

Maria Cristina Dias Thomazella

Efeito da dieta tipo Mediterrânea na função
endotelial e inflamação na aterosclerose:
estudo comparativo com a dieta TLC
(*“Therapeutic Lifestyle Changes”, do NCEP - ATPIII*)

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do Título de Doutor em Ciências

Programa de: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Francisco Rafael Martins Laurindo

São Paulo

2010

Dedicatória

Dedico esta tese ao meu marido Heraldo e minha filha Fernanda, meus grandes amores e companheiros, por terem compartilhado de todos os desafios e alegrias que envolveram este trabalho.

Dedico também aos meus pais Aurélio e Maria Lúcia, exemplos de fé e perseverança, pelo carinho e incentivo de sempre.

Agradecimentos

Agradeço a Deus a oportunidade de aprendizado no desenvolvimento desta tese.

**Agradeço ao Prof. Francisco Laurindo, grande Mestre, orientador
exemplar e acima de tudo, ser humano íntegro de quem tenho
orgulho de ter sido aluna.**

Este estudo é resultado da dedicação, trabalho e envolvimento de muitas pessoas, às quais serei eternamente grata:

- Todos os pacientes e voluntários que depositaram em mim confiança e respeito por este trabalho
- Marisa Góes, grande amiga e parceira junto aos pacientes
- Cláudia Andrade, grande amiga e professora na bancada
- Todos os colegas, alunos, funcionários e ex-alunos do Laboratório de Biologia Vascular
- Dra. Jacqueline S. Issa, Sr. José A Ramos Santos e demais amigos e profissionais que atuam no setor de Consultórios do InCor
- Laboratório de Aterosclerose: Prof Dr. Protásio L Luz, Laura I V Brandizzi, Vanda Yoshida, Dra. Silmara Coimbra, Dr. Fernando Cesena e demais funcionários, pelo grande apoio
- Laboratório de Análises Clínicas do InCor: Dra. Célia M C Strunz e funcionários pelas análises laboratoriais
- Divisão de Farmácia do HC-FMUSP pelo envase do azeite de oliva
- Laboratório de Lípidos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP: Dr. Jorge Mancini Filho pela análise cromatográfica dos lípidos
- Ângela Romano, pelo auxílio e disponibilidade na análise do fluxo no exame de reatividade vascular
- Denise Fernandes, pelas dicas valiosas ao longo deste trabalho

- Laboratórios colaboradores:
 - Laboratório LIM15: Dra. Sueli K N Marie, Renata L Correia e funcionários
 - Laboratório LIM51: Dr. Heraldo Possolo de Souza, Denise Frediani Barbeiro e funcionários
 - Laboratório de Fisiologia da Universidade da Flórida: Dr. Arturo J Cardounel
- Dra. Sílvia C A L Souza, pela análise estatística e disposição
- Amigos de todas as horas: Angélica, Carol Gagliardi, Marcus, Marina, Tanaka, Thalita, Lísia e Lucinda
- Leonora, pela amizade, carinho e auxílio em todos os momentos, especialmente nos grandes desafios
- Victor, pela amizade, eficiência nas análises e disponibilidade em ajudar, sempre!
- Minha grande e adorável família *Dias Thomazella*, pelo carinho e apoio.

Apoio:

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

FAPESP: Fundação de Amparo `a Pesquisa do Estado de São Paulo

***“We are indeed much more than what we eat,
but what we eat can nevertheless help us
to be much more than what we are”***

Adelle Davis

Sumário

	Página
A. Introdução	23
A.1. Aterogênese: Inflamação, Disfunção Endotelial e Desequilíbrio Redox	23
A.1.1. Marcadores de inflamação	23
A.1.2. Índices de disfunção endotelial	24
A.1.3. Estresse oxidativo e aterosclerose	25
A.1.3.1. Teoria oxidativa da aterogênese	26
A.1.3.2. Desequilíbrio da sinalização redox	27
A.1.3.3. Marcadores do estresse oxidativo	28
A.2. Aterosclerose e Dieta	30
A.2.1. A Dieta TLC	32
A.2.2. A Dieta Tipo Mediterrânea	33
B. Objetivos	38
C. Casuística e Métodos	40
C.1. Pacientes estudados	40
C.2. Seleção e critérios de elegibilidade	40
C.2.1. Critérios de inclusão	41
C.2.2. Critérios de exclusão	41
C.3. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	42
C.4. Desenho do estudo	43
C.5. Etapas de desenvolvimento do estudo	44
C.5.1. Fase seletiva	45
C.5.2. Avaliação inicial	45
C.5.2.1. Avaliação laboratorial	45
C.5.2.2. Avaliação da função endotelial	45

C.5.2.3. Avaliação nutricional	46
C.5.2.3.1. Avaliação antropométrica e composição corporal	46
C.5.2.3.2. Avaliação do consumo alimentar	47
C.5.2.3.2.1. Anamnese nutricional	47
C.5.2.3.2.2. Recordatório de 24 horas	48
C.5.2.3.2.3. Questionário de frequência alimentar	48
C.5.2.3.2.4. Registro alimentar	48
C.5.3. Intervenção dietética	49
C.5.3.1. Características nutricionais da Dieta Mediterrânea (DM) e Dieta TLC (DTLC)	50
C.5.3.1.1. Dieta Mediterrânea	50
C.5.3.1.2. Dieta TLC	52
C.5.3.1.3. Resumo das características nutricionais da DM e DTLC adotadas em nosso estudo	54
C.5.3.2. Acompanhamento Dietético e Avaliação da Aderência à DM e DTLC	54
C.5.3.3. Fornecimento de alimentos específicos à DM e DTLC	55
C.5.4. Avaliação final	56
C.6. Avaliação Laboratorial	56
C.6.1. Glicose sérica	56
C.6.2. Contagem global de leucócitos	56
C.6.3. Proteína C-reativa ultra-sensível	57
C.6.4. Lípidos	57
C.6.5. Enzimas hepáticas	57
C.6.6. LDL oxidada	58

	10
C.6.7. Mieloperoxidase	58
C.6.8. Glutathiona reduzida e oxidada	58
C.6.9. Análise de L-arginina e ADMA	58
C.6.10. Moléculas de adesão	59
C.6.11. Quantificação relativa do número de cópias de DNA mitocondrial (DNAMt)	59
C.6.11.1. Separação de células mononucleares por gradiente de <i>Ficoll-Hypaque</i>	59
C.6.11.2. Extração de DNA total	60
C.6.11.3. Número de cópias relativo de DNAMt	60
C.7. Avaliação da função endotelial pela análise da reatividade vascular	60
C.8. Tamanho Amostral e Análise Estatística	62
D. Resultados	64
D.1. Seleção de Pacientes e Características Basais	64
D.2. Aderência às Dietas	69
D.2.1. Questionários de aderência	69
D.2.2. Comparecimento aos agendamentos e contatos quinzenais (telefone/email)	70
D.2.3. Análise dos registros alimentares iniciais vs finais	70
D.2.4. Aderência aos produtos alimentares fornecidos	75
D.2.5. Análise do azeite de oliva extra-virgem e creme vegetal rico em fitosteróis	76
D.3. Antropométricos e Composição Corporal	78
D.4. Pressão Arterial	82
D.5. Variáveis Bioquímicas	84
D.5.1. Variáveis do Perfil Lipídico	84
D.5.2. Variáveis Inflamatórias	88
D.5.3. Glicose sérica e Enzimas hepáticas	91
D.5.4. Variáveis Relacionadas ao Equilíbrio Redox	91

	11
D.5.5. Número de cópias de DNAMt	93
D.6. Função Endotelial	94
D.7. Sumário de Resultados Bioquímicos e Laboratoriais	94
E. Discussão	97
F. Conclusões	109
G. Referências	111
H. Anexos	
Anexo A: Breve questionário sobre Hábitos Alimentares	122
Anexo B: Termo de consentimento livre e esclarecido	123
Anexo C: Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa	127
Anexo D: Anamnese Nutricional	128
Anexo E: Questionário de Frequência Alimentar	130
Anexo F: Registro Alimentar	135
Anexo G: Orientações para preenchimento dos registros alimentares	136
Anexo H: Método de cromatografia gasosa utilizado para análise da composição centesimal de azeite de oliva e creme vegetal enriquecido com fitosteróis	138
Anexo I: Valores de Referência de Exames Laboratoriais	140
Anexo J: Questionário de Aderência à Dieta Mediterrânea	141
Anexo K: Questionário de Aderência à Dieta TLC: MEDFICTS	142

Lista de Abreviaturas:

AHA	<i>American Heart Association</i>
ANOVA	Análise de variância
Apo	Apolipoproteína
DAC	Doença arterial coronariana
DM	Dieta Mediterrânea
DNAmt	DNA mitocondrial
DRI	<i>Dietary Reference Intakes</i> - Ingestão dietética de referência
DTLC	Dieta TLC
ELISA	Ensaio imunoenzimático de absorbância
ERO	Espécies reativas derivadas de oxigênio
GGT	Gama glutamil transferase
GSSG	Glutationa oxidada
GSH	Glutationa reduzida
HDL-C	Colesterol de lipoproteína de alta densidade
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
IMC	Índice de massa corporal
InCor-HCFMUSP	Instituto do Coração - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
LDL-C	Colesterol de lipoproteína de baixa densidade
MPO	Mieloperoxidase
NCEP-ATPIII	<i>National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III</i>
NO•	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR-us	Proteína C-reativa ultra-sensível

RSH	Proteína com grupos tiol
sICAM	Molécula de adesão intercelular solúvel
sVCAM	Molécula de adesão de célula vascular solúvel
TBARs	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicérides
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico pirúvica
TLC	<i>Therapeutic Lifestyle Changes</i>
TNF	Fator de necrose tumoral
VCT	Valor Calórico Total

Lista de Tabelas e Figuras

		Página
Fluxograma 1	Desenho experimental do estudo	43
Tabela 1	Classificação do peso em relação à estatura segundo o IMC	46
Tabela 2	Características da dieta Mediterrânea na Grécia em 1960, em indivíduos de meia-idade	51
Tabela 3	Características nutricionais da dieta TLC	53
Tabela 4	Características nutricionais da DM e DTLC adotadas em nosso estudo	54
Tabela 5	Distribuição dos diagnósticos dos pacientes de acordo com os grupos dietéticos	66
Tabela 6	Distribuição das condutas terapêuticas clínicas de acordo com os grupos dietéticos	66
Tabela 7	Distribuição basal das variáveis demográficas, antropométricas, clínicas e laboratoriais dos pacientes de acordo com os grupos dietéticos	67
Tabela 8	Distribuição das características nutricionais das dietas dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	74
Tabela 9	Distribuição das características nutricionais das dietas de acordo com a % do valor calórico total (VCT) inicial e final dos pacientes sob DM e DTLC	75
Tabela 10	Distribuição de ácidos graxos no azeite de oliva extra-virgem (DM) e creme vegetal rico em fitosteróis (DTLC) analisados através do método	77

de cromatografia gasosa no Laboratório de
Lípides da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas/USP

Tabela 11	Distribuição das variáveis clínicas, antropométricas e laboratoriais da amostra, de acordo com o grupo dietético DM e DTLC, nos momentos basal e final da intervenção dietética	79
Figura 1	Representação gráfica da evolução do peso corporal dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	80
Figura 2	Representação gráfica da evolução do índice de massa corporal (IMC) dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	80
Figura 3	Representação gráfica da evolução da circunferência abdominal dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	81
Figura 4	Representação gráfica da evolução da somatória das dobras cutâneas (Σ DC) dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	81
Figura 5	Representação gráfica da evolução da pressão arterial sistólica dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	83
Figura 6	Representação gráfica da evolução da pressão arterial diastólica dos pacientes DM e DTLC nos momentos inicial e final intervenção dietética	83

Figura 7	Representação gráfica da evolução do colesterol total dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	85
Figura 8	Representação gráfica da evolução de LDL-Colesterol dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	85
Figura 9	Representação gráfica da evolução de LDL oxidada dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	86
Figura 10	Representação gráfica da evolução de HDL-C dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	86
Figura 11	Representações gráficas da evolução individual da HDL-C nos pacientes sob DM e sob DTLC	87
Figura 12	Representação gráfica da evolução da apolipoproteína B dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	87
Figura 13	Representação gráfica da evolução da proteína C-reativa nos pacientes estudados sob DM e DTLC	89
Figura 14	Representações gráficas da evolução individual da proteína C-reativa nos pacientes estudados sob DM e sob DTLC	89
Figura 15	Representação gráfica da evolução de leucócitos totais dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	90

Figura 16	Representação gráfica da evolução da dimetilarginina assimétrica (ADMA) dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	92
Figura 17	Representação gráfica da evolução da razão L-arginina/ADMA dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética	92
Figura 18	Representação gráfica da evolução do número de cópias do mtDNA (média e intervalo de confiança) para a variável $2^{-\Delta\Delta C_T}$ dos pacientes sob DM, sob DTLC e Grupo Controle no momento inicial	93

Resumo

A dieta Mediterrânea (DM) tem sido amplamente estudada do ponto de vista epidemiológico porém, o efeito pleno específico da DM, bem como os mecanismos pelos quais esse padrão dietético contribui para redução do risco cardiovascular em prevenção secundária, são desconhecidos. Isso ocorre, em parte, devido à dificuldade de aderência observada em ensaios clínicos de intervenção dietética, especialmente estudos comparativos com dietas hipolipemiantes, por exemplo, a dieta TLC, *Therapeutic Lifestyle Changes Diet (TLCD)* do *National Cholesterol Education Program-ATPIII*. Assim, realizamos um estudo clínico, controlado, não randomizado, comparando o perfil de risco cardiovascular de dieta Mediterrânea (DM) versus dieta TLC (DTLC) em 40 pacientes com doença arterial coronariana, homogeneamente selecionados (45-65 anos de idade, homens, que tiveram ao menos um evento coronariano nos 2 últimos anos) e intensamente medicados. Uma questão paralela foi entender os efeitos de ambas as dietas nos processos de inflamação, disfunção endotelial e do estresse oxidativo, fatores-chave na aterogênese e particularmente importantes na prevenção secundária. Os hábitos culturais e dietéticos foram relevantes para alocação dos pacientes nos grupos de dieta Mediterrânea (n = 21; dieta rica em grãos integrais, vegetais, frutas, oleaginosas 10 g/dia, azeite de oliva extra-virgem 30 g/dia e vinho tinto 250 ml/dia) ou dieta TLC (n = 19; suplementada com fitosteróis 2g/dia através de creme vegetal 20 g/dia). Escores de aderência validados na literatura e específicos às dietas mostraram resultado > 90% no índice de aderência aos dois padrões dietéticos. Alguns efeitos foram comuns à dieta Mediterrânea e à dieta TLC. Com ambas, houve redução significativa de peso, índice de massa corporal (kg/m²), variáveis de composição corporal e pressão arterial. Além disso, ambas as dietas promoveram redução dos níveis plasmáticos de ADMA e da relação L-arginina/ADMA. A reatividade da artéria braquial dependente do endotélio permaneceu inalterada em ambos os grupos; no entanto, pacientes sob DM e sob DTLC melhoraram a velocidade de fluxo no momento basal (pré-hiperemia vascular). Outros efeitos foram específicos a cada padrão dietético. Com a DM, foram observados diminuição na contagem total de leucócitos versus DTLC (p =

0.025) e aumento nos níveis de HDL-colesterol em 3 mg/dL ($p = 0.053$) versus DTLC, que mantiveram níveis de HDL-C inalterados. O diâmetro basal da artéria braquial aumentou com a DM, mas não com a DTLC. Com a DTLC, houve redução estatisticamente significativa versus DM nas variáveis lipídicas colesterol total, LDL-colesterol ($p < 0.05$) e LDL oxidada ($p = 0.009$), embora a razão LDL oxidada/LDL total não tenha se alterado. Níveis séricos/plasmáticos de apolipoproteína A-1, lipoproteína(a), glicose, mieloperoxidase, sICAM, sVCAM, e as razões glutatona reduzida/oxidada em plasma e eritrócitos não se alteraram em ambos os grupos. Em conjunto, estes dados indicam um perfil de efeitos da DM e DTLC compatíveis com redução do risco cardiovascular, mesmo em pacientes intensamente medicados, em prevenção secundária. Embora estes efeitos tenham sido equivalentes entre DM e DTLC, eles parecem ser mediados tanto por alguns mecanismos comuns, como alguns mecanismos específicos de cada dieta.

Descritores: 1.Dieta Mediterrânea 2.Doença da artéria coronariana
3.Aterosclerose 4.Prevenção secundária 5.Colesterol LDL 6.Endotélio vascular
7.Dieta

Summary

The Mediterranean Diet (MD) has been widely studied with respect to epidemiology, but mechanisms whereby the Mediterranean Diet (MD) is cardioprotective are unclear. This is partly because of the difficulties of adherence in clinical trials of dietary intervention, particularly trials comparing it to traditional lipid-restraining diets, e.g., *Therapeutic Lifestyle Changes Diet* (TLC) from *National Cholesterol Education Program ATP III*. We performed a controlled, non-randomized clinical trial comparing the cardiovascular risk profile of the Mediterranean Diet (MD) versus the TLC Diet (TLC) in 40 selected, highly-homogeneous, and intensively medicated patients with coronary heart disease (45-65 years, males, at least one coronary event over prior 2 years). In addition, we sought to investigate both diet's effects on inflammation, endothelial dysfunction and oxidative stress, all key factors in atherogenesis and particularly important in secondary prevention. Dietary/cultural habits were the basis to allocate patients for 3 months to either MD (n = 21; rich in whole grains, vegetables, fruits, nuts 10g/day, extra-virgin olive oil 30g/day, red wine 250ml/day) or TLC (n = 19; plus phytosterols 2g/day). Specific scores showed that both diets had >90% adherence. Some effects were common to both diets. Patients in both groups showed a significant reduction in weight, body mass index, body composition and blood pressure. Also, both groups presented a reduction in plasma levels of ADMA and L-arginine/ADMA ratio. Endothelial-dependent brachial artery reactivity remained unaltered in both groups. However, patients under MD and TLC improved flow velocity at baseline (prior to hyperemia). Nevertheless, other effects were specific to each diet. With MD, there was significant decrease in leukocyte count vs. TLC (p = 0.03) and average increase in HDL-cholesterol by 3 mg/dL (p = 0.053) versus TLC. The brachial arterial's basal diameter increased with MD but not with TLC. However, with TLC there was a statistically significant reduction of lipid variables: total cholesterol, LDL-cholesterol (p < 0.05) and oxidized LDL (p = 0.009) vs. MD even though the ratio of oxidized / total LDL remained unaltered. Plasma and serum levels of apolipoprotein A-1, lipoprotein(a), glucose, myeloperoxidase, sICAM, sVCAM, and glutathione reduced/oxidized ratio in plasma and erythrocytes

also remained unaltered in both groups. Together, these results demonstrate a pattern of effects of MD and TLCD compatible with cardiovascular risk reduction, in secondary prevention, even in intensely medicated patients. Although these effects were equivalent between MD and TLCD, they seem to be mediated by some common mechanisms, as well as by each diet's specific mechanisms.

Descriptors: 1.Diet, mediterranean 2.Coronary artery disease 3.Atherosclerosis
4.Secondary prevention 5.Cholesterol, LDL 6.Endothelium, vascular 7.Diet

Introdução

A. Introdução

A.1. Aterogênese: Inflamação, Disfunção Endotelial e Desequilíbrio Redox

A aterosclerose é a mais importante dentre as doenças cardiovasculares (Lusis 2000; Libby 2002), com grande repercussão na morbimortalidade e elevado impacto sócio-econômico, tanto em escala mundial como em nosso país. No Brasil, no período de 1979 a 1996, as doenças circulatórias, isquêmicas do coração e cerebrovasculares foram as principais causas de morte em homens e mulheres com mais de 30 anos de idade (Mansur *et al.* 2001).

Aterosclerose é uma doença crônica progressiva e sistêmica, caracterizada por uma resposta inflamatória e fibroproliferativa da parede arterial, causada por agressões à superfície arterial. O papel da inflamação no processo aterosclerótico tem ficado cada vez mais evidente, tanto no estágio inicial da doença quanto na fase progressiva e de complicações (Lusis 2000; Libby *et al.* 2002). O processo inflamatório, por sua vez, está intimamente relacionado à disfunção do endotélio vascular, uma vez que o mais provável evento primário da aterosclerose é uma disfunção da célula endotelial, que permite a adesão e infiltração de monócitos no espaço subendotelial. Esta disfunção endotelial, por sua vez, está estreitamente associada a um desequilíbrio redox. Desta forma, pode-se dizer que o conceito moderno de aterogênese envolve uma tríade interconectada de processo inflamatório, disfunção endotelial e desequilíbrio redox.

A.1.1. Marcadores de inflamação

Marcadores biológicos que revelam inflamação têm sido avaliados como possíveis ferramentas a serem usadas na predição de risco coronariano, entretanto poucos ainda são utilizados na prática clínica (Danesh *et al.* 1998). Por outro lado, há vários marcadores biológicos que provêm importante percepção sobre a fisiopatologia da aterosclerose e portanto, podem ser excelentes ferramentas na pesquisa (Libby 2002). Além do mais, é possível que alguns marcadores biológicos venham a ser comprovados como úteis na demonstração

da eficácia terapêutica ou na predição de grupos de pacientes específicos prováveis de se beneficiarem de determinadas intervenções (Ridker *et al.* 2004). Assim, o conhecimento do processo inflamatório e dos respectivos marcadores na aterosclerose podem trazer informações importantes não só ao tratamento como também à prevenção da doença aterosclerótica (Libby 2002).

