adultos (BERETA *et al.*, 2018). Os achados de algumas investigações também sugerem que o papel da fibra dietética é mais dependente de seus tipos e fontes, em vez da quantidade da ingestão (MIRMIRAN *et al.*, 2016).

Segundo Slavin (2013), fibra alimentar é definida de forma diferente em vários países do mundo, sendo algumas definições baseadas em métodos analíticos de isolamento da fibra, enquanto outros procuram defini-la em uma base fisiológica. A fibra dietética abrange uma ampla variedade de substâncias que pertencem à família dos carboidratos que resistem à hidrólise pelas enzimas alimentares humanas, mas são fermentadas pela microflora de colônias. Assim, fazem parte de uma classe de compostos constituídos principalmente por polissacarídeos e substâncias associadas que, quando ingeridas, não sofrem hidrólise, digestão ou absorção no intestino delgado e podem ser definidas como “qualquer material comestível que não seja hidrolisado pelas enzimas endógenas do trato digestório humano” (BRASIL, 2003; FILISETTI *et al.*, 2009).

As fibras alimentares podem ser divididas em dois grupos principais, dependendo de sua solubilidade na água. Nos seres humanos, as fibras estruturais ou da matriz (lignina, celulose e algumas hemiceluloses) são insolúveis, enquanto as fibras formadoras de gel naturais (pectina, mucilagem e o restante das hemiceluloses) são solúveis. As fibras alimentares solúveis abrangem uma extensa variedade de compostos (principalmente de origem vegetal) com benefícios fisiológicos conhecidos, incluindo laxação e melhorias na homeostase da glicose e dislipidemia (BERETTA *et al.*, 2018)

As chamadas fibras solúveis da dieta são fermentadas em grande parte por uma grande variedade de bactérias anaeróbicas que resultam em um aumento na biomassa bacteriana, aumento na massa fecal, mudança no pH intracolônico, e produção de ácidos graxos de cadeia curta. Fibra solúvel por meio de suas propriedades viscosas, formam substâncias gelatinosas no trato gastrointestinal, que podem impedir que carboidratos e nutrientes sejam absorvidos de forma eficiente e retardar o esvaziamento gástrico para reduzir a resposta glicêmica pós-prandial. Suas propriedades viscosas também podem capturar os ácidos biliares e o colesterol para reduzir a resistência à insulina e a inflamação, levando à diminuição da PA (DONG *et al.*, 2019).

As fibras insolúveis são apenas marginalmente fermentadas; elas servem quase exclusivamente como agentes de volume que resultam em menor tempo de trânsito e aumento da massa fecal (SLAVIN, 2013).

Apenas polissacarídeos foram incluídos na fibra alimentar originalmente, mas as definições recentes incluíram oligossacarídeos como fibra dietética, com base na sua medição química e sobre seus efeitos fisiológicos. Inulina, fruto-oligossacarídeos e outros oligossacarídeos são incluídos como fibra em rótulos de alimentos nos EUA. Além disso, oligossacarídeos são os mais conhecidos prebióticos, um ingrediente fermentado seletivamente

que permite alterações específicas, tanto na composição e/ou atividade na microflora gastrointestinal que confere benefícios a saúde do hospedeiro (MARQUES *et al.*, 2017).

Assim, tanto a inulina como a oligofrutose possuem a maioria das características de uma fibra dietética e propõe-se classificá-las como tal. Além disso, são fatores bifidogênicos, pois, por razões ainda desconhecidas, são principalmente fermentados por bifidobactérias. Consumir mais alimentos ricos em fibras alimentares pode significar reduzir o risco de ganho de peso em mulheres independentes dos níveis de atividade física e ingestão de gordura dietética. Os alimentos ricos em fibras são considerados fontes nutricionalmente ricas em vitaminas, minerais e energia de liberação lenta. Além disso, eles contêm fitoquímicos, como fenólicos, carotenóides, lignanas, beta-glucana e inulina. Estes produtos químicos, secretados pelas plantas, não são atualmente classificados como nutrientes essenciais, mas podem ser fatores importantes na saúde humana (LATTIMER; HAUB, 2010; DAVIS, 2018; SUN *et al.*, 2018).

2.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL E POLIMORFISMO C677T DO GENE MTHFR

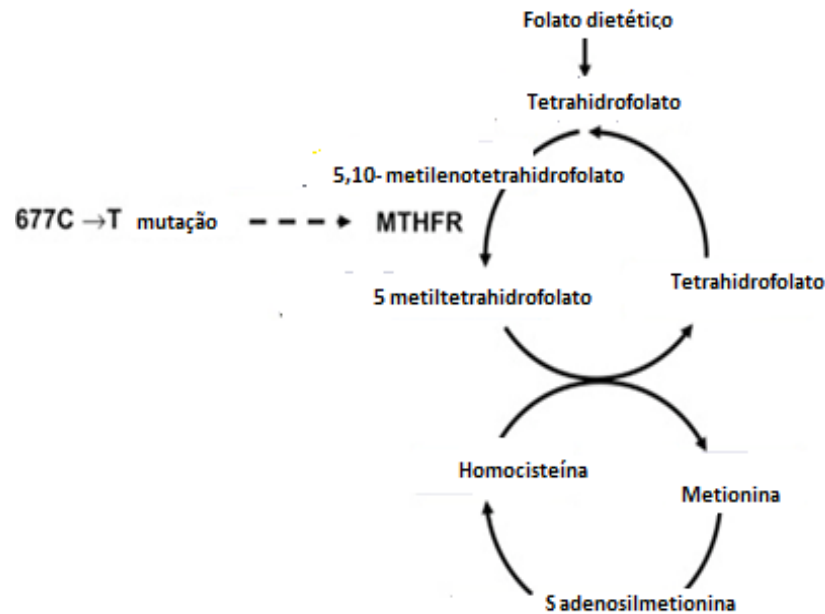
A hipertensão arterial (HA) é considerada uma doença complexa, poligênica e multifatorial, que surge como resultado da interação entre fatores genéticos, epigenéticos e ambientais (LIU *et al.*, 2019). Devido a essa interação multifatorial, elucidar fatores genéticos únicos e específicos que contribuem para o desenvolvimento da hipertensão tem sido um desafio. Além disso, novas mutações gênicas e fatores epigenéticos que causam a variabilidade da PA continuam a ser descobertos e vêm aumentando a compreensão da modulação da PA.

Recentemente, numerosos estudos tem investigado que polimorfismos em alguns genes específicos, entre eles o MTHFR, estão associados à hipertensão (NASSEREDDINE *et al.*, 2012). O gene MTHFR está localizado no braço curto do cromossomo 1 (1p.36.22) no genoma humano e o seu principal transcrito resulta em uma proteína de 656 aminoácidos e peso molecular de 150 kDa (FROSST *et al.*, 1995).

Metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima reguladora chave que desempenha um papel central no metabolismo da homocisteína, metionina e folato, catalisando a redução do 5,10-metilenotetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato que, por sua vez, participa na conversão da homocisteína em metionina, fornecendo um grupo metil para diversas reações biológicas, incluindo a metilação do DNA (NASSEREDDINE *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2016). A última forma de folato é requerida pela metionina sintase para a conversão da homocisteína dependente de vitamina B-12 à metionina. Uma vez formado, a metionina é

ativada pelo ATP para gerar S-adenosilmetionina, necessário para inúmeras reações de metilação (Figura 2).

Figura 2: Metabolismo da homocisteína



Fonte: MADONNA; DE CATERINA, 2020.

O polimorfismo C677T do gene *MTHFR* resulta na substituição de uma alanina por uma valina na enzima produzida e podem reduzir a atividade da enzima, levando ao aumento da concentração de homocisteína plasmática em alguns casos (FROSS *et al.*, 1995). A hiperhomocisteinemia é considerada um fator de risco importante para danos endoteliais e consequentemente estresse oxidativo (HANKEY; EIKELBOOM, 1999) associada à hipertensão, pois induz constrição arteriolar, disfunção renal e aumento da reabsorção de sódio, levando a um desequilíbrio do estado antioxidante (FRIDMAN *et al.*, 2013).

O genótipo 677TT está associado a uma redução na disponibilidade de folato, altos níveis de homocisteína e atividade enzimática reduzida. Nesse sentido, vários estudos epidemiológicos investigaram as associações dos polimorfismos C677T e A1298C da *metilenotetrahidrofolato redutase* (MTHFR) com hipertensão (CAI *et al.*, 2014; NASSEREDDINE, 2015;; SUN *et al.*, 2005), diabetes tipo 2 (MTIRAQUI *et al.*, 2007; BENRAHMA *et al.*, 2012), acidente vascular cerebral isquêmico (HAMZ; TAZITI; NADIFI, 2011; BATTAS; NADIFI, 2013) e doenças metabólicas e neurológicas (ALAM, 2016).

Uma meta análise de 30 estudos caso controle, em países asiáticos e europeus, realizada por Wu *et al* (2014), indicaram que o polimorfismo MTHFR C677T contribuiu para um risco

aumentado de HA. No entanto, nenhuma associação significativa foi detectada entre o polimorfismo MTHFR A1298C e o risco de HA.

Corroborando com o estudo anterior, Liu *et al* (2019) avaliou 953 pacientes com hipertensão no Nordeste da China e 1103 controles, com objetivo de examinar a associação dos polimorfismos do gene MTHFR com HA. O resultado mostrou que o polimorfismo C677T do gene *MTHFR* não foi significativamente associados à hipertensão. Já em uma meta-análise de 114 estudos com 15411 casos e 21970 controles mostrou que o polimorfismo C677T estava significativamente associado à hipertensão na gravidez (YAN *et al.*, 2014).

2.3 HIPERTENSÃO ARTERIAL E METABOLÔMICA

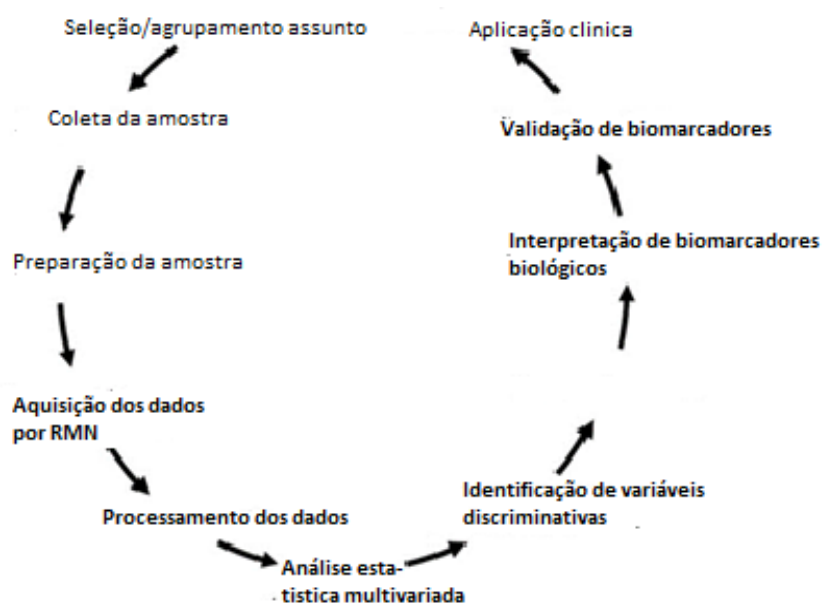
Metabolômica é um novo método de análise biológica para fornecer análises precisas de pequenas moléculas (<1500 Da) associadas ao metabolismo humano, que tem sido amplamente utilizado no campo da biologia de sistemas nos últimos anos (SONG *et al.*, 2019). O metaboloma representa um conjunto de todos os metabólitos presentes na célula, tecido, órgão ou organismo em um determinado momento (BUJAK *et al.*, 2015). Diversos autores conceituam metabolômica como uma técnica analítica que visa identificar e quantificar pequenos metabólitos fornecendo informações precisas sobre perturbação do metabolismo nas doenças humanas e foi recentemente introduzido em estudos de hipertensão arterial (KADDURAH-DAOUK; KRISHNAN; WEINSHILBOUM, 2008; O'GORMAN; GIBBONS; BRENNAN, 2013; LIU; LOCASALE, 2017).

Menni *et al.* (2015), também relata que os recentes avanços na metabolômica permitiram um teste de alta produtividade de um extenso conjunto de pequenas moléculas em uma série de fluidos biológicos. Metabólitos de baixo peso molecular representam os intermediários e produtos finais de vias metabólicas que refletem funções fisiológicas, são produtos finais da expressão gênica e que podem espelhar também os estágios iniciais de um estado patológico. Além disso, a metabolômica oferece uma nova abordagem para ajudar na pesquisa clínica de diagnóstico e tratamento de doenças em um curto espaço de tempo, visto que pode complementar o estudo da transcriptômica, genômica e proteômica, em virtude da possibilidade de analisar as alterações de pequenos metabólitos, compostos totalmente diferentes de DNA, RNA e proteínas (SONG *et al.*, 2019). Assim, de acordo com McGarrah *et al.* (2018); Leon-Mimila *et al.*, (2019), o perfil metabolômico também integra informações importantes que refletem a variação genômica, epigenética e transcriptômica com o efeito de exposições ambientais, como dieta, atividade física que é única para cada indivíduo.

A sensibilidade e especificidade das técnicas de detecção aumentaram rapidamente, permitindo uma caracterização e quantificação mais precisa de vários metabólitos em uma única amostra (STRINGER *et al.*, 2016). Os dois métodos de detecção mais comumente utilizados em metabolômica são ressonância magnética nuclear (NMR) e espectrometria de massa (MS) incluindo cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa [LC-MS] e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa [GC-MS]. Além disso, sangue, urina, saliva e tecidos doentes são frequentemente utilizados como amostras de detecção para análise metabolômica. Como um método de alto rendimento, o NMR pode ser usado para analisar centenas de pequenas moléculas simultaneamente e de forma eficiente em amostras humanas, incluindo sangue, soro e tecidos

O desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos para a análise detalhada de fluidos corporais levou à descoberta de vários biomarcadores de doenças. Recentemente, espectrometria de massa (EM), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e técnicas estatísticas multivariadas foram incorporadas a uma abordagem multidisciplinar para o perfil de alterações em pequenas moléculas associadas ao aparecimento e progressão de doenças humanas. O objetivo desses esforços é identificar metabólitos que estão exclusivamente correlacionados com uma doença humana específica, a fim de diagnosticar e tratar com precisão a doença (Figura 3).

Figura 3: Fluxo de estudos metabolômicos baseados em NMR na descoberta de biomarcadores relacionados a doença.



Fonte: SONG *et al.*, 2019.

O metaboloma pode se adaptar rapidamente às condições fisiológicas, fisiopatológicas e ambientais, fornecendo assim um instantâneo status de um indivíduo. Vários fatores, incluindo a idade, estão relacionados às diferenças nos níveis de metabólitos (ARNETT;GRAF,2020).

Nos últimos anos, a ressonância magnética nuclear de prótons (^1H -RMN) tem desempenhado um papel importante como ferramenta analítica para amostras de soro e plasma (MARTÍN *et al.*, 2020). Trata-se de um campo relativamente novo de pesquisa que tem sido usado para avaliar as perturbações metabólicas associadas à doença, identificar seus biomarcadores além de avaliar e prever segurança e a eficácia dos medicamentos. Tem sido cada vez mais utilizada para caracterizar fatores de risco relacionadas a doença cardiovascular, incluindo hipertensão, e parece ter um potencial significativo para descobrir mecanismos desta complexa doença (NIKOLIC *et al.*, 2014; HILTUNEN *et al.*, 2017).

E entre as técnicas utilizadas na metabolômica, RMN tornou-se uma boa escolha, por suas vantagens inerentes, tais como: informação estrutural mais profunda; monitoramento em tempo real com controle da temperatura; requer pouca ou nenhuma manipulação de amostra, fácil para quantificação, não destrutivo, necessita de uma amostra mínima para processamento (LIU *et al.*, 2015; LIU; LOCASALE,2017). Portanto, a espectroscopia RMN é um método analítico com a capacidade de detecção, identificação e quantificação simultâneas de várias centenas de metabólitos na matriz biológica.

Como desvantagem da RMN podemos citar: baixa sensibilidade e seletividade, pode apresentar regiões espectrais com sobreposição de sinais, comprometendo a interpretação dos resultados (EMWAS *et al.*, 2019). A RMN detecta características moleculares medindo uma propriedade magnética intrínseca de núcleos atômicos (ou seja, o "spin") que codifica informações sobre o ambiente químico e, portanto, sua estrutura molecular (LIU; LOCASALE, 2017). Assim, a metabolômica baseada em RMN tem sido aplicado com sucesso em toxicidade induzida por drogas, avaliação de segurança de medicamentos e estudo de mecanismo como também em estudos com dietas como fibras, carnes e peixes (GRIFFITHS, 2010).

Uma vez que os metabólitos representam o produto final de processos celulares, incluindo genes, RNAm, atividade protéica e interações complexas bidirecionais entre estes componentes da biologia do sistema, a metabolômica oferece uma visão única do fenótipo metabólico e perturbações fenotípicas associadas a doenças, como bem como a influência de fatores ambientais (por exemplo, dieta, atividade, comportamento, doença e tratamento médico / cirúrgico). No entanto, relativamente poucos estudos envolvendo a metabolômica empregada no estudo da hipertensão em animais ou humanos foram desenvolvidos (NIKOLIC *et al.*, 2014).

As três abordagens geralmente empregadas ao usar metabolômica na descoberta de biomarcadores na dieta são: intervenções agudas com objetivo de consumir quantidades específicas de um alimento teste; estudos de coorte onde os perfis metabólicos são comparados entre consumidores e não consumidores de um alimento específico e a análise de padrões e perfis metabólicos para identificar biomarcadores (NIKOLIC *et al.*, 2014).

A relação genética tem sido amplamente explorada na hipertensão arterial, no entanto, as perturbações nas vias metabólicas e bioquímicas ainda permanecem pouco investigadas, logo o uso de ferramentas metabolômicas para sondar os aspectos metabólicos da HA pode melhorar compreensão de vias bioquímicas alteradas. Nesse sentido, estudos experimentais utilizando amostras de urina de ratos geneticamente hipertensos sugerem uma estreita associação entre perfis de RMN e metabolismo perturbado. Estudiosos abordaram a questão da busca e sondagem em hipertensão usando espectroscopia de RMN de prótons, mas eles ou representavam dados preliminares ou representavam subtipos de hipertensão usando amostras intactas de soro ou plasma obtidas de seres humanos (AMETA *et al.*, 2017).

Um estudo realizado com amostras de soro filtradas de 64 pacientes com hipertensão essencial, sendo 59 pertencentes ao grupo controle saudável do sexo masculino, entre 35 e 50 anos foram analisados utilizando espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) com objetivo de quantificar os metabólicos que causam diferenças entre dois grupos. Os dados da RMN mostraram metabólitos significativamente alterados alanina, arginina, metionina, piruvato, adenina e uracilo no grupo de hipertensos (AMETA *et al.*, 2017).

Goïta *et al.*, (2020) avaliaram os perfis metabólicos plasmáticos utilizando a metabolômica por meio da espectrometria de massa, em 64 indivíduos com idades entre 34 e 60 anos, sendo 28 hipertensos (13 mulheres e 15 homens) e 36 não hipertensos (18 mulheres e 18 homens). Foi identificado um aumento considerável de fosfatidilcolinas no sangue de hipertensos em ambos os sexos, e nas mulheres especificamente outros metabólitos aumentaram, incluindo aminoácidos: arginina, leucina, isoleucina, triptofano, fenilalanina, tirosina, lisina, glutamina, histidina, metionina.

Outro estudo com amostras de plasma de homens jovens hipertensos e controle saudáveis, sendo vinte hipertensos (18-35 anos de idade) no estágio 1 de hipertensão e vinte saudáveis (20-35 anos de idade), revelaram distúrbios no metabolismo de aminoácidos em homens jovens hipertensos. Nesse sentido, distúrbios do metabolismo de aminoácidos podem predispor a hipertensão em homens jovens relatando que variações metabólicas ocorrem numa fase precoce da hipertensão (WANG *et al.*, 2015).

Segundo Liu e Locasale (2017) e Ser *et al.*, (2015), um dos maiores desafios para a metabolômica é encontrar a melhor maneira de obter uma visão biológica com o desenho experimental apropriado, pois a seleção de modelos experimentais são um componente essencial neste processo. Melhores abordagens para padronizar dados metabolômicos também são essenciais para avançar no campo. Assim, esforços estão em andamento para criar melhores procedimentos de normalização e melhores protocolos para obter rapidamente valores absolutos de concentração de metabólitos.

Não existe limitação do tipo de amostra que é adequado para um estudo metabolômico. No entanto, o tipo de amostra e os metabólitos de interesse determinam os procedimentos apropriados de preparo da amostra. Além disso, a interpretação dos dados é marcadamente diferente dependendo do sistema biológico que os metabólitos originaram. Por exemplo, para comparar os estados de saúde e doença ou para estudar as ações dos medicamentos, medir o nível de um metabólito no soro pode ser um substituto razoável para uma função fisiológica, uma vez que o metaboloma do soro sofre efeito da dieta, ambiente e resposta do corpo a uma doença ou a um medicamento; no entanto, medir esse mesmo nível de metabólito em um tecido teria uma interpretação diferente, porque reflete mais o efeito autônomo da célula (LIU; LOCASALE, 2017).

Nesse sentido, a metabolômica oferece ferramentas de plataforma poderosas para explorar alterações metabólicas associadas a estados fisiopatológicos da doença cardiovascular, como a hipertensão (NIKOLIC *et al.*, 2014 ; TZOULAKI *et al.*, 2018). Assim, metabolômica promete fornecer uma visão sobre mecanismos subjacentes à hipertensão, previsão de progressão da doença ou novos tratamentos. Como as alterações patológicas nos pacientes hipertensos resultarão em alterações metabólicas, a realização de análises metabolômicas desses metabólitos induzidos pela doença não apenas facilita uma melhor compreensão dos processos patológicos e das vias metabólicas das biomoléculas para descobrir biomarcadores, mas também auxilia no diagnóstico clínico e fornece terapia direcionada e prevenção precoce.

2.4 OBESIDADE E METABOLÔMICA

A pandemia da obesidade tornou-se um dos principais problemas de saúde pública do século XXI, contribuindo para o desenvolvimento de várias alterações metabólicas, como intolerância à glicose, dislipidemia e hipertensão, aumentando o risco de doenças crônicas, incapacidade e morte precoce (UGARTE *et al.*, 2019; JIANG *et al.*, 2016). Na Europa, 30% da população apresenta obesidade e mais da metade sobrepeso (SALGADO *et al.*, 2014). Em todo

o mundo, estima-se que 2,8 milhões de pessoas morrem a cada ano como um resultado de excesso de peso ou obesidade (AMUGSI *et al.*, 2017). A obesidade tem aumentado cada vez mais nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo os grupos populacionais mais vulneráveis e socialmente desfavorecidos os mais comumente afetados (ARROYO; MINCEY, 2016; ALEKSANDROVA *et al.*, 2020).

Nas últimas três décadas, a prevalência de obesidade e sobrepeso aumentou substancialmente e afeta mais de 600 milhões de pessoas em todo o mundo. Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2016, 1,9 bilhão de pessoas (40% da população mundial) estavam com sobrepeso e, destas, mais de 650 milhões (13% da população mundial) eram obesos (ALEKSANDROVA *et al.*, 2020; DIAS *et al.*, 2017).