Os marcadores gerais mais importantes do processo inflamatório incluem a proteína C-reativa (PCR), amilóide sérica A (SAA) e outros reactantes de fase aguda. Há também marcadores mais específicos do processo inflamatório vascular como as citocinas pró-inflamatórias séricas - interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) - mieloperoxidase, moléculas de adesão como selectinas e molécula de adesão intercelular-1 (Pearson *et al.* 2003). As síndromes coronarianas agudas são acompanhadas de valores aumentados de marcadores como PCR, amilóide sérica, IL-6, que correlacionam-se de maneira direta com prognóstico adverso ligado a maior lesão isquêmica e/ou instabilidade da placa de ateroma (Libby *et al.* 2002). Indivíduos aparentemente saudáveis também podem exibir valores aumentados de certos marcadores inflamatórios, porém esse aumento pode representar valor preditivo para eventos cardiovasculares futuros. Estudos epidemiológicos prospectivos indicaram risco cardiovascular aumentado associado a níveis basais elevados de citocinas como IL-6 e TNF- α e moléculas de adesão celular como ICAM-1 solúveis, selectina P e selectina E e ainda, reactantes de fase aguda como PCR, fibrinogênio e amilóide sérica A (Libby *et al.* 2002). Destes, o valor da PCR foi o melhor caracterizado e, mesmo dentro de uma faixa normal, tem capacidade preditiva para o desenvolvimento de síndromes coronarianas agudas (Liuzzo *et al.* 1994).

A.1.2. Índices de disfunção endotelial

A investigação da função endotelial em humanos e seu potencial papel como fator de risco independente para doenças cardiovasculares tem sido alvo de intensos estudos. Dadas as múltiplas funções do endotélio vascular, estudos de sua função necessariamente devem focalizar aspectos específicos e algo

incompletos. Existe evidência sugestiva, embora seja necessário comprovação em estudos de mais ampla escala, de que estes índices de função endotelial são marcadores independentes de doença vascular (Cai *et al.* 2000).

O principal modo de avaliação da função endotelial é o estudo de sua função vasodilatadora dependente do óxido nítrico (NO[•]). Protocolos com diferentes graus de invasividade foram descritos, nos quais se avalia a capacidade de dilatação de um vaso de condutância (por exemplo, artéria braquial ou coronária) em resposta à infusão de agonistas vasodilatadores dependentes do endotélio, tais como acetilcolina ou serotonina (Deanfield *et al.* 2007). Versões não-invasivas destes testes foram descritas no homem e têm sido cada vez mais utilizadas, inclusive em nossa Instituição. Estas técnicas se baseiam na medida ultrassonográfica do diâmetro da artéria braquial em resposta a vasodilatação mediada pelo aumento de fluxo (portanto, dependente do NO[•] liberado pelo “*shear stress*”) provocado, pela hiperemia reativa secundária à liberação súbita de uma breve oclusão total proximal da artéria braquial (Marques *et al.* 2007).

Em resumo, podemos afirmar que a avaliação da função endotelial, por métodos não invasivos, propicia uma maneira de se analisar um mecanismo importante da fisiopatologia da aterosclerose bem como um marcador da evolução da doença.

A.1.3. Estresse oxidativo e aterosclerose

Estresse oxidativo pode ser definido como a produção excessiva, não-compensada ou descompartimentalizada de espécies reativas derivadas de oxigênio (ERO) (Laurindo *et al.* 2002). O estresse oxidativo pode ser prevenido ou reparado por intervenções que bloqueiam vias metabólicas de geração de ERO ou que simulam ou multiplicam os efeitos de mecanismos antioxidantes de defesa fisiológicos (Laurindo 2003). No vaso, a via final comum do desequilíbrio redox vascular é a redução da bioatividade do óxido nítrico (NO[•]), devido à sua rápida reação com um excesso de radical superóxido (Cai *et al.* 2000). Pode-se assim dizer que a disfunção endotelial é essencialmente uma disfunção do equilíbrio redox vascular. O estresse oxidativo pode contribuir para a gênese da

aterosclerose em dois contextos: a) Teoria oxidativa da aterogênese; b) Desequilíbrio da sinalização redox de processos celulares.

A.1.3.1. Teoria oxidativa da aterogênese

A teoria oxidativa da aterogênese originou-se de estudos que mostraram a importância de modificações químicas nas lipoproteínas para sua captação por macrófagos e formação das células espumosas, evento inicial da placa aterosclerótica (Brown *et al.* 1981). Estudos posteriores sugeriram que a oxidação é uma modificação potencialmente relevante para o papel aterogênico da LDL corroborando a teoria oxidativa da aterogênese (Stocker *et al.* 2004).

Diversos graus de oxidação da LDL podem existir, variando desde peroxidação de alvos fosfolipídicos específicos na superfície da partícula (a chamada “LDL minimamente oxidada”) até extensa oxidação dos lípidos internos e das proteínas da partícula. Como consequência da propagação destes processos, ocorre um acúmulo de subprodutos tóxicos, tais como os aldeídos malondialdeído, 4-hidroxinonal e outros (Stocker *et al.* 2004). Ácidos graxos poliinsaturados, isto é, aqueles com maior número de duplas ligações, como por exemplo, o ácido linolênico, são mais suscetíveis à oxidação do que os monoinsaturados (como por exemplo, o ácido oléico) (Schwab *et al.* 1998).

Alguns dos principais efeitos da LDL oxidada são: a) Retenção no espaço subendotelial; b) Recrutamento e quimiotaxia de monócitos/macrófagos; c) Ativação de monócitos/macrófagos e células musculares lisas, a qual induz a captação intracelular da LDL através dos receptores “*scavenger*”, formando as “células espumosas”; d) Toxicidade para células endoteliais; e e) Estímulo à produção excessiva de radicais superóxido por células endoteliais (Stocker *et al.* 2004).

Diversos estudos experimentais e clínicos avaliaram o efeito de antioxidantes na aterosclerose. Após angioplastia, ácido ascórbico (vitamina C), alfa-tocoferol (vitamina E) e probucol mostraram-se eficientes na redução do tamanho da neointima ou remodelamento vascular constrictivo em modelos experimentais (Leite *et al.* 2004), enquanto estudos clínicos mostraram efeito consistente do antioxidante probucol, mas não de compostos multivitamínicos. Na

aterosclerose, inúmeros estudos experimentais têm documentado reversão, por estratégias antioxidantes, da disfunção endotelial, extensão da placa, produção aumentada de radical superóxido, infiltração de macrófagos e ativação celular. No homem, antioxidantes consistentemente ampliam os efeitos benéficos de hipolipemiantes na melhora da disfunção endotelial vasomotora e de marcadores de inflamação. Entretanto, vários estudos clínicos com prevenção da doença arterial coronariana têm promovido resultados inconsistentes ou negativos (Steinhubl 2008).

A.1.3.2. Desequilíbrio da sinalização redox

Sinalização redox é a transdução de sinais de processos celulares nas quais os elementos integrativos são reações de transferência de elétrons envolvendo radicais livres ou espécies relacionadas, metais ativos em sistemas redox (ex: ferro, cobre, etc.) ou equivalentes redutores. Um exemplo de equivalente redutor é o átomo de hidrogênio (que tem um próton e um elétron) doado por substratos redutores como o NADPH, glutathiona reduzida (GSH) ou proteínas com grupos tiol (RSH) (Laurindo 2003). Em condições normais, níveis controlados, regulados ou compartimentalizados (em um microambiente celular específico) de ERO exercem função de segundos mensageiros de processos celulares vitais para as constantes adaptações fisiológicas celulares. Entretanto, a produção excessiva, não-compensada ou descompartimentalizada de ERO leva à toxicidade. Os mecanismos pelos quais espécies químicas extremamente simples podem exercer efeitos celulares específicos e sofisticados não são completamente compreendidos e podem depender da complexidade química dos alvos controlados por grupos tiol, bem como de sua distribuição por subcompartimentos celulares e interação entre proteínas (Forman *et al.* 2004).

Na aterosclerose, ocorrem vários eventos biológicos celulares como proliferação, migração, diferenciação e apoptose. Estes eventos podem ser mediados por alterações da sinalização redox. Deste modo, processos redox podem interferir na aterosclerose não apenas no contexto da teoria oxidativa da aterogênese, mas, talvez de forma ainda mais importante, como segundos

mensageiros das alterações celulares desta doença. Neste sentido, pode-se argumentar que o efeito teórico de antioxidantes exógenos faz grande sentido no caso da teoria oxidativa da aterogênese devido à acessibilidade e ao caráter químico relativamente simples da oxidação da partícula de LDL. Ao contrário, a intervenção antioxidante dos eventos de sinalização redox é bem mais complexa e lida com compartimentos subcelulares pouco acessíveis e com fenômenos bem mais auto-regulados. Neste contexto, o desenho ideal de uma terapêutica que restaure o equilíbrio redox está longe de ser atingido. Existe, portanto, amplo espaço para o teste de intervenções dietéticas inovadoras, já que tais intervenções tendem a mostrar eficácia em estudos epidemiológicos de prevenção.

A.1.3.3. Marcadores do estresse oxidativo

A busca por marcadores do estresse oxidativo em humanos permanece um alvo de ativa investigação. A própria multiplicidade de diferentes índices indica que nenhum deles é perfeitamente adequado sob todos os aspectos, como sumarizado em revisões recentes (Tarpey *et al.* 2001; Griendling *et al.* 2003; Griendling *et al.* 2003; Ridker *et al.* 2004). Dentre vários marcadores propostos, os níveis plasmáticos de glutathione, bem como a razão glutathione reduzida/oxidada (GSH/GSSG) podem fornecer dados indicadores de disfunção endotelial. Recente trabalho mostrou que a razão da glutathione reduzida varia com a idade de uma maneira compatível com o início da doença vascular (Jones *et al.* 2000). A glutathione é um tripeptídeo contendo uma cisteína redox-ativa e compreende 90% do tiol não-proteico intracelular, compartimento no qual chega a atingir concentrações milimolares. No plasma, as concentrações são geralmente em torno de micromolar. Ao contrário do compartimento intracelular predominantemente redutor, no qual a razão GSH/GSSG é 20-100, no plasma esta razão é cerca de 2-3. (Jones *et al.* 2000).

Diversos índices de avaliação do estado redox analisam subprodutos da lipoperoxidação não enzimática. Tais testes incluem a medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), dienos conjugados, aldeídos tóxicos

como 4 hidroxinonenal e malonildialdeído (MDA). Este último pode ser analisado por vários métodos, incluindo HPLC. Estudos da capacidade antioxidante do plasma têm sido propostos em inúmeros trabalhos, porém em nossa experiência estão associados a uma significativa variabilidade.

Recentemente, demonstrou-se correlação entre níveis plasmáticos de mieloperoxidase (Brennan *et al.* 2003) e níveis eritrocitários de glutathione peroxidase (Blankenberg *et al.* 2003), duas enzimas ligadas ao equilíbrio redox, com eventos coronarianos.

Podemos afirmar, portanto, que desequilíbrios da sinalização redox desempenham crucial papel na fisiopatologia da aterosclerose e marcadores dessa disfunção podem ser importantes para avaliação clínica dos pacientes com a doença.

A.2. Aterosclerose e Dieta

A progressão da aterosclerose pode ser cessada ou significativamente reduzida, inclusive com regressão de algumas lesões (Paoletti *et al.* 2004; Hansson 2005). Redução dos eventos cardíacos tem sido demonstrada com terapia intensiva através de medicamentos que reduzem os lipídeos sanguíneos tanto em pacientes que já sofreram um evento cardíaco, como naqueles sem eventos cardíacos prévios (Karalis 2009). Além da terapia medicamentosa, mudanças no estilo de vida também têm sido enfatizadas como importantes no tratamento e prevenção de eventos coronarianos, especialmente uma dieta adequada, controle de peso (perda de peso), cessação do hábito de fumar e exercício físico, através da redução dos fatores de risco da doença arterial coronariana (Lichtenstein *et al.* 2006).

Recente estudo populacional, com 18.809 pacientes pós-síndrome coronariana aguda, mostrou que a aderência a estilos de vida saudáveis como dieta, exercício e cessação do hábito de fumar estão associados à redução do risco de recorrência de eventos cardiovasculares. Pacientes que aderiram à dieta e ao exercício físico tiveram redução de 50% no risco de desenvolver evento cardiovascular em 6 meses, comparado com pacientes não-aderentes (Chow *et al.* 2010).

A relação entre fatores dietéticos e doença arterial coronariana tem sido um dos principais focos da pesquisa clínica por aproximadamente meio século. Dentre os fatores dietéticos, a gordura e o colesterol têm tido um papel de destaque na influência do risco de doenças cardiovasculares através de efeitos nos lípidos sanguíneos, trombose, pressão sanguínea, função arterial (endotelial), arritmogênese e inflamação (WHO 2003). Existem evidências de que, mais do que a quantidade total de gordura, especificamente o grau de saturação dos ácidos graxos dietéticos tenha maior influência no risco cardiovascular do que a gordura total da dieta (Ascherio 2002; WHO 2003). O Estudo dos Sete Países foi o primeiro entre importantes investigações epidemiológicas a colocar a hipótese sobre o papel da dieta na aterosclerose, em especial os lipídeos (Keys *et al.*

1986). Os resultados desse estudo mostraram que os ácidos graxos saturados têm um papel importante no aumento do colesterol sérico (Shaper 1996). Dentre os ácidos graxos que compõem a gordura total dietética, os saturados, especialmente aqueles com 12 a 16 carbonos e os ácidos graxos trans são os que têm maior efeito na elevação dos níveis de LDL colesterol. Os ácidos graxos saturados mirístico e palmítico são os que têm maior efeito no aumento do LDL-C em relação aos demais saturados e suas fontes principais são a gordura do leite integral e derivados, além das carnes (WHO 2003).

Quanto aos ácidos graxos trans, vários estudos de coorte têm mostrado que sua ingestão aumenta o risco de doenças coronarianas e têm sido considerados até mais aterogênicos do que os saturados, pois além de elevar a fração LDL-C, diminuem o HDL-C, conforme alguns estudos metabólicos (WHO 2003). Os ácidos graxos trans são encontrados principalmente em margarinas, produtos industrializados como bolachas, biscoitos, sorvetes, petiscos, produtos de padaria e ainda frituras ou alimentos similares preparados em restaurantes.

A *American Heart Association* (AHA), através de suas diretrizes dietéticas periódicas, tem focado na redução do consumo de gordura saturada, trans e colesterol e aumento da ingestão de fibras dietéticas para promoção de hábitos alimentares saudáveis. Todas as suas orientações têm incentivado o consumo de dietas ricas em frutas, vegetais, grãos integrais, leite e derivados com baixo ou nenhum teor de gordura, peixes, leguminosas, frango e carnes magras.

Estudos epidemiológicos e populacionais têm relatado que alguns micronutrientes como as vitaminas antioxidantes E, C e beta-caroteno podem ser benéficos na redução do risco de doenças cardiovasculares. Esses achados têm sido apoiados por estudos demonstrando o papel do estresse oxidativo no desenvolvimento da placa aterosclerótica e que tal evento oxidativo possa, talvez, ser inibido por antioxidantes. Assim, desde 1999, a AHA tem recomendado o consumo de uma dieta balanceada com ênfase em frutas, vegetais e grãos integrais ricos em antioxidantes e atualmente, também de nozes. Porém, o uso de suplementos vitamínicos antioxidantes para redução do risco de doenças

cardiovasculares é desaconselhado, uma vez que não há dados científicos suficientes que justifiquem essa indicação (Bjelakovic *et al.* 2008).

A.2.1. A Dieta TLC

É um modelo dietético que visa à redução dos lípides séricos. A dieta TLC (*Therapeutic Lifestyle Changes*) faz parte de um conjunto de recomendações denominado *Therapeutic Lifestyle Changes* proposto pelo *US National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATPIII 2001). Esse programa é destinado a indivíduos de alto risco ou que já apresentam a DAC e portanto, a dieta TLC veio substituir a dieta fase II (*step II diet*) do antigo US NCEP-ATP II (1993). A dieta TLC tem como características principais orientação de ingestão de ácidos graxos saturados abaixo de 7% do valor calórico total e do colesterol dietético abaixo de 200mg/ dia. O parâmetro máximo de ingestão de lipídeos totais foi ampliado em 5% em relação ao NCEP-ATP II de 30% (1993), recomendando-se atualmente consumir entre 25 e 35% das calorias totais (VCT) na forma de lipídeos. Desse total, orienta-se priorizar os ácidos graxos insaturados e diminuir os ácidos graxos saturados e trans (NCEP-ATPIII 2001). O objetivo desse novo padrão máximo de gordura total de 35% do VCT é tentar manter a porcentagem de carboidratos da dieta abaixo de 60%, o que pode ser útil na diminuição dos níveis de triglicérides e no aumento dos níveis de HDL-colesterol (NCEP-ATPIII 2001; Ernst *et al.* 2002). Resultados de uma meta-análise (Mensink *et al.* 1992) mostraram que, conforme diminui-se o teor de gordura total de uma dieta, diminui-se também os valores séricos de colesterol total e da fração LDL-C dos indivíduos porém, essa manobra dietética resulta em elevação dos níveis de triglicérides e diminuição dos níveis de HDL-C sanguíneos. Esses efeitos adversos tornam-se mais pronunciados conforme a quantidade de gordura dietética é reduzida (Sacks *et al.* 2002).

Além da modulação dietética através dos lipídeos, a dieta TLC preconiza ingestão de fibras solúveis e fitosteróis como potencializadores na diminuição da fração LDL-C. Paralelamente às características nutricionais dessa dieta, orienta-se

o seguimento das orientações dietéticas gerais americanas de 2000 (USDA *et al.* 2000).

O US NCEP-ATP-III coloca a aderência às orientações dietéticas e de estilo de vida como cruciais para a obtenção dos resultados esperados na diminuição dos riscos de doença cardiovascular (Nancy *et al.* 2002). Estudos sobre a aderência da dieta NCEP, principalmente com relação à dieta TLC são ainda escassos. O “*Women's Health Initiative Observational Study*” aponta algumas possíveis razões para a baixa aderência às recomendações do NCEP, entre elas a incapacidade dos indivíduos em entender a dieta e a resistência em modificar o padrão dietético usual (Hsia *et al.* 2002).

A.2.2. A Dieta Tipo Mediterrânea

A Organização Mundial de Saúde, nas “Recomendações para Prevenção de Doenças Cardiovasculares” (WHO 2003), coloca que o consumo de frutas, vegetais, peixes e óleos de peixes (ácido eicosapentaenóico e docosahexaenóico), alimentos ricos em ácido linoléico e em potássio, e a ingestão moderada de álcool têm evidências de associação com diminuição do risco cardiovascular. Além disso, considera os ácidos graxos saturados palmítico e mirístico, os ácidos graxos trans, ingestão excessiva de álcool e de sódio como fatores que aumentam o risco dessas doenças. Fatores dietéticos como o ácido oléico, fibras solúveis, cereais integrais, nozes cruas, folatos, esteróis e estanois vegetais têm sido considerados como fatores com prováveis evidências de diminuição do risco cardiovascular (FAO/WHO 2003).

Muitos dos fatores dietéticos citados acima pela Organização Mundial de Saúde (FAO/WHO 2003) como favoráveis ou provavelmente favoráveis na diminuição do risco cardiovascular estão presentes no padrão dietético denominado mediterrâneo ou dieta Mediterrânea. Esse conceito de dieta originou-se no Estudo dos Sete Países iniciado por Ancel Keys na década de 1950 (Keys *et al.* 1966), quando este se mostrou impressionado com as baixas taxas de doença coronariana na região Mediterrânea comparadas a de outros países. Keys e seus colaboradores identificaram então alguns fatores de risco coronarianos

inclusive dietéticos em aproximadamente 13000 homens de meia-idade em 7 países, distribuídos entre 16 coortes (Keys *et al.* 1986). Os resultados desse Estudo dos Sete Países mostraram forte evidência epidemiológica dos efeitos da gordura e de vários ácidos graxos nas concentrações séricas de colesterol e no risco de doenças coronarianas e, desde então o papel da dieta no risco coronariano tem sido cada vez mais comprovado. Porém, a primeira evidência clínica apoiando os benefícios da dieta do Mediterrâneo veio em 1999, com o Estudo da Dieta do Coração de Lyon (de Lorigeril *et al.* 1999), onde verificou-se após 46 meses de pesquisa que os indivíduos que consumiram uma dieta “tipo-Mediterrânea” tiveram redução de 50 a 70% na incidência de eventos coronarianos e de mortalidade total (Nestle 1995; Robertson *et al.* 2001; Hu 2003).