As doenças cardiovasculares, a principal causa de mortalidade em todo o mundo, particularmente hipertensão e diabetes, são as principais doenças associadas à obesidade. O aumento da pressão arterial se mostrou associado ao ganho de peso e estima-se que 60 a 70% da hipertensão dos adultos esteja relacionada à adiposidade (NURDIANTAMI *et al.*, 2017; KOTCHEN, 2010).

Devido à alta prevalência de obesidade e suas consequências para a saúde, estratégias eficazes de redução e manutenção de peso são necessárias. Vários fatores interferem no ganho excessivo de peso, tais como: predisposição genética, nutrição inadequada, fatores comportamentais, ambientais e sociais. Assim, a obesidade recentemente foi reconhecida como uma doença crônica, sistêmica e multicausal, resultante do balanço energético positivo de longo prazo com o desenvolvimento de excesso de adiposidade, que ao longo do tempo leva a anormalidades estruturais, desarranjos fisiológicos e deficiências funcionais (JASTREBOFF *et al.*, 2019).

No Brasil, a prevalência da obesidade vem aumentando drasticamente na população nos últimos anos, sendo mais expressivo na classe com menor rendimento familiar. Uma pesquisa realizada no Brasil com uma amostra de 59.402 indivíduos adultos, as prevalências de obesidade foram de 16,8% para homens e 24,4% para mulheres, sendo mais frequente a partir entre 40 e 59 anos, em baixo nível de instrução baixo e na raça/cor preta (FERREIRA; SZWARCOWALD; DAMACENA, 2019).

A obesidade é definida como um peso igual ou maior que 20% acima do peso ideal e resulta do desequilíbrio entre o consumo e o gasto de energia, sendo classificada oficialmente como uma doença crônica em 1990 (AGHA; AGHA, 2017). O IMC (índice de massa corporal) é o cálculo mais comumente utilizado para avaliação da adiposidade corporal, por ser considerado um método simples, barato e de fácil aplicabilidade. O IMC é um bom indicador,

mas não totalmente correlacionado com a gordura corporal. Sendo assim, o valor do IMC é usado para diagnosticar o estágio de sobrepeso ou obesidade, fixando em 25,9 a 29 kg / m² o IMC para sobrepeso, enquanto que o IMC maior que 30 kg/m² constitui obesidade (DIRETRIZES BRASILEIRA DE OBESIDADE, 2016).

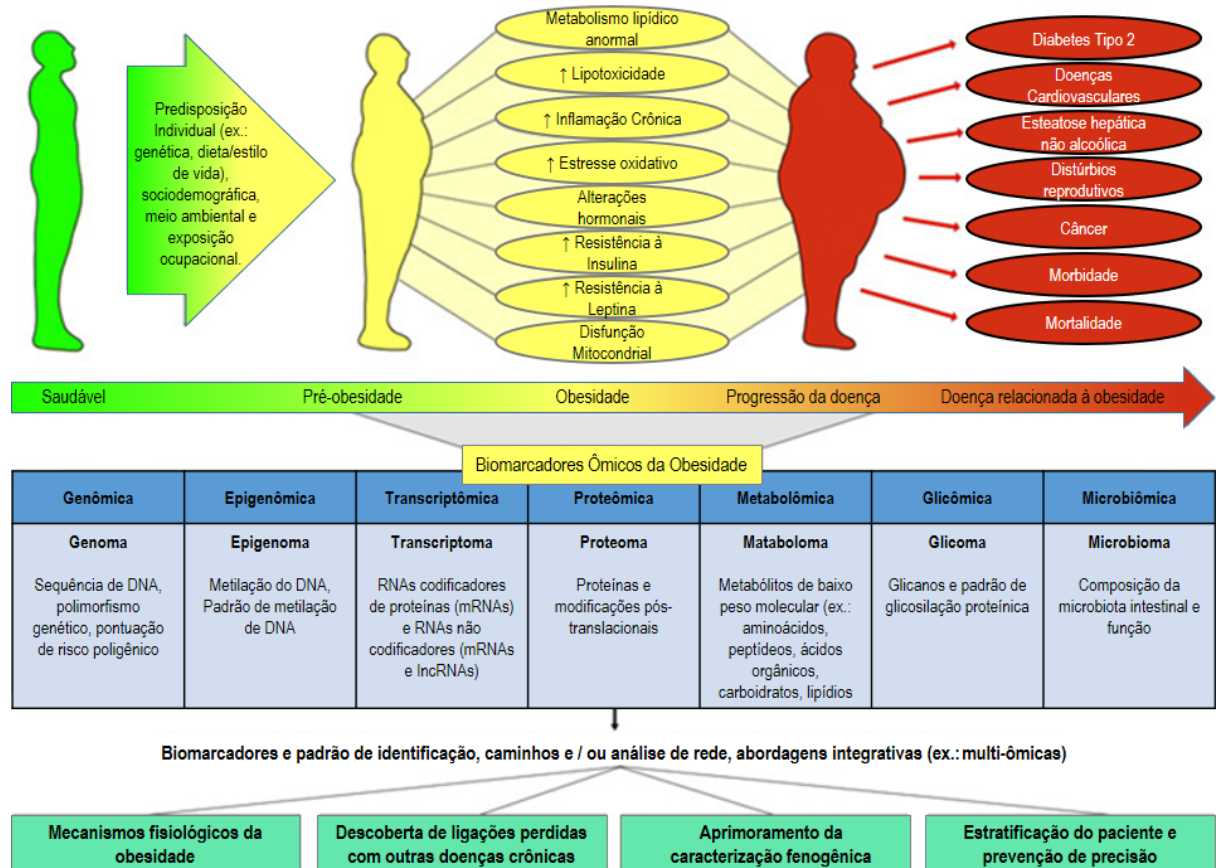
De acordo com Stevens *et al.* (2020), vários mecanismos moleculares estão envolvidos na obesidade, incluindo perturbações em vários processos metabólicos, metabolismo lipídico, sensibilidade à insulina, produção de adipocinas e inflamação (STEVENS, 2020). A razão leptina / adiponectina geralmente é elevada na obesidade, ou seja, indivíduos com maior índice de massa corporal (IMC) apresenta concentrações mais altas de leptina e diminuição dos níveis de adiponectina anti-inflamatória (MARTIN, *et al.*, 2020).

Em relação à etiologia da obesidade, trata-se de uma condição complexa e multifatorial, resultando da interação de genes, ambiente, estilo de vida e fatores emocionais. Os fatores ambientais associados à obesidade incluem status socioeconômico, etnia, região de residência e vida urbana. A predisposição genética pode ser determinante para o aumento de peso, no entanto, há estudos que sugerem que a predisposição genética não leva automaticamente ao desenvolvimento da obesidade, pois o estilo de vida como hábitos alimentares e a prática de atividade física podem desempenhar um papel mais significativo na quantidade de peso adquirida (DORANTES; LÓPEZ; AGUILLAR, 2020)

Além disso, um estilo de vida sedentário, bem como fatores psicológicos, como depressão, baixa autoestima ou ausência de sono noturno, também contribuem em grande parte para o aumento de peso. Assim, novas hipóteses, como a influência do estresse, alterações imunológicas, deficiência de micronutrientes, microbiota intestinal e substâncias químicas que alteram o sistema endócrino, modificando o balanço energético, também estão sendo investigadas (SALGADO *et al.*, 2014; JIANG *et al.*, 2016).

Avanços tecnológicos das últimas décadas e a identificação de novos biomarcadores “ômicos” pode trazer conhecimento sobre a etiologia da obesidade e suas ligações fisiopatológicas com doenças crônicas. Além disso, biomarcadores “ômicos” podem ajudar a obter uma caracterização refinada dos fenótipos da obesidade e servir como alvos para prevenção e terapia de precisão (IKRAM, 2015; ALEKSANDROVA *et al.*, 2020) (Figura 4)

Figura 4: Plataformas “Ômicas” na investigação da obesidade



Fonte: Adaptado de ALEKSANDROVA, 2019.

Nesse sentido, a metabolômica visa medir a totalidade dos metabólitos em um determinado sistema biológico (GRIFFITHS, 2010), entre eles lipídios, aminoácidos, peptídeos, ácidos orgânicos e carboidratos. Mais recentemente, a lipidômica emergiu como um importante ramo da metabolômica com especial relevância para a pesquisa da obesidade. Muitos estudos usaram perfis metabolômicos para identificar metabólitos e vias metabólicas que são alteradas em indivíduos com sobrepeso e obesidade

De acordo com Stevens *et al.* (2020), os mecanismos moleculares pelos quais o excesso de peso corporal afeta o desenvolvimento da doença incluem perturbações em vários processos metabólicos, incluindo metabolismo de lipídios, sensibilidade à insulina, produção de adipocinas e inflamação. Alguns estudos descobriram que os níveis de vários aminoácidos, incluindo os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) leucina, isoleucina e valina, são mais elevados na obesidade, assim como numerosos lipídios, incluindo ácidos graxos gordurosos, glicerofosfolipídios e esfingolipídios, bem como os carboidratos glicose e manose. Em uma revisão sistemática realizada por Cheng *et al.* (2021), observou-se que aminoácidos de cadeia

ramificada (isoleucina, leucina e valina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina), lipídios (ácido palmítico, ácido palmitoléico, ácido oleico, ácido eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico) e níveis de acilcarnitinas (propionil carnitina) podem ser elevados em obesos metabolicamente não saudáveis.

Segundo Cirulli *et al.* (2019), a obesidade pode levar a uma profunda perturbação do metaboloma plasmático. Assim, muitos estudos usaram perfis metabolômicos para identificar metabólitos e vias metabólicas que são alteradas em indivíduos com sobrepeso e obesidade. Estudos com metabolômica comparando obesos e eutróficos tem demonstrado diferenças nas concentrações de metabólitos nessa população. Bagheri *et al.* (2019) observaram o perfil metabolômico de alguns aminoácidos e lipídios polares em obesos e eutróficos, tais como: aminoácidos de cadeia ramificada, alanina, ácido glutâmico, prolina, tirosina, diacil fosfatidilcolina e lisofosfatidilcolina que foram maiores nos obesos, enquanto asparagina, serina, acil-alquil-fosfatidilcolinas e outras lisofosfatidilcolinas circulantes foram superiores nos controles. Assim, certos metabólitos a base da colina, como fosfatidilcolinas (representando 95% do total da colina nos tecidos) e lisofosfatidilcolinas estão comumente alterados com a presença da obesidade.

Chashmian *et al.* (2020), investigou padrões metabólicos de indivíduos obesos (metabolicamente saudáveis e não saudáveis) e não obesos (saudável e não saudável) para distinguir um estado metabólico entre os grupos. Para atingir este objetivo, foi realizado um estudo metabolômico com idade e IMC semelhantes, bem como amostras pareadas aproximadamente por sexo em cada grupo. Os metabólitos do soro foram inicialmente traçados usando espectroscopia de ^1H -NMR. Ao comparar o metaboloma de indivíduos obeso saudável e obeso não saudável, vários metabólitos diferenciais, como glutamina, asparagina, alanina, prolina, L-glutamina reduzida, 2-aminobutirato, taurina, betaína, tagatose, colina e D-esfingosina foram descobertos. Os metabólitos diferenciais em comparação com os indivíduos não obeso saudável e obeso saudável foram alanina, glicina, glutamina, histidina, L-glutamina reduzida, betaína, tagatose, isoleucina, L-prolina, ácido cólico e carnitina. Além disso, três metabólitos antioxidantes, L-glutamina reduzida (GSH), 2-aminobutirato e taurina apresentaram níveis mais elevados em indivíduos obesos saudáveis.

Pasanta *et al.* (2019) investigou os perfis lipídicos de metabólitos no soro utilizando ^1H -NMR em 46 adultos jovens obesos e eutróficos, de ambos os sexos com idades entre 18 e 25 anos. O espectro do grupo com excesso de peso mostrou lipídios, α -glicose e β -glicose ligeiramente maiores. Portanto, os níveis de triglicerídeos, LDL e VLDL, HbA1c e glicemia foram significativamente maiores no grupo obeso, com HDL significativamente mais baixo.

Ainda sobre o estudo de Pasanta *et al.* (2019), houve um aumento não significativo da colina no grupo obeso em relação ao eutrófico, sugerindo uma alteração no metabolismo lipídico.

4 ABORDAGEM METODOLÓGICA

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de intervenção duplo-cego placebo controlado, realizado no período de março a dezembro de 2018. O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB, sob o CAAE de número: 64573917.4.0000.5188 (ANEXO A). As participantes foram convidadas e devidamente elucidadas a respeito dos objetivos, respeitando-se as diretrizes éticas, para posterior consentimento de participação mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), segundo as normas éticas para pesquisa envolvendo seres humanos, constantes da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional da Saúde/Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

4.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A amostra foi composta por mulheres hipertensas com excesso de peso, na faixa etária de 20 a 60 anos, sendo este dividido aleatoriamente em dois grupos: um grupo experimental suplementado com fibra dietética mista (n=14) e outro placebo suplementado com amido de milho (n=12), perfazendo um total de 26 mulheres.

A amostra foi selecionada no Hemocentro de João Pessoa na Paraíba, no momento que as mesmas estavam presentes para doação voluntária de sangue, sendo convidadas a participar da pesquisa, respeitando os critérios de inclusão.

Foram excluídas da amostra as pacientes portadoras de doenças graves, tais como insuficiência hepática, insuficiência cardíaca congestiva (graus 3 e 4), insuficiência renal com valores de creatinina superiores a 3,0 mg/dL, hipertensão arterial secundária, ou com valores da pressão arterial sistólica ≥ 180 mmHg ou diastólica ≥ 110 mmHg, deficiências psiquiátricas graves e ocorrência de evento cardiovascular dentro de um período prévio inferior a três meses ou, ainda, aqueles que apresentassem quaisquer condições que pudessem interferir no resultado, ou na condução do estudo, como dependência química e dificuldade de compreender as orientações (CARVALHO *et al.*, 2012).

O cálculo amostral foi realizado com base no efeito da fibra encontrado nos valores pressóricos em estudo piloto, realizado com 20 mulheres. Adotou-se uma confiabilidade de 95% (erro $\alpha = 1,96$) e margem de erro de 5% e o erro β com poder de 80% (0,84) e a partir daí foi estimado o desvio padrão dessa distribuição e se considerou como diferença de efeito da

fibra de 12 mmHg. Encontrando-se um n por grupo de no mínimo 11 mulheres. As participantes foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: um grupo intervenção e o outro placebo

$$n = \frac{(\alpha + \beta)^{1/2} \times 2 \times (DP)}{d^2}$$

$$n = \frac{(1,96 + 0,84)^2 \times 2 \times (10)^2}{12^2}$$

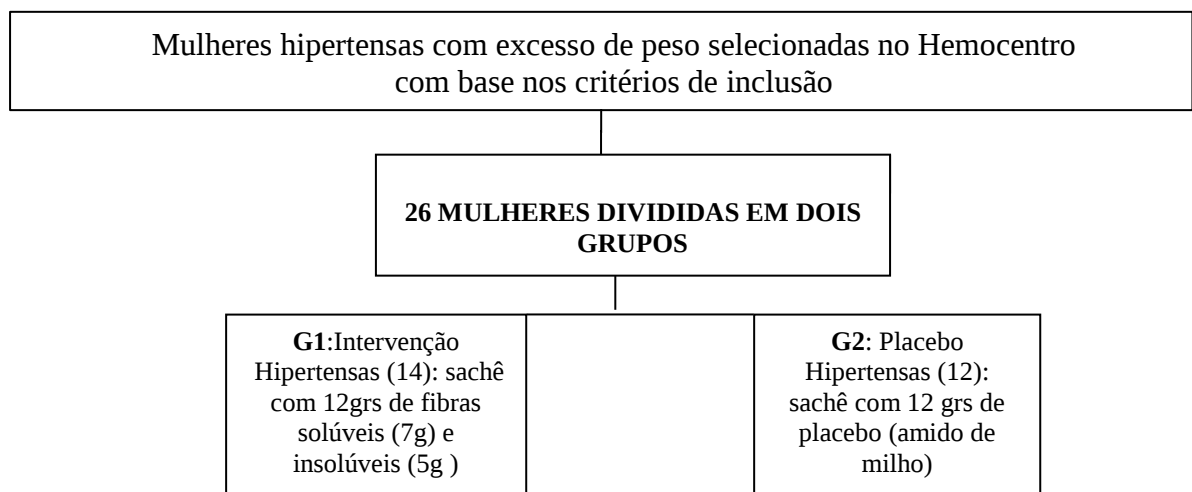
$$n = \frac{(2,8)^2 \times 2 \times 100}{144}$$

$$n = \frac{7,84 \times 2 \times 100}{144}$$

$$n = \frac{1568}{144}$$

$$n = 10,88 \cong 11 \text{ participantes por grupos}$$

Figura 5: Fluxograma do protocolo de intervenção



Fonte: Dados da pesquisa, 2020.

4.3 PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

A intervenção foi realizada por um período de oito semanas, sendo o acompanhamento realizado em dois momentos: antes e após intervenção. Em cada momento foram realizadas avaliações dos níveis pressóricos, do consumo alimentar, dos valores bioquímicos de colesterol total, triglicerídeos, PCR-us e glicemia de jejum.

As mulheres selecionadas que aceitaram participar do estudo de intervenção mantiveram os hábitos alimentares e nível de atividade física estáveis por pelo menos quatro

semanas, antes do início da intervenção (SWITZENY *et al.*, 2012) e informarem não ter pretensão de modificá-los durante o estudo. Todas as terapias médicas continuaram inalteradas ao longo do estudo.

No quadro 1 são apresentados a composição do suplemento contendo nutracêutico a base de fibras mistas utilizado pelas mulheres durante a intervenção.

Quadro 1- Composição do suplemento contendo nutracêutico a base de fibras mistas solúveis (7g) e fibras insolúveis (5g)

Composição do suplemento de fibra mista	Dosagem	Propriedade físico química
Goma Guar	4 g	Alta Solubilidade, viscosidade e fermentabilidade
Nutraflora (FOS)	1 g	Alta Solubilidade, viscosidade e baixa fermentabilidade
Psyllium	2 g	Alta Solubilidade, viscosidade e baixa fermentabilidade
Celulose microcristalina	5 g	Baixa Solubilidade, viscosidade e fermentabilidade

Fonte: Dados da pesquisa, 2020

O recordatório de 24 horas foi utilizado para avaliar o consumo habitual da população estudada, sendo aplicado duas vezes para cada indivíduo, nas fases de pré e pós intervenção. Para auxiliar nas respostas aos recordatórios, foi utilizado um álbum de desenhos das porções médias dos alimentos (ASCIUTTI *et al* 2005) cuja referência foi a validação de um questionário de frequência validado para a população de mulheres da região nordeste do Brasil (LIMA *et al.* 2008). Os recordatórios foram digitados no software virtual nutri plus e o consumo habitual pré e pós intervenção foram obtidos por meio do Software MSM (Multiple Source Method) que realiza a correção da variabilidade intraindividual dos dados dietéticos.

A hipertensão arterial sistêmica foi avaliada por enfermeiro utilizando os critérios propostos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, em sua Diretriz da Hipertensão do ano de 2010 (SBC, 2010), que consiste na realização de três medidas de PA com intervalo de um minuto entre cada aferição, com o equipamento OMRON HEM-742INT. Para a presente tese, as pacientes com HAS foram selecionados quando apresentavam a média das aferições de

pressão arterial sistólica e diastólica com resultados ≥ 130 ou ≥ 80 mmHg, mas inferior a 180 mmHg e 110 mmHg respectivamente, e em uso de medicamentos anti-hipertensivos ou não e como normal quando menor que 130 e 80 mmHg.

4.3.1 Análise dos parâmetros bioquímicos

As amostras de sangue foram coletadas após pelo menos 10 horas de jejum para o perfil clínico e análise metabólica. Foram realizadas análises pré e pós intervenção do perfil lipídico: colesterol sérico (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C), assim como glicemia de jejum e proteína C reativa ultrasensível (PCR-us). Para as análises bioquímicas, o sangue foi coletado por meio de punção venosa em 3 tubos estéreis diferentes: tubo 1 (com anticoagulante EDTA K₃), tubo 2 (com anticoagulante fluoreto de sódio) e tubo 3 (com ativador de coágulo). As amostras dos tubos 2 e 3 foram centrifugadas imediatamente para obtenção de plasma e soro respectivamente e submetidas à análise em período inferior a 2 horas após a coleta

A determinação quantitativa da PCRus foi realizada no Laboratório Hemato/João Pessoa, para realização da quantificação no soro através do uso do conjunto diagnóstico de Proteína C-Reativa Turbidimetria, cujo princípio analítico é o método turbidimétrico com látex aprimorado, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante, com metodologia ultrasensível específica para monitoramento em cardiologia, e linearidade de 0,1 a 15 mg/l. (LIMA *et al.*, 2007). Valor de referência: risco alto: superior a 3,00 mg/L; risco médio: 1,00 a 3,00 mg/L e risco baixo: inferior a 1,00 mg/L.

A glicose plasmática em jejum foi mensurada por método enzimático Cooper (1973), sendo considerados os valores de referência: ≤ 99 mg/dL (normal), 100-125 mg/dL (pré-diabetes) e ≥ 126 mg/dL (diabetes) (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2017).

Em relação a determinação das frações lipídicas colesterol total, HDL e triglicerídeos estas foram medidas por meio de ensaio enzimático (BUCOLO; DAVID, 1973; ALLAIN *et al.*, 1974). Na alíquota do soro foram realizadas dosagens de HDL (método ultra-centrifugação detergente-seletivo, colesterol total e triglicerídeos (método enzimático-trinder) em analisador automatizado utilizando kit comercial Labtest. O valor de referência desejável para o HDL-c é > 40 mg/dL (MAGALHAES, 2017).

A concentração do do LDL-C foi determinada pela equação de Friedewald: $LDL-C = CT - HDL-C - (TG/5)$, a partir das concentrações do colesterol total, do colesterol presente nas lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), e dos triglicerídeos. É considerado desejável

abaixo de 130 mg/dL, limítrofe entre 130-159 mg/dL, e alto a partir de 160 mg/dL (FRIEDEWALD; LEVI; FREDRICKSON, 1972).

Quadro 2: Valores de referências dos exames

Bioquímica sanguínea	Método utilizado	Valor de referencia
Glicemia	Método enzimático Cooper	≤ 99 mg/dL (normal), 100-125 mg/dL (pré-diabetes) e ≥ 126 mg/dL (diabetes)
Colesterol total (mg/dL)	Ensaio enzimático	< 200 mg/dL
LDL-C	Ensaio enzimático	< 130 mg/dL,
HDL-C	Ensaio enzimático	> 40 mg/dL
Triglicerídeos	método ultra-centrifugação detergente-seletivo	< 130 mg/dL; limítrofe entre 130-159 mg/dL, e alto a partir de 160 mg/dL
Proteína C Reativa	Método turbidimétrico com látex aprimorado	risco alto: superior a 3,00 mg/L; risco médio: 1,00 a 3,00 mg/L e risco baixo: inferior a 1,00 mg/L.

Fonte: Magalhaes, 2017; Friedewald; Levi; Fredrickson, 1972.