A dieta do Mediterrâneo tradicional refere-se a um padrão dietético típico de países que cercam a região Mediterrânea e portanto, tem algumas pequenas variações dentro desse padrão. Ela tem como características principais a alta proporção de frutas frescas (sendo, em geral, a base das sobremesas), vegetais, pães, cereais, batatas, nozes, leguminosas, sementes, o azeite de oliva (rico em ácido graxo monoinsaturado) como principal fonte de gordura e moderada proporção de alimentos como peixes, aves e os lácteos e derivados. As carnes vermelhas, alimentos ricos em ácido graxo saturado, compõem a dieta apenas algumas vezes ao mês e os ovos estão presentes numa quantidade de 3-4 unidades por semana. Essa dieta caracteriza-se também pelo consumo de vinho diário, junto às refeições, em baixas a moderadas quantidades. Os valores nutricionais atribuídos à dieta do mediterrâneo tradicional são gordura saturada, entre 7 e 8% do valor calórico total (VCT) da dieta e a ingestão de gordura total entre 30 e 38% do VCT, dependendo da região avaliada (Dietary fat consensus statements 2002). Vários componentes dietéticos da dieta do mediterrâneo tradicional fazem parte das orientações para prevenção de doenças cardiovasculares da OMS (FAO/WHO 2003) como o consumo de frutas, vegetais, peixes, alimentos ricos em ácido linoléico e em potássio e ingestão moderada de álcool. Cada um desses componentes dietéticos tem sido extensivamente

estudado com relação ao risco cardiovascular (Katan *et al.* 1995; Tavani *et al.* 1995), inclusive a ingestão moderada de álcool (Rimm *et al.* 1995).

Tem-se mostrado que o consumo moderado de álcool aumenta as concentrações de HDL-C e que o vinho se destaca entre as bebidas alcoólicas, mostrando menor taxa de mortalidade cardiovascular do que o consumo equivalente de cerveja ou bebidas destiladas (Ferrieres 2004). Alguns resultados de estudos *in vitro* mostraram uma inibição da oxidação do LDL-C pelos flavonóides derivados do vinho tinto e resultados de estudos clínicos em homens, mostraram a redução da susceptibilidade do plasma humano e da peroxidação lipídica ao LDL nos indivíduos que consumiram vinho tinto junto às refeições (Ferrieres 2004). Os flavonóides, conforme algumas evidências, podem influenciar muitos fatores que participam na formação e evolução das placas ateroscleróticas. Dados epidemiológicos e experimentais apontam nessa direção, porém os mecanismos envolvidos em tais efeitos protetores somente têm sido explorados recentemente. Tem-se proposto que os flavonóides do vinho tinto podem diminuir a produção de endotelina-1, bloquear a expressão do fator de transcrição pró-inflamatório NF- κ B e aumentar a secreção de NO[•] pelas células endoteliais. Em suma, os mecanismos envolvidos nos efeitos do vinho tinto na aterosclerose estão relacionados principalmente aos flavonóides e incluem a proteção das células endoteliais, antioxidação, inibição da ativação plaquetária, mecanismos celulares e aumento do HDL (DaLuz *et al.* 2004).

Com relação ao consumo de álcool, resultados clínicos em humanos têm mostrado uma curva em forma de J, indicando que o efeito protetor das bebidas está relacionado somente à ingestão de álcool em leve a moderada quantidade, por exemplo, 1-2 doses / dia (30g de álcool, dia). Os indivíduos que se abstêm de álcool parecem não ter benefícios com esse comportamento e aqueles que consomem 60g / dia de álcool ou mais, têm aumento na mortalidade bem como consequências inaceitáveis associadas com o alcoolismo como acidentes, vários tipos de câncer gastrointestinal ou problemas sociais.

Segundo revisão de Serra-Majem, é crescente o número de publicações envolvendo o padrão dietético mediterrâneo desde 1994 (Serra-Majem *et al.*

2006). Em especial, destacam-se estudos associando a dieta Mediterrânea à diminuição na mortalidade e número de eventos cardiovasculares. Destaque-se, por exemplo, o estudo Hale (Knoops *et al.* 2004), que documentou redução em cerca de 50% da mortalidade global por todas as causas em idosos acompanhados por um período de 10 anos que tinham elevados escores de aderência à dieta tipo Mediterrânea, somado a outras modificações do estilo de vida. Outros exemplos clássicos são os *Estudos de Lyon*, *Gissi Prevenzione* e *Indo-Mediterranean Diet* que destacam o papel da dieta Mediterrânea na redução do número de desfechos clínicos cardiovasculares através de ensaios randomizados, controlados e com grande número amostral (Parikh *et al.* 2005). No entanto, apesar de crescente, a produção de ensaios clínicos ainda é escassa (Serra-Majem *et al.* 2006), principalmente estudos de intervenção com aplicação do padrão mediterrâneo integral. Consequentemente, são também escassos estudos clínicos que investiguem os mecanismos pelos quais a dieta Mediterrânea exerce seus efeitos cardioprotetores, especialmente estudos dietéticos comparando o padrão mediterrâneo a um padrão dietético hipolipemiante tradicional, como a dieta TLC, antiga *step II diet* das Diretrizes Americanas de Colesterol (NCEP/ATP 2001).

Em resumo, a dieta do mediterrâneo têm sido amplamente estudada do ponto de vista epidemiológico mas o efeito da mesma nos processos de inflamação, disfunção endotelial e do estresse oxidativo, em pacientes de prevenção secundária, sob medicação e após evento coronariano, ainda está incompletamente elucidado.

Objetivos

B. Objetivos

O objetivo amplo deste estudo é a investigação de efeitos plenos e de mecanismos ateroprotetores potenciais de uma estratégia otimizada de dieta tipo Mediterrânea na prevenção secundária da doença arterial coronariana.

Os objetivos específicos são:

1. Avaliar o efeito de uma intervenção por 3 meses com dieta Mediterrânea em marcadores de risco cardiovascular, na função endotelial, indicadores de processos inflamatórios e equilíbrio redox. O estudo compreende um desenho não randomizado, com foco na aderência otimizada à dieta, em população selecionada de pacientes intensamente medicados, após evento coronariano recente.
2. Comparar os efeitos da dieta Mediterrânea a um grupo controle sob dieta tradicional TLC (*“Therapeutic Lifestyle Changes”*, do *National Cholesterol Education Program – ATP III / NIH*), orientado sob as mesmas estratégias de intervenção utilizadas para o grupo experimental.

Métodos

C. Casuística e Métodos

C.1. Pacientes estudados

Integraram a casuística deste estudo 40 pacientes do sexo masculino, com história prévia de insuficiência coronariana, provenientes dos consultórios particulares e conveniados do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HCFMUSP). Todos os pacientes selecionados apresentaram, nos 4 a 24 meses anteriores à participação no estudo, algum evento isquêmico coronariano: infarto agudo do miocárdio ou angina instável, tendo sido tratados com revascularização cirúrgica do miocárdio não complicada, ou angioplastia com colocação ou não de stents.

C.2. Seleção e critérios de elegibilidade

Os pacientes foram selecionados de modo contínuo, no período de Janeiro de 2006 a Julho de 2008. A opção por selecionar pacientes provenientes dos consultórios foi resultante de um estudo piloto, realizado em 2005, onde verificamos que, comparados aos pacientes do Ambulatório Geral do InCor, os pacientes dos consultórios apresentavam maior probabilidade de aquisição dos alimentos fundamentais das dietas Mediterrânea e TLC e portanto, maior probabilidade de aderência aos modelos dietéticos de nosso estudo. Além disso, devido à estratégia de fornecimento de alguns alimentos característicos de ambas as dietas estudadas, consideramos eticamente questionável o fato potencial de suspender esses alimentos fornecidos ao final dos 3 meses de intervenção, em especial para os pacientes sem possibilidades econômicas de manterem a aquisição.

Efetuamos a triagem dos pacientes através da verificação diária de prontuários temporariamente arquivados para as consultas médicas do dia seguinte. Após verificação de todos os prontuários, eram selecionados e analisados os que preenchiam critérios de inclusão/exclusão do estudo. Na pré-consulta médica, o paciente selecionado era entrevistado e submetido a um breve questionário sobre hábitos alimentares que pudessem influenciar negativamente

na aderência às dietas de intervenção, tais como: aversão ao consumo de cremes vegetais tipo margarina, histórico de alergia alimentar, uso de óleos vegetais, aversões e preferências alimentares e consumo de bebida alcoólica (Anexo A). Em seguida, após consentimento do médico responsável pelo paciente, este era convidado para o estudo, agendado para a avaliação inicial e orientado quanto aos procedimentos da investigação. Em particular, histórias prévias de tabagismo e alcoolismo eram re-analisadas em conjunto com o médico.

C.2.1. Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo os pacientes que preenchiam os seguintes critérios:

- idade entre 45 - 65 anos;
- índice de massa corporal entre 18.5 – 30.0 kg/m²;
- não-fumantes ou ex-fumantes por, no mínimo, 1 ano;
- glicemia de jejum < 110 mg/dL;
- praticantes ou não de exercício físico moderado,
- pacientes nos quais não se antecipou a necessidade de alterações no tipo e dosagem de medicamentos hipolipemiantes durante o estudo, de acordo com o médico responsável.

Cabe ressaltar que foram aceitos pacientes que estavam em uso de estatina em doses suficientes para manter os lípides séricos nos limites estabelecidos pelas *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia*, uma vez que o uso clínico das estatinas é hoje praticamente estabelecido como rotina (Sposito *et al.* 2007).

C.2.2. Critérios de Exclusão

Foram excluídos os pacientes que apresentavam ao menos um dos seguintes critérios:

- diagnóstico de evento coronariano agudo recente (< 4 meses da entrada no estudo) ou complicações pós-operatórias;

- níveis de triglicérides > 310 mg/dL;
- níveis de LDL-C > 190 mg/dL;
- histórico de diabetes, doenças crônicas: renais (creatinina \geq 2.0 mg/dL), hepáticas (enzimas hepáticas 1.5 vezes o valor máximo), neoplásicas ou inflamatórias;
- histórico de alergia alimentar que pudesse interferir na intervenção dietética;
- ingestão habitual de álcool acima de níveis moderados (consumo diário \geq 250 ml de vinho, 350 ml de cerveja ou 40 ml de bebida destilada) (NCEP/ATP 2001);
- impossibilidade de comparecimento aos agendamentos do estudo por quaisquer motivos;
- restrições alimentares severas por crenças religiosas, tabus ou modismos alimentares que pudessem interferir no estudo;
- diagnóstico de insuficiência cardíaca de repercussão clínica;
- quaisquer intercorrências que provocassem necessidade de alterações do tipo ou dosagem da medicação durante qualquer fase do estudo.

O acompanhamento adequado dos critérios de elegibilidade foi realizado por meio de orientação ao paciente para comunicação de eventuais alterações de medicação e/ou intercorrências clínicas, assim como acompanhamento continuado dos pacientes em suas respectivas consultas clínicas de rotina durante a permanência no protocolo, incluindo contato com o médico e reavaliações do prontuário.

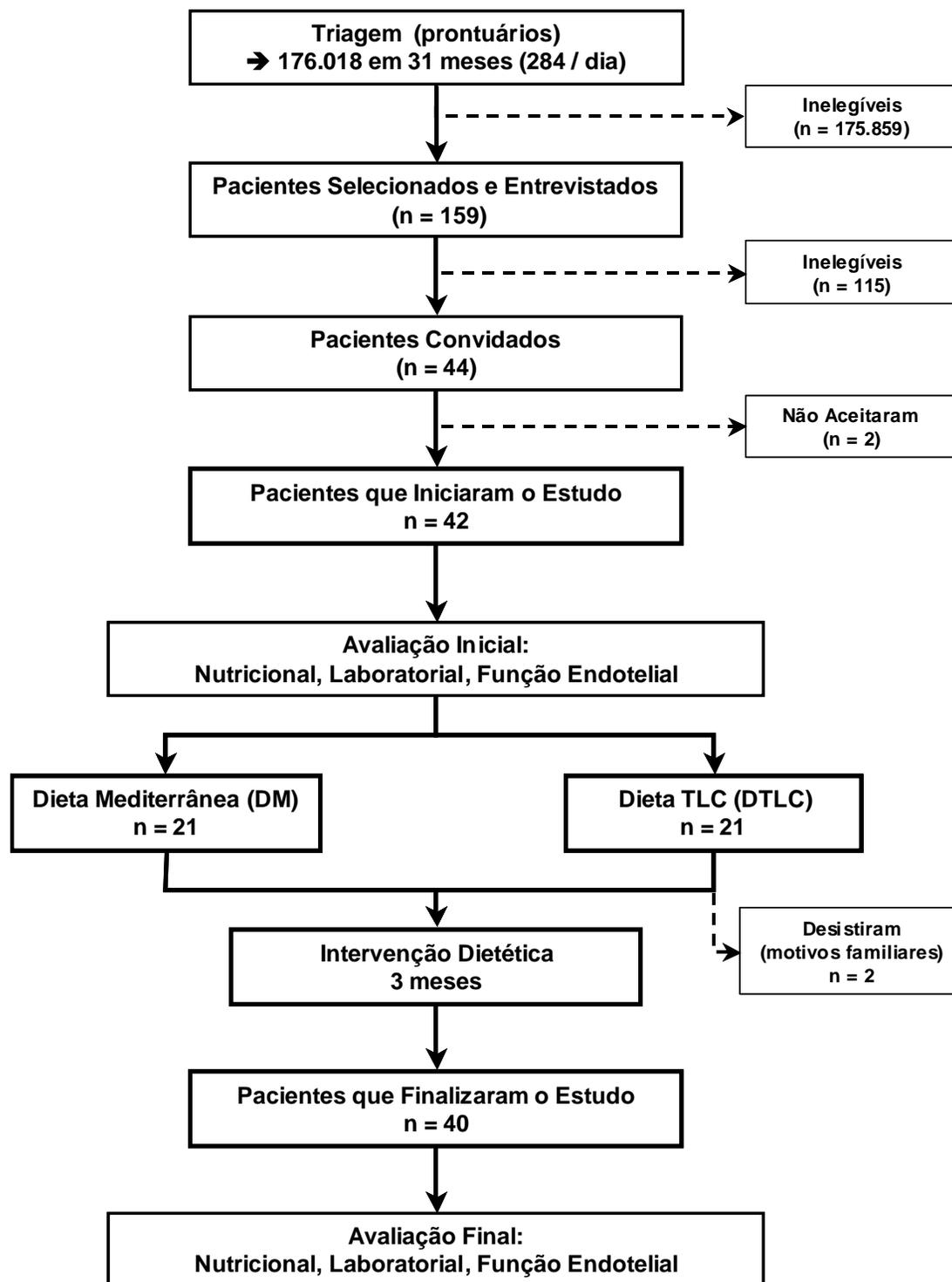
C.3. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Os pacientes somente formalizaram sua adesão ao estudo após explicação detalhada dos procedimentos e objetivos do mesmo e, mediante leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição sob número SDC 2615/05/035 (Anexos B e C).

C.4. Desenho do Estudo

Este foi um estudo clínico prospectivo, controlado, não randomizado.

Fluxograma 1: Desenho experimental do estudo



C.5. Etapas de desenvolvimento do estudo:

O estudo compreendeu 4 etapas: seletiva, avaliação inicial, intervenção dietética (3 meses) e avaliação final, que estão descritas detalhadamente a seguir:

C.5.1. Fase seletiva

C.5.2. Avaliação inicial

C.5.2.1. Avaliação laboratorial

C.5.2.2. Avaliação da função endotelial

C.5.2.3. Avaliação nutricional

C.5.2.3.1. Avaliação antropométrica e composição corporal

C.5.2.3.2. Avaliação do consumo alimentar

C.5.2.3.2.1. Anamnese nutricional

C.5.2.3.2.2. Recordatório de 24 horas

C.5.2.3.2.3. Questionário de frequência alimentar

C.5.2.3.2.4. Registro alimentar

C.5.3. Intervenção dietética

C.5.3.1 Características nutricionais da Dieta Mediterrânea (DM) e Dieta TLC (DTLC)

C.5.3.1.1. Dieta Mediterrânea

C.5.3.1.2. Dieta TLC

C.5.3.1.3 Resumo das características nutricionais da DM e DTLC adotadas em nosso estudo

C.5.3.2 Acompanhamento dietético

C.5.3.3 Fornecimento de alimentos específicos à DM e à DTLC

C.5.4 Avaliação final

C.5.1. Fase Seletiva

A fase seletiva, conforme descrita anteriormente, compreendeu os processos de triagem, seleção, convite e agendamento dos pacientes para a avaliação inicial.

C.5.2. Avaliação Inicial

A avaliação inicial compreendeu, primeiramente, a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo paciente e pesquisador (Anexo B). Em seguida, foram efetuados: exame de reatividade vascular, coleta de sangue e avaliação nutricional. Até esta etapa, o paciente não tinha conhecimento sobre qual grupo de intervenção participaria, nem sobre os tipos e componentes das dietas deste estudo. A informação sobre o grupo dietético escolhido foi fornecida somente no dia da primeira orientação nutricional. O conhecimento dos procedimentos e composição dietética do grupo distinto daquele no qual o paciente participava foram mantidos em sigilo até o final do protocolo.

C.5.2.1. Avaliação Laboratorial

A coleta de sangue venoso periférico foi realizada após 12 horas de jejum, em 2 momentos do estudo: na avaliação inicial e na avaliação final, após os 3 meses de intervenção dietética. As variáveis analisadas e procedimentos técnicos pertinentes estão descritos no item C.6. página 56.

C.5.2.2. Avaliação da Função Endotelial

A avaliação da função endotelial foi realizada por teste não-invasivo da reatividade vascular no Laboratório de Aterosclerose do InCor e encontra-se descrita no item C.7. página 60.

C.5.2.3. Avaliação Nutricional

C.5.2.3.1. Avaliação Antropométrica e Composição Corporal

Foram realizadas medidas antropométricas de peso e estatura e o cálculo do índice de massa corporal (Gibson 1990). O IMC (também denominado índice de *Quetelet*) é bem estabelecido na literatura e expressa a relação entre peso (kg) e estatura por metro quadrado (kg/m^2), correlacionando-se fortemente à quantidade de gordura corporal, bem como ao risco cardiovascular (Han *et al.* 2006). Selecionamos os pacientes que tinham índice de massa corporal classificados como normal ou sobrepeso, de acordo com critérios estabelecidos na literatura e descritos na tabela 1 (FAO/WHO 2003).

Tabela 1: Classificação do peso em relação à estatura segundo o IMC

Classificação	IMC (kg/m^2)
Abaixo do peso	< 18.5
Normal	18.5 – 24.9
Sobrepeso	25.0 – 29.9
Obesidade (classe I)	30.0 – 34.9
Obesidade (classe II)	35.0 – 39.9
Obesidade extrema (classe III)	≥ 40

Fonte: (FAO/WHO 2003)

Os dados de peso e estatura foram mensurados através de balança digital comercializada por *Welmy* (capacidade máxima de 200 kg e precisão de 0.1 kg) e estadiômetro (precisão 0.5 cm), de uso restrito à pesquisa clínica e aferidos regularmente. A coleta dos dados antropométricos foi efetuada com o paciente vestindo roupa leve, porém, sem camisa/blusa e sapatos. Além de peso e estatura, coletamos dados da circunferência abdominal e quadril. A circunferência abdominal (em cm) é uma ferramenta clínica importante e de baixo custo/benefício destinada a avaliar a gordura abdominal, havendo associação direta entre risco de doença cardiovascular e gordura abdominal. A técnica utilizada para aferição da

circunferência abdominal em nossos pacientes consistiu de detecção do ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca e, posterior aferição neste ponto médio, com fita específica, de fibra de vidro, flexível, sem elasticidade (Gibson 1990). A circunferência do quadril (em cm) foi coletada através de aferição da maior circunferência da região do quadril, também com mesma fita descrita acima. Estes dados nos permitiram o cálculo do índice abdômen/quadril (IAQ), utilizado em estudos epidemiológicos e associado ao risco aumentado de doença arterial coronariana, diabetes e hipertensão (Lean *et al.* 1995).

Para auxiliar na determinação da composição corporal dos pacientes, coletamos dados de espessura de 5 dobras cutâneas localizadas nas regiões abdominal, supra-ilíaca, tríceps, bíceps e subescapular (Han *et al.* 2006). Estas medidas foram obtidas por meio de 3 leituras não consecutivas da espessura de cada dobra cutânea (Gibson 1990), utilizando-se compasso para aferição de dobras cutâneas *Lange®*. Para análise destas, utilizamos a somatória das medianas de cada dobra cutânea e comparamos os dados pré e pós-intervenção dietética (Costa 2001).

C.5.2.3.2. Avaliação do Consumo Alimentar

C.5.2.3.2.1. Anamnese Nutricional

A anamnese nutricional (Anexo D) foi utilizada com a finalidade de avaliar a qualidade da dieta do paciente e de seu estilo de vida. Este método consiste de informações sobre o número, horário e local das refeições; apetite; preferências e restrições alimentares; uso de adoçantes dietéticos; alimentos industrializados, *diet/light* e suplementos nutricionais e, frequência no consumo de determinados alimentos. Além da coleta dos dados alimentares, esse tipo de entrevista também nos permite gerar informações acerca da rotina de vida, uso de medicamentos, prática de exercícios físicos que nos auxiliam na melhor compreensão da rotina de vida do paciente e posterior orientação nutricional (Gibson 1990). Com o objetivo de conhecer e estimar a ingestão atual de alimentos dos pacientes em valores

absolutos de energia e nutrientes, utilizamos os seguintes métodos de consumo alimentar:

C.5.2.3.2.2. Recordatório de 24 horas

Este método foi aplicado em todos os pacientes no dia da avaliação inicial e nas consultas de seguimento, com o objetivo de melhorar a precisão das informações dietéticas coletadas. O método de 24 horas consiste em definir e quantificar todas as bebidas e alimentos consumidos nas 24 horas prévias à data da entrevista (Gibson 1990).

C.5.2.3.2.3. Questionário de Frequência Alimentar

O questionário de frequência alimentar (Anexo E), foi utilizado para agregar informações sobre o padrão alimentar usual do paciente no momento basal. Este método, adaptado ao nosso estudo, consistiu de extensa lista de alimentos agrupados de acordo com características nutricionais específicas e associados à frequência de consumo (Gibson 1990).

C.5.2.3.2.4. Registro Alimentar

O registro alimentar foi outro método utilizado para obter informações quantitativas acerca da ingestão alimentar e agregar dados sobre o hábito alimentar recente do paciente (Anexo F). Este método compreende a anotação, em impresso específico, de todos os alimentos consumidos ao longo dos dias estipulados, inclusive aqueles consumidos fora da residência. No presente estudo, foram solicitados aos pacientes os registros alimentares de 4 dias alternados, sendo 2 dias de semana, preferencialmente não consecutivos, e 2 dias relativos a um final de semana completo (sábado e domingo), em datas previamente especificadas. A solicitação e orientação sobre o preenchimento adequado dos registros alimentares foram efetuadas no dia da avaliação inicial, verbalmente e por escrito (Anexo G). Os pacientes foram também orientados a enviarem os registros via e-mail ou correio, antes da orientação dietética. Os cálculos e

análises dos registros alimentares e do recordatório de 24 horas da avaliação inicial foram realizados com o auxílio do software de nutrição *Food Processor® version 10.5.0* (ESHA® Research, USA). Para a adequada utilização deste software numa população brasileira, acrescentamos 495 alimentos da 2ª edição da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) (NEPA-UNICAMP, 2006) à base de dados do software *Food Processor®*, com o objetivo de garantir a análise dos nutrientes provenientes de alimentos nacionais e regionais típicos do hábito alimentar brasileiro.

C.5.3. Intervenção Dietética

A intervenção dietética iniciou-se, em média, 1 semana após a avaliação inicial. Neste período, foram avaliados os exames bioquímicos iniciais e registros alimentares, estes de maneira qualitativa e quantitativa, e com base nestes dados, história clínica/nutricional e nos resultados do questionário aplicado na triagem, os pacientes foram alocados ao grupo de Dieta Mediterrânea ou de Dieta TLC. O passo seguinte à alocação foi o cálculo da dieta específica e individualizada que o paciente receberia juntamente com a elaboração de um material didático dietético fornecido, que compreendia: 1) orientações gerais sobre a dieta Mediterrânea ou dieta TLC, 2) modelo de dieta de acordo com as características individuais do paciente, 3) lista de substitutos dos alimentos, 4) receitas específicas conforme o grupo mediterrâneo ou TLC, 5) ajustes dietéticos individuais à rotina diária do paciente, dentro do grupo estipulado, como estratégia para otimização da aderência. Após análise nutricional detalhada e a elaboração do material didático, era agendada a consulta para orientação do paciente e ao menos 1 membro da família, em 90% dos casos, a companheira do paciente.

A orientação dietética iniciava-se com a explicação da análise quantitativa e qualitativa dos registros alimentares que tinham sido preenchidos pelos pacientes. Em seguida, após apontamento dos pontos positivos e negativos da alimentação atual do paciente, propúnhamos modificações alimentares pertinentes dentro do grupo dietético específico. A orientação dietética finalizava sempre com um exemplo típico da dieta proposta, onde utilizávamos réplicas de alimentos em

silicone, com porções e tamanhos semelhantes aos reais, comercializados por *NASCO® International Inc, (Wisconsin, USA)*. Cabe ressaltar que todos os pacientes foram orientados com foco principal no estilo de vida, ou seja, horários e locais de alimentação, prática ou não de exercícios físicos e rotina de trabalho e lazer. Estas estratégias foram mantidas durante todo o período de intervenção e igualmente realizadas em ambos os grupos dietéticos estudados, com a finalidade de atingir o melhor índice possível de aderência aos modelos mediterrâneo e TLC.

C.5.3.1. Características Nutricionais da Dieta Mediterrânea e Dieta TLC

C.5.3.1.1. Dieta Mediterrânea

Não há um modelo único de dieta do mediterrâneo. Pelo menos 16 países cercam o Mar Mediterrâneo e as dietas variam não só entre esses países, mas também entre as regiões de um mesmo país. Diferenças na cultura, origem étnica, religião, economia e agricultura acabam contribuindo para que ocorram diferentes dietas. Porém, o padrão dietético mediterrâneo compartilha das seguintes características (Chrysohoou *et al.* 2004):

- Consumo diário de cereais e produtos não-refinados como, por exemplo, pães integrais, massas, arroz integral e similares
- Vegetais: 2 a 3 porções/dia
- Frutas: 4 a 6 porções/dia
- Azeite de oliva como fonte principal de gordura
- Consumo semanal de peixes, batatas, azeitonas, leguminosas, oleaginosas e aves: 4 a 6 porções/semana
- Leite e derivados lácteos com baixo teor de gordura: 1 a 2 porções/dia
- Ovos: 1 a 3 porções/semana
- Doces: 1 a 3 porções/semana
- Carne vermelha (boi, carneiro e porco) e derivados: 4 a 5 porções/mês
- Vinho: consumo diário em quantidade moderada

De acordo com estudo de Willett (Willett 1994), que serviu como base para muitos estudos posteriores na literatura, a dieta de indivíduos de meia-idade na Grécia, na década de 1960, tinha as seguintes características:

Tabela 2: Características da dieta mediterrânea na Grécia em 1960, em indivíduos de meia-idade

Dieta na Grécia (década 1960)	Valores Nutricionais
Gordura total	37% VCT
Gordura saturada	8% VCT
Vegetais	191 g/dia
Frutas	463 g/dia
Leguminosas	30 g/dia
Pães e cereais	453 g/dia
Carnes	35 g/dia
Peixes	39 g/dia
Álcool	23 g/dia

VCT = Valor Calórico Total Fonte: (Willett 1994)

Estas características serviram como base para o cálculo da dieta Mediterrânea em nosso estudo. Outro estudo importante, como o *Estudo da Dieta do Coração de Lyon*, também foi considerado na composição final da dieta Mediterrânea de nosso projeto (de Lorigeril *et al.* 1999). Neste último estudo, especificamente, as características da dieta Mediterrânea adotadas foram as seguintes:

- Maior consumo de pães
- Maior consumo de vegetais verdes e raízes
- Maior consumo de peixes, menor consumo de carnes vermelhas (substituídos por aves)
- Consumo diário de frutas
- Manteiga e cremes vegetais: no *Estudo de Lyon*, utilizou-se creme vegetal (“margarina”) com composição nutricional semelhante à do azeite de oliva

- Óleo de canola e azeite de oliva: recomendados para saladas e preparo dos alimentos
- Consumo moderado de álcool, especialmente vinho

As características dietéticas descritas acima, com exceção do creme vegetal, foram consideradas no cálculo de todas as dietas individuais dos pacientes sob dieta Mediterrânea em nosso estudo. O óleo vegetal orientado para preparo das refeições foi o óleo de canola, no entanto, para o cálculo de refeições realizadas fora da residência, considerou-se o óleo de soja.

C.5.3.1.2. Dieta TLC

A dieta TLC preconizada pelas Diretrizes de Colesterol do NCEP-ATPIII tem como meta principal redução da fração LDL-C e portanto, orienta fundamentalmente:

- Redução do consumo de alimentos ricos em gordura saturada
- Redução do consumo de alimentos ricos em colesterol
- Aumento do consumo de alimentos ricos em fibras solúveis
- Aumento do consumo de alimentos ricos em estanol/esterol

Neste contexto, a dieta TLC apresenta as seguintes características nutricionais básicas:

Tabela 3: Características nutricionais da dieta TLC

Características da dieta TLC	Valores
Gordura total	25 - 35% VCT
Gordura saturada	< 7% VCT
Gordura poliinsaturada	Até 10% VCT
Gordura monoinsaturada	Até 20% VCT
Carboidrato	50 - 60% VCT
Proteína	Aproximadamente 15% VCT
Colesterol	< 200 mg / dia
Fibra	20 – 30 g / dia
Calorias	Valor Calórico necessário para a manutenção de peso saudável e prevenção de ganho de peso extra
VCT = Valor Calórico Total	Fonte: (NCEP/ATP 2001)

Todas as características nutricionais da dieta TLC descritas acima foram consideradas para o cálculo individual da dieta dos pacientes sob DTLC, incluindo-se o incentivo ao consumo de estanol/esterol (2 g/dia) e de fibras solúveis (10 – 25 g/dia), estratégias preconizadas pela NCEP-ATPIII para potencializar a redução de LDL-C. A dieta TLC é recomendada, inclusive, para pacientes com níveis de LDL-C abaixo do limite ideal e doença arterial coronariana estabelecida (NCEP-ATP 2002).

O percentual de lipídeo total para a dieta TLC adotado como meta em nosso estudo foi de 25 a 30% do valor calórico total da dieta, uma vez que valores médios entre 30 a 35% do VCT são considerados objetivos nutricionais de lipídeos para indivíduos com síndrome metabólica, preferencialmente (NCEP-ATPIII 2002).

C.5.3.1.3. Resumo das características nutricionais da DM e DTLC adotadas em nosso estudo

Com base principalmente nas características nutricionais da DM e DTLC descritas acima (Tabelas 2 e 3), adotamos as seguintes características nutricionais (Tabela 4) como alvos dietéticos em nosso estudo:

Tabela 4: Características nutricionais da DM e DTLC adotadas em nosso estudo

Nutriente	DM	DTLC
Valor calórico total	manutenção peso saudável	manutenção peso saudável
Proteína	12-17% VCT	aproximadamente 15% VCT
Carboidrato	45-50% VCT	55-60% VCT
Lípido	33-38% VCT	25-30% VCT
Ácido graxo monoinsaturado	20-25% VCT	até 20% VCT
Ácido graxo poliinsaturado	até 10% VCT	até 10% VCT
Ácido graxo saturado	≤ 8% VCT	≤ 7% VCT
Ômega-3	> 0.75% VCT	*
Colesterol	< 200 mg/dia	< 200 mg/dia
Fibra Alimentar	20-30 g/dia	20-30 g/dia

* o valor de ômega-3 não é estabelecido pelo NCEP/ATPIII

Fontes: Adaptado de (Willett 1994; de Lorgeril *et al.* 1999; NCEP-ATP 2002)

C.5.3.2. Acompanhamento Dietético e Avaliação da Aderência aos Modelos de DM e DTLC

Após as orientações dietéticas, os pacientes iniciavam então a dieta Mediterrânea ou DTLC e eram acompanhados quinzenalmente através de contatos telefônicos ou eletrônicos (e-mail) não agendados previamente, além de consultas nutricionais mensais individuais, onde eram avaliados peso corporal e seguimento dietético. Nestas, eram extraídas informações gerais e específicas através de recordatório de 24 horas sobre as mudanças ocorridas na dieta.

A aderência aos modelos dietéticos mediterrâneo e TLC foi avaliada através:

- aplicação de questionários de aderência validados na literatura, específicos às dietas TLC e Mediterrânea, para obtenção de escores (Anexos J e K) (Taylor *et al.* 2003; Martinez-Gonzalez *et al.* 2004; Mochari *et al.* 2008);
- comparecimento aos agendamentos estabelecidos no estudo;
- recordatórios de 24 horas aplicados às consultas de seguimento e aos contatos quinzenais;
- análise dos 4 registros alimentares aplicados nas avaliações iniciais e finais do estudo.

C.5.3.3. Fornecimento de Alimentos Específicos às Dietas Mediterrânea e TLC

Com a finalidade de padronizar alimentos típicos das dietas orientadas e facilitar a aderência aos modelos estudados (Bemelmans *et al.* 2004; Vincent-Baudry *et al.* 2005), fornecemos alimentos específicos às dietas Mediterrânea e TLC. Assim, o grupo de pacientes sob dieta Mediterrânea recebeu 1) azeite de oliva extra-virgem espanhol comercializado por *La Pastina®*, envasado em frascos de vidro âmbar contendo 15 ml de azeite; 2) vinho tinto *Cabernet Sauvignon* (teor alcoólico 13.5 g%, origem: região central do Chile), em garrafas de 750 ml; 3) oleaginosas cruas (noz, amêndoa e castanha-do-Brasil), embaladas de acordo com porção diária recomendada no estudo (1 unidade de cada/dia). Orientamos os pacientes sob dieta Mediterrânea a consumirem diariamente 2 frascos de 15 ml de azeite, 250 ml de vinho e 1 embalagem de 10 g contendo 1 tipo de cada oleaginosa citada. Estes alimentos eram fornecidos mensalmente e os pacientes eram orientados quanto às formas adequadas de ingestão e armazenamento.

O grupo de pacientes sob dieta TLC recebeu creme vegetal rico em fitosteróis (*Becel Pro-activ®*, *Unilever*, 3 potes de 250 g por mês) e foi orientado a consumir 20 g/dia ou em medidas caseiras, 1 colher de sopa cheia por dia = 2/3 de copinho descartável de café (50 ml)/dia, modelo que consideramos de fácil compreensão para todos os pacientes, sendo fornecido junto com as orientações dietéticas. Este grupo também foi devidamente orientado quanto ao consumo e armazenamento do creme vegetal, recebendo material (isopor com gelo) para o transporte adequado até a residência.

Realizamos análise da composição de ácidos graxos do azeite de oliva e do creme vegetal enriquecido com fitosteróis (Tabela 10), fornecidos em nosso estudo, uma vez que esses alimentos se constituíam em importante fonte lipídica das dietas aplicadas. Essas análises foram realizadas pelo método de cromatografia gasosa (Anexo H) no Laboratório de Lípidos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

C.5.4. Avaliação Final:

A fase final foi idêntica à fase inicial e compreendeu portanto, avaliações nutricional, laboratorial e da função endotelial. Após o final do estudo, os pacientes foram orientados a manterem todas as modificações dietéticas positivas que haviam adquirido durante o período de intervenção nutricional, de acordo com o estilo de vida.

A seguir, descreveremos em detalhes as metodologias utilizadas nesses dois últimos itens.

C.6. Avaliação Laboratorial

A coleta de sangue foi realizada em tubo de ensaio seco e em tubos contendo heparina sódica (50 UI/ml) ou EDTA 0.1% (10 µl/ml de sangue) para a realização das seguintes análises:

C.6.1. Glicose sérica

A concentração plasmática de glicose foi determinada em analisador automático, modelo *Dimension* RXL da *Siemens*®, pelo método enzimático colorimétrico hexoquinase.

C.6.2. Contagem global de leucócitos

A contagem global de leucócitos em sangue total foi determinada em analisador automatizado *Sysmex*, modelo XT-2000i.

C.6.3. Proteína C-reativa ultra-sensível

A análise da proteína C-reativa foi realizada por método imunonefelométrico com detecção ultra-sensível em analisador automatizado modelo BN2 da *Siemens®*.

C.6.4. Lípides

As dosagens de colesterol total (CT), HDL-C e triglicérides (TG) plasmáticos foram realizadas em analisador automatizado *Dimension* RXL da *Siemens®*.

A concentração de colesterol nas frações VLDL e LDL foi determinada pela equação de Friedwald, $VLDL\text{-col} = TG/5$ e $LDL\text{-col} = Col\ Total - (HDL\text{-col} + VLDL\text{-col})$.

As dosagens de apolipoproteína A-1, apolipoproteína B e lipoproteína(a) foram realizadas em analisador automatizado modelo BN2 da *Siemens®*, por método imunonefelométrico.

C.6.5. Enzimas hepáticas

As enzimas hepáticas transaminase glutâmico oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP) e gama glutamil transferase (GGT) foram realizadas em analisador automático, modelo *Dimension* RXL da *Siemens®*.

As análises de glicose sérica, contagem total de leucócitos, proteína C-reativa, lípides e enzimas hepáticas descritas acima, foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para onde o sangue era encaminhado imediatamente após a coleta. Os valores de referência para as variáveis analisadas no InCor-HCFMUSP encontram-se no Anexo I.

Análises plasmáticas de LDL oxidada, mieloperoxidase, glutathiona reduzida e oxidada, moléculas de adesão, L-arginina e dimetilarginina assimétrica foram efetuadas em plasma separado por centrifugação por $3.000 \times g$ por 5 minutos a $4^{\circ}C$, submetido a nitrogênio líquido e armazenado em freezer à temperatura de $-80^{\circ}C$. Os eritrócitos foram separados e armazenados da mesma forma para posterior análise de glutathiona reduzida e oxidada. Essas análises foram

realizadas no Laboratório de Biologia Vascular do InCor ou em Laboratórios Colaboradores, conforme descrição detalhada a seguir:

C.6.6. LDL oxidada

A análise plasmática de LDL oxidada foi realizada de acordo com o ensaio imunoenzimático de absorvância, (ELISA, *Mercodia*®), baseado em anticorpo monoclonal 4E6, que age diretamente no epitopo conformacional em ApoB-100 oxidada. Este ensaio foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas do InCor - HCFMUSP.

C.6.7. Mieloperoxidase

A análise de mieloperoxidase foi realizada por imunoenensaio enzimático através do kit *CardioMPO*® produzido comercialmente por *Prognostix*®, em plasma coletado com heparina sódica (50 UI/ml). Este ensaio foi realizado no Laboratório de Biologia Vascular do InCor-HCFMUSP.

C.6.8. Glutathiona reduzida e oxidada

As análises de glutathiona reduzida e oxidada no plasma e eritrócitos foram realizadas de acordo com método de detecção por fluorescência em kit produzido comercialmente por *Arbor Assays*®. Este ensaio foi realizado no Laboratório de Biologia Vascular do InCor-HCFMUSP.

C.6.9. Análise de L-arginina e ADMA

As análises plasmáticas de L-arginina e dimetilarginina assimétrica (ADMA) foram determinadas através do método de cromatografia líquida de alta *performance* (HPLC) no Laboratório de Fisiologia da Universidade da Flórida, Gainesville, USA. As amostras foram derivatizadas com *o-phthaldialdehyde*, com uso de coluna *Supelco LC-AABS* (4.6mm x 25 cm diâmetro interno, 5 µm tamanho partícula). Após a separação, L-arginina e ADMA foram separadas e detectadas com uso do sistema HPLC *ESA*® (Chelmsford, MA) e detecção eletroquímica a 400 mV (Cardounel *et al.* 2007).

C.6.10. Moléculas de adesão

A molécula de adesão intercelular solúvel (sICAM-1) e a molécula de adesão celular vascular solúvel (sVCAM) foram analisadas de acordo com o método ELISA por meio de kits produzidos comercialmente por *R&D Systems*[®]. Estes ensaios foram realizados em colaboração com o Laboratório de Investigação Médica (LIM51) da FMUSP.

C.6.11. Quantificação relativa do número de cópias de DNA mitocondrial (DNAmt)

Análise do número de cópias do DNAmt em células mononucleares circulantes reflete biogênese mitocondrial como resposta celular a diversos tipos de estresse (Higuchi 2007). Esta variável foi analisada na população-alvo do estudo e comparada a um “*Grupo Controle Normal*” de 5 pacientes sem história de doença arterial coronariana ou uso de medicações, pareados por gênero e idade. A análise do número de cópias de DNAmt envolveu as seguintes etapas:

C.6.11.1. Separação de células mononucleares por gradiente de *Ficoll-Hypaque*

Células mononucleares (PBMC) foram separadas a partir de sangue periférico colhido por punção venosa, 1 hora após a coleta de sangue. Este foi coletado em tubo de ensaio contendo EDTA 0.1% (10 ul/ml de sangue), diluído 1:2 em solução salina e separado em gradiente de *Ficoll-Hypaque* (densidade 1.077 g/L, *Ficoll: Pharmacia Biotech*, Sweden e *Hypaque: Urografina 370, Schering*, Brasil) adicionando vagarosamente 10 ml de sangue diluídos sobre 3 ml de solução de *Ficoll-Hypaque*. Após centrifugação a 600 x g por 30 min, o anel de células foi retirado e lavado 2 vezes com salina a 400 x g por 10 min. Após a centrifugação, os tubos contendo os botões de células foram armazenados a -80°C até o momento das análises (Spadafora-Ferreira *et al.* 2001).

C.6.11.2. Extração de DNA total

A extração de DNA total das células mononucleares foi realizada através do kit produzido comercialmente por *Qiagen® (QIAamp DNA blood mini kit®)*.

C.6.11.3. Número de cópias relativo de DNA mitocondrial

O número de cópias relativo de DNAm_t foi analisado por QT-PCR utilizando-se DNA total extraído dos tecidos. Um gene de cópia única, hemoglobina beta (*HBB*), foi utilizado como referência (Kersting *et al.* 2004) para o cálculo de $\Delta Ct_1 = \text{média Ct DNAm}_t - \text{média Ct HBB}$ e relativamente pela equação $2^{-\Delta\Delta Ct}$, na qual $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_1 - \text{média } \Delta Ct \text{ dos tecidos não-tumorais}$ (Livak *et al.* 2001).