4.3.2 Avaliação antropométrica

Para o cálculo do índice de massa corporal (IMC), utilizou-se os valores de peso corporal (kg) dividido pelo quadrado da altura (metros), adotando-se os pontos de corte recomendados pela World Health Organization (WHO) para adultos de 20 a 59 anos de idade, de acordo com o quadro 3. As medições do peso e altura foram realizadas em triplicata, respeitando a média dos três valores (KAC, SICHIERY E GIGANTE, 2007).

Quadro 3- Classificação do IMC

Peso	IMC kg/m ²
Baixo peso	$< 18,5$ kg/m ²
Peso normal	18,5-24,9 kg/m ²
Sobrepeso	25-29,9 kg/m ²
Obesidade	30,0-39,9 kg/m ²
Extremamente obeso	≥ 40 kg/m ²

Fonte: WHO, 2000

Para a mensuração do peso, foi utilizada uma balança digital eletrônica, da marca PLENNA, modelo *Luminamea* 02550, com capacidade de até 150 Kg e precisão de 100 g. Para a tomada de medidas de estatura utilizou-se uma fita métrica elaborada por técnicos da Fundação de Assistência ao Estudante e utilizada no Programa Mundial de Alimentos, não extensível de 2 m de comprimento, fixada com fita adesiva numa parede plana sem rodapé, em um lugar iluminado, que permitisse uma boa leitura. Foram realizadas medições de peso e altura em triplicata de forma a ser utilizada a média dos três valores conforme recomendação de Kac, Sichieri e Gigante (2007).

Para determinar o estado de obesidade abdominal, foi utilizado como indicador a circunferência da cintura (CC), sendo esta realizada em triplicata, utilizando-se a média entre os valores obtidos, com o auxílio de uma fita métrica inextensível, de fibra de vidro com escala de 0-200 cm e resolução de 0,1cm (WHO, 2008).

Para a medição foi estabelecido o recomendado pela WHO (2008) e Ross *et al.* (2008), no qual o adulto ficou em posição ereta, com os pés juntos, os braços descontraídos ao lado do corpo, e após expiração, com o abdômen relaxado, a fita colocada no menor perímetro da cintura, sem compressão dos tecidos. Os pontos de corte considerados para a determinação da obesidade abdominal foram ≥ 88 cm para mulheres, segundo recomendações do NCEP (*National Cholesterol Education Program*, 2002).

4.4 ISOLAMENTO DE DNA DE LEUCÓCITOS

As amostras de sangue foram diluídas em uma primeira solução de lise, contendo 10 mM Tris-H ClpH 8, 5 mM EDTA, 0,3 M sacarose, Triton-X-100 1%. Em seguida as amostras foram centrifugadas à 3.200 rpm para descarte do sobrenadante. Esse processo será repetido por 3 vezes no intuito de obter um precipitado de leucócitos livre de resquícios de hemoglobina. O precipitado será então ressuspenso em solução de lise contendo 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 incubado a 55°C em banho-maria. Após 7 horas de incubação foi adicionado 500 µL de uma solução aquosa de 1mM EDTA e 7,5 M acetato de amônio. A mistura foi centrifugada por 10 min a 14.000 x g a 4°C e 700 µl do sobrenadante foi transferido para novo tubo onde foi realizada a precipitação do DNA com 540 µl de isopropanol. Logo em seguida o precipitado de DNA foi lavado com 70% etanol, centrifugado (12.000 x g por 5min), seco e ressuspenso em tampão Tris-EDTA pH 8,0 (MILLER *et al.*, 1988 modificado). (Descrito e

adaptado de MILLER; DYKES; POLESKY, 1988). As amostras foram mantidas a -20°C até as análises.

4.5 ANÁLISE DO POLIMORFISMO C677T

Foram utilizados os iniciadores: 5'-TGAAGGAGAA GGTGTCTGCGGGA-3' (sense) e 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3' (antisense) (FROSST *et al.*, 1995). A amplificação ocorreu nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C durante 10 minutos, 35 ciclos de desnaturação (30 segundos à 94°C), anelamento (30 segundos à 61°C) e extensão (30 segundos à 72°C) com uma etapa extra de extensão final de 10 minutos. O produto de 198 pb foi digerido com *Hinf*I que reconhece e cliva o alelo polimórfico T gerando dois fragmentos (175 pb e outro de 23 pb) enquanto o alelo ancestral C permanece com 198 pb. (FROSST *et al.*, 1995).

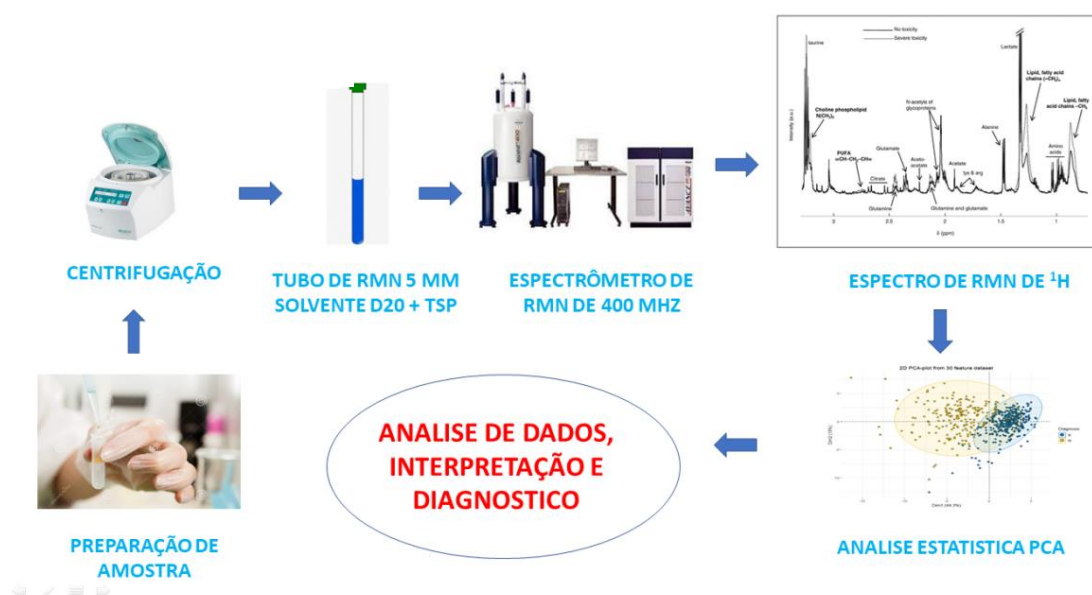
4.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL METABOLÔMICO

As análises do perfil metabôlomico foram realizadas pela técnica de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em Espectrômetro, modelo Bruker Ascend operando a 400 MHz. A análise no soro das mulheres foi realizada pré e pós intervenção com o suplemento de fibra dietética. Inicialmente 5 ml de sangue venoso foi coletado em tubos de polipropileno com EDTA no início da manhã, em jejum. Após a coleta, o mesmo foi centrifugado a 3000 x *g* por 10 min a 4 °C para isolar o soro. O soro foi transferido para um tubo esterilizado e armazenado a -80°C, e para utilização foi descongelado, sendo retirada 300 uL de soro e adicionado 300 uL de tampão fosfato (TSP) como padrão de referência e realizada a homogeneização em vortex por 30 s, logo após centrifugadas a 14000 x *g*, durante 10 min em 4°C. Após a centrifugação, foi adicionado 60 uL de água deuterada. Em seguida, foi realizada a análise no aparelho de RMN e o sobrenadante transferido para o tubo de RMN 400 MHz em tubo de 5 mm. A sequência de pulso utilizada para obtenção de dados foi o CPMG- BRUKER sendo feita análise em triplicata. Figura 5.

Os espectros obtidos foram processados pelo software MestreNova (versão 6.02, MestreLab Research S.L e os deslocamentos químicos expressos em ppm. Os metabolitos foram identificados por comparação de deslocamentos químicos com deslocamentos químicos de amostras autênticas disponibilizadas no banco de dados HMDB. Os espectros foram referenciados pelo tetrametilsilano (TMS) cuja faixa total escolhida para análise foi entre 0.1 e

9 ppm, com *binning*s de 0.02 ppm, gerando uma matriz de dados de 96 amostras e 225 variáveis a qual foi exportada no formato ASCII para o software de estatística “*The Unscrambler*” (versão 9.7, CAMO Process). Os dados não foram normalizados pela área e os picos referentes ao TMS, D₂O, Metanol e acetona foram descartados. Com estes procedimentos foi possível diferenciar as fases antes e após intervenção com fibra dietética mista, e a ferramenta estatística utilizada foi a análise de componente principal (PCA)

Figura 6: Fluxograma do experimento do perfil metabolômico.



4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para descrever as características gerais dos grupos no primeiro artigo, os dados foram apresentados como média e desvio padrão, proporção ou n (%). As variáveis contínuas foram testadas quanto à normalidade e homogeneidade das variâncias pelos testes de *Shapiro-Wilk*. Para avaliar possíveis diferenças pré e pós-intervenção em relação aos metabólitos estudados foi utilizado testes T pareado ou *Wilcoxon* de acordo com a distribuição das variáveis.

Os espectros obtidos da RMN, foram processados pelo software MestreNova (versão 6.02, MestreLab Research S.L) e os deslocamentos químicos expressos em ppm (partes por milhão). Para as análises dos metabólitos séricos foram empregadas análises multivariadas, incluindo a análise do componente principal (PCA)

No segundo artigo foi proposto um modelo misto de análise de variância com três fatores (ANOVA three-way). Todas as análises foram procedidas no software R versão 4.0.4,

disponível livre e gratuitamente em <https://www.r-project.org/>. Para toda a análise, o nível de significância adotado foi de 5%. Para valores significativos desta análise ($p\text{-valor} < 0,05$ para pelo menos um fator individual), utilizou-se o teste *post hoc* de comparações múltiplas de Tukey.

5 RESULTADOS

Os resultados da tese foram apresentados no formato de dois artigos científicos, apresentados no APENDICE A e APÊNDICE B.

ARTIGO 1 (APÊNDICE A): Metabólitos de colina, hidroxibutirato e HDL após suplementação de fibra dietética em mulheres hipertensas com excesso de peso: um estudo metabolômico

O artigo 1 foi publicado no periódico *Nutrients*. DOI: 10.3390/nu13051437. Qualis: A1. Neste artigo foram apresentados os dados referentes a análise metabolômica por Ressonância Magnética nuclear (RMN) que identificou os metabólitos no soro das mulheres hipertensas com sobrepeso/obesidade antes e após o consumo da fibra dietética mista por 8 semanas. Nos resultados principais, observou-se após intervenção que o perfil metabolômico no soro produziu alterações no metabolismo dos aminoácidos, lipídios, com um aumento significativo nos valores de vários metabólitos do HDL-C, colina e hidroxibutirato e redução da pressão arterial na amostra estudada.

ARTIGO 2 (APÊNDICE B): Influencia do genótipo da MTHFR sobre o perfil metabolômico pós intervenção com fibra dietética em mulheres hipertensas

O artigo 2 foi submetido ao periódico *Clinical Nutrition*. Qualis: A1. A proposta do artigo 2 que foi intitulado Influencia do polimorfismo C6777T do MTHFR no perfil metabolômico de mulheres hipertensas com sobrepeso e obesidade pós intervenção com fibra mista. Foram realizadas avaliações antropométricas, análises bioquímicas e genotipagem do polimorfismo C677T do gene *MTHFR*. Posteriormente foram analisados se houve influencia desse polimorfismo com os resultados encontrados no perfil metabolômico em resposta a fibra do grupo G1 e G2. As mulheres genótipos CT/TT apresentaram maiores reduções nos valores de pressão arterial sistólica após intervenção com fibras seguido do genótipo CC.

REFERÊNCIAS

- AGHA, M.; AGHA, R. The rising prevalence of obesity. Part A: impact on public health. **Internat. J. of Sur. Oncol.**, v. 2; n. 17, 2017.
- AHMED, S. *et al.* Understanding sex differences in long-term blood pressure regulation: insights from experimental studies and computational modelling. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 316, H1113-H1123, 2019.
- ALAM, M. A. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms and Cardiovascular Diseases. **Cell Dev Biol**, v. 5, n. 172, 2016.
- ALLAIN, C. C. *et al.* Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clin. Chem.**, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.
- ALJURAIBAN, G. S. *et al.* Total, insoluble and soluble dietary fibre intake in relation to blood pressure: the INTERMAP Study. **British Journal of Nutrition**. v.114, n. 9, p.1480-1486, 2015.
- ALEIXANDRE, A; MIGUEL, M. Dietary fiber and blood pressure control. **Food Funct**, v. 7, n. 4, p.1864-1871, 2016.
- ALEKSANDROVA, K. *et al.* Omics Biomarkers in Obesity: Novel Etiological Insights and Targets for Precision Prevention. **Curr Obes Rep**, v. 9, n. 3, p. 219-230, 2020.
- AMETA, K. *et al.* Essential hypertension: A filtered serum based metabolomics study. **Scientific Reports**, v. 7, n. 2153, p. 1-11, 2017.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Promoting health and reducing disparities in populations. **Diabetes Care**, v. 40, p. S6-S10, 2017.
- AMUGSI, D. A. *et al.* Prevalence and time trends in overweight and obesity among urban women: an analysis of demographic and health surveys data from 24 African countries, 1991–2014. **BMJ Open**, v. 7, n.17344, 2017.
- ARROYO, J. C; MINCEY, K. D. Obesity epidemiology worldwide. **Gastroenterol Clin N Am**, v. 45, n. 4, p. 571-579, 2016.
- ARNETT, D. K.; GRAF, G. A. Metabolomics, Lipid Pathways, and Blood Pressure Change. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. V. 40, n.8. p.1801–1803, 2020.
- ASCIUTTI, L. S. R. *et al.* **Manual de porções média em tamanho real baseado no programa Dietsys para estudo de base populacional**. Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa, 2005.
- BABIO, N. *et al.* Dietary fibre: influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile. **Nutr Hosp**, v. 25, n. 3, p. 327-340, 2010.

BAGHERI, M. *et al.* Plasma metabolomic profiling of amino acids and polar lipids in Iranian obese adults. **Lipids Health Dis**, v. 18, p. 1-9, 2019.

BENJAMIN, E. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics - 2017 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, v. 135, p. e146-e603, 2017.

BERETTA, M.V. *et al.* Higher fiber intake is associated with lower blood pressure levels in patients with type 1 diabetes. **Arch Endocrinol Metab**, v. 62, n. 1, p. 47-54, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. **Vigitel Brasil 2019**: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 137. il. 2020.

BUCOLO, G.; DAVID, H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. **Clin Chem**, v. 19, n. 5, p. 476-482, 1973.

BUJAK, R. *et al.* Metabolomics for Laboratory Diagnostics. **J Pharm Biomed Anal**, v. 113, p. 108-120, 2015.

CAI, W. *et al.* Association between Hcy levels and the CBS844ins68 and MTHFR C677T polymorphisms with essential hypertension. **Biomed. Rep.**, v. 2, p. 861-868, 2014.

CAI, D. *et al.* Nutrient Intake Is Associated with Longevity Characterization by Metabolites and Element Profiles of Healthy Centenarians. **Nutrients**, v. 8, n. 564, 2016.

CARVALHO, F. S. *et al.* Importância da orientação nutricional e do teor de fibras da dieta no controle glicêmico de pacientes diabéticos tipo 2 sob intervenção educacional intensiva. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 56, n. 2, p. 110-119, 2012.

CAREY, R. M. *et al.* Resistant Detection, Evaluation, and Management: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Hypertension**, v. 5, p. e53-e90, 2018.

CASTILLO, R. “SSA 03-1 prevalence and management of hypertension in southeast asia,” **Journal of Hypertension**, v. 34, p. e4, 2016.

Cardiology/American Heart Association Blood Pressure Guidelines: NHANES 2007–2014. **Nutrients**, v. 10, n. 1091, p. 1-11, 2018.

CHASHMNIAM, S. *et al.* The metabolome profiling of obese and non-obese individuals: Metabolically healthy obese and unhealthy non-obese paradox. **Iran J Basic Med Sci**, v. 23, n. 2, 2020.

CHOR, D. *et al.* Prevalence, awareness, treatment and influence of socioeconomic variables on control of high blood pressure: results of the ELSA-Brasil study. **PLOS ONE**, v. 10, e0127382, 2015.

CHEN, G. *et al.* Dietary fiber intake and stroke risk: a meta-analysis of prospective cohort studies. **Eur J Clin Nutr**, v. 67, n. 1, p. 96-100, 2013.

CHENG, D. *et al.* Metabolomic Signature Between Metabolically Healthy Overweight/Obese and Metabolically Unhealthy Overweight/Obese: A Systematic Review. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 14, 991-1010, 2021.

CLARK, C. C. T. *et al.* The effect of psyllium supplementation on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **The Korean Journal of Internal Medicine**, v. 35, n. 6, 2020.

COSTA, M. J. C. **Nutrição clínica: uso do sistema de equivalentes na prática dietoterápica**. 2. ed. João Pessoa: Editora Universitária. v. 1. 326 p., 2013.

COLAFELLA, K. M. M.; DENTON, K. M. Sex-specific differences in hypertension and associated cardiovascular disease. **Nat. Rev. Nephrol.**, v. 14, p. 185-201, 2018.

CIRULLI, E. T. *et al.* Profound Perturbation of the Metabolome in Obesity Is Associated with Health Risk. **Cell Metab**, v. 29, n. 2, p. 488-500, e2, 2019.

DAVIS, H. C. Can the gastrointestinal microbiota be modulated by dietary fibre to treat obesity? **Irish Journal of Medical Science**, v. 187, n. 2, p. 393-402, 2018.

Diretrizes brasileiras de obesidade. ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. 4. ed. - São Paulo, SP, 2016.

DLAMINI, Z. *et al.* Regulation of alternative splicing in obesity-induced hypertension. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 12, p. 1597-1615, 2019.

DIAS, P. C. *et al.* Obesidade e políticas públicas: concepções e estratégias adotadas pelo governo brasileiro. **Cadernos de saúde pública**, v. 07, n. 33, 2017.

DONG, Y.; CHEN, L.; GUTIN, B. Total, Insoluble, and Soluble Dietary Fiber Intake and Insulin Resistance and Blood Pressure in Adolescents. **Eur J Clin Nutr**, v. 73, n. 8, p. 1172-1178, 2019.

DORANTES, M. T.F; LÓPEZ, Y.E.D; AGUILAR, R.G. Environment and Gene Association With Obesity and Their Impact on Neurodegenerative and Neurodevelopmental Diseases Front. **Neurosci.**, v. 14, n. 863, 2020.

EVANS, C. E. *et al.* Effects of dietary fibre type on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of healthy individuals. **J Hypertens**, v. 33, n. 5, p. 897-911, 2015.

EGHBALI, M. *et al.* Prevalence, awareness, treatment, control, and risk factors of hypertension among adults: a cross-sectional study in Iran. *Epidemiology and health*, 40, e2018020, 2018. <https://doi.org/10.4178/epih.e2018020>.

ECKEL, R. H. *et al.* AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **J Am Coll Cardiol**, v. 63, p. 2960-2984, 2014.

EMWAS, A. H. NMR Spectroscopy for Metabolomics Research. **Metabolites**, v. 9, n. 123, 2019.

FAO/WHO. **Codex Alimentarius Commission**. Available online: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/34/CXG_002e.pdf (accessed on 12 October 2010).

FARAPTI, F. *et al.* Awareness of Salt Intake among Community-Dwelling Elderly at Coastal Area: The Role of Public Health Access Program. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2020, 2020.

FERREIRA, A. P.S.; SZWARCOWALDII, C. L.; DAMACENALL, G.N. Prevalência e fatores associados da obesidade na população brasileira: estudo com dados aferidos da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Rev bras epidemiol**, v. 22, 2019.

FOROUZANFAR, M. H. *et al.* Global burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115mmHg, 1990-2015. **JAMA**, v. 317, p. 165-182, 2017.

FORMAN, J. P.; STAMPFER, M. J.; CURHAN, G. C. Diet and lifestyle risk factors associated with incident hypertension in women. **JAMA**, v. 302, n. 4, p. 401-11, 2009.

FRISO, S. *et al.* Epigenetics and arterial hypertension: the challenge of emerging evidence. **Translational Research**, v. 165, n. 1, p. 154-155, 2015.

FRIEDEWALD, W. T; LEVI, R. I; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. **Clin. Chem.**, v. 18, p. 499-502, 1972.

FRIDMAN, O. *et al.* Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene 677C>T polymorphism with hypertension in older women in a population of Buenos Aires city. **Clin. Exp. Hypertens**, 35, p. 159-166, 2013.

FROSST, P. *et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. **Nat Genet**, v. 10, n. 1, p. 111-3, 1995.

GRASSI, G. G. *et al.* Essential hypertension and the sympathetic nervous system. **Neurol. Sci.**, v. 29, p. S33-S36, 2008.

GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet**, v. 385, n. 9963, p. 117-171, 2015.

GOÏTA, Y. *et al.* Sexual Dimorphism of Metabolomic Profile in Arterial Hypertension. **Sci Rep**, v. 10, n. 7517, 2020.

- GRIFFITHS, W. J. *et al.* Targeted metabolomics for biomarker discovery. **Angew Chem Int Ed Engl**, v. 49, n. 32, p. 5426-5445, 2010.
- HANKEY, G. J, EIKELBOOM, J. W. Homocisteína e doença vascular. **Lancet**, v. 354, p. 407-413, 1999.
- HAY, M. Sex, the brain and hypertension: brain oestrogen receptors and high blood pressure risk factors. **Clin Sci**, v. 130, p. 9-18, 2016.
- HARVEY, A. *et al.* Vascular Fibrosis in Aging and Hypertension: Molecular Mechanisms and Clinical Implications. **Canadian Journal of cardiology**, v. 32, p. 659-668, 2016.
- HOH, B. P.; ABDUL RAHMAN, T; YUSOFF. K. Natural selection and local adaptation of blood pressure regulation and their perspectives on precision medicine in hypertension. **Hereditas**, v. 156, n. 1, p. 1-10, 2019.
- HILTUNEN, T. P. *et al.* Effects of four different antihypertensive drugs on plasma metabolomic profiles in patients with essential hypertension. **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, 2017.
- IKRAM, M. A. Molecular pathological epidemiology: the role of epidemiology in the omics-era. **Eur J Epidemiol**, v. 30, n. 10, p. 1077-1078, 2015.
- JIANG, S. *et al.* Obesity and hypertension. **Exp Ther Med**, v. 12, n. 4, p. 2395-2399, 2016.
- JOYCE, S. A. *et al.* The cholesterol lowering effect of oats and oat beta glucan: modes of action and potential role of bili acids and the microbiome. **Frontiers in nutrition**, v. 6, n. 171, 2019.
- JASTREBOFF, A. M. *et al.* Obesity as a disease: the obesity society 2018 position statement. **Obesity** (Silver Spring), v. 27, n. 1, p. 7-9, 2019.
- JUSIC, A.; DEVAUX, Y. Noncoding RNAs in Hypertension. **Hypertension**, v. 74, p. 477-492, 2019.
- KABOOTARI, M. *et al.* Sex specific impact of different obesity phenotypes on the risk of incident hypertension: Tehran lipid and glucose study. **Nutrition & Metabolism**, v. 16, n. 16, p. 1-9, 2019.
- KAC, G.; SICHIERY, R.; GIGANTE, D. P. **Epidemiologia nutricional**. 1. ed. Rio de Janeiro, 2007.
- KADDURAH-DAOUK, R.; KRISTAL, B. S.; WEINSHILBOUM, R. M. Metabolomics: A Global Biochemical Approach to Drug Response and Disease. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**, v. 48, p. 653-683, 2008.
- KEARNEY, P. M. *et al.* Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet**, v. 365, n. 9455, p. 217-223, 2005.

KHERA, R. *et al.* Impact of 2017 ACC/AHA guidelines on prevalence of hypertension and eligibility for antihypertensive treatment in United States and China: nationally representative cross sectional study. **BMJ**, v. 362, N. 2357, 2018.

KOTCHEN, T. A. Obesity-related hypertension: epidemiology, pathophysiology, and clinical management. **Am J Hypertens Nat Publ Group**, v. 23, n. 11, p. 1170e8, 2010.

LATTIMER, J. M.; HAUB, M. D. Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. **Nutrients**, n. 2, p. 1266-1289, 2010.

LEE, J. K. *et al.* Proteomic and Metabolomic Characterization of a Mammalian Cellular Transition from Quiescence to Proliferation. **Cell Reports**, v. 20, p. 721-736, jul. 2017.

LERMAN, L. O. *et al.* Animal Models of Hypertension: a scientific statement from the american heart association. **Hypertension**, v. 73, n. 6, p. e87-e120, jun. 2019.

LEON-MIMILA P., WANG J., HUERTAS-VAZQUEZ A. Relevância dos estudos multiômicos em doenças cardiovasculares. **Frente. Cardiovasc. Med.**, v. 6, n. 91, 2019.

LOUCA, P.; MENNI, C.; PADMANABHAN, S. Genomic determinants of hypertension with a focus on metabolomics and the gut microbiome. **Am J Hypertens**, v. 33, n. 6, p. 473-481, 2020.

LIMA, F. E. L. *et al.* Diet and cancer in northastern Brasil: evolution of eating habits and food consumption in relation to breast cancer. **Cadernos de Saúde Pública (FIOCRUZ)**, v. 24, n. 4, p. 820-828, 2008.

LIMA, L. M.; CARVALHO, M. G.; LOURES-VALE, A.A. *et al.* Proteína C-reativa ultrasensível em pacientes com diagnóstico de doença arterial coronariana estabelecido por angiografia. **J Bras Patol Med Lab**. v. 43, n. 2, p. 83-86, 2007.

LIU, X.; LOCASALE, J. W. Metabolomics - a primer. **Trends Biochem Sci**, v. 42, n. 4, p. 274-284, 2017.

LIU, X. *et al.* High-Resolution Metabolomics with Acyl-CoA Profiling Reveals Widespread Remodeling in Response to Diet. **Mol Cell Proteomics**, v. 14, n. 6, p. 1489-1500, 2015.

LIU, S. *et al.* Xiuping Liu Association of single nucleotide polymorphisms of MTHFR, TCN2, RNF213 with susceptibility to hypertension and blood pressure. **Bioscience Reports**, v. 39, 2019.

LI, W. X. *et al.* Interactions of Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms, Folate, and Homocysteine on Blood Pressure in a Chinese Hypertensive Population. **Clin. Lab.**, v. 63, p. 817-825, 2017.

MCGARRAH, R. W. *et al.* Metabolômica cardiovascular. **Circ. Res.**, v. 122, p. 1238-1258, 2018.

MAGALHÃES, M. E. C. Novas Metas de Colesterol da Diretriz de Dislipidemia da SBC. **Int J Cardiovasc Sci**, v. 30, n. 6, p. 466-468, 2017.

MALACHIAS, M. V. B. *et al.* 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 3, Supl. 3, p. 1-83, 2016.

MALTA, D. C. *et al.* Prevalência e fatores associados com hipertensão arterial autorreferida em adultos brasileiros. **Rev. Saúde Pública**, v. 51, n. 1, p. 1-11, 2017.

MARTÍN, F. R. *et al.* Human Serum/Plasma Glycoprotein Analysis by 1H-NMR, an Emerging Method of Inflammatory Assessment. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 2, 354, p. 1-31, 2020.

MARSHALL, D. D.; POWERS, R. Beyond the paradigm: Combining mass spectrometry and nuclear magnetic resonance for metabolomics. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 100, p. 1-16, 2017.

MARTINS, M. P. S. C. *et al.* Consumo alimentar, pressão arterial e controle metabólico em idosos diabéticos hipertensos. **Rev Bras Cardiol**, v. 23, n. 3, p. 162-170, 2010.

MARQUES, F. Z. *et al.* High-Fiber Diet and Acetate Supplementation Change the Gut Microbiota and Prevent the Development of Hypertension and Heart Failure in Hypertensive Mice. **Circulation**, v. 135, p. 964-977, 2017.

MARQUES, F. Z.; MACKAY, C. R.; KAYE, D. M. Beyond gut feelings: how the gut microbiota regulates blood pressure. **Nature Reviews Cardiology**, v. 15, n. 1, p. 20-32, 2018.

MERAI, R. *et al.* CDC Grand Rounds: Public Health Approach to Detect and Control Hypertension. **Morb Mortal Wkly Rep**, v. 65, n. 45, p. 1261-1264, 2016.

MENNI, C. *et al.* Metabolomic study of carotid-femoral pulse-wave velocity in women. **J. Hypertens.**, v. 33, p. 791-796, 2015.

MORDI, I. *et al.* Endothelial dysfunction in human essential hypertension. **J. Hypertens.**, v. 34, n. 8, p. 1464-1472, 2016.

MOURA, H. I. *et al.* Prevalência de hipertensão arterial e seus fatores de risco em adolescentes. **Acta Paul Enferm**, v. 28, n. 1, p. 81-86, 2015.

MOUTON, A. J. *et al.* Interaction of Obesity and Hypertension on Cardiac Metabolic Remodeling and Survival Following Myocardial Infarction. **J Am Heart Assoc**, v. 10, n. e018212, 2021.

MOZAFFARIAN, D. *et al.* Heart disease and stroke Statistics-2015 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 131, n. 4, p. e29-e322, 2015.

MILLS, K. T. *et al.* Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. **Circulation**, v. 134, n. 6, p. 441-450, 2016.

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

- MIRMIRAN, P. *et al.* Prospective Study of Different Types of Dietary Fiber and Risk of Cardiovascular Disease: Tehran Lipid and Glucose Study. **Nutrientes**, v. 8, n. 11, 686, 12 p. 2016.
- NASSEREDDINE, S. *et al.* Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T) with the risk of hypertension in Morocco. **BMC Res Notes**, v. 8, n. 775, 2015.
- NIKOLIC, S. B.; E. SHARMAN, J. E.; ADAMS, M. J.; EDWARDS, L. M. Metabolomics in hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 32, p. 1159-1169, 2014.
- NURDIANTAMI, Y. *et al.* Association of general and central obesity with hypertension. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 4, p. 1259-1263, 2017.
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.05.012>.
- OLIVEIRA, R. G. *et al.* Polimorfismo C677T do gene mthfr na susceptibilidade à hipertensão arterial: evidências baseadas em metanálise. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 7, n. 5, p. 44831-44850, 2021.
- O'GORMAN, A.; GIBBONS, H.; BRENNAN, L. Metabolomics in the identification of biomarkers of dietary intake. **Comput Struct Biotechnol J**, v. 4, n. 5, 2013.
- OPARIL, S. *et al.* Hypertension. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 18014, p. 1-21, 2018.
- ONUJ, J. O; ALIANI, M. Metabolomics profiling in hypertension and blood pressure regulation: a review. **Clinical Hypertension**, v. 26, n. 23, p. 2020.
- PASANTA, D. S. *et al.* Effects of obesity on the lipid and metabolite profiles of young adults by serum 1H-NMR spectroscopy. **Peer J**, v. 7, e7137, 2019.
- RODRIGO, R. *et al.* Relationship between oxidative stress and essential hypertension. **Hypertens. Res.**, v. 30, p. 1159-1167, 2007.
- ROSS, R.; BERENTZEN, T.; BRADSHAW, A. J. *et al.* Does the relationship between waist circumference, morbidity and mortality depend on measurement protocol for waist circumference? **Obesity Reviews**, v. 9, n. 4, p. 312-325, 2008.
- SALGADO, A. D. *et al.* Epigenética de la obesidad infantil y de la diabetes. **Rev Med Inst Mex Seguro Soc**, v. 52, n. 1, p. S88-S93, 2014.
- SATIJA, A.; HU, F. B. Cardiovascular benefits of dietary fiber. **Current Atherosclerosis Reports** v. 14, n. 6, p. 505-514, 2012.
- SBC. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO, SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Rev Bras Hipertens**, v. 17, n. 1, p. 4-64, 2010.

- SER, Z. *et al.* Extraction parameters for metabolomics from cultured cells. **Anal Biochem**, v. 475, p. 22-28, 2015.
- SLAVIN, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. **Nutrients**, v. 5, p. 1417-1435, 2013.
- STEWART, D. L. *et al.* Stress and salt sensitivity in primary hypertension. **Curr. Hypertens. Rep.**, v. 17, n. 2, p. 1-7, 2015.
- STREPPEL, M. T. *et al.* Dietary fiber and blood pressure: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. **Arch Intern Med**, v. 165, n. 2, p. 150-156, jan. 2005.
- SUN, B. *et al.* Exploration of the Association between Dietary Fiber Intake and Hypertension among U.S. Adults Using 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Blood Pressure Guidelines: NHANES 2007–2014. **Nutrients**, v. 10, n. 1091, p. 1-11, 2018.
- SONG, Z. *et al.* Application of NMR metabolomics to search for human disease biomarkers in blood. **Clin Chem Lab Med**, v. 57, n. 4, p. 417-441, 2019.
- 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. 1-19, 2012.
- STRINGER, K. A. *et al.* Metabolomics and its application to acute lung diseases. **Front Immunol**, v. 7, n. 44, 2016
- SHARMAN, J. E. *et al.* Metabolomics in hypertension. Sonja B. Nikolic. Reconstruction and analysis of correlation networks based on GC–MS metabolomics data for young hypertensive men. **Anal Chim Acta**, v. 7, n. 854, p. 95-105, 2015.
- V. L. *et al.* Metabolomic Profiles Associated with BMI, Waist Circumference, and Diabetes and Inflammation Biomarkers in Women. **Obesity**. v. 28, n.1, p. 187-196, 2020.
- THE R FOUNDATION. **R**: A language and environment for statistical computing. Core R Development Team. R Foundation for Statistical Computing, 2006. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em 20 de maio 2015.
- TIFFON, C. The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 19, n. 3425, 2018.
- TORTORELLA, C. C. S. *et al.* Tendência temporal da prevalência de hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus entre adultos cadastrados no Sistema Único de Saúde em Florianópolis, Santa Catarina, 2004-2011. **Epidemiol. Serv. Saude**, v. 26, p. 469-480, 2017.
- TZOULAKI, I.; ILIOU, A.; MIKROS, E.; ELLIOTT, P. An Overview of Metabolic Phenotyping in Blood Pressure Research. **Curr. Hypertens. Rep.** v. 20, p.1-8, 2018.
- UGARTE, E. L.; LEAL, V. P.; ESPINOZA, J. P. M. Association of the MTHFR 677c>t polymorphism with obesity and biochemical variables in a young population of Mexico. **J Med Biochem**, v. 38, p. 461-467, 2019.

UNGER, T. *et al.* 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines, **Journal of Hypertension**. v. 38, n. 6, p. 982-1004, 2020.

SERAVALLE, G.; GRASSI, G. Obesity and hypertension. **Pharmacol Res.** v. 122, p. 1-7, 2017.

WANG, L. *et al.* Reconstruction and analysis of correlation networks based on GC–MS metabolomics data for young hypertensive men. **Anal Chim Acta**, v. 7, n. 854, p. 95-105, 2015.

WANG, X. *et al.* Geographical and Ethnic Distributions of the MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G Gene Polymorphisms in Chinese Populations: A Meta-Analysis. **PLOS ONE**, v. 18, n. 4, 2016.

WENGER, N. K. *et al.* Hypertension across a woman's life cycle. **J Am Coll Cardiol**, v. 71, n. 16, p. 1797-1813, 2019.

WHELTON, S.; HYRE, A.; PEDERSEN, B. Effect of dietary fiber intake on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. **J. Hypertens.**, v. 23, p. 475-481, 2005.

WHELTON, P.K. *et al.* 2017 acc/aha/aapa/abc/acpm/ags/apha/ash/aspc/nma/pcna guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: Executive summary: A report of the american college of cardiology/american heart association task force on clinicalpractice guidelines. **Hypertension**, v. 71, p. 13-115, 2018.

WIKLUND, P. K. Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome, **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 6. n. 40, 2014.

WANDERS, A. J. *et al.* Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy intake and body weight: a systematic review of randomized controlled trials. **Obes Rev**, v. 12, p. 724-39, 2011.

WISE, I. A.; CHARCHAR, F. J. Epigenetic Modifications in Essential Hypertension. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 17, n. 451, p. 3-14, 2016.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **Technical Report Series**, v. 894, p. 11-253, 2000.

WHO.WORLD HEALTH ORGANIZATION. A global brief on hypertension: Silent killer, global public health crisis. Geneva, World Health Organization, v. 1, p. 1-40, 2013.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Waist Circumference and Waist-hip Ratio**. Geneva: WHO, 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE A – ARTIGO 1

Choline Metabolites, Hydroxybutyrate and HDL after Dietary Fiber Supplementation in Overweight/Obese Hypertensive Women: A Metabolomic Study

Artigo publicado no periódico **NUTRIENTS**. DOI: 10.3390/nu13051437

QUALIS: A1; **ISSN:** 2072-6643; **FATOR DE IMPACTO:** 5,717

Carla Patricia Novaes dos Santos Fechine ^{1,*}, Mussara Gomes Cavalcanti Alves Monteiro ¹, Josean Fechine Tavares ², Augusto Lopes Souto ², Rafaella Cristhine Pordeus Luna ¹, Cássia Surama Oliveira da Silva ¹, Jairo Alves da Silva ¹, Sócrates Golzio dos Santos ², Maria José de Carvalho Costa ¹ and Darlene Camati Persuhn ¹

¹Postgraduate Program in Nutrition Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa 58059-900, Brazil; mussara.monteiro@hotmail.com (M.G.C.A.M.); rafaellacristhine@yahoo.com.br (R.C.P.L.); suramajpa2@hotmail.com (C.S.O.d.S.); jairoalvess28@gmail.com (J.A.d.S.); mjc.costa@terra.com.br (M.J.d.C.C.); darlenecp@hotmail.com (D.C.P.)

²Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa 58059-900, Brazil; josean@lft.ufpb.br (J.F.T.); augustosouto@gmail.com (A.L.S.); socratesgolzio@lft.ufpb.br (S.G.d.S.)

Abstract: Metabolomics has been increasingly used to evaluate metabolic changes associated with morbidities. The objective of this study is to assess the metabolic profile before and after intervention with mixed dietary fiber in overweight and obese hypertensive women. This is an intervention study, and the sample consists of 14 women aged 28 to 58 years. An intervention with 12 g of mixed soluble and insoluble fiber is performed for a period of eight weeks. Serum metabolites are identified using a Bruker ¹H NMR spectrometer at 400 MHz. Multivariate data analysis, including principal component analysis (PCA), is used to differentiate the two groups. After supplementation with dietary fiber, there is a significant increase in the peak intensity values of the metabolites HDL-C (0.0010*), choline (0.0012*) and hydroxybutyrate (0.0010*) as well as a decrease in systolic (0.0013*) and diastolic (0.0026*) blood pressure. The analysis of the metabolomic profile allows the identification of metabolites that have been associated in the literature with hypertension and excess weight (choline, hydroxybutyrate and amino acids) and with fiber intake (choline, hydroxybutyrate and amino acids) in addition to an increase in HDL-C. The increase in the detection of the described metabolites possibly occurs due to the presence of pathologies and the use of fiber in the intervention, which also contributes to elevated HDL-c and reduced blood pressure.

Keywords: dietary fiber; hypertension; obesity; metabolomics; nuclear magnetic resonance

1. Introduction

Despite the scientific advances in treatment, identification of pathophysiological mechanisms and public policies implemented in recent decades, hypertension remains a public health problem due to its high prevalence worldwide [1]. Considered one of the main causes of morbidity and mortality, it is an important risk factor for cardiovascular diseases (CVDs) and renal complications [2–5]. The etiology of hypertension is heterogeneous and multifactorial. This condition occurs as a consequence of genetic, environmental and lifestyle factors that trigger biological factors such as oxidative stress, endothelial dysfunction and the functionality of the renin-angiotensin-aldosterone system and the sympathetic nervous system [6,7].

Metabolomics has been used to evaluate metabolic disorders associated with hypertension. Studies comparing the metabolic profile of hypertensive patients to healthy ones point to changes in the metabolites involved in the metabolism of amino acids and lipids as the most prominent factor [8–11]. With advancements in technology, a large number of metabolites can be measured in various body fluids, such as urine, feces, saliva and blood, providing more information on which metabolic pathways may be affected after exposure to several factors, especially food intake [9,12].

Considering the persistent increase in the prevalence of hypertension, the need for innovative prevention and control strategies has become important. The influence of fiber intake has been a topic discussed since the mid-1970s and this practice has already been associated with the prevention of cardiovascular disorders, with improvements in blood glucose, insulin resistance, weight loss and blood pressure (BP). However, there is still no consensus on its recommendation for the prevention and treatment of hypertension [13,14].

The increase in fiber intake by the general population seems to contribute to the prevention of hypertension, although there are controversies [15–17]. The decrease in BP values is due to soluble dietary fiber as well as to an increase in intestinal viscosity, delaying nutrient absorption and inhibiting the absorption of cholesterol and bile acids [18,19].

Current studies relating hypertension and metabolomic profiles are still in the initial stages. Therefore, more evidence and interpretation are needed, especially when related to cases with associated morbidities that are often found in the population, such as obesity and hypertension, as well as studies using interventions with specific nutrients. Thus, the present study aims to examine the metabolic profile of overweight and obese hypertensive women before and after intervention with mixed dietary fiber, a topic unreported in the literature.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Sample Characteristics

We conducted a randomized intervention study in which 14 overweight/obese hypertensive women, aged 20 to 50 years, used fiber supplements (12 g/day of dietary fiber). Women with a medical diagnosis of hypertension and with high BP values were invited and recruited at the Blood Donor Centre in João Pessoa, Paraíba (PB), Brazil.

The initial number of participants was 20, however, there was sample loss due to the inclusion criteria ($n = 5$) and withdrawal due to the occurrence of adverse effects due to the use of fiber (colic and diarrhea $n = 1$).

This study was submitted to the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center, Federal University of Paraíba and was approved under CAAE number 64573917.4.0000.5188 and registered in the Brazilian Registry of Clinical Trials under TRIAL: RBR-2PH4F9. The intervention with fiber was performed for a period of eight weeks; fiber was packed in sachets (12 g) and consisted of soluble fiber (7 g) and insoluble fiber. The fiber supplement was prepared in a pharmacy in João Pessoa, PB, Brazil. The composition of the supplement, which contained a nutraceutical based on mixed fibers, was soluble fiber (7 g), guar gum (4 g; lot ALL 0605354), NutraFlora (FOS; 1 g; lot Galena (CIQ): 1505006204),

psyllium (2 g; scientific name *Plantago ovata*; manufacturer batch: 949/2013) and insoluble fiber (5 g; microcrystalline cellulose 101—5 g, batch 14116094A, manufacturing batch C1404014, formula $C_6H_{10}O_5 + 205n = 1$).

In this study, only women diagnosed with primary hypertension with a body mass index (BMI) of 25–35 m^2/kg and BP above 130/80 mmHg were included.

The exclusion criteria were diabetes, liver failure, congestive heart failure (grades 3 and 4), renal failure with creatinine values greater than 3.0 mg/dL and secondary hypertension or systolic BP values ≥ 180 mmHg or diastolic BP values ≥ 110 mmHg.

The women who agreed to participate in the study kept their eating and physical activity habits stable for at least four weeks before beginning the intervention and reported not having the intention to change those behaviors during the study.

2.2. Analysis of Biochemical Parameters

Lipid profile analyses were performed before and after the intervention of serum cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoproteins (HDL-C), low-density lipoproteins (LDL-C), fasting glucose and high-sensitivity C reactive protein (hs-CRP). For biochemical analyses, blood was collected by venipuncture in three different sterile tubes: tube 1 (with the anticoagulant K_3 EDTA-ethylenediamine tetra-acetic acid), tube 2 (with the anticoagulant sodium fluoride) and tube 3 (with the clot activator). The samples from tubes 2 and 3 were centrifuged immediately to obtain plasma and serum, respectively, and were subjected to analysis less than 2 h after collection.

The lipid fractions, TC and TG were determined by enzymatic assays [20,21]. TC and TG (enzymatic method—Trinder) were measured in serum aliquots in an automated analyzer using a Labtest kit.

2.3. Blood Pressure Assessment

Blood pressure was assessed using the criteria proposed by the Brazilian Society of Cardiology in its Hypertension Guideline of 2010. The procedure consisted of performing three BP measurements, using an OMRON HEM-742INT blood pressure monitor, with a 1-min interval between each measurement. The women were resting (for at least 5 min) in the sitting position with their feet on the ground and arms supported on the table.

2.4. Nutritional Evaluation

To calculate BMI, the body weight (kg) was divided by height (meters) squared, adopting the cut-off values recommended by the World Health Organization (WHO) for adults aged 20 to 59 years: <18.5 kg/m^2 (underweight), 18.5–24.9 kg/m^2 (normal weight), 25.0–29.9 kg/m^2 (overweight), 30.0–39.9 kg/m^2 (obese), and ≥ 40 kg/m^2 (extremely obese) [22]. Weight and height were measured in triplicate, taking the mean of the three values [23].

The usual intake of total calories, carbohydrates, proteins, lipids and fibers were analyzed using two recalls (24-h food recall), applied by professional nutritionists on the first day of the study and after eight weeks. Food consumption was analyzed using the Virtual Nutri Plus software and was subject to intra and interpersonal adjustment using the MSM software (multiple sources method).

The usual intake of total calories, carbohydrates, proteins, lipids and fibers was 2390.91 ± 1449.42 kcal, 267.82 ± 103.26 g, 68.29 ± 25.69 g, 61.06 ± 30.90 g and 15.57 ± 5.59 g, respectively, after analysis of two 24-h food recalls, applied on the first day of the study and at eight weeks. The usual intake of dietary fibers in the diet, before the intervention and after, was 15.57 ± 5.59 g. That added to 12 g of fibers from the intervention with mixed dietary fibers, totaling 27.57 g of mixed fiber consumption during the eight weeks of the study.