A análise do número de cópias de DNA mitocondrial foi realizada em colaboração com o Laboratório de Investigação em Neurologia (LIM-15) da FMUSP.

C.7. Avaliação da função endotelial pela análise da reatividade vascular

O exame de reatividade vascular foi realizado no Laboratório de Aterosclerose do InCor HCFMUSP, por meio de ultra-som de alta resolução para medir mudanças no diâmetro arterial em resposta a um fluxo aumentado após hiperemia reativa ou após administração de dinitrato de isossorbida, (5 mg), via sublingual. As mudanças no diâmetro da artéria braquial foram avaliadas por imagem de ultra-som no modo bidimensional, com aparelho equipado com transdutor linear 7.5 MHz, software para análise de imagem bidimensional e Doppler, com monitorização eletrocardiográfica (ECG) concomitante.

O exame foi realizado sempre no período da manhã, com temperatura da sala controlada e variando entre 20° e 25°C. O paciente era mantido em repouso, encontrava-se em jejum de 12 horas e era mantido em posição supina desde os 15 minutos que antecederam o exame até o final do mesmo (Corretti *et al.* 2002).

Além do diâmetro da artéria braquial, foram realizadas aferições da pressão arterial (monitor de pressão sanguínea automático *OMRON, HEM-750, CP, USA*) e do fluxo sanguíneo nos momentos basal (15 minutos após repouso em posição

supina), durante a hiperemia reativa, pré-nitrato e pós-nitrato. A artéria braquial examinada foi a do antebraço esquerdo (Corretti *et al.* 2002). As imagens adquiridas no corte longitudinal foram obtidas para medida do diâmetro da artéria braquial e, posteriormente foram realizadas as aferições entre a média-adventícia da parede anterior até a parede posterior, através de software específico (Gutierrez *et al.* 2002). O teste de reatividade vascular e a análise das imagens foram avaliados às cegas por avaliador treinado.

A dilatação mediada pelo fluxo (DMF) e a dilatação da artéria braquial após administração de nitrato sub-lingual (DPósN) foram calculadas conforme fórmulas descritas abaixo e expressas em porcentagem (Corretti *et al.* 2002; DaLuz *et al.* 2003).

$$\%DMF = \frac{(\text{diâmetro na hiperemia reativa} - \text{diâmetro basal}) \times 100}{\text{diâmetro basal}}$$

$$\%DPósN = \frac{(\text{diâmetro após nitrato} - \text{diâmetro pré-nitrato}) \times 100}{\text{diâmetro pré-nitrato}}$$

C.8. Tamanho Amostral e Análise Estatística

O cálculo amostral (Liu *et al.* 2005) baseou-se na estimativa de uma diferença significativa de 10% no colesterol total entre os grupos (NCEP-ATP 2002), considerando um Erro do Tipo I de 5%, Erro do Tipo II de 10% e desvio-padrão de 24 mg/dL, de acordo com dados preliminares de nosso estudo. Portanto, com confiança de 95% e poder da amostra de 90%, a amostra necessária calculada para a realização deste ensaio clínico foi de 40 pacientes, 20 em cada grupo dietético. O tamanho final de nossa amostra de 40 pacientes coincide com a estimativa de 40-60 pacientes estabelecida para estudos comparativos de reatividade vascular pelo *International Brachial Artery Reactivity Task Force* (Corretti *et al.* 2002).

Todos os dados são descritos como média \pm um desvio padrão. A comparação dos valores basais de variáveis contínuas, entre ambos os grupos dietéticos, foi realizada pelo Teste *t* de Student para amostras não pareadas. As variáveis categóricas foram analisadas por meio do Teste Qui-quadrado. Comparações entre as dietas *DM versus DTLC* e momentos *Inicial versus Final* foram realizadas através do Teste de Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas com dois fatores (Diggle *et al.* 1994; Brown *et al.* 2006).

Para análise do número de cópias do mtDNA no momento basal entre os grupos DM, DTLC e o "*Grupo Controle Normal*", foi utilizado teste não paramétrico (teste de Kruskal-Wallis), pois os dados não apresentaram distribuição normal. O teste Post Hoc de escolha foi o Teste de Dunnett.

Os testes foram realizados com nível de significância de 5% e software utilizado foi o SPSS 15.0 (SPSS Inc.).

Resultados

D. Resultados

D.1 Seleção de Pacientes e Características Basais

Entre Janeiro de 2006 a Julho de 2008 foram verificados, em média, 5.678 prontuários por mês, cerca de 68.136 / ano (Fluxograma 1). Desses, um total de 159 prontuários foi selecionado conforme critérios de elegibilidade e os respectivos pacientes contatados nos dias de consulta médica. Após esse contato e checagem de informações do prontuário como hábito de fumar, peso corporal e a aplicação do questionário sobre hábitos alimentares descrito em metodologia (Anexo A), convidamos ou não o paciente para o estudo. Dos 159 pacientes contatados, 44 foram convidados e 115 foram excluídos devido à presença de tabagismo não previamente relatado ou exames de rotina recentes fora dos padrões de nosso estudo. Dos 44 pacientes convidados, 2 recusaram-se a participar por motivos pessoais e portanto, 42 foram incluídos no estudo. Ao final do ano de 2008, obtivemos um total de 40 pacientes que completaram as fases de avaliações e intervenção dietética e abandono do estudo por 2 pacientes pertencentes ao grupo DTLC, relacionados a motivos familiares. Dos 40 pacientes que finalizaram a intervenção, 21 eram integrantes da Dieta Mediterrânea e 19 da Dieta TLC. Dado o índice de abandono ao estudo de apenas 5% e da não diferença na análise estatística com o número amostral de 40 e 42, decidimos relatar os resultados dos 40 pacientes que finalizaram o estudo, inclusive na descrição das características basais dos pacientes (Tabelas 5, 6 e 7)

Nossa população constituiu-se, em sua maioria, por pacientes provenientes da grande São Paulo, sendo 66% residentes na cidade de São Paulo, 24% residentes na região do ABC (Santo André, São Bernardo e São Caetano), Guarulhos, Embu, Barueri e Osasco e 10% provenientes do interior de São Paulo (Suzano, Sorocaba, Jaguariúna e São Carlos)

Não observamos diferença significativa entre os pacientes sob DM e DTLC nas variáveis idade, índice de massa corporal (IMC), circunferência abdominal (CA), índice abdômen/quadril (IAQ) e somatória das dobras cutâneas (Σ DC) e

também, nos parâmetros clínicos e bioquímicos basais como pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), glicose sérica, perfil lipídico [colesterol total e frações, triglicérides, apoA-1, apoB, lipoproteína(a)], proteína C-reativa (PCR), contagem total de leucócitos, enzimas hepáticas (TGO, TGP e Gama GT), mieloperoxidase, moléculas de adesão sICAM e sVCAM, L-arginina, ADMA, razão L-arginina/ADMA, razão glutatona reduzida/oxidada no plasma e em eritrócitos e número de cópias de DNA mitocondrial (DNAmt) (Tabela 7). Os 2 grupos diferiram significativamente quanto ao peso e estatura iniciais ($p = 0.023$ e $p = 0.001$; respectivamente), com pacientes sob dieta Mediterrânea apresentando valores dessas variáveis maiores que os pacientes sob DTLC. O índice de massa corporal (IMC), entretanto, não foi diferente entre os grupos, mostrando que nossa amostra era homogênea quanto à relação entre peso e estatura.

Os diagnósticos clínicos de dislipidemia, hipertensão, infarto agudo do miocárdio e angina instável estiveram presentes na mesma proporção entre os grupos, bem como as condutas terapêuticas de revascularização do miocárdio, angioplastia e colocação de stent, não tendo sido observada alteração significativa nesses parâmetros (Tabelas 5 e 6). A medicação utilizada pelos pacientes também não diferiu entre os grupos. O uso de medicações hipolipemiantes foi utilizado por 100% dos pacientes sob forma de estatinas ou combinação de estatinas e ezetimiba. O uso de anti-hipertensivos e antiagregantes plaquetários foi observado em > 90% da amostra e distribuído de maneira similar (Tabela 7).

Houve maior proporção de ex-fumantes no grupo de dieta Mediterrânea comparado ao de dieta TLC (81% e 53%, respectivamente; $p = 0.091$), em um total de 27 ex-fumantes da amostra, cerca de 67.5% da população estudada (Tabela 7).

Tabela 5: Distribuição dos diagnósticos dos pacientes de acordo com os grupos dietéticos

Diagnóstico	DM n = 21	DTLC n = 19	*P
Dislipidemia, n ^o . (%)	20 (95.2)	18 (94.7)	1.000
Hipertensão, n ^o . (%)	21 (100.0)	17 (89.5)	0.219
IAM, n ^o . (%)	11 (52.4)	10 (52.6)	1.000
Angina instável, n ^o . (%)	6 (28.6)	10 (52.6)	0.196

*p: teste Qui-quadrado

Tabela 6: Distribuição das condutas terapêuticas clínicas de acordo com os grupos dietéticos

Terapêutica Prévia	DM n = 21	DTLC n = 19	*P
Revascularização do miocárdio, n ^o . (%)	7 (33.3)	8 (42.1)	0.745
Angioplastia, n ^o . (%)	15 (71.4)	13 (68.4)	1.000
Stent, n ^o . (%)	13 (62.0)	12 (63.2)	1.000

*p: teste Qui-quadrado

Tabela 7: Distribuição basal das variáveis demográficas, antropométricas, clínicas e laboratoriais dos pacientes de acordo com os grupos dietéticos

Variável	DM (n = 21)	DTLC (n = 19)	p
Idade, anos	55.0 ± 4.6	54.6 ± 5.0	0.807
Peso, kg	79.3 ± 7.5	73.6 ± 7.6	0.023
Estatura, cm	173 ± 5	167 ± 5	0.001
Índice de massa corporal, kg/m ²	26.5 ± 1.9	26.3 ± 2.5	0.827
Circunferência abdominal, cm	96 ± 6	94 ± 8	0.400
Índice abdômen / quadril	0.94 ± 0.05	0.95 ± 0.07	0.801
Somatória das dobras cutâneas, mm	102 ± 18	94 ± 25	0.205
Pressão Arterial			
Sistólica, mm Hg	138 ± 13	134 ± 19	0.479
Diastólica, mm Hg	87 ± 7	87 ± 9	0.971
Tabagismo			
Ex-tabagista por ≥ 1 ano	17 (81)	10 (53)	0.091
Nível Educacional			
≥ Ensino médio	21 (100)	16 (84)	0.058
Medicação			
Ácido acetilsalicílico	20 (95)	17 (90)	0.489
Outros antiagregantes plaquetários	8 (38)	9 (47)	0.554
Estatina	17 (81)	16 (84)	0.787
Estatina + Ezetimibe	4 (19)	3 (16)	0.787
Nitratos	4 (19)	3 (16)	0.787
Inibidores ECA	11 (52)	13 (68)	0.301
β-bloqueador			
Perfil Lipídico			
Colesterol total, mg/dL	153 ± 33	161 ± 24	0.396
HDL-C, mg/dL	40 ± 7	38 ± 7	0.400
LDL-C, mg/dL	87 ± 26	98 ± 23	0.140
LDL oxidada, U/L	60 ± 21	78 ± 24	0.019
LDL oxidada / LDL total	0.73 ± 0.25	0.79 ± 0.23	0.384
Triglicérides, mg/dL	130 ± 74	121 ± 59	0.694
Apolipoproteína B, g/L; [n = 21; 18]§	0.79 ± 0.16	0.91 ± 0.24	0.066
Apolipoproteína A-I, g/L; [n = 21; 18]§	1.49 ± 0.22	1.37 ± 0.21	0.063
Lipoproteína(a), mg/dL	37 ± 29	36 ± 28	0.844
Glicose sérica, mg/dL	91 ± 8	89 ± 8	0.419
Transaminase glutâmico oxalacética, U/L	24 ± 4	28 ± 8	0.055
Transaminase glutâmico pirúvica, U/L	50 ± 11	50 ± 13	0.985
Gama glutamil transpeptidase, U/L	49 ± 24	48 ± 22	0.948
Proteína C-reativa ultra-sensível, mg/L	1.65 ± 1.50	1.38 ± 1.07	0.510
Contagem total de leucócitos, n ^o /mm ³	6.3 ± 1.2	6.1 ± 1.3	0.495
Mieloperoxidase, pmol/L; [n = 10; 10]§	433 ± 86	389 ± 79	0.243
sICAM-1, ng/ml	124 ± 29	138 ± 35	0.177
sVCAM-1, ng/ml	314 ± 74	317 ± 68	0.891
L-arginina, μM; [n = 20; 19]§	94.9 ± 11.4	86.1 ± 20.2	0.110
ADMA, μM; [n = 20; 19]§	0.88 ± 0.22	0.90 ± 0.22	0.794
L-arginina/ADMA; [n = 20; 19]§	114.7 ± 32.2	99.3 ± 25.8	0.108
GSH / GSSG plasma	1.3 ± 0.7	1.5 ± 0.9	0.487
GSH / GSSG eritrócitos; [n = 20; 19]§	5.5 ± 6.4	5.8 ± 6.5	0.881
N^o. de cópias de DNA mitocondrial; [n = 18; 17]§			
2 ^{-DDCT} (ctr)	10.4 ± 10.1	6.7 ± 3.3	0.161
DCT (MctHBb-MctDNAmit)	7.5 ± 1.0	7.1 ± 0.6	0.185
Função Endotelial; [n = 21; 18]§			
Diâmetro da artéria braquial no basal, mm	4.38 ± 0.39	4.44 ± 0.51	0.690
Vasodilatação mediada pelo fluxo, %	4.4 ± 3.6	4.4 ± 5.5	0.999
Vasodilatação após nitrato, %	23.1 ± 6.6	19.2 ± 8.1	0.099
Velocidade do fluxo no basal, cm/s	51 ± 10	52 ± 14	0.759
Pico da velocidade do fluxo na hiperemia reativa, cm/s	96 ± 20	95 ± 21	0.793

Dados representados em média ± desvio-padrão ou número (porcentagem)

O valor de p foi calculado utilizando-se teste t Student ou Qui-quadrado, conforme descrito em metodologia n = 21 para DM e n = 19 para DTLC, exceto se especificado entre chaves [n = DM; DTLC]§

Com relação às dietas dos pacientes na condição basal, observamos que os pacientes sob DM e DTLC não apresentaram diferenças significativas em 18 características nutricionais dentre as 19 analisadas no estudo, mostrando que nossa amostra de pacientes era também homogênea em termos de composição nutricional antes da intervenção dietética (Tabela 8). O consumo basal de ácidos graxos monoinsaturados, entretanto, foi significativamente maior ($p = 0.024$) nos pacientes sob DM comparado aos pacientes sob DTLC, sugerindo diferença inerente ao desenho de nosso estudo.

Com relação aos macronutrientes no basal, observamos semelhança entre as proporções de carboidratos (48% e 46% VCT), lipídeos (30% e 33% VCT) e proteínas (19% e 20% VCT) para os grupos sob DM e DTLC, respectivamente, com destaque para o elevado teor de proteínas totais/kg de peso em ambos os grupos (1.5 g/kg para DM e 1.43 g/kg para DTLC), associado a consumo excessivo de proteína animal (carne bovina) em nossa amostra. Os pacientes sob DM e DTLC também apresentaram estreita similaridade no elevado teor basal de ácidos graxos saturados (10% e 11% VCT para DM e DTLC, respectivamente) e de colesterol (aproximadamente 260mg/dia para ambos); em desajuste com as orientações nutricionais preconizadas para pacientes com doença arterial coronariana estabelecida (NCEP/ATP 2001; Sposito *et al.* 2007). Resultados basais de ácidos graxos poliinsaturados ($\leq 10\%$ VCT) e trans ($< 1\%$ VCT), fibra alimentar (20-30 g/dia) e vitamina C (> 90 mg/dia) estavam dentro dos limites estabelecidos para a faixa etária e gênero e/ou os limites estabelecidos pelas *Diretrizes Brasileiras e Americanas sobre Dislipidemias* (NCEP-ATP 2002; Sposito *et al.* 2007), respectivamente. Os valores basais de sódio apresentaram-se superiores aos recomendados em ambas as dietas estudadas. Esses teores de sódio no momento basal, assim como os teores pós-intervenção que serão discutidos adiante, representam apenas as quantidades de sódio contidas nos alimentos, não tendo sido considerado nos cálculos as quantidades de cloreto de sódio rotineiramente adicionadas às preparações e saladas. Tal fato objetivou a minimização de erro na análise de sódio, uma vez que a adição de sal é bem variável em nossa população. O mesmo raciocínio deve ser levado em conta

quanto à quantidade de ácidos graxos trans na dieta, pois vários alimentos consumidos pelos pacientes, e portanto, presentes em nossas análises, não continham valores de ácidos graxos trans nas tabelas utilizadas. Assim, o total de ácidos graxos trans e de sódio podem estar subestimados em nossa população estudada tanto no momento basal, assim como nos cálculos nutricionais pós-intervenção.

D.2. Aderência às Dietas

A aderência aos padrões dietéticos de nosso estudo foi avaliada de acordo com os parâmetros descritos anteriormente: questionários específicos à DM e DTLC para obtenção de escores de aderência, comparecimento aos agendamentos (total de 5/paciente), recordatórios de 24 horas aplicados às consultas de seguimento e aos contatos quinzenais e análise dos registros alimentares iniciais e finais.

D.2.1. Questionários de aderência

Baseados no questionário MEDFICTS (Taylor *et al.* 2003; Mochari *et al.* 2008) (Anexo K) de aderência dietética da dieta TLC, obtivemos valores de escore abaixo de 40 para todos os 19 pacientes desse grupo, o que nos permite classificá-los como totalmente aderentes à dieta TLC, de acordo com descrições do método (NCEP-ATP 2002). Com relação aos pacientes da dieta Mediterrânea, obtivemos valores de escore 7, 8 e 9 em 19%, 33% e 48% dos pacientes, em um intervalo de classificação que varia de zero (não aderente) a 9 pontos (totalmente aderente), conforme descrição do método (Anexo J) (Martinez-Gonzalez *et al.* 2004). Portanto, classificamos também como ótima a aderência do grupo de dieta Mediterrânea de acordo com esse método utilizado.

D.2.2. Comparecimento aos agendamentos e contatos quinzenais (telefone/ e-mail)

Quanto aos agendamentos do estudo, obtivemos um total de 199 comparecimentos dentre os 200 totais esperados (5/ paciente), resultando em um índice de 99.5% de presença às consultas nutricionais. Porém, com relação aos contatos telefônicos quinzenais, não verificamos uma aderência tão eficaz dos pacientes de ambos os grupos se comparados às presenças às consultas nutricionais. Observamos que 80% dos pacientes mostraram interesse e apreciavam nossos telefonemas, aproveitando a oportunidade para esclarecerem dúvidas e reafirmarem o compromisso com o protocolo. No entanto, cerca de 20% não pareciam apreciar os telefonemas por estarem trabalhando ou impossibilitados de conversarem sobre o assunto. Nestes casos, optamos por retornar a ligação telefônica em dia e horário sugeridos ou mudar a estratégia de contato através de telefone para correio eletrônico (e-mail), estratégia que se mostrou positiva. Portanto, ajustes de datas, horários e meios de contato foram trabalhados individualmente, sempre que necessário, para melhor controle e otimização da aderência ao tratamento dietético. O método recordatório de 24 horas aplicado durante as entrevistas quinzenais por telefone (Fox *et al.* 1992) mostrou-se eficaz e permitiu correções e ajustes dietéticos práticos e em tempo hábil para que o paciente pudesse corrigir hábitos inadequados, ao invés de aguardarmos apenas os contatos mensais.

D.2.3. Análise dos registros alimentares iniciais vs finais

Os registros alimentares de 4 dias solicitados na avaliação inicial e final foram requisitados para avaliar as alterações no consumo alimentar dos pacientes após os 3 meses de intervenção e conseqüentemente, analisar a aderência às orientações dietéticas efetuadas, principalmente sob o aspecto quantitativo. Os resultados encontram-se na tabela 8 e mostram que os pacientes sob DM e DTLC diminuíram significativamente o consumo de calorias totais (464 Kcal e 478 Kcal, respectivamente; $p < 0.001$ para ambos, em comparação aos respectivos valores basais), sem diferença entre as dietas aplicadas. Os resultados dos valores totais

de proteínas, carboidratos e lipídeos apontaram: redução significativa no teor protéico em ambas as dietas, de 1.5 para 1.1g/kg em DM e redução de 1.4 para 1.2g/kg de peso em pacientes sob DTLC, atingindo valores mais próximos das recomendações protéicas para a idade e sexo (DRI 2010); diminuição de lipídeos totais em ambas as dietas, porém, com redução significativamente acentuada (38%) na DTLC comparada à DM ($p = 0.028$ entre os grupos). Com relação aos carboidratos totais, houve diminuição em ambos os grupos dietéticos, porém redução significativa apenas para a DM (24%, $p < 0.001$) e diferença estatisticamente significante entre as dietas ($p < 0.05$). No entanto, fundamental na análise de dados nutricionais é a verificação da proporção entre os nutrientes, apresentados na tabela 9. Os resultados desta análise mostram, para os pacientes sob DM, que as proporções entre proteínas, carboidratos e lipídeos estavam muito próximas das preconizadas em dietas Mediterrâneas em geral, tanto no basal, como no final da intervenção dietética. Houve discreta modificação no total de lipídeos, de 30 para 31% VCT, em proteínas, de 19 para 18% VCT e redução de 3% em calorias provenientes de carboidratos, atingindo 45% VCT ao final da intervenção dietética. Nos pacientes sob DTLC observamos que tinham proporções de macronutrientes semelhantes aos dos pacientes sob DM no basal, ou seja, 33%, 20% e 46% do VCT em lipídeos, proteínas e carboidratos, respectivamente entretanto, ao final da intervenção dietética, o grupo sob DTLC atingiu níveis próximos aos níveis recomendados em macronutrientes segundo o NCEP/ATPIII: em 26% lipídeos e 54% carboidrato. A proporção de proteínas na dieta TLC permaneceu 20% VCT ou seja, acima das recomendações do NCEP/ATPIII, mas com teor total diminuído em relação ao peso corporal final, conforme descrito anteriormente.

Apesar dos pacientes sob DM terem iniciado o estudo com proporções de lipídeos totais próximas aos valores preconizados em dietas do Mediterrâneo e terem obtido apenas discreto aumento na proporção após a intervenção (30% para 31% VCT), observamos significativa alteração na distribuição de ácidos graxos, atingindo valores próximos aos preconizados em dietas Mediterrâneas. Os ácidos graxos saturados que totalizavam 10% VCT no basal e estavam em

desajuste com as proporções indicadas numa dieta Mediterrânea (< 8% VCT), diminuíram significativamente para 7% VCT ao final do estudo ($p < 0.001$), e os ácidos graxos monoinsaturados aumentaram 33% na DM, passando de 9% VCT a 15% VCT ao final da dieta, resultando num comportamento significativamente diferente ao observado na DTLC, onde os pacientes diminuíram teor total de AG monoinsaturados em 32%, modificando de 8% para 7%VCT ao final da dieta ($p < 0.001$ entre os grupos). Nos pacientes sob DTLC houve também diminuição significativa nos valores de ácidos graxos saturados, de 11% VCT para 7% VCT ($p < 0.001$) e, assim como ocorreu na DM, o grupo sob DTLC atingiu valores bem próximos às metas em gordura saturada de nosso estudo (Willett 1994; NCEP/ATP 2001), respectivamente.

Os valores totais de ácidos graxos poliinsaturados e de ácidos graxos ômega-3 mantiveram-se estatisticamente inalterados em ambas as dietas, também não houve diferença estatística entre os grupos dietéticos. Entretanto, apesar de não termos observado diferença significativa no teor total de poliinsaturados e de ômega-3, verificamos que a porcentagem de calorias provenientes dos ácidos graxos ômega-3 mudou de 0.5% VCT no momento basal para 0.9% VCT ao final do estudo nos pacientes sob DM, e de 0.7% VCT para 0.9% VCT nos pacientes sob DTLC, atingindo as proporções recomendadas para o nutriente segundo a DRI (0.6 a 1.2% VCT) (DRI 2010). Pacientes sob DM e DTLC reduziram significativamente os teores de ácidos graxos trans e colesterol total ao final da intervenção dietética ($p < 0.001$ para ambos), não havendo diferença estatística entre os grupos.

A quantidade de fibras totais não alterou significativamente nas duas dietas, observamos que houve discreto aumento em ambos os grupos, mas que os valores basais de 27 g e 25 g de fibras na DM e DTLC no basal, respectivamente, já se encontravam dentro dos valores recomendados de 20-30 g/dia, segundo NCEP/ATPIII.

O teor de sódio diminuiu significativamente em ambos os grupos dietéticos ($p < 0.001$) e estes resultados referem-se ao teor do mineral contido nos alimentos, sem considerar o sal de cozinha adicionado às preparações em geral.

No entanto, apesar de não termos levado em consideração esse acréscimo rotineiro de sódio, observamos que as mudanças nas escolhas alimentares verificadas pelos pacientes sob DM e DTLC por si só, levaram à redução significativa de sódio em ambos os grupos estudados. Cabe ressaltar que os pacientes sob DM e DTLC iniciaram o estudo com valores de sódio elevados, 2128 mg e 1706 mg, respectivamente e, após a intervenção dietética esses valores totalizaram 1457 mg e 1398 mg, resultando em reduções de 671 mg e 308 mg para DM e DTLC, respectivamente. De acordo com as Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, a recomendação é de 800 mg de sódio/dia através dos alimentos e, com a adição de cloreto de sódio às preparações, as recomendações atingem 2400 mg/dia de sódio (Sociedade Brasileira de Hipertensão 2004). Com relação ao potássio, os pacientes sob DM e DTLC não tiveram alterações significativas, tendo permanecido com teores adequados entre 2000 e 4000 mg, segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Hipertensão (Sociedade Brasileira de Hipertensão 2004).

Os teores de vitamina C, que se encontravam adequados no basal em ambas as dietas, não tiveram alterações significativas ao final da intervenção, tendo permanecido em níveis, pelo menos duas vezes acima do preconizado pela DRI de 75 mg/dia (DRI 2010).

Com relação aos teores de selênio, verificamos que se mantiveram inalterados, 14 mcg/dia, nos pacientes sob DTLC e aumentaram não significativamente na DM de 12 para 27 mcg/dia.

Tabela 8: Distribuição das características nutricionais das dietas dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

Variável Nutricional	DM (n = 21)		DTLC (n = 19)		*p Basal	§ p entre os grupos (ANOVA)		
	Inicial	Final	Inicial	Final		Momento	Dieta	Momento x Dieta
Kcal	2447 ± 648	1983 ± 390	2160 ± 513	1682 ± 341	0.132	< 0.001	0.037	0.921
Macronutriente								
Proteína, g	119 ± 33	87 ± 20	105 ± 25	86 ± 21	0.157	< 0.001	0.289	0.159
Carboidrato, g	295 ± 103	224 ± 57	248 ± 56	229 ± 55	0.078	< 0.001	0.281	0.03
Lípido, g	82 ± 26	69 ± 13	79 ± 29	49 ± 13	0.762	< 0.001	0.046	0.028
Ácido Graxo								
Saturado, g	27 ± 10	16 ± 5	27 ± 13	14 ± 5	0.984	< 0.001	0.705	0.58
Monoinsaturado, g	24 ± 7	32 ± 7	19 ± 6	13 ± 4	0.024	0.467	< 0.001	< 0.001
Poliinsaturado, g	14 ± 5	13 ± 3	17 ± 6	15 ± 3	0.077	0.134	0.022	0.574
Ômega-3, g	1.3 ± 1.1	2.0 ± 0.7	1.8 ± 0.6	1.8 ± 0.6	0.164	0.105	0.57	0.099
Ômega-6, g	11.2 ± 5.2	10.1 ± 2.3	13.7 ± 4.3	12.9 ± 2.7	0.102	0.17	0.011	0.843
Trans, g	1.5 ± 0.9	0.9 ± 1.2	1.8 ± 1.2	0.6 ± 0.4	0.416	< 0.001	0.979	0.162
Colesterol, mg	261 ± 84	179 ± 76	260 ± 99	166 ± 50	0.974	< 0.001	0.721	0.675
Fibra Alimentar, g	27 ± 12	31 ± 12	25 ± 11	26 ± 9	0.549	0.201	0.222	0.402
Sódio, mg	2128 ± 997	1457 ± 621	1706 ± 827	1398 ± 609	0.155	0.001	0.252	0.191
Potássio, mg	4125 ± 4935	3257 ± 1319	2680 ± 806	2764 ± 916	0.216	0.522	0.113	0.437
Cálcio, mg	928 ± 360	837 ± 246	874 ± 499	811 ± 381	0.697	0.26	0.687	0.845
Fósforo, mg	1264 ± 345	1146 ± 384	1162 ± 347	1107 ± 364	0.358	0.207	0.45	0.643
Vitamina C, mg	206 ± 193	243 ± 109	146 ± 137	146 ± 127	0.266	0.383	0.063	0.39
Selênio, mcg	12 ± 9	27 ± 37	14 ± 17	14 ± 12	0.763	0.083	0.271	0.153

Dados representados em média ± desvio-padrão

* p : valores entre os momentos basais obtidos através de Teste t Student, descrito em metodologia

§ p : valores obtidos através de ANOVA, descrito em metodologia

Tabela 9: Distribuição das características nutricionais das dietas de acordo com a % do valor calórico total (VCT) inicial e final dos pacientes sob DM e DTLC

Variável Nutricional	% VCT			
	DM (n = 21)		DTLC (n = 19)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
Macronutrientes				
Proteína	19	18	20	20
Carboidrato	48	45	46	54
Lípídeo	30	31	33	26
Ácidos Graxos				
Saturado	10	7	11	7
Monoinsaturado	9	15	8	7
Poliinsaturado	5	6	7	8
Ômega-3	0.5	0.9	0.7	0.9
Ômega-6	4.1	4.6	5.7	6.9
AG Trans	0.6	0.4	0.8	0.3

VCT: Valor Calórico Total

D.2.4. Aderência aos produtos alimentares fornecidos

A aderência aos produtos alimentares fornecidos foi avaliada durante todo o período de intervenção através das consultas de seguimento, contatos quinzenais (telefone/e-mail), questionários de aderência e, por fim, através dos registros alimentares de 4 dias. Com relação aos pacientes sob DM, verificamos que não houve dificuldade na aceitação das oleaginosas, vinho e azeite de oliva extra-virgem. No entanto, o questionário de aderência à DM mostrou baixo consumo de cereais integrais por 2 pacientes (9.5%) e dificuldade no consumo de peixes \geq 3x/semana em 5 pacientes (24.0%). Com relação aos pacientes da DTLC, houve aceitação do creme vegetal por cerca de 80% do grupo, no entanto, observamos que a quantidade de 20 g/dia orientada foi motivo de queixa por 52.6% dos pacientes, que a consideraram excessiva. Após análise do questionário de

aderência à dieta TLC, observamos que o escore favorável à dieta esteve associado principalmente à diminuição da ingestão de gordura saturada e gordura total da dieta, condizente com o objetivo desse questionário.

Uma outra alternativa para analisar o consumo de alimentos fornecidos, verificada na literatura (Rallidis *et al.* 2009), é a solicitação do retorno das embalagens pelos pacientes à cada consulta de seguimento. No entanto, não utilizamos essa estratégia devido a dificuldades operacionais no retorno das embalagens fornecidas, onde vidros de azeite, garrafas de vinho e potes de cremes vegetais não seriam práticos e poderiam inclusive, influenciar negativamente na aderência às dietas em nosso estudo.

D.2.5. Análise do azeite de oliva extra-virgem e creme vegetal rico em fitosteróis

Resultados da análise centesimal dos ácidos graxos do azeite (DM) e do creme vegetal rico em fitosteróis (DTLC) estão descritos na Tabela 10 e mostram que os valores nutricionais do azeite de oliva extra-virgem fornecido em nosso estudo estavam em conformidade com os valores nutricionais referidos nas tabelas TACO e USDA, em especial quanto aos teores de ácidos graxos monoinsaturados, e que o creme vegetal rico em fitosteróis continha valores muito baixos em ácidos graxos trans, de acordo com o esperado.

Tabela 10: Distribuição de ácidos graxos no azeite de oliva extra-virgem (DM) e creme vegetal rico em fitosteróis (DTLC) analisados através do método de cromatografia gasosa no Laboratório de Lípidos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP

Ácidos graxos		Azeite de oliva extra-virgem	Creme vegetal rico em fitosteróis
		média na porção (30ml)	média na porção (20g)
08:00	caprílico	-	0.0175
10:00	cáprico	-	0.0165
06:00	capróico	-	-
11:00	undecanóico	-	-
12:00	láurico	-	0.2049
14:00	mirístico	-	0.0847
14:01	miristoleico	-	-
15:00	pentadecanóico	-	-
16:00	palmitico	2.8373	0.9869
16:01	palmitoleico	0.2223	0.0047
17:00	heptadecanóico	-	0.0071
18:00	esteárico	1.1022	0.6489
18:1t	elaídico	-	0.0090
18:1cis	oleico	21.6751	1.7955
18:2t	linolelaídico	-	0.0232
18:2cis	linoleico	1.1187	4.2024
20:00	arquidico	0.1083	0.0295
18:03	g linolenico	-	0.0184
20:01	eicosanoico	-	0.0288
18:03	linolenico	0.1809	0.4467
22:00	beenico	-	0.0353

(-): indica ácido graxo não detectado no produto

D.3. Antropométricos de Composição Corporal

Todos os resultados antropométricos e bioquímicos de nosso estudo estão descritos na Tabela 11, no entanto algumas variáveis estão também ilustradas em gráficos com o objetivo de auxiliar na discussão sobre o comportamento dos grupos dietéticos sob DM e DTLC. Para facilitar a análise, os dados basais, já descritos na Tabela 7, foram reproduzidos nesta Tabela 11.

Apesar de os pacientes sob DM terem iniciado o estudo com peso corporal mais elevado do que os sob DTLC, o comportamento dos pacientes dos dois grupos foi muito semelhante ao longo das dietas. O peso corporal e o IMC diminuíram significativamente nas duas dietas (Figuras 1 e 2, respectivamente), sendo que os valores de IMC passaram de 26.5 kg/m² para 25.9 kg/m² na DM e de 26.3 kg/m² para 25.7 kg/m² na DTLC, embora o objetivo de nosso estudo não estivesse associado primariamente à perda de peso corporal.

Os valores médios de circunferência abdominal, assim como os de peso corporal e IMC, diminuíram significativamente tanto nos pacientes sob DM, como nos pacientes sob DTLC ($p < 0.001$) e não houve diferença entre as dietas (Figura 3). Além dessa redução da circunferência abdominal, observamos também uma diminuição das dobras cutâneas em ambos os grupos no decorrer da intervenção dietética (Figura 4), sugerindo que a diminuição de peso corporal tenha ocorrido, ao menos em parte, por redução de tecido adiposo.

Os resultados do índice abdômen/quadril, no entanto, não apresentaram diferença entre os períodos iniciais e finais de cada dieta e nem entre as mesmas.

Tabela 11: Distribuição das variáveis clínicas, antropométricas e laboratoriais da amostra, de acordo com o grupo dietético DM e DTLC, nos momentos basal e final da intervenção dietética

Variável	DM (n = 21)		DTLC (n = 19)		*p Basal	§ p (ANOVA)		
	Basal	Final	Basal	Final		Momento	Dieta	Momento x Dieta
Peso, kg	79.3 ± 7.5	77.7 ± 7.5	73.6 ± 7.6	71.9 ± 6.7	0.023	< 0.001	0.017	0.879
Índice de massa corporal, kg/m ²	26.5 ± 1.9	25.9 ± 1.8	26.3 ± 2.5	25.7 ± 2.4	0.827	< 0.001	0.783	0.819
Circunferência abdominal, cm	96 ± 6	94 ± 6	94 ± 8	92 ± 8	0.400	< 0.001	0.352	0.885
Índice abdômen/quadril	0.94 ± 0.05	0.94 ± 0.04	0.95 ± 0.07	0.94 ± 0.06	0.801	0.211	0.939	0.372
Somatória das dobras cutâneas, mm	102 ± 18	99 ± 14	94 ± 25	88 ± 24	0.205	0.004	0.117	0.357
Pressão Arterial								
Sistólica, mm Hg	138 ± 13	127 ± 11	134 ± 19	128 ± 13	0.479	0.001	0.791	0.246
Diastólica, mm Hg	87 ± 7	80 ± 7	87 ± 9	81 ± 8	0.971	< 0.001	0.731	0.637
Perfil Lipídico								
Colesterol total, mg/dL	153 ± 33	155 ± 35	161 ± 24	147 ± 32	0.396	0.114	0.998	0.029
LDL-C, mg/dL	87 ± 26	90 ± 30	98 ± 23	86 ± 27	0.140	0.236	0.598	0.034
HDL-C, mg/dL	40 ± 7	43 ± 9	38 ± 7	38 ± 7	0.400	0.076	0.133	0.053
LDL oxidada, U/L	60 ± 21	59 ± 20	78 ± 24	62 ± 21	0.019	0.002	0.114	0.009
LDL oxidada / LDL total	0.73 ± 0.25	0.67 ± 0.16	0.79 ± 0.23	0.73 ± 0.26	0.384	0.120	0.297	0.976
Triglicérides, mg/dL	130 ± 74	110 ± 62	121 ± 59	112 ± 70	0.694	0.086	0.870	0.524
Apolipoproteína B, g/L; [n = 21; 18]§	0.79 ± 0.16	0.78 ± 0.19	0.91 ± 0.24	0.80 ± 0.24	0.066	0.027	0.268	0.067
Apolipoproteína A-I, g/L; [n = 21; 18]§	1.49 ± 0.22	1.48 ± 0.31	1.37 ± 0.21	1.28 ± 0.21	0.063	0.206	0.019	0.357
Lipoproteína(a), mg/dL	37 ± 29	40 ± 32	36 ± 28	38 ± 29	0.844	0.093	0.859	0.934
Glicose sérica, mg/dL								
Glicose sérica, mg/dL	91 ± 8	93 ± 8	89 ± 8	88 ± 9	0.419	0.348	0.138	0.251
Transaminase glutâmico oxalacética, U/L								
Transaminase glutâmico oxalacética, U/L	24 ± 4	24 ± 5	28 ± 8	29 ± 9	0.055	0.370	0.025	0.800
Transaminase glutâmico pirúvica, U/L								
Transaminase glutâmico pirúvica, U/L	50 ± 11	47 ± 11	50 ± 13	53 ± 14	0.985	0.889	0.379	0.065
Gama glutamyl transpeptidase, U/L								
Gama glutamyl transpeptidase, U/L	49 ± 24	51 ± 31	48 ± 22	43 ± 15	0.948	0.575	0.533	0.051
Proteína C-reativa ultra-sensível, mg/L								
Proteína C-reativa ultra-sensível, mg/L	1.65 ± 1.50	1.07 ± 0.93	1.38 ± 1.07	2.07 ± 2.99	0.510	0.874	0.437	0.058
Contagem total de leucócitos, n^o/mm³								
Contagem total de leucócitos, n ^o /mm ³	6.3 ± 1.2	5.8 ± 1.2	6.1 ± 1.3	6.2 ± 1.5	0.495	0.176	0.888	0.025
Mieloperoxidase, pmol/L; [n = 10; 10]§								
Mieloperoxidase, pmol/L; [n = 10; 10]§	433 ± 86	376 ± 136	389 ± 79	384 ± 69	0.243	0.150	0.637	0.215
sICAM-1, ng/ml								
sICAM-1, ng/ml	124 ± 29	122 ± 35	138 ± 35	127 ± 38	0.177	0.068	0.372	0.201
sVCAM-1, ng/ml								
sVCAM-1, ng/ml	314 ± 74	320 ± 84	317 ± 68	317 ± 75	0.891	0.645	0.995	0.637
L-arginina, µM; [n = 20; 19]§								
L-arginina, µM; [n = 20; 19]§	94.9 ± 11.4	91.5 ± 16.1	86.1 ± 20.2	85.5 ± 18.8	0.110	0.378	0.143	0.549
ADMA, µM; [n = 20; 19]§								
ADMA, µM; [n = 20; 19]§	0.88 ± 0.22	0.77 ± 0.22	0.90 ± 0.22	0.82 ± 0.24	0.794	0.021	0.575	0.685
L-arginina/ADMA; [n = 20; 19]§								
L-arginina/ADMA; [n = 20; 19]§	114.7 ± 32.2	125.1 ± 27.4	99.3 ± 25.8	111.8 ± 35.9	0.108	0.012	0.110	0.805
GSH / GSSG plasma								
GSH / GSSG plasma	1.3 ± 0.7	1.3 ± 0.7	1.5 ± 0.9	1.4 ± 0.6	0.487	0.301	0.503	0.678
GSH / GSSG eritrócitos; [n = 20; 19]§								
GSH / GSSG eritrócitos; [n = 20; 19]§	5.5 ± 6.4	5.8 ± 5.0	5.8 ± 6.5	5.8 ± 3.5	0.881	0.921	0.916	0.885
N^o. de cópias DNA mitocondrial, [n = 18; 17]§								
2 ^{DDCT} (ctr)	10.4 ± 10.1	8.6 ± 5.0	6.7 ± 3.3	10.3 ± 11.5	0.161	0.635	0.640	0.154
DCT (MctHbB-MctDNAmIt)	7.5 ± 1.0	7.4 ± 0.7	7.1 ± 0.6	7.4 ± 1.0	0.185	0.528	0.447	0.270
Função Endotelial; [n = 21; 18]§								
Diâmetro da artéria braquial no basal, mm								
Diâmetro da artéria braquial no basal, mm	4.38 ± 0.39	4.44 ± 0.52	4.44 ± 0.51	4.34 ± 0.49	0.690	0.413	0.983	0.035
Vasodilatação mediada pelo fluxo, %								
Vasodilatação mediada pelo fluxo, %	4.4 ± 3.6	4.9 ± 4.3	4.4 ± 5.5	4.9 ± 3.7	0.999	0.397	0.790	0.760
Vasodilatação após nitrato, %								
Vasodilatação após nitrato, %	23.1 ± 6.6	18.7 ± 8.7	19.2 ± 8.1	20.8 ± 8.8	0.099	0.238	0.785	0.082
Velocidade do fluxo no basal, cm/s								
Velocidade do fluxo no basal, cm/s	51 ± 10	54 ± 11	52 ± 14	56 ± 14	0.759	0.046	0.636	0.755
Pico da velocidade de fluxo na hiperemia reativa, cm/s								
Pico da velocidade de fluxo na hiperemia reativa, cm/s	96 ± 20	99 ± 19	95 ± 21	88 ± 14	0.793	0.648	0.174	0.22