2.5. Metabolomic Profile

Metabolomic profile analyses were carried out using ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) at the Multi-User Laboratory of Characterization and Analysis (LMCA, for its initials in Portuguese) of the Federal University of Paraíba (UEPB, for its initials in Portuguese) using a Bruker spectrometer at 400 MHz. The analysis of the women's serum was carried out pre- and postintervention. Initially, 5 mL of venous blood was collected in polypropylene tubes containing EDTA in the early morning under fasting conditions. After collection, the blood was centrifuged at $3000\times g$ for 10 min at 4 °C to isolate the serum. The serum was transferred to a sterilized tube and stored at -80 °C; it was thawed for use, removing 300 μL of serum and adding 300 μL of phosphate buffer (TSP) as a reference standard, and homogenized by vortexing for 30 s, followed by centrifugation at $14,000\times g$ for 10 min at 4 °C. After centrifugation, 60 μL of heavy water was added. This was followed by NMR analysis; the supernatant, in a 5 mm tube, was transferred to a 400 MHz NMR. The pulse sequence used to obtain data was CPMG-BRUKER and was performed in triplicate.

The obtained spectra were processed using MestreNova software (version 6.02, MestreLab Research S.L. -Spain), and the chemical shifts were expressed in PPM. The metabolites were identified by comparing the obtained chemical shifts with chemical shifts of authenticated samples available in the human metabolome database HMDB. The spectra were referenced by tetramethylsilane (TSP), in a total range chosen for analysis of between 0.1 and 9 ppm, with *binnings* of 0.02 ppm, generating a data matrix of 96 samples and 225 variables that was exported in ASCII format to the statistical software "Unscrambler" (version 9.7, CAMO Analytics AS, Norway). The data were not normalized by area, and the peaks for TMS, D_2O , methanol and acetone were discarded.

2.6. Statistical Analysis

To describe the general characteristics of the groups, data are expressed as the mean and standard deviation, proportion or N (%). Continuous variables were tested for normality and homogeneity of variance using the Shapiro-Wilk test. To evaluate possible pre- and postintervention differences in relation to the studied metabolites, paired t-tests or Wilcoxon tests were used based on the distribution of the variables. The Spearman correlation test was applied to determine the existence of a relationship between systolic and diastolic BP and the metabolites (choline, hydroxybutyrate, alpha-glucose and HDL). The statistical software R version 3.3.2 was used for analyses, and statistical significance was set as $p < 0.05$.

The NMR data were processed using MestreNova software (version 6.02, MestreLab Research S.L.). Principal component analysis (PCA) was used and the chemical shifts were expressed as PPM.

3. Results

The characteristics of the sample regarding demographic, epidemiological and lifestyle variables are presented in Table 1.

Table 1. Clinical and demographic characteristics of the sample of hypertensive women recruited from the Blood Donor Center of João Pessoa, PB, Brazil.

Variable	Mean/SD and %
Age (years)	44.28 ± 9.52
Weight (kg)	88.83 ± 14.25
Height (m)	1.60 ± 0.07
BMI (kg/m ²)	34.60 ± 5.90
Overweight	5 (35.7%)
Obese	9 (64.3%)
Use of medication	9 (64.3%)
Education level	
Less than 14 years	7 (38.89)
More than 14 years	7 (38.89)
Household income in US dollars	1243.04 ± 1035.94
Physical activity	5 (27.78%)
Frequency of physical activity/week	1.21 ± 1.89
Tobacco use	1 (0.06%)
Alcohol intake	2 (11.11%)

The lipid profiles and BP values were compared before and after the intervention, and there was a difference between the HDL cholesterol and BP values (Table 2). Observing the lipid profile of the 14 women who participated in the present study, 35.7% had HDL-C values below those recommended, and 42.9% of the participants had high TG levels.

The usual food consumption of total calories, carbohydrates, proteins, lipids and fibers was, respectively, 2390.91 ± 1449.42 kcal, 267.82 ± 103.26 g, 68.29 ± 25.69 g, 61.06 ± 30.90 g and 15.57 ± 5.59 g.

Table 2. Comparison of the blood pressures and lipid profiles of hypertensive women with excess weight, recruited from the Blood Donor Centre of João Pessoa, PB, Brazil, before and after intervention with mixed dietary fiber.

Variables	Before	After	p *
Total cholesterol (mg/dL)	180.71 ± 44.78	186.21 ± 39.02	0.5083
TG (mg/dL)	139.93 ± 58.62	134.29 ± 66.86	0.6546
HDL-C	50.5 ± 13.49	58.57 ± 11.76	0.0127 *
LDL-C	105.93 ± 36.89	104.07 ± 28.78	0.8013
VLDL-C	24.36 ± 7.18	23.57 ± 7.99	0.6480
SBP (mmHg)	145.93 ± 19.10	129.64 ± 17.17	0.0013 *
DBP (mmHg)	92.78 ± 12.01	86 ± 10.98	0.0026 *
Variables	Before	After	p *

* Paired *t*-test. VLDL: Very low density lipoprotein. SBP: Systolic blood pressure. DBP: diastolic blood pressure.

Figures 1 and 2 show, based on the figures, the most prominent metabolites before and after the intervention.

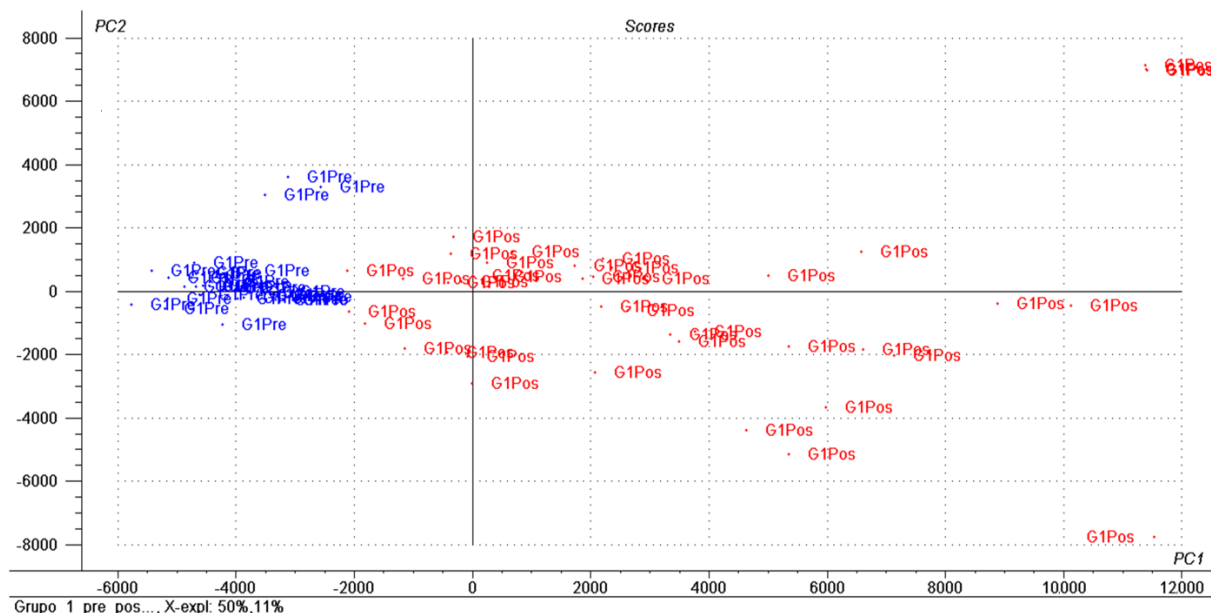


Figure 1. Graphical representation of the principal component analysis (PCA) comparing the metabolomic profiles of hypertensive women with excess weight before and after intervention with mixed dietary fiber (blue-preintervention, red-postintervention).

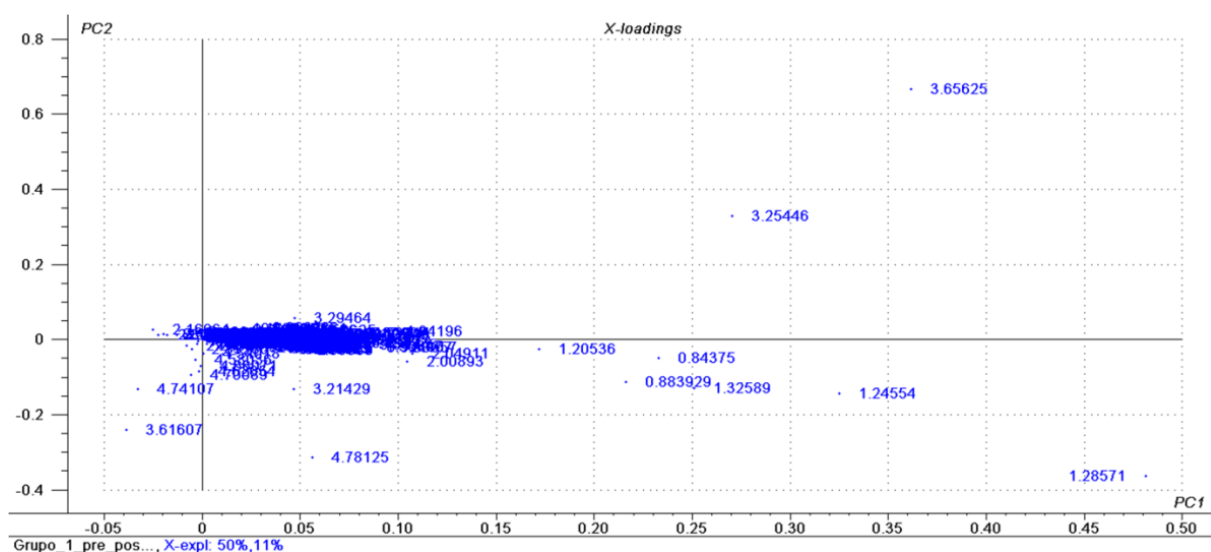


Figure 2. Metabolites identified and highlighted based on the principal component analysis (PCA), presented as a loading graph, comparing the metabolic profiles of hypertensive women with excess weight before and after intervention with mixed dietary fiber.

The following metabolites were notable based on the peak area (* = PPM—chemical shift): *0.88 (HDL); *0.84 (HDL); *1.32 (HDL); *1.28 (HDL); *3.25 (choline); *3.65 (choline); *1.24 (HDL); *1.20 (3-hydroxybutyrate); *4.78 (water); *4.90 (alpha-glucose); *4.94 (HDL).

The representative 1D Carr Purcell Meiboom Gill (CPMG) NMR spectrum of hypertensive patients after fiber supplementation is presented in Figure 3. It was possible to identify the following main metabolites: lipids, glucose, valine, leucine, isoleucine, alanine, choline, tyrosine, histidine and 3-hydroxybutyrate. Spectral area assignments were based on a ^1H -NMR spectrum representative of serum. The assignment of NMR to metabolites was based mainly on literature research.

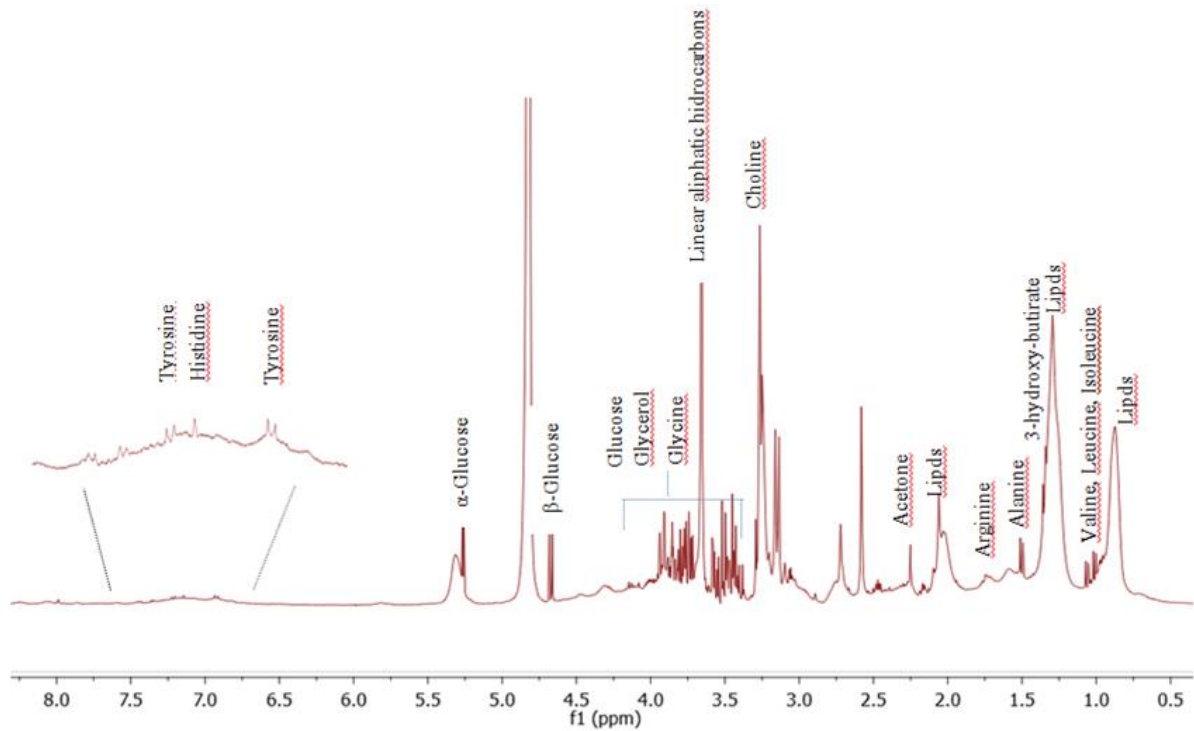


Figure 3. 1D Carr Purcell Meiboom Gill (CPMG) ^1H NMR spectrum representative of serum metabolites. * PPM (chemical shift).

The metabolites that were significant for HDL, choline, and hydroxybutyrate when comparing the groups, as presented in Table 3. Regarding the Spearman correlation test, there was no correlation between metabolite values and BP after the intervention with mixed dietary fibers (results not shown).

Table 3. Comparison between metabolites before and after intervention with mixed dietary fiber in women recruited from the Blood Donor Centre of João Pessoa, PB, Brazil.

Metabolites	Signal/NMR PPM **	Before	After	p *
HDL	1.24	492.79 $\pm$ 215.06	1894.39 $\pm$ 0.12	0.0010 *
HDL	0.88	747.41 $\pm$ 323.87	2245.25 $\pm$ 792.05	0.0000 *
HDL	1.32	1048.69 $\pm$ 405.98	2669.57 $\pm$ 1131.73	0.0000 *
HDL	1.28	1411.59 $\pm$ 688.89	4776.78 $\pm$ 2082.98	0.0000 *
HDL	4.94	400.48 $\pm$ 258.96	959.79 $\pm$ 694.40	0.0258 *
Choline	3.25	992.72 $\pm$ 285.88	2668.72 $\pm$ 1547.87	0.0012 *
Choline	3.65	699.94 $\pm$ 877.23	2946.51 $\pm$ 2527.32	0.0035 *
Hydroxybutyrate	1.20	191.03 $\pm$ 59.24	1537.21 $\pm$ 571.08	0.0010 *
Alpha-glucose	4.90	1292.96 $\pm$ 949.88	1421.54 $\pm$ 958.67	0.9750

* Paired t -test or paired Wilcoxon test, based on the distribution of variables. $p < 0.05$. ** Chemical shift (ppm).

4. Discussion

In the present study, we identified an increment in HDL-C, choline and hydroxybutyrate metabolites and reduction in systolic and diastolic BP in hypertensive women with excess weight, after dietary fiber supplementation. In the literature consulted, there were no studies related to the metabolomic profile of overweight and obese hypertensive women who consumed mixed dietary fiber.

Regarding metabolites studies conducted with women and intervention with fiber, an analysis was found of the serum of hypercholesterolemic postmenopausal women, who consumed a minimum of 20% of their daily energy intake as rye bread rich in insoluble fiber, with lower amounts of leucine and isoleucine and higher amounts of betaine [24,25].

Changes in these metabolites are often related to intestinal microbiota dysfunction. Branched-chain amino acids (valine, leucine and isoleucine) are associated with insulin resistance and obesity (a morbidity included in the sample of the present study), probably due to excess energy intake, as intestinal microbiota are an important modulator of branched-chain amino acid levels [26].

The study described above indirectly corroborates the increase in choline found in the present study because betaine is derived from choline, and this metabolite is also positively related to obesity, lipid metabolism and hypertension [25,27–31].

The differences in the results regarding the metabolites found are possibly due to the fiber composition, which in the present study was rich in soluble fiber and originated from various foods, such as guar gum, NutraFlora (FOS), psyllium seed bark and cellulose. The characteristics of the studied populations also differ, although both are composed of women; in the present study, obesity and hypertension were inclusion criteria.

A study conducted in premenopausal overweight/obese women with ($n = 36$) and without metabolic syndrome ($n = 42$) found that branched-chain amino acids (leucine, isoleucine and valine), aromatic amino acids (phenylalanine, tyrosine, tryptophan and methionine) and several types of fatty acids and phospholipids were associated with metabolic syndrome [32].

The results [32] partially corroborate those of the present study, which also identified the hydroxybutyrate metabolite and an increase in phosphatidylcholine (rich in choline), as well as branched-chain amino acids, histidine, tyrosine, arginine and alanine, although they were not significantly different after the intervention with dietary fiber.

Bagheri et al. [33] used a metabolomic approach to differentiate specific metabolites of healthy and obese individuals of both sexes (18 to 50 years of age) to identify profiles of metabolites associated with obesity.

Those authors observed that some amino acids and polar lipids, such as branched-chain amino acids and phosphatidylcholine, were higher in obese individuals. Thus, certain choline-based metabolites, such as phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine, are commonly altered in the presence of obesity, indirectly corroborating the present study regarding the significant increase in choline in the sample studied.

Choline at adequate levels is an essential nutrient for maintaining health, including adequate lipid metabolism [30], and is involved in the pathogenesis of metabolic syndrome and cardiovascular diseases [34,35]. Gao et al. [30] observed that adequate choline and betaine intake was associated with a lower percentage of body fat and higher lean mass, specifically in men, corroborating the present study, which did not find an association of these metabolites with body composition in women. However, the mechanisms by which choline and betaine improve body composition are still unclear.

Different mechanisms have been proposed to explain the effects of short-chain fatty acids, such as butyrate, on the control of obesity [34]. Butyrate attenuates diet-induced obesity and insulin resistance in mice and negatively regulates PPAR- γ expression and activity, thus promoting a change in lipogenesis toward lipid oxidation, thus stimulating oxidative metabolism in the liver and adipose tissue and increasing energy expenditure [36–39]. In their

recent study, Wang et al. [34] found a positive association between BMI and short-chain fatty acids (butyrate and isobutyrate) measured by plasma metabolomics in Chinese adults aged 30–68 years. In addition, butyrate has anti-inflammatory effects that are presumed to be mediated by the inhibition of histone deacetylase (HDAC).

Regarding studies with metabolomic profiles of hypertensive women, no studies with this objective were found in the literature. A recent study with a sample that included both sexes developed by Goïta et al. [29] stands out; they evaluated plasma metabolic profiles using metabolomics by means of mass spectrometry, in 64 individuals aged between 34 and 60 years, 28 of whom were hypertensive (13 women and 15 men) and 36 nonhypertensive (18 women and 18 men).

Goïta et al. [29] identified a considerable increase in the levels of phosphatidylcholine in the blood of hypertensive patients of both sexes. In women, other metabolites increased, including the amino acids arginine, leucine, isoleucine, tryptophan, phenylalanine, tyrosine, lysine, glutamine, histidine, methionine and citrulline. In part, the results of the present study corroborate this author by observing a significant increase in choline and identifying leucine, which may indirectly have contributed to the significant increase in hydroxybutyrate. Moreover, the studies are coincident in other amino acids such as arginine, isoleucine, tyrosine, glycine, valine, alanine and histidine, although without differences in the comparison between pre- and post-intervention samples. Choline is recognized as an essential nutrient for maintaining human health, as it is involved in the donation of a methyl group and the synthesis of phospholipids, lipoproteins and betaine and is a precursor of acetylcholine [30,40–42].

Regarding studies on the lipid profile of obese and hypertensive individuals with or without fiber intake, Pasanta et al. [43] investigated the lipid profiles of serum metabolites using ¹H NMR in 46 young obese and healthy adults of both sexes (18 to 25 years of age). The spectrum for the overweight group showed slightly higher lipids, α -glucose and β -glucose. Therefore, the TG, LDL, VLDL, HbA1c and blood glucose levels were significantly higher in the obese group, in addition to significantly lower HDL. In the present study, the mean HDL-C values were within the reference values, and after the intervention with fiber, these values increased significantly (Table 2), subsequently leading to a significant increase in HDL metabolites.

In a study by Pasanta et al. [43], there was a nonsignificant increase in choline in the obese group compared to the healthy group, suggesting a change in lipid metabolism, thus corroborating the present study in which choline was the metabolite that stood out the most in women after fiber supplementation.

Thus, scholars have supported an association between lipid metabolism and BP [11]. Dietary fiber intake seems to promote adequate serum lipid levels, and this benefit may be associated with improved endothelial vasodilation and oxidative stress, and consequently, decreased BP levels [44,45].

We observed a significant increase in butyrate in the metabolites derived from the serum of women after eight weeks of mixed fiber intake. This is a short-chain fatty acid that is produced in large quantities by bacterial fermentation of dietary fiber in the intestinal lumen. Butyrate can regulate the secretion of apoA-IV and, therefore, modulate reverse cholesterol transport, which may explain the increase in HDL-C in the present study [46,47].

In addition to stimulating the secretion of lipoprotein particles containing apoA-IV, favoring the removal of cholesterol from peripheral cells [47], butyrate also plays an important role in the modulation of immune and inflammatory responses and intestinal barrier function [48,49].

Thus, in agreement with our results presented here, other studies that employed metabolomics and NMR identified that pea fiber intake significantly increased the plasma levels of 3-hydroxybutyrate in rats [50]. Therefore, the results suggest that pea fiber can exert antioxidant activity, altering lipid metabolism and decreasing bile acid metabolism [25,50]. On the other hand, Dewulf et al. [51], in a study with obese women who consumed a mix of inulin and oligofructose for three months (16 g/day), reported that there was no significant impact on

TC, HDL, LDL and TG compared to the control group, results that do not agree with those of the present study, in which an increase in HDL-C was observed, reinforcing the reduction in BP by cholesterol metabolism.

As limitations of the study, we point out the following aspects: (1) the absence of plasmatic dosages of choline and hydroxybutyrate, (2) that the study population was made up only of women, and (3) that it did not take into account possible genetic backgrounds that may have influenced the response to supplementation. The results found encourage further studies including both genders that seek to elucidate the mechanisms by applying molecular techniques.

5. Conclusions

In the present study, there was a significant increase in the concentrations of HDL, choline and hydroxybutyrate and a reduction in BP in hypertensive women with excess weight after intervention with dietary fiber. These significant increases in the different metabolites observed after the intervention were possibly a result of the presence of these metabolites in morbidities such as obesity and hypertension, in addition to those resulting from fiber intake, especially HDL. Therefore, based on the results found in the present study, the intake of mixed dietary fiber should be promoted to combat hypertension.