Dados representados em média ± desvio-padrão ou número (porcentagem)

*p : valores entre os momentos basais obtidos através de Teste t Student ou Qui-quadrado, descritos em metodologia

§ p : valores obtidos através de ANOVA, descrito em metodologia

n = 21 para DM e n = 19 para DTLC, exceto se especificado entre chaves [n = DM ; DTLC]§

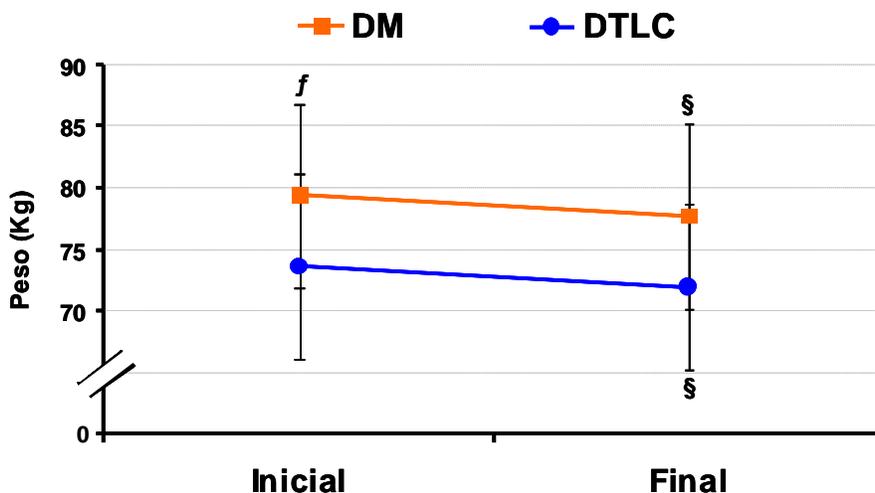


Figura 1: Representação gráfica da evolução do peso corporal dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

§ $p < 0.001$: Final vs Inicial para ambos os grupos

^f $p < 0.05$: Inicial DM vs Inicial DTLC

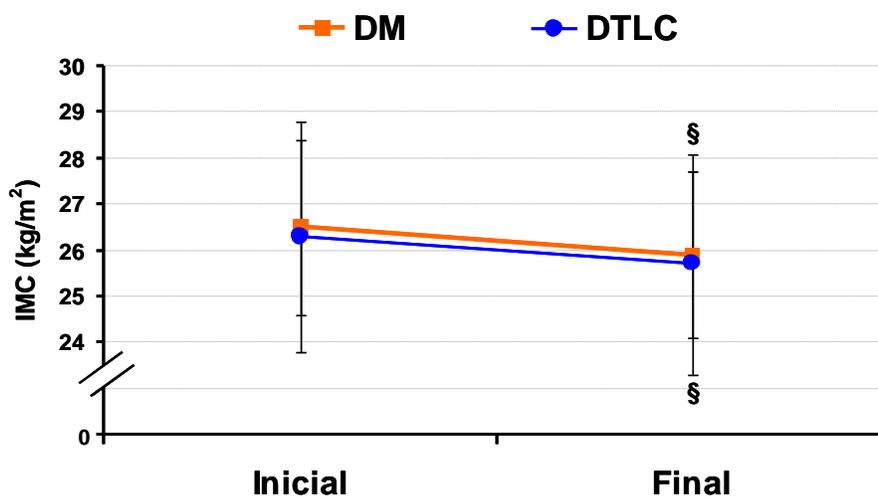


Figura 2: Representação gráfica da evolução do índice de massa corporal (IMC) dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

§ $p < 0.001$ Final vs Inicial para ambos os grupos

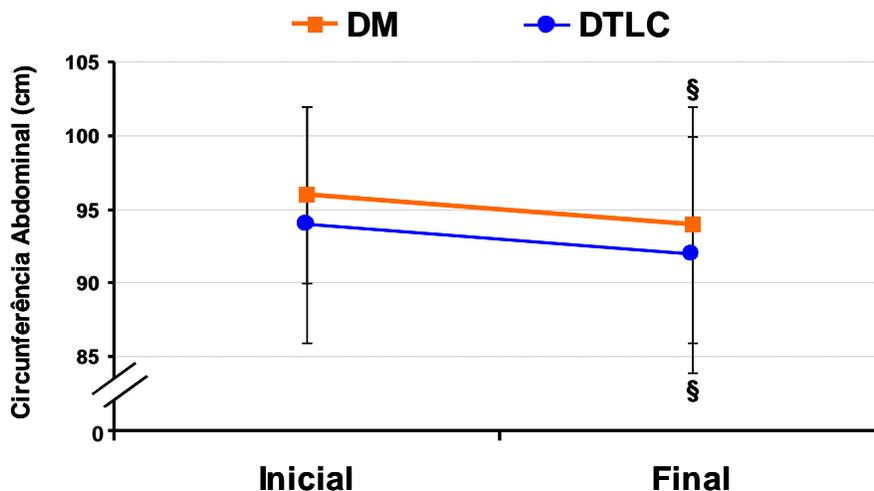


Figura 3: Representação gráfica da evolução da circunferência abdominal dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética
 $§p < 0.001$ Final vs Inicial para ambos os grupos

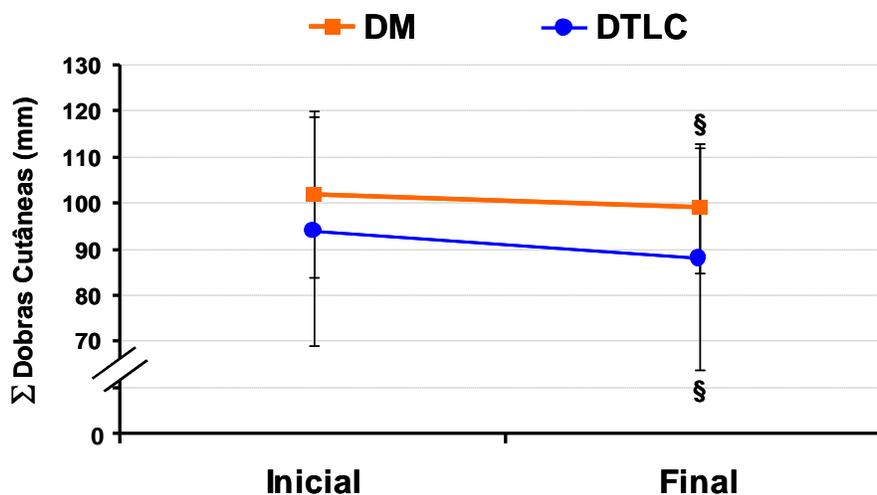


Figura 4: Representação gráfica da evolução da somatória das dobras cutâneas (ΣDC) dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética
 $§p < 0.05$ Final vs Inicial para ambos os grupos

D.4. Pressão Arterial

Houve diminuição significativa dos níveis de pressão arterial sistólica e diastólica ($p = 0.001$ e $p < 0.001$, respectivamente) em ambos os grupos dietéticos estudados (Figuras 5 e 6). De acordo com as *IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão* (Sociedade Brasileira de Hipertensão 2004), a classificação dos níveis pressóricos dos pacientes sob DM e DTLC, no momento basal, mudou de limítrofe para normal, após as intervenções dietéticas. Cabe ressaltar que tais alterações ocorreram numa amostra onde a maioria dos pacientes encontrava-se em uso de medicação anti-hipertensiva ($> 90\%$ de pacientes, Tabela 7).

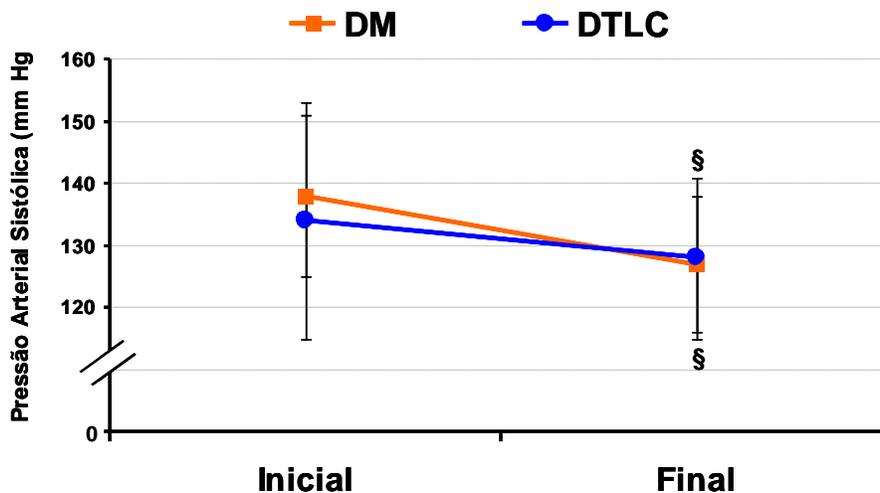


Figura 5: Representação gráfica da evolução da pressão arterial sistólica dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética
 $\S p = 0.001$ Final vs Inicial para ambos os grupos

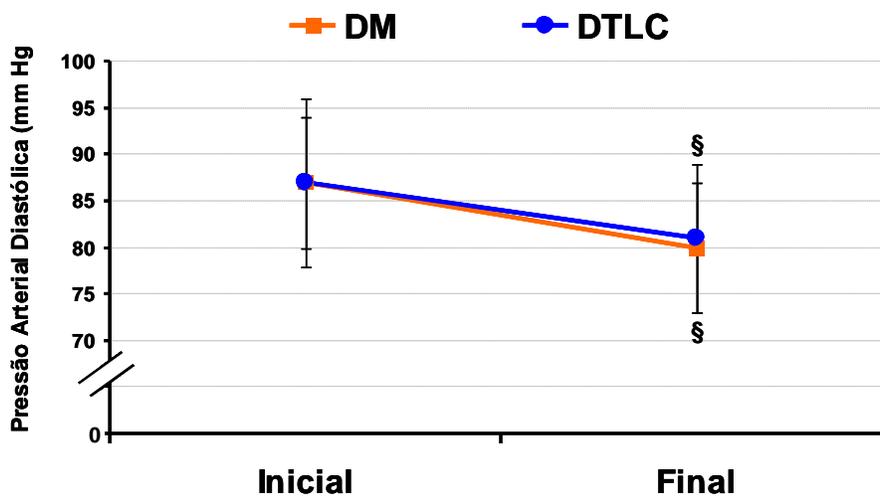


Figura 6: Representação gráfica da evolução da pressão arterial diastólica dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética
 $\S p < 0.001$ Final vs Inicial para ambos os grupos

D.5. Variáveis Bioquímicas

Em contraposição aos dados antropométricos e composição corporal, o comportamento das variáveis bioquímicas não apresentou a mesma similaridade entre as dietas.

D.5.1. Variáveis do Perfil Lipídico

Houve diminuição nos níveis de colesterol total de 14 mg/dL (8.7%) na DTLC, enquanto na DM esses valores aumentaram 2 mg/dL (1.3%) (Figura 7). A fração LDL-C seguiu o mesmo perfil, diminuindo 12 mg/dL (12.3%) na DTLC e aumentando 3 mg/dL (3.5%) na dieta Mediterrânea (Figura 8). Embora esses valores entre os momentos iniciais e finais não tenham sido significativos nos dois grupos dietéticos, as diferenças de comportamento entre as duas dietas foram significativas tanto para colesterol total, como para a fração LDL-C ($p = 0.029$ e $p = 0.034$; respectivamente).

Houve diminuição significativa da LDL oxidada de 16 U/L (20.5%; $p = 0.002$) em pacientes sob DTLC, enquanto pacientes sob DM não alteraram significativamente essa variável, que diminuiu 1 U/L (1.7%). A diferença de comportamento entre as duas dietas foi significativa ($p = 0.009$) (Figura 9).

A fração HDL-C, embora não tenha sido observada variação estatisticamente significativa, aumentou na DM (7.5%) enquanto na DTLC esse marcador permaneceu inalterado (Figuras 10 e 11), com significância ($p = 0.053$) na análise entre os grupos.

Os triglicérides diminuíram de forma não estatisticamente significativa ($p = 0.086$), em 20 mg/dL (15.4%) e 9 mg/dL (7.4%) nos pacientes sob DM e DTLC, respectivamente.

Os valores das apolipoproteínas A-1, B e da lipoproteína(a) não diferiram entre as dietas, apenas houve alteração significativa em apolipoproteína B na DTLC (0.91 ± 0.24 inicial vs. $0.80 \text{ g/L} \pm 0.24 \text{ g/L}$ final; $p = 0.027$) (Figura 12). A razão apoB/apoA-1 variou de 0.7 para 0.6 na DTLC e permaneceu a mesma na dieta Mediterrânea, 0.5.

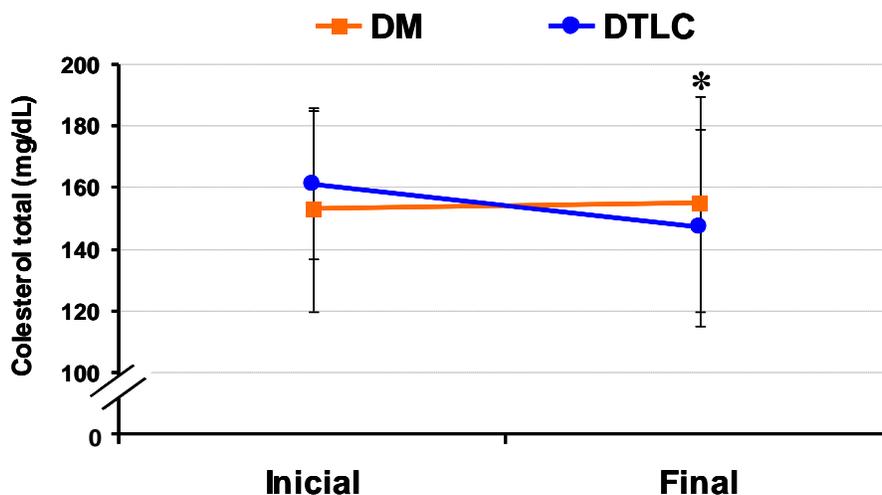


Figura 7: Representação gráfica da evolução do colesterol total dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

* $p < 0.05$: DTLC vs DM

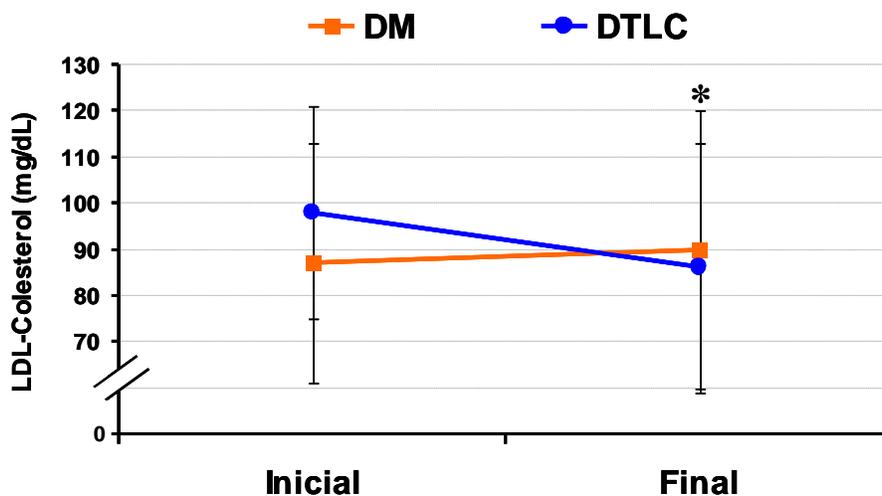


Figura 8: Representação gráfica da evolução de LDL-Colesterol dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

* $p < 0.05$ DTLC vs DM

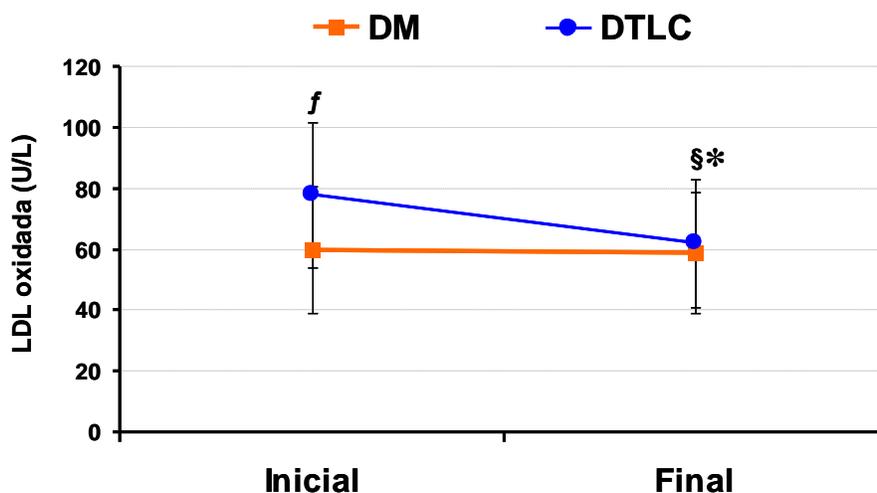


Figura 9: Representação gráfica da evolução de LDL oxidada dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

§ $p < 0.05$: DTLC: Final vs Inicial

* $p < 0.05$: DTLC vs DM

^f $p < 0.05$: Inicial DM vs Inicial DTLC

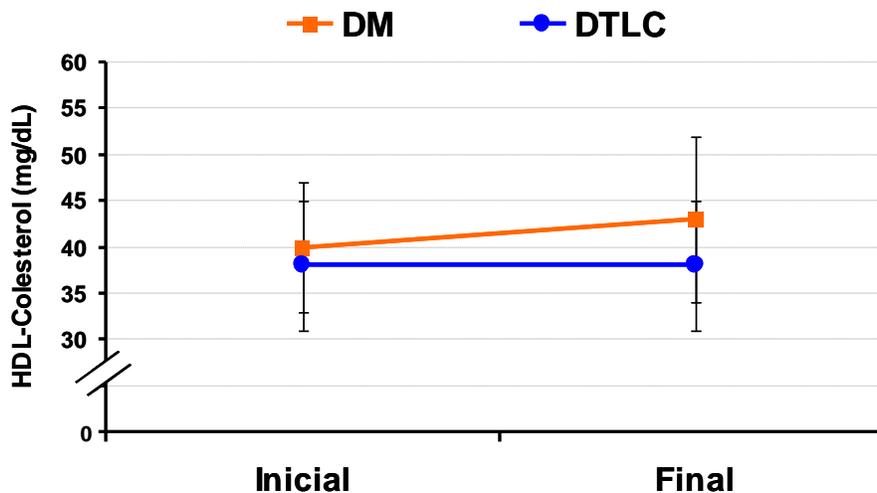


Figura 10: Representação gráfica da evolução de HDL-C dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

$P = 0.053$ DM vs DTLC

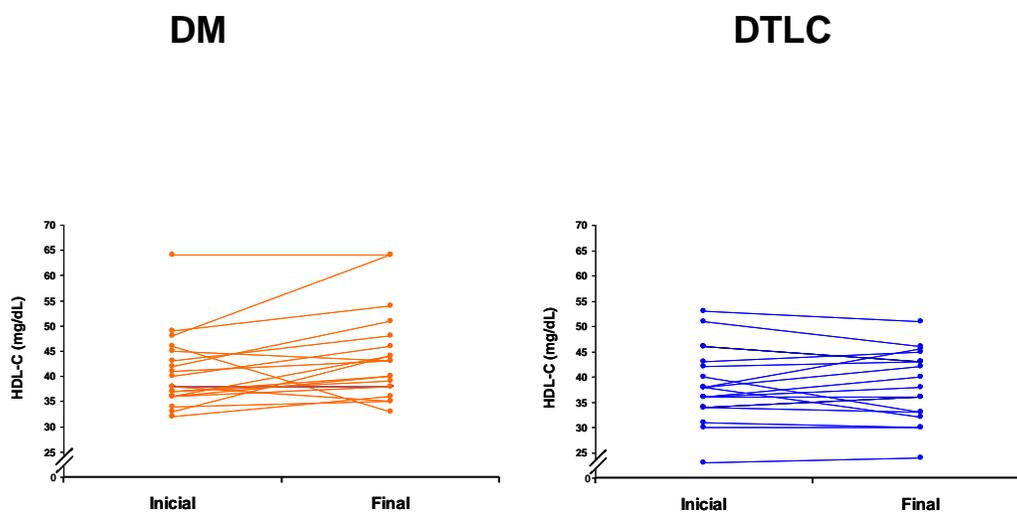


Figura 11. Representações gráficas da evolução individual da HDL-C nos pacientes sob DM e nos pacientes sob DTLC

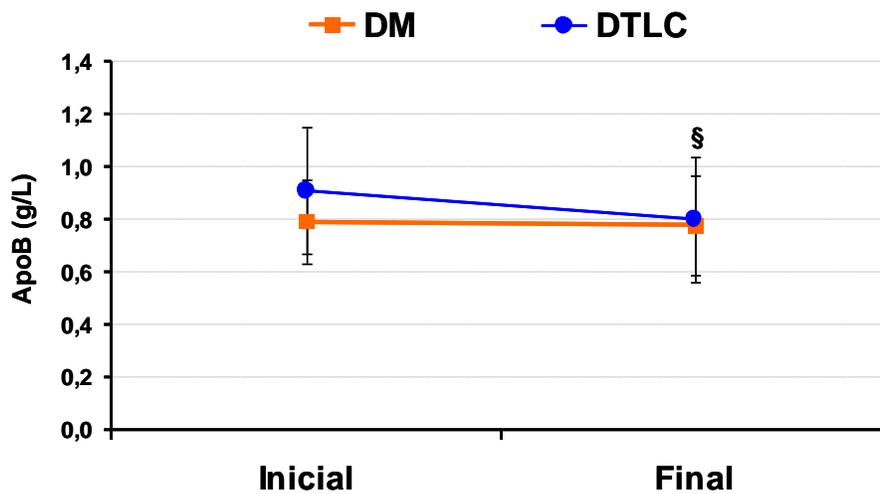


Figura 12: Representação gráfica da evolução da apolipoproteína B dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética
 $\S p < 0.05$ DTLC: Final vs Inicial

D.5.2. Variáveis Inflamatórias

Ao observarmos os valores médios e a representação gráfica da evolução dos níveis de PCR (Figura 13) nos pacientes sob DM e DTLC, verificamos que embora não estatisticamente significativa ($p = 0.058$), foram opostas. No entanto, ao analisarmos a mesma variável de acordo com os dados distribuídos individualmente na forma gráfica na Figura 14, observamos que o comportamento das dietas foi similar em ambos os grupos, com apenas algumas diferenças em alguns pacientes da DTLC versus DM. Portanto, além do valor de p não significativo, consideramos os grupos similares nesta variável.