References

1. Sun, B.; Shi, X.; Wang, T.; Zhang, D. Exploration of the Association between Dietary Fiber Intake and Hypertension among U.S. Adults Using 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Blood Pressure Guidelines: NHANES 2007. *Nutrients* 2018, *10*, 1091.
2. Sarkar, T.; Singh, N.P. Epidemiology and Genetics of Hypertension. *J. Assoc. Physicians India* 2015, *63*, 61–67.
3. Galimzhanov, A.M.; Sabitov, Y.T.; Azizo, B.S. The implications of blood pressure targets from the 2018 European Society of Cardiology hypertension guidelines in Asian patients: A systematic review and metaanalysis Akhmetzhan Maratovich Galimzhanov, a Yersyn Toleutayevich Sabitov, b Baurzhan Slymovich Azizovb. *Ann. Saudi Med.* 2020, *40*, 234–254.
4. Pugh, D.; Gallacher, P.J.; Dhaun, N. Management of Hypertension in Chronic Kidney Disease. *Drugs* 2019, *79*, 365–379.
5. Malta, D.C.; Gonçalves, R.P.F.; Machado, I.E.; Freitas, M.I.F.; Azeredo, C.; Szwarcwald, C.L. Prevalence of arterial hypertension according to different diagnostic criteria, National Health Survey. *Rev. Bras. Epidemiol.* 2018, *21*, 1–15.
6. Wise, I.A.; Charchar, F.J. Epigenetic Modifications in Essential Hypertension. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, *17*, 451.
7. Ameta, K.; Gupta, A.; Kumar, S.; Sethi, R.; Kumar, D.; Mahdi, A.A. Essential hypertension: A filtered serum based metabolomics study. *Sci. Rep.* 2017, *7*, 2153.
8. Nikolic, S.B.E.; Sharman, J.E.; Adams, M.J.; Edwards, L.M. Metabolomics in hypertension. *J. Hypertens.* 2014, *32*, 1159–1169.
9. Qureshi, W.T. *Metabolomic Signature of Hypertension. Clinical & Population Translational Sciences Program*; Wake Forest University Graduate School of Arts and Sciences, Winston-Salem, NC : 2015; p. 120.
10. Dietrich, S.; Floegel, A.; Weikert, C.; Prehn, C.; Adamski, J.; Pischon, T.; Boeing, H.; Drogan, D. Identification of Serum Metabolites Associated With Incident Hypertension in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition–Potsdam Study. *Hypertension* 2016, *68*, 471–477.
11. Tzoulaki, I.; Iliou, A.; Mikros, E.; Elliott, P. An Overview of Metabolic Phenotyping in Blood Pressure Research. *Curr. Hypertens. Rep.* 2018, *20*, 1–8.

12. Ferré, M.G.; Bhupathiraju, S.N.; Hu, F.B. Use of Metabolomics in Improving Assessment of Dietary Intake. *Clin. Chem.* 2018, *64*, 82–98.
13. Barber, T.M.; Kabisch, S.; Pfeiffer, A.F.H.; Weickert, M.O. The health benefits of dietary fibre. *Nutrients* 2020, *12*, 3209.
14. Aljuraiban, G.S.; Griep, L.M.O.; Chan, Q. Total, insoluble and soluble dietary fibre intake in relation to blood pressure: The INTERMAP Study. *Br. J. Nutr.* 2015, *114*, 1480–1486.
15. Evans, C.E.; Greenwood, D.C.; Threapleton, D.E.; Cleghorn, C.L.; Nykjaer, C.; Woodhead, C.E.; Gale, G.P.; Burley, V.J. Effects of dietary fibre type on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of healthy individuals. *J. Hypertens.* 2015, *33*, 897–911.
16. Streppel, M.T.; Arends, L.R.; Van 't Veer, P.; Grobbee, D.E.; Geleijnse, J.M. Dietary fiber and blood pressure: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Arch. Intern. Med.* 2005, *165*, 150–156.
17. Whelton, S.P.; Hyre, A.D.; Pedersen, B.; Yi, Y.; Whelton, P.K.; He, J. Effect of dietary fiber intake on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *J. Hypertens.* 2005, *23*, 475–481.
18. Oakenfull, D. Physicochemical properties of dietary fiber: Overview. In *Handbook of Dietary Fiber*; Cho, S., Dreher, M.L., Eds.; Marcel Dekker Inc.: New York, NY, USA, 2001; pp. 230–241.
19. Khan, K.; Jovavski, E.; Ho, H.U.T.; Marques, A.C.R.; Zurbau, A.; Mejia, S.B.; Sievenpiper, J.L.; Vuksan, V. The effect of viscous soluble fiber on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2017, *28*, 3–13.
20. Bucolo, G.; David, H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin. Chem.* 1973, *19*, 476–482.
21. Allain, C.C.; Poon, L.S.; Chan, C.S. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 1974, *20*, 470–475.
22. World Health Organization (WHO). Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *Tech. Rep. Ser.* 2000, *894*, 11–253.
23. Kac, G.; Sichieri, R.; Gigante, D.P. *Epidemiologia Nutricional*, 1st ed.; Rio de Janeiro: Fiocruz-Atheneu, Brazil, 2007.
24. Moazzami, A.A.; Pons, I.B.; Hanhineva, K.; Juntunen, K.; Antl, N.; Poutanen, K.; Mykkanen, H. Metabolomics reveals the metabolic shifts following an intervention with rye bread in postmenopausal women—A randomized control trial. *Nutr. J.* 2012, *11*, 1–8.
25. Mayengbam, S.; Lambert, J.E.; Parnell, J.A.; Tunnicliffe, J.M.; Nicolucci, A.C.; Han, J.; Sturzenegger, T.; Shearer, J.; Mickiewicz, B.; Vogel, H.J.; et al. Impact of dietary fiber supplementation on modulating microbiota-host-metabolic axes in obesity. *J. Nutr. Biochem.* 2018, *64*, 228–236.
26. Agus, A.; Clément, K.; Sokol, H. Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut* 2020, *0*, 1–9.
27. Gogna, N.; Krishna, M.; Oommen, A.M.; Dorai, K. Investigating correlations in the altered metabolic profiles of obese and diabetic subjects in a South Indian Asian population using an NMR-based metabolomic approach. *Mol. Biosyst.* 2015, *11*, 595–606.
28. Du, J.; Shen, L.; Tan, Z.; Zhang, P. Betaine Supplementation Enhances Lipid Metabolism and Improves Insulin Resistance in Mice Fed a High-Fat Diet. *Nutrients* 2018, *10*, 131.
29. Goïta, Y.; Barca, J.M.C.; Keïta, A.; Diarra, M.B.; Dembele, K.C.; Chabrun, F.; Drame, B.S.I. Sexual Dimorphism of Metabolomic Profile in Arterial Hypertension. *Sci. Rep.* 2020, *10*, 7517.
30. Gao, X.; Randell, E.; Zhou, H.; Sun, G.; Diarra, M.B.; Dembelé, K.S.; Chabrun, F.; Dramé, B.S.I.; Kassogue, Y.; Diakité, M.; et al. Higher serum choline and betaine levels are associated with better body composition in male but not female population. *PLoS ONE* 2018, *13*, e019314.

31. Taesuwan, S.; Vermeulen, F.; Caudill, M.A.; Cassano, P.A. Relation of choline intake with blood pressure in the National Health and Nutrition Examination Survey 2007. *Am. J. Clin. Nutr.* 2019, *109*, 648–655.
32. Wiklund, P.K.; Pekkala, S.; Autio, R.; Munnuka, E.; Xu, L.; Saltevo, J.; Cheng, S.; Kujala, U.M.; Alen, M.; Chenh, S. Serum metabolic profiles in overweight and obese women with and without metabolic syndrome. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2014, *6*, 1–9.
33. Bagheri, M.; Djazayeri, A.; Farzadfar, F.; Qi, L.; Yekaninejad, M.S.; Aslibekyan, S.; Hassani, H.; Kpletzko, B.; Uhl, O. Plasma metabolomic profiling of amino acids and polar lipids in Iranian obese adults. *Lipids Health Dis.* 2019, *18*, 1–9.
34. Wang, H.; Wang, X.; Qi, D.; Sun, M.; Hou, Q.; Li, Y.; Jiang, H. Establishment of the circadian metabolic phenotype strategy in spontaneously hypertensive rats: A dynamic metabolomics study. *J. Transl. Med.* 2020, *18*, 1–16.
35. Zhao, Y.; Wang, C.; Wu, J.; Wang, Y.; Zhu, W.; Zhang, Y.; Du, Z. Choline protects against cardiac hypertrophy induced by increased after-load. *Int. J. Biol. Sci.* 2013, *9*, 295–302.
36. De Vadder, F.; Datchary, P.K.; Gonçalves, D.; Vinera, J.; Zitoun, C.; Duchamp, A.; Backhed, F.; Mithieux, G. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* 2014, *156*, 84–96.
37. Henagan, T.M.; Stefanska, B.; Fang, Z.; Navard, A.M.; Ye, J.; Lenard, N.R.; Devershi, P.P. Sodium butyrate epigenetically modulates high-fat diet-induced skeletal muscle mitochondrial adaptation, obesity and insulin resistance through nucleosome positioning. *Br. J. Pharmacol.* 2015, *172*, 2782–2798.
38. Hong, J.; Jia, Y.; Pan, S.; Jia, L.; Li, H.; Han, Z.; Cai, D.; Zhao, R. Butyrate alleviates high fat diet-induced obesity through activation of adiponectin-mediated pathway and stimulation of mitochondrial function in the skeletal muscle of mice. *Oncotarget* 2016, *7*, 56071–5608.
39. Den Besten, G.; Bleeker, A.; Gerding, A.; Eunen, K.V.; Havinga, R.; Dijk, T.H.V.; Oosterveer, H.H.; Jonker, J.W.; Groen, A.K.; Reijngoud, D.J.; et al. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a PPAR γ -dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. *Diabetes* 2015, *64*, 2398–2408.
40. Leermakers, E.T.; Moreira, E.M.; Jong, J.C.K.; Darweesh, S.K.L.; Visser, T.; Voortman, T.; Bautista, P.K.; Chawdhury, R.; Gorman, D.; Bramer, W.M.; et al. Effects of choline on health across the life course: A systematic review. *Nutr. Rev.* 2015, *73*, 500–522.
41. Lent-Schochet, D.; McLaughlin, M.; Ramakrishnan, N.; Jialal, I. Exploratory metabolomics of metabolic syndrome: A status report. *World J. Diabetes* 2019, *10*, 23–36.
42. Zeisel, S.H.; Da Costa, K.A. Choline: An essential nutrient for public health. *Nutr. Rev.* 2009, *67*, 615–623.
43. Pasanta, D.; Chancharunee, S.; Tungjai, M.; Kim, H.J.; Kothan, S. Effects of obesity on the lipid and metabolite profiles of young adults by serum ¹H-NMR spectroscopy. *Peer J.* 2019, *7*, 1–15.
44. Aleixandre, A.; Miguel, M. Dietary fiber and blood pressure control. *Food Funct.* 2016, *7*, 1864–1871.
45. Beretta, M.V.; Bernaud, F.R.; Nascimento, C. Maior ingestão de fibras está associada a menores níveis de pressão arterial em pacientes com diabetes tipo. *Arco. Endocrinol. Metab.* 2018, *62*, 397–405.
46. Koh, A.; DE Vadder, F.; Datchary, P.K.; Backred, F. From Dietary fiber to host physiology: Short chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell* 2016, *165*, 1333–1345.
47. Nazih, H.; Sanderson, F.N.; Krempf, M.; Huvelin, J.M.; Mercier, S.; Bard, M.J.M. Butyrate stimulates ApoA-IV-containing lipoprotein secretion in differentiated Caco-2 cells: Role in cholesterol efflux. *J. Cell. Biochem.* 2001, *83*, 230–238.
48. Tan, J.; McKenzie, C.; Potamitis, M.; Thorburn, A.N.; Mackay, C.R.; Macia, L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv. Immunol.* 2014, *121*, 91–119.

49. Liu, H.; Wang, J.; He, T.; Becker, S.; Zhang, G.; Li, D.; Ma, X. Butyrate: A Double-Edged Sword for Health? *Adv. Nutr.* 2018, 9, 21–29.
50. Liu, G.; Xiao, L.; Fang, T.; Cai, Y.; Jia, G.; Zhao, H.; Wang, J.; Chen, X.; Wu, C. Pea Fiber and Wheat Bran Fiber Show Distinct Metabolic Profiles in Rats as Investigated by a ¹H NMR-Based Metabolomic Approach. *PLoS ONE* 2014, 9, e115561.
51. Dewulf, E.M.; Cani, P.D.; Claus, S.P.; Fuentes, S.; Puylaert, P.G.B.; Neyrinck, A.M.; Bindels, L.B.; Vos, W.M.; Gibson, G.R.; Thissen, J.P.; et al. Insight into the prebiotic concept: Lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut* 2013, 62, 1112–1121.

APÊNDICE B – ARTIGO 2

INFLUENCIA DO GENÓTIPO DA MTHFR SOBRE O PERFIL METABOLÔMICO PÓS INTERVENÇÃO COM FIBRA DIETÉTICA EM MULHERES HIPERTENSAS

Artigo submetido ao periódico **Clinical Nutrition**

QUALIS: A1; **FATOR DE IMPACTO:** 6.36

RESUMO

A hipertensão é uma condição clínica relacionada a fatores ambientais e diferentes influências genéticas em resposta a intervenções, que requer novas estratégias de tratamento, sendo a metabolômica uma nova opção que poderá auxiliar na identificação de metabolitos envolvidos na redução da pressão arterial originados de intervenções. O estudo teve como objetivo analisar a influência do polimorfismo C677T do MTHFR no perfil metabolômico de mulheres hipertensas com sobrepeso após intervenção com fibras dietéticas mistas. Trata-se de um Estudo de intervenção, com amostra de vinte e seis mulheres adultas hipertensas com excesso de peso, na faixa etária de 20 a 60 anos, divididas em dois grupos: grupo 1, recebeu suplemento com 12 g de fibra mistas solúveis e insolúveis, e o grupo 2 o placebo, sendo a intervenção realizada por um período de 8 semanas. Foram realizadas avaliações antropométricas, análises bioquímicas, genotipagem do polimorfismo C677T do gene MTHFR e análise do perfil metabolômico por ressonância magnética nuclear de 400 MHz pré e pós intervenção. No grupo que consumiu a fibra, houve maior redução estatística significativa nos valores da PAS no genótipo CT/TT ($P = 0,0145$), assim como aumento da área de concentração dos picos de diferentes metabolitos de HDL e do hidroxibutirato no grupo com genótipo CT/TT. O estudo sugere que a intervenção com fibras dietéticas mistas afetou o perfil metabolômico em mulheres com excesso de peso e hipertensão e que o polimorfismo C677T do gene MTHFR influenciou nesse perfil.

1.INTRODUÇÃO

A Hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica crônica, heterogênea e multifatorial, influenciada por condições genéticas, e estilo de vida, relacionada ao excesso de peso [1-3].

É considerada o principal fator de risco hereditário para doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral [4-5], podendo levar a disfunção endotelial, inflamação e estresse oxidativo [6].

O risco de desenvolvimento de HA é influenciado pelas interações entre genes e o ambiente. Um dos genes que tem sido associado a HA é o MTHFR, cujo produto, a enzima MTHFR catalisa a conversão de 5, 10-metileno tetrahidrofolato em 5-metil tetrahidrofolato. Mutações no gene MTHFR diminuem a atividade da enzima desacelerando a remetilação de homocisteína em metionina, e consequentemente levando acúmulo desse metabólito no organismo, sendo um fator de risco para doença arterial coronariana [7]. O polimorfismo C677T da MTHFR (rs1801133) causa um impacto funcional na enzima levando à formação de uma molécula termolábil e com atividade reduzida em 70% [8]. Esse polimorfismo tem sido associado à HA e na relação da homocisteína e obesidade [9-11]

A abordagem personalizada para definir escolhas de tratamentos nas doenças crônicas tem sido uma tendência e se baseia em parte no fato de que levando-se em consideração as variações genéticas é possível direcionar uma conduta de tratamento personalizado para o indivíduo [12]. A plataforma metabômica constitui uma ferramenta importante que vem sendo cada vez mais utilizada para identificar biomarcadores e avaliar alterações metabólicas associadas a morbididades, como a HA e excesso de peso, com objetivo de auxiliar no tratamento e monitorar o impacto de dietas [6,13-14].

A nutrição desempenha um papel importante no controle da obesidade e hipertensão [15-16] a partir dos benefícios de nutrientes, incluindo a fibra dietética [17] que interferem na modulação da microbiota intestinal, além de serem ricas em fitoquímicos, incluindo carotenóides, flavonóides e isoflavona [18-21]

Analisando simultaneamente ambas, genética e metabômica, pretende-se conseguir respaldar de maneira mais fidedigna os resultados encontrados. Com base no exposto, o presente estudo tem como objetivo analisar a influência do polimorfismo C677T do MTHFR no perfil metabólico de mulheres hipertensas com sobrepeso e obesidade após intervenção com fibras dietéticas mistas, estudo inédito, para melhor direcionar o tratamento da hipertensão a partir da funcionalidade das fibras, nessa casuística.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenho do estudo e característica da amostra

Trata-se de um estudo de intervenção duplo-cego placebo controlado, com uma amostra de vinte e seis mulheres adultas hipertensas com excesso de peso na faixa etária de 20 a 60 anos, que foram divididas em dois grupos: grupo 1 (n= 14) que recebeu suplemento com 12g de fibra mistas solúveis e insolúveis, e o grupo 2 (n= 12) que recebeu o placebo, um sachê com 12 g de amido, sendo a intervenção realizada por um período de 8 semanas

As mulheres foram avaliadas antes e após a intervenção, e observou-se a PAS e PAD, o consumo alimentar, os valores bioquímicos de colesterol total, HDL, LDL, triglicerídeos, PCR-us e glicemia de jejum. Também foi realizado a análise do perfil metabolômico pré e pós intervenção. O genótipo C677T foi determinado na primeira etapa da pesquisa.

A fibra foi manipulada em uma farmácia no município de João Pessoa, Paraíba, Brasil. A composição do suplemento contendo nutracêutico a base de fibras mistas foi de solúveis (7g), Goma Guar – 4g lote ALL 0605354; Nutraflora (FOS) – 1g lote Galena (CIQ): 1505006204; Psyllium – 2g nome científico *Plantago ovata*, lote de fabricante: 949/2013), e de fibras insolúveis (5g): Celulose Microcristalina 101 – 5g, lote 14116094A, lote de fabricação C1404014, formula $C_6nH_{10n}+205n=1$.

As mulheres com diagnóstico médico de HA foram recrutadas no Hemocentro, no município de João Pessoa-PB no momento da doação de sangue, sendo realizado o convite e posteriormente assinado o termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB, aprovado sob o CAAE de número 64573917.4.0000.5188) e cadastrada no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos com o número: TRIAL: RBR-2PH4F9.

Neste estudo foram incluídas no grupo apenas mulheres com diagnóstico de hipertensão primária com IMC acima de 25 até 35 m²/kg e pressão arterial acima de 130/80 mmHg. Os critérios de exclusão foram: diabetes, insuficiência hepática, insuficiência cardíaca congestiva (graus 3 e 4), insuficiência renal com valores de creatinina superiores a 3,0 mg/dL e hipertensão arterial secundária, ou com valores da pressão arterial sistólica ≥ 180 mmHg ou diastólica ≥ 110 mmHg

As mulheres selecionadas que aceitaram participar do estudo de intervenção mantiveram os hábitos alimentares e o nível de atividade física estáveis durante quatro semanas, antes do início da intervenção e disseram que não pretendiam modificá-los durante o estudo. Todas as terapias médicas continuaram inalteradas ao longo do estudo

2.2 Análise dos parâmetros bioquímicos

Para as análises bioquímicas, o sangue foi coletado por meio de punção venosa em 3 tubos estéreis diferentes: tubo 1 (com anticoagulante EDTA K₃), tubo 2 (com anticoagulante fluoreto de sódio) e tubo 3 (com ativador de coágulo). As amostras dos tubos 2 e 3 foram centrifugadas imediatamente para obtenção de plasma e soro respectivamente e submetidas à análise em período inferior a 2 horas após a coleta. Determinação das frações lipídicas colesterol total, e triglicerídeos foram medidos por meio de ensaio enzimático [22-23]. Na alíquota do soro foram realizadas dosagens de colesterol total e triglicerídeos (método enzimático – trinder) em analisador automatizado utilizando kit labtest.

2.3 Avaliação da pressão sanguínea

A pressão arterial foi avaliada segundo os critérios propostos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia em sua Diretriz de Hipertensão de 2010; o procedimento consistiu na realização de 3 medidas de PA, com monitor de pressão arterial OMRON HEM-742INT, com intervalo de 1 minuto entre cada medida. As mulheres encontravam-se em repouso (mínimo 05 minutos) e na posição sentada com os pés apoiados no solo e os braços apoiados na mesa

2.4 Avaliação antropométrica e nutricional

Para o cálculo do IMC, o peso corporal (kg) foi dividido pela altura (metros) ao quadrado, adotando-se os valores de corte recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para adultos de 20 a 59 anos: <18,5 kg / m² (baixo peso), 18,5-24,9 kg / m² (peso

normal), 25,0-29,9 kg / m² (sobrepeso), 30,0-39,9 kg / m² (obeso) e ≥ 40 kg / m² (obesidade extrema) [24]. Peso e altura foram medidos em triplicata, tomando a média dos 3 valores [25].

A ingestão usual de calorias totais, carboidratos, proteínas, lipídios e fibras foi analisada por meio de dois recordatórios por indivíduo (recordatório alimentar de 24 horas), aplicados por nutricionistas profissionais no primeiro dia do estudo e após 8 semanas. O consumo alimentar foi analisado por meio do software Virtual Nutri Plus e posteriormente o ajuste intra e interpessoal pelo software MSM (método Multiple Sources) [26]

2.5 Genotipagem

Para extrair DNA, foi coletado sangue por punção venosa para obtenção leucócitos em tubos estéreis que continham 7, 2 mg de EDTA K₃. As amostras de sangue foram diluídas em uma primeira solução de lise que continha 10 mM Tris-HCl pH 8, 5 mM EDTA, 0, 3 M sacarose, Triton-X-100 1% e, em seguida, centrifugadas a 3.200 rpm para descartar o sobrenadante. Esse processo foi repetido três vezes, com o intuito de obter um precipitado de leucócitos livre de resquícios de hemoglobina, o qual foi ressuspenso em solução de lise contendo 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 incubado a 55° C em banho-maria. Depois de sete horas de incubação, foi adicionado 500 µl de uma solução aquosa contendo 1 mM EDTA e 7, 5 M acetato de amônio e agitado vigorosamente.

A mistura foi centrifugada por 10 min. a 14.000 g a 4° C, e 700 µl do sobrenadante foi transferido para um novo tubo onde foi realizada a precipitação do DNA com 540 µl de isopropanol. O precipitado de DNA foi lavado com etanol 70%, centrifugado (12.000 g por 5 min), seco e ressuspenso em solução tampão Tris-EDTA pH 8, 0 (Descrito e adaptado de MILLER; DYKES; POLESKY, 1988) [27]. As amostras de DNA foram mantidas a -20° C até a genotipagem do polimorfismo.

Para analisar o polimorfismo C677T, foram utilizados os iniciadores 5'-TGAAGGAGAA GGTGTCTGCGGGA-3' (sense) e 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3' (antisense). A amplificação ocorreu de acordo com as seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C, durante 10 minutos, 35 ciclos de desnaturação (30 segundos a 94°C), anelamento (30 segundos a 61°C) e extensão (30 segundos a 72°C) com uma etapa extra de extensão final de 10 minutos. O produto de 198 pb foi digerido com a enzima HinfI, que reconhece e cliva o alelo

polimórfico T gerando dois fragmentos (175 pb e outro de 23 pb), enquanto o alelo ancestral C permanece com 198 pb [8] Os genótipos foram visualizados através de eletroforese em gel de poliacrilamida 6%, corados com nitrato de prata.

2.6 Analise do perfil metabolomico

A análise no soro das mulheres foi realizada pré e pós intervenção com o suplemento de fibra dietética. Inicialmente 5 ml de sangue venoso foi coletado em tubos de polipropileno com EDTA no início da manhã, em jejum. Após a coleta, o mesmo foi centrifugado a $3000 \times g$ por 10 min a 4°C para isolar o soro. O soro foi transferido para um tubo esterelizado e armazenado a -80°C , e para utilização foi descongelado, sendo retirada 300 uL de soro e adicionado 300 uL de phosphate buffer (TSP) como padrão de referência e realizada a homogeneização em vortex por 30 s, logo após centrifugadas a $14000 \times g$, durante 10 min em 4°C .

Todos os experimentos por Ressonância Magnética Nuclear ^1H (RMN ^1H) foram realizados em um espectrômetro Ascend de 400 MHz (Bruker Corporation, Karlsruhe, Alemanha). A frequência de ressonância do próton foi de 400 MHz e a temperatura experimental foi de 298 K. Os parâmetros de amostragem (usando CPMG- BRUKER) foram os seguintes: largura espectral, 12.335,5 Hz (20,55 ppm).

Os espectros obtidos foram pré-processados pelo software MestreNova (versão 6.02, MestreLab Research S.L e os deslocamentos químicos expressos em “ppm”). Os metabolitos foram identificados por comparação de deslocamentos químicos com deslocamentos químicos de amostras autênticas disponibilizadas no banco de dados HMDB (Banco de Dados do Metaboloma Humano). Os espectros foram referenciados pelo tetrametilsilano (TMS) cuja faixa total escolhida para análise foi entre 0.1 e 9 ppm, com *binings* de 0.02 ppm, gerando uma matriz de dados de 96 amostras e 225 variáveis a qual foi exportada no formato ASCII (Código Padrão Americano para Intercambio de Informações).

O software de estatística “The Unscrambler” (versão 9.7, CAMO Process). Os dados não foram normalizados pela área e os picos referentes ao TMS, D_2O , Metanol e acetona foram descartados. Com estes procedimentos foi possível diferenciar as fases antes e após intervenção com fibra dietética mista. A análise de componentes principais (PCA) foi usada primeiro para

visualizar a separação e a distribuição de todas as amostras e posteriormente as amostras foram representadas pelos gráficos de Scores e loadings.

2. 7 Análise estatística

Inicialmente as variáveis de interesse do estudo, como valores de pressão arterial, foram descritas, como também a intensidade da área dos picos dos metabólitos destacados após análise dos componentes principais [26] utilizando a média e desvio-padrão, levando em consideração os fatores tempo (antes e depois da intervenção), grupo (1 e 2) e polimorfismo C677T do Gene MTHFR (CC e CT ou TT).

Para cada uma das variáveis, com o intuito de verificar se havia diferença, em média, da variável de interesse segundo os fatores: tempo, grupo e polimorfismo, foi proposto um modelo misto de Análise de Variância com três fatores (ANOVA three-way). Todas as análises foram procedidas no *software* R versão 4.0.4, disponível livre e gratuitamente em <https://www.r-project.org/>. O nível de significância adotado em toda a análise foi de 5%. A utilização desta análise se sustenta no fato de que não há teste não-paramétrico alternativo a uma análise de variância com 3 fatores. As hipóteses nulas a serem testadas são que não há diferença, em média, da variável, segundo algum dos fatores individualmente, suas interações dois a dois ou a interação entre todos eles.

Algumas variáveis foram medidas apenas para o grupo 1 ou para o grupo 2, visto que alguns metabólitos só foram de forma específica no grupo 1 ou 2. Para cada uma dessas variáveis, com o intuito de verificar se houve diferença, em média, da variável de interesse segundo os fatores: tempo e polimorfismo, foi proposto um modelo misto de Análise de Variância com dois fatores (ANOVA two-way). As hipóteses nulas que foram testadas são que não houve diferença, em média, da variável, segundo algum dos fatores individualmente ou a interação entre eles. Se há interação entre os fatores ($p\text{-valor} < 0,05$) significa que a variável de interesse se comporta de maneira diferente, em média, quando se associa tais fatores. Para valores significativos desta análise (valor de $p < 0,05$ para pelo menos um fator individual), foi utilizado o teste *post hoc* de comparações múltiplas de Tukey. Este teste permitiu verificar entre quais níveis dos fatores existe diferença, em média, quando essa for significativa.

Após estas análises surgiu a necessidade de verificar, dentre os resultados significativos obtidos na análise principal, se a diferença significativa encontrada entre o valor médio da variável de interesse “antes” e “depois” do tratamento foi maior em alguma classe segundo o polimorfismo (“CC” e “CT ou TT”). Para isso, inicialmente foi tomado o módulo da diferença entre o “antes” e o “depois” do tratamento, para cada variável de interesse significativa, para cada grupo, segundo o polimorfismo. A normalidade das variáveis de interesse foi testada utilizando o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as variáveis com distribuição aproximadamente normal, foi utilizado o teste T unilateral, enquanto para as variáveis que não apresentaram normalidade, foi utilizada a versão unilateral do teste de Wilcoxon. Consideramos a hipótese nula de que a diferença absoluta média da variável na classe “CC” é **maior ou igual** que a diferença absoluta média da variável na classe “CT ou TT”, versus a hipótese alternativa de que diferença absoluta média da variável na classe “CC” é **menor** que a diferença absoluta média da variável na classe “CT ou TT”

3 RESULTADOS

A amostra foi composta por 26 mulheres hipertensas e com excesso de peso, divididas em dois grupos, o grupo 1 (n = 14) que recebeu suplementação com fibra dietética e o grupo 2 (n = 12) que recebeu o placebo. Quanto às características da amostra por genótipos, de acordo com o teste t para amostras pareadas, observou-se que não ocorreu diferença estatística entre as variáveis peso e IMC antes e após intervenção nos dois grupos; comparando-se CC com CT/TT antes e após intervenção em cada grupo conforme descrito a seguir: grupo 1 e 2 antes da intervenção com p - valor de 0,9548 , para o peso e 0,9541 para IMC e para o grupo 2 , p - valor 0,8678 para o peso e 0,8627 o IMC.(Resultados não demonstrados em tabela)

Observa-se na tabela 1, quanto a comparação intragrupos por genótipos (CC antes versus CC após no mesmo grupo) e (CT/TT antes versus CT/TT após no mesmo grupo) aumento significativo após intervenção com fibras no grupo 1, nos valores dos metabólitos HDL 0,88; HDL 1,28; HDL1,32 e HDL 4,94 nos portadores dos genótipos CT/TT e ainda aumento de HDL 1,24 e do Hidroxibutirato 1,20. Porém com redução dos metabólitos HDL 1,24 e da colina 3,61 no grupo 2 nos portadores do genotipo CT/TT . Elevações no mesmo

grupo de HDL 1,24 e do Hidroxibutirato 1,20 ocorreram independente do genótipo após o uso da fibra, considerando os aumentos destes metabólitos também no genótipo CC no grupo 1.

Dentre os metabólitos destacados, os metabólitos do HDL no G1 foram estatisticamente superiores nos portadores do genótipo CT/TT com destaque para o HDL 1,24, que aumentou também no genótipo CC (única diferença estatística observada nesse grupo de genótipo).

Tabela 1: Valores pressóricos e de metabólitos significativamente destacados* por genótipos em mulheres hipertensas e com excesso de peso após suplementação com fibra dietética mista.

VARIÁVEL	pré intervenção			pós intervenção		*p-Valor
	Grupo	CC	CT ou TT	CC	CT ou TT	
PAS**	Grupo 1	143,33 ± 15,06	147,88 ± 22,48	129,67 ± 14,99	129,63 ± 19,67 ^o	0,0145 ^o
	Grupo 2	135,00 ± 20,74	138,33 ± 7,53	144,83 ± 29,38	140,00 ± 17,89	
HDL 1,24***	Grupo 1	602,45 ± 281,76	410,55 ± 105,58	1894,34 ± 0,14 ^a	1894,44 ± 0,10 ^b	0,0391 ^a ; 0,0019 ^b
	Grupo 2	2777,62 ± 1349,85	3828,41 ± 1154,07	3845,16 ± 258,07	2493,70 ± 883,75 ^c	
HDL 0,88***	Grupo 1	934,36 ± 367,35	607,20 ± 214,45	2194,26 ± 876,82	2283,49 ± 782,32 ^d	0,0022 ^d
	Grupo 2	1967,95 ± 1063,46	3246,42 ± 1041,58	3072,85 ± 753,19	1911,14 ± 859,11	
HDL 1,32***	Grupo 1	1253,16 ± 364,63	895,33 ± 385,28	2635,86 ± 1225,73	2694,86 ± 1141,84 ^e	0,0332 ^e
	Grupo 2	2370,89 ± 1327,90	3946,45 ± 1417,56	3606,51 ± 1111,01	2363,85 ± 1232,81	
HDL 1,28***	Grupo 1	1833,11 ± 692,78	1095,45 ± 521,55	4979,05 ± 2564,78	4625,08 ± 1815,98 ^f	0,0226 ^f
	Grupo 2	3885,24 ± 2172,91	6974,61 ± 2628,08	5941,48 ± 2057,64	4204,33 ± 2845,86	
HDL 4,94***	Grupo 1	614,67 ± 195,92	239,85 ± 168,27	706,93 ± 533,41	1149,44 ± 772,25 ^g	0,0066 ^g
Hidroxi 1,20***	Grupo 1	191,84 ± 62,76	190,42 ± 60,86	1329,35 ± 414,07 ^h	1693,11 ± 646,8 ⁱ	0,0003 ^h ; 0,0000 ⁱ
Colina 3,61***	Grupo 2	972,83 ± 855,92	1986,66 ± 1239,32	535,00 ± 105,09	367,59 ± 162,97 ^j	0,0072 ^j

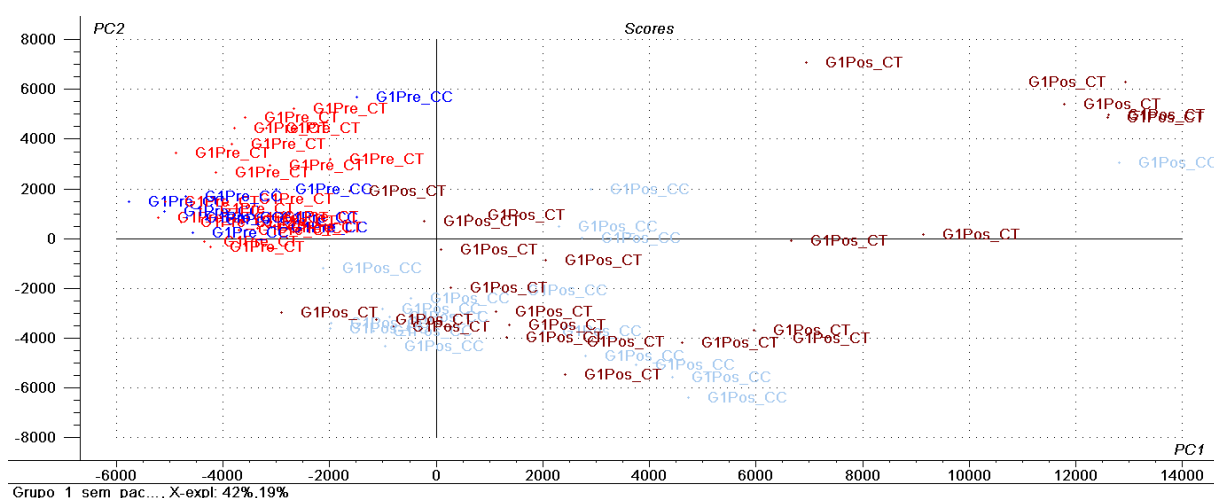
* p-valor para diferenças entre valores da PA e de metabólitos destacados com base na intensidade dos picos, após análise dos componentes principais, que apresentaram diferença estatística por genótipos, antes e após intervenção com fibras (G1) e placebo (G2), com base no teste post hoc de comparações múltiplas de Tukey, após resultado

significativo utilizando um modelo misto proposto de análise de Variância com dois fatores (ANOVA *two-way*).
 PAS (mmHg) ; * Deslocamento químico (ppm).

Tabela 2: Metabolitos, destacados com base na intensidade dos picos, após análise dos componentes principais, que não apresentaram diferença estatística, por genótipos após intervenção com fibras (G1) e placebo (G2).

VARIÁVEL	pré intervenção			pós intervenção	
	Grupos	CC	CT ou TT	CC	CT ou TT
HDL 0,84	Grupo 2	2142,01 ± 1134,05	2523,31 ± 610,93	2971,34 ± 347,82	1781,55 ± 513,48
HDL 4,94	Grupo 1	614,67 ± 195,92	239,85 ± 168,27	706,93 ± 533,41	1149,44 ± 772,25
Colina 3,25	Grupo 1	1020,12 ± 376,45	1737,95 ± 479,33	3366,80 ± 1727,98	3366,80 ± 1727,98
	Grupo 2	1915,16 ± 565,19	3517,90 ± 1112,50	1876,76 ± 576,63	1876,76 ± 576,63
Colina 3,65	Grupo 1	522,33 ± 279,01	833,15 ± 1151,61	1575,91 ± 861,82	3974,46 ± 2917,86
	Grupo 2	3112,07 ± 3126,02	3043,39 ± 3108,03	3687,60 ± 1901,04	1925,46 ± 651,14
Alfa glicose 4,90	Grupo 1	1438,41 ± 1411,93	1183,88 ± 468,98	1076,08 ± 712,71	1680,63 ± 1079,33

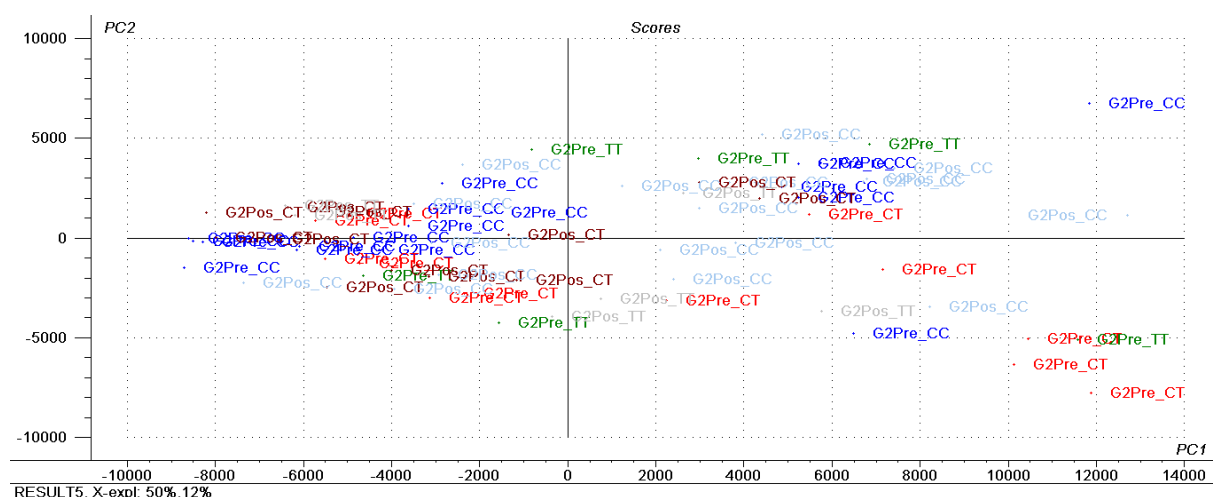
Gráfico 1: Grupo 1 – Distribuição dos metabolitos segundo genótipos antes e após intervenção com fibras dietéticas mistas.



Análise de componente principal (PCA) representada pelos gráficos de scores, comparando os grupos por genótipos quanto ao polimorfismo C677T do gene MTHFR referente ao perfil metabolômico de mulheres hipertensas com excesso de peso pré e pós suplementação com fibras dietéticas mistas (G1). Legenda: Cor: azul

escuro genótipo CC pré e azul claro genótipo CC pós; vermelho escuro genótipo:CT/TT pré e vermelho claro genótipo:CT/TT pós ; G1 Pré CT= grupo 1, pré intervenção, genótipo CT/TT; G1 Pré CC= grupo 1, pré intervenção, genótipo CC; G1 Pós CT= grupo 1, pós intervenção, genótipo CT/TT; G1 pós CC= grupo 1, pós intervenção, genótipo CC.

Gráfico 2: Grupo 2 – Distribuição dos metabolitos segundo genótipos antes e após intervenção com placebo.



Análise de componente principal (PCA) representada pelos gráficos de scores, comparando os grupos por genótipos quanto ao polimorfismo C677T do gene MTHFR referente ao perfil metabolômico de mulheres hipertensas com excesso de peso pré e pós suplementação com placebo (G2). Legenda: Cor: azul escuro genótipo CC pré e azul claro genótipo CC pós; vermelho escuro genótipo:CT/TT pré e vermelho claro genótipo:CT/TT pós ; G2 Pré CT= grupo 2, pré intervenção, genótipo CT/TT; G2 Pré CC= grupo 2, pré intervenção, genótipo CC; G2 Pós CT= grupo 2, pós intervenção, genótipo CT/TT; G2 pós CC= grupo 2, pós intervenção, genótipo CC.

5 DISCUSSÃO

A principal descoberta desse estudo inédito, foi a constatação de que o padrão de metabólitos resultante da intervenção com fibra dietética em mulheres obesas hipertensas foi modulado pelo genótipo C677T da MTHFR. Observou-se que a elevação dos metabólitos de HDL (HDL 1,24, HDL 0,88, HDL 1,32, HDL 1,28 ocorreu de forma significativa nos portadores do alelo T (CT/TT) enquanto que os metabólitos HDL 1,24 e do Hidroxibutirato 1,20 aumentaram apenas após intervenção com fibras em todas as mulheres do grupo 1 independente do genótipo da MTHFR.

Em estudo anterior com a mesma amostra e intervenção [26], foram observados aumento das concentrações de HDL, colina e hidroxibutirato e redução da PA em mulheres hipertensas com excesso de peso após intervenção com fibra alimentar. Neste trabalho, investigamos se o efeito observado é influenciado pelo genótipo MTHFR. Dados prévios evidenciaram que o efeito da intervenção com fibra sobre a pressão arterial ocorreu em ambos os genótipos embora tenha sido mais pronunciado nos portadores do alelo T (CT/TT), o que levou ao interesse no estudo desses genótipos (comunicação pessoal). A pretensão foi empregar a metabolômica para traçar perfis nutricionais [28] oriundos da intervenção com fibras, na busca por maiores detalhes sobre a interação entre a resposta na redução da PAS observada e os genótipos MTHFR.

Os efeitos da dieta no metabolismo do HDL-C ainda permanecem desconhecidos, porém algumas evidências sugerem uma forte associação entre baixo HDL-C e doenças cardiovasculares [29-30]. Apesar das evidências, ainda não foi possível determinar se a ingestão de fibras dietéticas está benéficamente associada ao metabolismo HDL-C [31].

O HDL-C apresenta relevante papel como fator cardioprotetor, exercendo função antioxidante e antiaterogênica, além de atuar contra a oxidação de LDL na parede arterial [32-34] e promover o transporte reverso de colesterol [31,35-36].

Segundo Cho, Park e Kim [37] existe correlação da PA com HDL-C. A ligação entre obesidade, hipertensão e aldosterona poderia explicar o mecanismo da redução do HDL-C e PA elevada com o aumento da idade. Portanto, pode-se supor que um HDL-C reduzido pode permitir uma maior ligação de VLDL ou LDL ao receptor necrófago BI (SR-BI), resultando em uma elevação da PA. Cho et al. [38] descobriram que o nível de HDL-C mostrou uma

correlação negativa fraca com a pressão arterial e a idade, com as mulheres apresentando uma diminuição mais acentuada do HDL-C com o aumento da pressão arterial sistólica (PAS) e da idade do que os homens. Nessa perspectiva, sabendo que no genótipo CT+TT o tratamento com fibras aumenta a presença de vários metabólitos de HDL em mulheres obesas e hipertensas, e que nesse mesmo grupo há redução da PAS, é possível sugerir que há um benefício genótipo dependente para intervenção com fibra dietética com vistas à tratamento da hipertensão.

Estudos sobre metabólitos de Hidroxibutirato são escassos na literatura e nesse trabalho esse metabólito apareceu em níveis mais elevados em amostras pós intervenção, sem influência do genótipo MTHFR. O 3-hidroxibutirato é molécula reguladora importante que pode influenciar a expressão gênica, o metabolismo lipídico, a função neuronal e a taxa metabólica geral [39]. Uma das funções regulatórias mais importantes do 3-HB é a inibição da atividade das histonas desacetilases e, portanto, a regulação epigenética de muitos genes. Também apresenta um efeito benéfico contra a hipertensão [40-42].

Quanto a colina, estudiosos mostraram que na obesidade os valores de metabólitos das colinas eram mais baixos do que em indivíduos eutrofos [43] como também de colina circulante [44] onde aos autores demonstraram que um aumento no IMC, está associado a uma redução significativa nas lisofosfatidilcolinas circulantes. Por outro lado, segundo Goita et al [45] ocorreu aumento nas concentrações de fosfatidilcolina no sangue de pacientes hipertensos.

No grupo 2 (grupo placebo) ocorreu uma alteração significativa negativa referente ao metabólito HDL 1,24 e colina 3,61, nos portadores dos genótipos CT/TT. Uma possível explicação seria a redução destes na condição de sobrepeso, embora na condição de hipertenso esse metabólito pode estar aumentado.

Nesse sentido se faz necessário mais estudos para justificar a redução do HDL 1,24 e da colina 3,61 em indivíduos hipertensos e com excesso de peso nos portadores do genótipo CT/TT do grupo 2 fazendo uso de amido de milho como placebo.

Como limite do estudo não foi realizado a divisão do HDL por subclasses. E como ponto forte importante, não existem estudos anteriores sobre o efeito do polimorfismo C6777T do gene MTHFR no metaboloma do soro em mulheres hipertensas e com excesso de peso com intervenção com fibras dietéticas.

O presente estudo destaca pela primeira vez as complexas interações que surgem entre as moléculas dietéticas e o genótipo. No presente estudo o grupo CT/TT respondeu de forma

mais favorável em relação ao aumento dos valores dos metabólitos envolvidos na redução da PA após intervenção com fibras em comparação genótipo CC.

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente estudo demonstraram que a intervenção com fibras dietéticas mistas afetou o perfil metabólico em mulheres com excesso de peso e hipertensão e que o polimorfismo C677T do gene MTHFR influenciou esse perfil. No grupo com genótipos CT/TT foram identificadas elevações de HDL 0,88; HDL 1,28; HDL1,32; HDL 4,94 não observadas no genótipo CC. Esse efeito pode, em parte, explicar a resposta sobre a PAS identificada nesse grupo de genótipo sob a mesma intervenção. Portanto, a aplicação da metabolômica pode ser utilizada como uma ferramenta importante para detectar mudanças de perfis de metabólitos por genótipos na hipertensão arterial e excesso de peso, após intervenção com nutrientes, melhor direcionando conduta dietética. Logo, esse resultado deverá contribuir para reforçar o entendimento da importância da fibra dietética no controle da PAS nos portadores do genótipo CT/TT, contribuindo dessa forma para destacar a importância dos metabólitos de HDL e do hidroxibutirato na redução dos valores da PAS.

REFERÊNCIAS

- 1 Hall J E, do Carmo, J M, da Silva, A A, Wang, Z, Hall, Michael E. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal. *Circ Res.* 2015. 13; 116(6): 991–1006. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305697 .
- 2 Ward M, Hughe F C, StrainJ J, Reilly R, Cunningham C M, Anne M. et al. Impact of the common MTHFR 677C→T polymorphism on blood pressure in adulthood and role of riboflavin in modifying the genetic risk of hypertension: evidence from the JINGO Project. *BMC Medicine* 2020 18:318. DOI: 10.1186/s12916-020-01780-x .

- 3 Oparil S, Acelajado M C, Bakris G L, Berlowitz D R, Cífková R, Dominiczak A F, Grassi, Guido; Jordan, Jens; Poulter, Neil R.; Rodgers, A, Whelton, P K. Hypertension Nat Rev Dis Primers.; 4: 18014. 2018. April 23. DOI: 10.1038/nrdp.2018.14 .
- 4 Evangelou et al. Genetic analysis of over one million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. Nat Genet. 2018, October; 50(10): 1412–1425. DOI: 10.1038/s41588-018-0205-x .
- 5 Bundy J D, Li, C, Stuchlik P, Xiaoqing B U ,Kelly T N, Mills K T, He H, Chen J, Whelton P K , He J. Systolic Blood Pressure Reduction and Risk of Cardiovascular Disease and Mortality. JAMA Cardiol. 2017 Jul; 2(7): 775–781. DOI: 10.1001/jamacardio.2017.1421 .
- 6 Daniele N D, Giulia M, Di Lauro M, Di Daniele F, Daniela P D, Guerriero C, Noce A. Effects of Caloric Restriction Diet on Arterial Hypertension and Endothelial Dysfunction.Nutrients 2021, 13, 274. DOI: 10.3390/nu13010274 .
- 7 Zaghloul A, Iorgoveanu C, Desai A, Balakumaran K, Zaghloul A, Iorgoveanu C, Desai A, Balakumaran K, Chen K. Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism and Premature Coronary Artery. Cureus. 2019 11(6): e5014. DOI: 10.7759/cureus.5014 .
- 8 Frosst P, Blom, H, Milos R. Goyette P, C A Sheppard C A, R G Matthews R G. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet. 1995. 10, 111–113. DOI: 10.1038/ng0595-111 .
- 9 Wu Y L, Hu C Y, Lu S S, Gong F F, Feng F, Qian Z Z, Ding X X, Yang H Y, Sun Y H. Association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/A1298C polymorphisms and essential hypertension: a systematic review and meta-analysis. Metabolism.2014 Dec;63(12):1503-11. DOI: 10.1016/j.metabol.2014.10.001 .
- 10 Fu L, Li Y N, Luo D, Deng S, Hu Y Q. Plausible relationship between homocysteine and obesity risk via MTHFR gene: a meta-analysis of 38,317 individuals implementing Mendelian randomization. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy 2019,12 1201–1212. DOI: 10.2147/DMSO.S205379 .

- 11 Rooney M, Bottiglieri T, Wasek-Patterson B , McMahon A , Hughes C F, McCann A, Horigan G, Strain J J, McNulty H, Ward M. Impact of the MTHFR C677T polymorphism on one-carbon metabolites: Evidence from a randomised trial of riboflavin supplementation. *Biochimie* 2020, 173 91- 99. DOI: 10.1016/j.biochi.2020.04.004 .
- 12 Ward M, Hughe F C, Strain J J, Reilly R, Cunningham C, Mollo, A M.. Impact of the common MTHFR 677C→T polymorphism on blood pressure in adulthood and role of riboflavin in modifying the genetic risk of hypertension: evidence from the JINGO Project. *BMC Medicine* 2020 18:318 DOI: 10.1186/s12916-020-01780-x .
- 13 Onuh J O, Aliani M. Metabolomics profiling in hypertension and blood pressure regulation: a review. *Clinical Hypertension* (2020) 26:23 doi: 10.1186/s40885-020-00157-9 .
- 14 Hao Y, Wang, Y, Xi, L, Yongchen, H, Ying, W, Guoqi L L, Zhao F, Qi Y, Liu J, Zhao D. A Nested Case-Control Study of Association between Metabolome and Hypertension Risk. *BioMed Research International*, 2016;2016:7646979. DOI: 10.1155/2016/7646979 .
- 15 Louca P, Mompeo O, Leeming E R.; Berry S E., Mangino M, Spector T D, Padmanabhan S , Menni C. Dietary Influence on Systolic and Diastolic Blood Pressure in the TwinsUK Cohort. *Nutrients* 2020, 12, 2130. Doi: 10.3390/nu12072130
- 16 Zhou Q, Wu J, Tang J, Wang J J, Lu C H, Wang P X. Beneficial Effect of Higher Dietary Fiber Intake on Plasma HDL-C and TC/HDL-C Ratio among Chinese Rural-to-Urban Migrant Workers *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2015, 12, 4726-4738. DOI: 10.3390/ijerph120504726 .
- 17 Malinowski B, Leighton R, Ignacio F, Hill C G, Szandorowski P, Wicinski M. Bioactive Compounds and Their Effect on Blood Pressure. *Nutrients* 2020, 12, 1659. DOI: 10.3390/nu12061659 .
- 18 Song S, Song Y. Dietary Fiber and Its Source Are Associated with Cardiovascular Risk Factors in Korean Adults. *Nutrients* 2021, 13, 160. DOI: 10.3390/nu13010160 .

- 19 Whelton S, Hyre A, Pedersen B. Effect of dietary fiber intake on blood pressure: A meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *J. Hypertens.* 2005 V.23, p.475–481 . DOI: 10.1097/01.hjh.0000160199.51158.cf
- 20 Sun B, Shi X, Wang, T, Zhang, D. Exploration of the Association between Dietary Fiber Intake and Hypertension among U.S. Adults Using 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Blood Pressure Guidelines: NHANES 2007–2014. *Nutrients*, 2018 v. 10, n. 1091, p. 1-11. Doi: 10.3390/nu10081091 .
- 21 Clark C C.T., Salek M, Aghabagheri E, Jafarnejad S. The effect of psyllium supplementation on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The Korean Journal of Internal Medicine* 2020 Vol. 35, No. 6. DOI: 10.3904/kjim.2019.049 .
- 22 Bucolo, G.; David, H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin. Chem.* 1973, 19, 476–482.
- 23 Allain, C.C.; Poon, L.S.; Chan, C.S. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 1974, 20, 470–475.
- 24 WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Technical Report Series, v. 894, p. 11 – 253, 2000. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330> .
- 25 Kac G, Sichieri R, Gigante D P. Epidemiologia nutricional [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ/Atheneu, 2007. 580 p. ISBN 978-85-7541-320-3. Available from SciELO Books: <https://static.scielo.org/scielobooks/rrw5w/pdf/kac-9788575413203.pdf> .
- 26 Dos Santos Fechine CPN, Monteiro MGCA, Tavares JF, Souto AL, Luna RCP, da Silva CSO, da Silva JA, Dos Santos SG, de Carvalho Costa MJ, Persuhn DC. Choline Metabolites, Hydroxybutyrate and HDL after Dietary Fiber Supplementation in Overweight/Obese Hypertensive Women: A Metabolomic Study. *Nutrients*. 2021 Apr 24;13(5):1437. DOI: 10.3390/nu13051437 .
- 27 Miller S A, Dykes D D, Polesky H F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988 Feb 11; 16(3): 1215. doi: 10.1093/nar/16.3.1215 .

- 28 Andraos S, Wake M, Saffery R, Burgner D, Kussmann M, O’Sullivan, J. Perspective: Advancing Understanding of Population Nutrient–Health Relations via Metabolomics and Precision Phenotypes . *Omics in nutrition sciences. Adv Nutr* 2019;10:944–952. DOI: 10.1093/advances/nmz
- 29 Stadler J T , Lackner S, Mörtl S, Trakaki A , Scharnagl H, Borenich A , Obesity Affects HDL Metabolism, Composition and Subclass Distribution. *Biomedicines* 2021, 9 (3), 242. DOI: 10.3390/biomedicines9030242 .
- 30 Khera A V, Plutzky J. Management of Low Levels of High-Density Lipoprotein Cholesterol. *Circulation*. 2013 July 2; 128(1): 72–78. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000443 .
- 31 Yanaia H, Katsuyamaa H, Hidetaka H, Abeb S, Tada N, Sako A. Effects of Dietary Fat Intake on HDL Metabolism. *J Clin Med Res*. 2015;7(3):145-149. DOI: 10.14740/jocmr2030w .
- 32 Brites F, Martin M , Guillas I , Kontush A. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clinical* 8 (2017) 66–77 DOI: 10.1016/j.bbacli.2017.07.002 .
- 33 Durrington PN, Mackness B., Mackness MI Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2001; 21 (4): 473–480 DOI: 10.1161/01.atv.21.4.473 .
- 34 Sirtoria C.R.; Ruscicab, M.; Calabresib, L.; Chiesab, G.; Giovannonic, R.; Badimond, J.J. HDL therapy today: from atherosclerosis, to stent compatibility to heart failure, *Annals of medicine* 2019, VOL. 51, NOS. 7–8, 345–359 doi: 10.1080/07853890.2019.1694695 .
- 35 Rohatgi A., Khera A., Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, Neeland IJ, Yuhanna IS, Rader DR, De Lemos JA, et al. Capacidade de efluxo de colesterol HDL e eventos cardiovasculares incidentes. *N. Engl. J. Med*. 2014; 371 : 2383–2393. DOI: 10.1056/NEJMoa1409065 .
- 36 Ouimet M, Barrett T J, Fisher E A. HDL and Reverse Cholesterol Transport. *Basic Mechanisms and Their Roles in Vascular Health and Disease. Circulation Research* 2019, 12: 1505-1518 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.312617 .

37. Cho K H, Park HJ, Kim J.R. Decrease in Serum HDL-C Level Is Associated with Elevation of Blood Pressure: Correlation Analysis from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2017 *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17: 1101. DOI: 10.3390/ijerph17031101 .
38. Cho K H, Park HJ, Kim S J, Kim J R. Decrease in HDL-C is Associated with Age and Household Income in Adults from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2017: Correlation Analysis of Low HDL-C and Poverty † *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Sep; 16(18): 3329. doi: 10.3390/ijerph16183329 .
39. Mierziak J; Burgberger M ; Wojtasi W .3-Hydroxybutyrate as a Metabolite and a Signal Molecule Regulating Processes of Living Organisms.*Biomolecules*. 2021 Mar 9;11(3):402. DOI: 10.3390/biom11030402 .
40. Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhäger WH *Lanceta*. Essential hypertension. 2003; 361:1629-1641. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13302-8.
41. Chakraborty S, Galla S, Cheng X, Yeo J.-Y, Mell B, Singh V, Yeoh B, Saha P. Mathew, A.V.; Vijay-Kumar, M.; et al. Salt-Responsive Metabolite, β -Hydroxybutyrate, Attenuates Hypertension. *Cell Rep*. 2018, 25, 677–689. doi: 10.1016/j.celrep.2018.09.058 .
42. Youm Y.-H; Nguyen K.Y., Grant RW, Goldberg EL, Bodogai M, Kim D D'Agostino D, Planavsky N J, Lupfer C, Kanneganti TD. The ketone metabolite β -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome–mediated inflammatory disease. *Nat. Med*. 2015, 21, 263–269. DOI: 10.1038/nm.3804 .
43. Bagheri M, Djazayery A, Farzadfar F, Qi L, Yekaninejad M S, Aslibekyan S, Hassani H, Kpletzko B, Uhl O. Plasma metabolomic profiling of amino acids and polar lipids in Iranian obese adults. *Lipids Health Dis*. 2019, 18, 1–9. doi: 10.1186/s12944-019-1037-0 .
444. Tulipani S, Palau-Rodriguez M, Alonso A M , Cardona F, Marco-Ramell A, Zonja B , de Alda, M L , Muñoz-Garach A, Sanchez-Pla A, Tinahones F J, Lacueva C A. Biomarkers of Morbid Obesity and Prediabetes by Metabolomic Profiling of Human Discordant Phenotypes. *Clinica Chimica Acta* 2016;463:53-6. DOI: 10.1016/j.cca.2016.10.005 .

- 45 Goïta Y, Barca J.M.C, Keïta A, Diarra M.B, Dembele K.C, Chabrun F, Drame B.S.I. Sexual Dimorphism of Metabolomic Profile in Arterial Hypertension. Sci. Rep. 2020, 10, 77517. DOI: 10.1038/s41598-020-64329-1.

APÊNDICE C - 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”, que está sendo realizado com a população do município de João Pessoa/PB, e do projeto vinculado, a ser realizado, “Efeito da suplementação com fibra dietética nos valores de pressão arterial e de PCR em mulheres adultas com metilação do gene ADD1” vimos por meio deste, solicitar sua colaboração na participação deste último.

Trata-se de um estudo de intervenção que será desenvolvido considerando que a ingestão de alimentos e nutrientes pode levar à alterações no DNA, com consequentes mudanças na expressão de genes, que por sua vez podem alterar o metabolismo e favorecer ou evitar o desenvolvimento de doenças crônicas, tais como hipertensão arterial. Para tanto serão convidados a participar mulheres adultas, com estado cognitivo preservado. A obtenção de dados e informações será conduzida por Nutricionista e enfermeira, sendo essa Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição da UFPB, e por Enfermeira da equipe, por meio de visitas domiciliares, a serem agendadas conforme sua autorização e conveniência. Nesse sentido, solicitamos sua participação para a realização de:

- ☐ Aplicação de questionários socioeconômicos e de consumo alimentar;
- ☐ Aferição da pressão arterial sistêmica;
- ☐ Coleta de sangue para análise Genética – Epigenética, antes e após o período de intervenção;
- ☐ Recebimento de aconselhamento nutricional, seguimento de plano nutricional individual e ingestão diária de sachês de fibras alimentares mista ou placebo, durante o período de 8 semanas.

Destacamos neste termo que:

- Sua participação se dará de forma voluntária, sem prejuízo previsível, seja para sua pessoa ou de seus familiares;
- 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.

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.

RISCOS DA PESQUISA: poderá surgir dor e Hematomas no local da punção sanguínea.

Os participantes serão beneficiados com a orientação alimentar e nutricional.

Participante ou responsável:



Prof^a. MSc. Mussara Gomes Cavalcanti Alves Monteiro

Responsável pela Pesquisa

Contatos:

UFPB/NIESN. Campus Universitário. Centro de Ciência da Saúde. Castelo Branco s/n. CEP: 58.059-900. João Pessoa/PB.

E-mail: Mussara.monteiro@hotmail.com (083) 3235-5333 – 3216-7417 (83) 986204644.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/CCS/UFPB. Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciência da Saúde. Castelo Branco s/n. CEP: 58.059-900. João Pessoa/PB. Telefone: (83)3216-7791 E-mail: eticaccs@ccs.ufpb.br .

APÊNDICE D – QUESTIONÁRIOS

SEGUNDO CICLO SOBRE DIAGNÓSTICO E INTERVENÇÃO DA SITUAÇÃO ALIMENTAR, NUTRICIONAL E DE DOENÇAS NÃO TRANSMISSÍVEIS MAIS PREVALENTES DA POPULAÇÃO DO MUNICÍPIO DE JOÃO PESSOA/PB

INSTITUIÇÕES EXECUTORAS:

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO
NÚCLEO INTERDISCIPLINAR DE ESTUDOS EM SAÚDE E NUTRIÇÃO
PREFEITURA MUNICIPAL DE JOÃO PESSOA/PB
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE

COORDENAÇÃO:

Profa. Dra. Maria José de Carvalho Costa
Prof. Dr. Roberto Teixeira Lima

Equipe de pesquisadores:

Prof.^a Dr.^a Silvia Franchescinni
Prof.^a Dr. Alcides da Silva Diniz
Prof.^a Dr.^a Darlene
Prof.^a Dr.^a Flávia Lima
Prof.^a Dr Alexandre Silva
Prof. Dr. João Andrade da Silva
Prof.^a Dr.^a Luiza Sônia Rios Asciti
Prof.^a Dr.^a Maria Amélia Amado Rivera
Prof.^a Dr.^a Maria Conceição Rodrigues Gonçalves
Prof.^a Dr.^a Maria Jose Cariri do N. Benigna
Prof.^a Dr.^a Mônica Maria Osório de Cerqueira
Prof. Dr. Roberto Teixeira Lima
Prof. Dr. Ronei Marcos Moraes
Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio
Prof.^a Dr.^a Rosália Gouveia Filizola
Prof. Dr. Robson Cavalcante Veras

INSTITUIÇÕES FINANCIADORAS:

CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA/CNPq
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO DE APOIO À PESQUISA DO ESTADO DA PARAÍBA/FAPESQ-PB

João Pessoa/2014-2015

Informações confidenciais. Garantido o sigilo pessoal.

Caso nº: _____ DS: _____ USF: _____ Data da entrevista: ____/____/____

Nome do Agente Comunitário de Saúde (ACS): _____

Responsável pelas informações: _____ Endereço da família: Rua: _____ nº _____

Bairro: _____ Fone: _____ Res. () Apt. ().

CONTINUAÇÃO: ANEXO D – QUESTIONÁRIOS

1. CARACTERIZAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA E DEMOGRÁFICA DAS FAMÍLIAS: (Composição e caracterização da família ou grupo de convivência no momento da pesquisa)

Caso N°:_____ DS:___ USF: _____

Nº	Nome	Grau de Parentesco (*)	Data de nascimento	Idade	Gênero 1 - M 2 - F	Escolaridade (anos de estudo)	Nível de escolaridade (ver legenda)	Renda per capita (em R\$)	Bens de consumo da família (assinalar e a quantidade)	Observações
1	Responsável/respondente:								☐ Aparelho de som/rádio ☐ Aparelho de televisão ☐ Videocassete ☐ DVD ☐ Microcomputador de mesa ☐ Microcomputador portátil (notebook) ☐ Automóvel ☐ Geladeira ☐ Freezer ☐ Máquina de lavar roupa ☐ Máquina de lavar louça ☐ Aspirador de pó ☐ Forno de microondas ☐ Telefone celular ☐ Telefone fixo ☐ Máquina fotográfica digital ☐ Aparelho de ar-condicionado Outros: ☐ _____ ☐ _____	Legenda da escolaridade: 1= Ensino básico incompleto 2= Ensino básico completo 3= Ensino fundamental incompleto 4= Ensino fundamental completo 5= Ensino médio incompleto 6= Ensino médio completo 7= Ensino superior incompleto 8= Ensino superior completo.
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
								Renda familiar:		

(*) Grau de parentesco dos membros da família em relação ao responsável/respondente.

CONTINUAÇÃO: ANEXO D – QUESTIONÁRIOS

1. CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DAS FAMÍLIAS:

(Composição e caracterização da **família ampliada** no momento da pesquisa)

Caso N°:_____ DS:___ USF:_____

[illegible]

CONTINUAÇÃO: ANEXO D – QUESTIONÁRIOS

N. Caso: _____ DS: _____ USF: _____

5. RECORDATÓRIO ALIMENTAR: [] 1º [] 2º [] 3º

No.: _____ Nome: _____

Refeições/Alimentos	Medida Caseira	Tamanho da porção	Valor em gramas/ml	Observações
Café da Manhã				Preencher as medidas mostrando o álbum de medidas caseiras. 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 (p25 – p50 – p75 – p100)
Lanche				
Almoço				
Lanche				
Jantar				
Lanche Noturno				
Preferências Alimentares:				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. Descrever neste recordatório se consome chá, caso sim, que tipo de chá, como também quantidade de água e horário. Descrever o tipo de cocção: - Fritura - Grelhado - Cozido - Assado
Aversões Alimentares:				

Para criança até 2 anos de idade. N. ____ (Obs.: em caso de + 1, joga o dado).

Quantas vezes na semana sua criança consome:

Carnes: ____ Ovos: ____ Leite: ____ Vegetais/leguminosas: ____ Frutas: ____ .

Amamenta/ou: () Sim () Não.

() Aleitamento exclusivo. Freqüência: ____ (meses).

() Aleitamento misto. Freqüência: ____ (meses).

() Aleitamento predominante. Freqüência: ____ (meses)

ANEXOS

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM FIBRA DIETÉTICA NOS VALORES DE PRESSÃO ARTERIAL E DE PCR EM MULHERES ADULTAS COM METILAÇÃO DO

Pesquisador: MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 4

CAAE: 64573917.4.0000.5188

Instituição Proponente: Centro De Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.624.190

Apresentação do Projeto:

Trata-se de analisar um pedido de emenda ao referido projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Novo Objetivo inserido ao projeto:

Identificar o polimorfismo C677T do gene MTHFR e identificar o perfil de metilação do Gene MTHFR das participantes da pesquisa para ver sua relação com a intervenção com a fibra mista e com os valores bioquímicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os mesmos do projeto de origem.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Justificativa da emenda ao referido projeto:

Identificar o polimorfismo C677T do gene MTHFR e identificar o perfil de metilação do Gene MTHFR das participantes da pesquisa para ver sua relação com a intervenção com a fibra mista e com os valores bioquímicos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto em tela se encontra bem instruído.

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA**



Continuação do Parecer: 3.624.190

Recomendações:

Recomenda-se manter a metodologia proposta a ementa do referido projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_1416814_E2.pdf	19/08/2019 17:04:20		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeAnuenciaFarmaciademaniplacaocartaMussara2016.docx	10/04/2017 23:36:46	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeAnuenciadolaboratoriometilacao doGENEADD1AutorizacaoMussara.pdf	10/04/2017 23:36:20	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Certidaodeaprovacaodoprojetodeorigem.docx	10/04/2017 23:35:14	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CertidaodeAprovacaodoColegiadodaPos Graduacao.docx	10/04/2017 23:29:30	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	mussaraTCLE.docx	10/04/2017 23:16:39	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_Mussara.docx	02/02/2017 23:06:47	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_TESE_MUSSARA_CORRIGIDO.docx	01/02/2017 21:58:44	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA**



Continuação do Parecer: 2.035.836

Declaração de Instituição e Infraestrutura	Certidaodeaprovaçãodoprojetodeorigem.docx	10/04/2017 23:35:14	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CertidaodeAprovaçãodoColegiadodaPos Graduação.docx	10/04/2017 23:29:30	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	mussaraTCLE.docx	10/04/2017 23:16:39	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_Mussara.docx	02/02/2017 23:06:47	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_TESE_MUSSARA_CORRIGIDO.docx	01/02/2017 21:58:44	MUSSARA GOMES CAVALCANTI ALVES MONTEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 27 de Abril de 2017

Assinado por:

**Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador)**

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: eticaccsufpb@hotmail.com

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 3.624.190

JOAO PESSOA, 07 de Outubro de 2019

Assinado por:
Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador(a))

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br