Observamos redução da variável contagem total de leucócitos nos pacientes sob DM, enquanto houve aumento nos pacientes sob DTLC ($p = 0.025$) (Figura 14). Ao investigar os possíveis mecanismos envolvidos nessa resposta inflamatória, analisamos a concentração sérica das moléculas de adesão sVCAM e sICAM, porém não detectamos diferenças entre os valores finais e iniciais em ambos os grupos, nem diferenças entre os mesmos (Tabela 11).

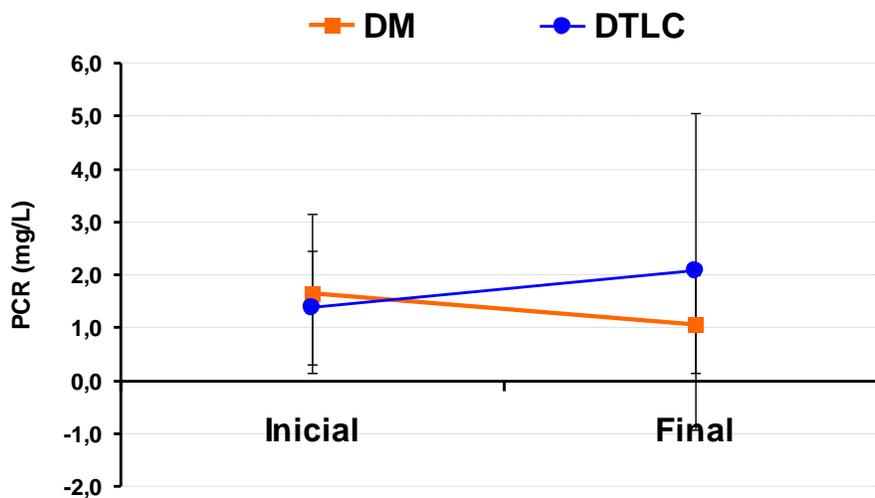


Figura 13: Representação gráfica da evolução da proteína C-reativa nos pacientes estudados sob DM e DTLC

$p = 0.058$ DM vs DTLC

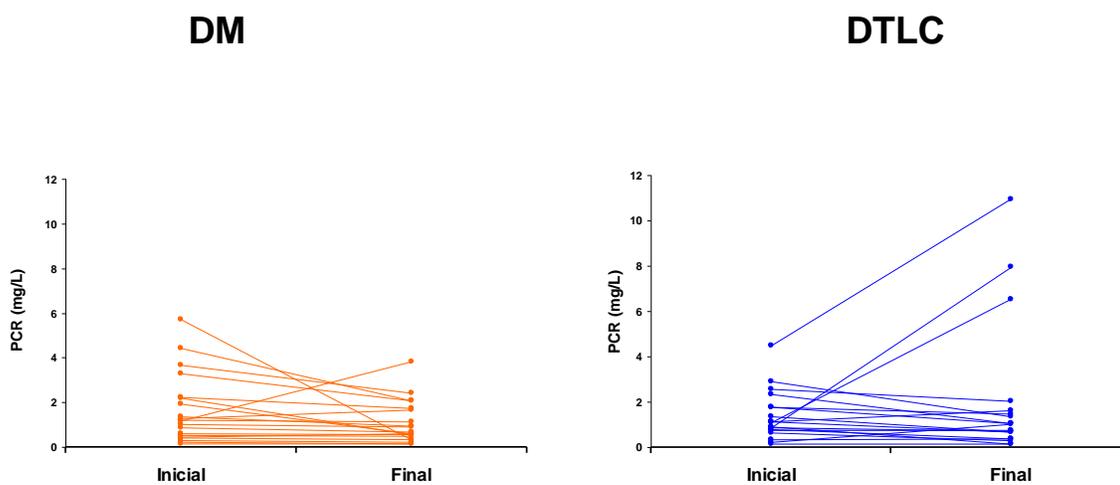


Figura 14: Representações gráficas da evolução individual da proteína C-reativa nos pacientes estudados sob DM e nos pacientes sob DTLC

$p = 0.058$ DM vs DTLC

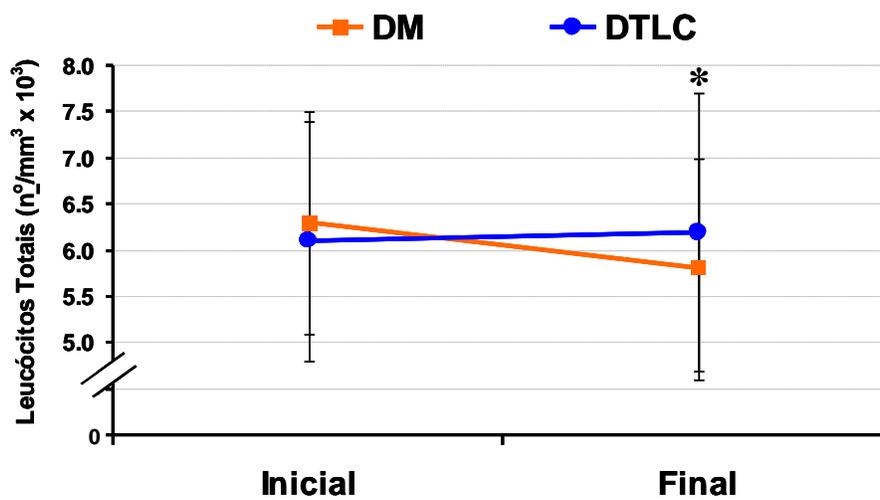


Figura 15: Representação gráfica da evolução de leucócitos totais dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética
* $p < 0.05$ DM vs DTLC

D.5.3. Glicose sérica e enzimas hepáticas

Os níveis séricos de glicose não tiveram alteração significativa entre os momentos basal e final e também não houve diferença significativa entre os grupos, onde os valores iniciais e finais de ambos estiveram numa faixa entre 88-93 mg/dL.

As enzimas indicadoras de função hepática apresentaram valores basais bem similares e também não houve alteração significativa ao final das dietas com relação às enzimas TGO e TGP (Tabela 11). Observamos, no entanto, que a variável gama glutamil transferase aumentou 4% nos pacientes sob DM enquanto que nos pacientes sob DTLC, houve uma diminuição de 10% e, embora essas alterações não tenham sido significativas ($p > 0.05$) nos dois grupos em relação aos respectivos valores basais, observamos que o comportamento oposto das dietas apresentou significância de $p = 0.051$. Porém, cabe ressaltar que os valores médios das variáveis TGO, TGP e Gama GT estavam dentro dos limites de referência nos momentos basais e pós-intervenção em ambos os grupos dietéticos.

D.5.4. Variáveis Relacionadas ao Equilíbrio Redox

A análise da atividade plasmática da mieloperoxidase e das concentrações plasmáticas e intracelulares (eritrócitos) de glutathiona reduzida e oxidada não evidenciou alterações durante o período estudado, em nenhuma das dietas, nem em comparação entre as dietas (Tabela 11). A razão GSH/GSSG também não se modificou.

Os níveis plasmáticos de dimetilarginina assimétrica (ADMA) diminuíram significativamente nos pacientes sob DM (13%) e sob DTLC (9%), $p < 0.05$ (Figura 16). Verifica-se que essa redução contribuiu para o aumento significativo da razão L-arginina/ADMA (Figura 17) nas dietas Mediterrânea e TLC, considerando que os níveis plasmáticos de L-arginina mantiveram-se semelhantes ao basal ($p > 0.05$) em ambos os grupos dietéticos.

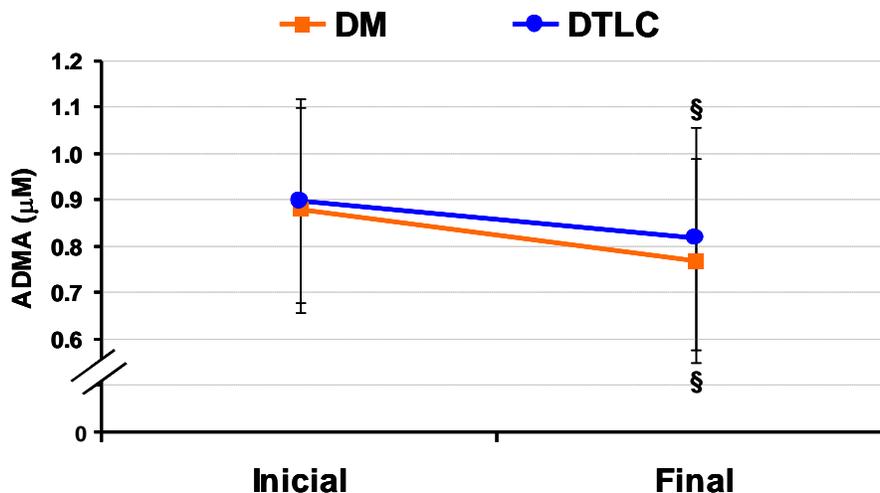


Figura 16: Representação gráfica da evolução da dimetilarginina assimétrica (ADMA) dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

§ $p < 0.05$ Final vs Inicial para ambos os grupos

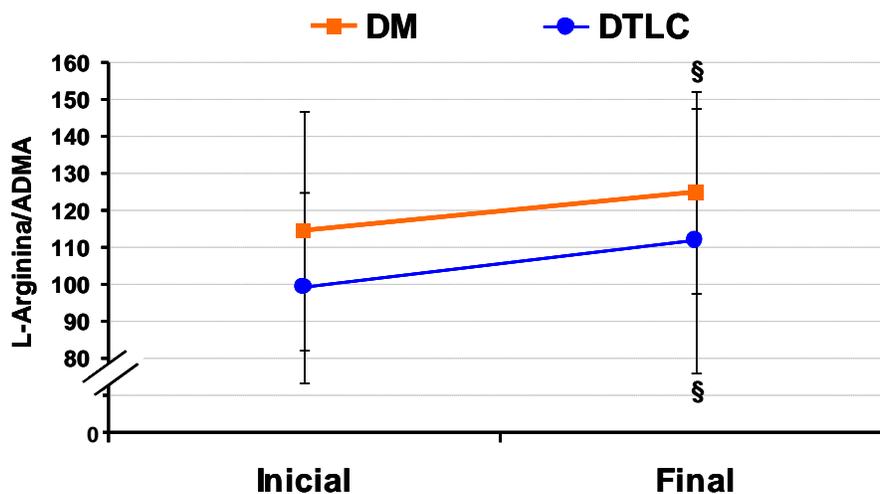


Figura 17: Representação gráfica da evolução da razão L-arginina/ADMA dos pacientes sob DM e DTLC nos momentos inicial e final da intervenção dietética

§ $p < 0.05$ Final vs Inicial para ambos os grupos

D.5.5. Número de cópias de DNAm_t

Análise do número de cópias do DNAm_t mostrou diferença estatisticamente significativa entre o Grupo Controle Normal e os dois grupos dietéticos, DM e DTLC, para a variável 2^{-DDCT} (Figura 18). Para a variável DCT, embora o teste de Kruskal-Wallis tenha sido significativo, o teste Post Hoc não foi significativo, provavelmente devido à maior dispersão dos dados. Neste último, não houve diferença significativa entre as dietas.

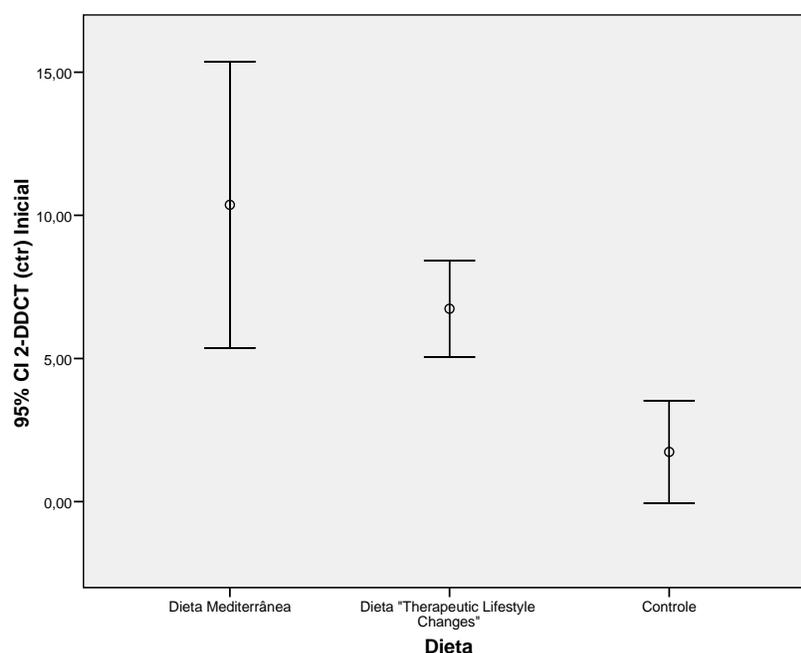


Figura 18: Representação gráfica da evolução do número de cópias do DNAm_t (média e intervalo de confiança) para a variável $2^{-\Delta\Delta CT}$ dos pacientes sob DM, sob DTLC e Grupo Controle no momento Inicial
 $p < 0.05$ DM e DTLC versus Grupo Controle

D.6. Função Endotelial

Não observamos diferença significativa na dilatação mediada pelo fluxo (%DMF) e na dilatação após a administração de nitrato sublingual (%DPósN) nos pacientes submetidos à dieta TLC, nem nos submetidos à dieta Mediterrânea. Variações na %DMF e %DPósN também não foram verificadas entre os grupos dietéticos. Cabe ressaltar, no entanto, que embora os valores não tenham sido significativos, observamos que a %DMF aumentou 27.2% e 11.2% nos pacientes das dietas TLC e Mediterrânea, respectivamente. No entanto, a %DPósN teve um comportamento oposto (não estatisticamente significante), tendo aumentado 4.3% na dieta TLC e diminuído 18.8% na dieta Mediterrânea. (Tabela 11).

Com relação à velocidade de fluxo no basal, observamos que houve melhora significativa em ambos os grupos dietéticos entretanto, valores basais de diâmetro da artéria braquial melhoraram significativamente apenas nos pacientes sob DM.

D.7. Sumário de Resultados Bioquímicos e Laboratoriais

Ao compararmos a DM com a DTLC com relação às variáveis bioquímicas e laboratoriais, observamos que os pacientes apresentaram comportamentos distintos e significativos em colesterol total, LDL-C e LDL oxidada na DTLC; reduzindo 14 mg/dL, 12 mg/dL e 16 mg/dL, respectivamente; enquanto os pacientes da DM aumentaram 2 mg/dL em colesterol total e 3 mg/dL em LDL-C, e diminuíram 1 mg/dL em LDL oxidada. Porém, não houve diferença significativa entre os valores basais e finais dessas variáveis citadas acima, exceto a LDL oxidada que diminuiu significativamente nos pacientes sob DTLC entre os momentos basal e final. Cabe ressaltar que a LDL oxidada foi a única variável bioquímica que apresentou diferença estatística significante no basal entre a DM e a DTLC, tendo os pacientes sob DTLC iniciado a dieta com diferença de 18 mg/dL ($p = 0.02$) superior aos pacientes sob DM. Com relação à fração HDL-C, o grupo sob DM finalizou a intervenção com acréscimo de 3 mg/dL em relação ao basal, enquanto o grupo sob DTLC permaneceu com os mesmos valores basais, esta

diferença de comportamento entre as dietas teve um nível de significância de $p = 0.053$.

A contagem total de leucócitos foi outra variável que teve comportamento estatisticamente oposto entre os grupos, onde 81% dos pacientes sob DM tiveram redução média de 500 leucócitos/mm³ enquanto pacientes sob DTLC mostraram aumento dessa variável.

Entre as variáveis para análise da função endotelial, observamos significância apenas na velocidade de fluxo da artéria braquial na situação basal ou seja, no momento pré-exame de reatividade vascular para ambos os grupos. Após a intervenção dietética, entretanto, os pacientes sob DM tiveram aumento no diâmetro da artéria braquial, enquanto os pacientes sob DTLC tiveram uma redução, com diferença significativa entre os grupos.

Nas comparações entre os momentos inicial e final de cada dieta, observamos resultados significativos nos pacientes sob DM e DTLC, com redução em dimetilarginina assimétrica (ADMA) e na relação L-arginina/ADMA.

Cabe ressaltar que nossa amostra foi composta de pacientes amplamente medicados e portanto, com níveis bioquímicos iniciais ao estudo muito próximos aos valores normais de referência, característica já esperada devido ao desenho de nosso estudo. Portanto, colocamos em destaque neste sumário de resultados, pois tal aspecto é fundamental para compreensão dos efeitos da dieta DM e DTLC que serão discutidos a seguir.

Discussão

E. Discussão

Este estudo teve como objetivo principal investigar os efeitos plenos e mecanismos ateroprotetores do padrão dietético mediterrâneo integral, sob estratégia de aderência otimizada, na prevenção secundária da doença arterial coronariana. Nossos resultados mostraram que pacientes de alto risco cardiovascular, mesmo sob intensa medicação e tendo recebido aconselhamento dietético geral, após evento coronariano recente, apresentaram respostas positivas em variáveis clínicas e bioquímicas no controle de risco cardiovascular após tratamento dietético intensivo por 3 meses com dietas Mediterrânea ou hipolipemiante integral do NCEP/ATPIII. A magnitude dos efeitos das dietas, como já observado em estudos de prevenção secundária (de Lorgeril *et al.* 1999; Iestra *et al.* 2006), embora de impressionante impacto em especial nos desfechos primários, foi relativamente menos evidente do que efeitos reportados em estudos de prevenção primária, em que pacientes não são medicados e frequentemente apresentam grandes desvios dietéticos e metabólicos, resultando em grande impacto na menor taxa de mortalidade (Knoops *et al.* 2004). Embora ambas as dietas tenham sido igualmente eficazes na melhora de variáveis clínicas associadas a risco cardiovascular, os efeitos em variáveis bioquímicas e inflamatórias foram distintos.

O foco primário de nosso estudo foi na aderência à dieta, um dos principais fatores que dificultam estudos sobre intervenção dietética na literatura, especialmente estudos com padrões dietéticos integrais. Assim, para otimizar a aderência às dietas de nosso estudo, optamos por um desenho não-randomizado, o que nos permitiu alocação dos pacientes aos diferentes grupos de acordo com hábitos alimentares/culturais e melhor aceitação de alimentos específicos de cada dieta, tais como vinho, azeite e oleaginosas na Mediterrânea e creme vegetal rico em fitosteróis na TLC. Por outro lado, devido à escolha de um desenho não-randomizado, foi necessária especial atenção com relação à homogeneização da amostra. Portanto, para reduzir possíveis vieses, os critérios de seleção de nossa

população foram particularmente estritos. Os resultados refletiram tais critérios, mostrando que a amostra de 40 pacientes, extraída de um grande número de pacientes atendidos nos consultórios do InCor, foi homogênea em relação à maior parte das variáveis analisadas. Houve diferença significativa apenas em peso e estatura basais, porém não valorizados devido à estreita semelhança do IMC entre os dois grupos dietéticos. Com relação às variáveis bioquímicas, observamos diferença significativa apenas nos valores basais de LDL oxidada entre DM e DTLC, provavelmente como reflexo do próprio desenho e método de seleção de nosso estudo, conforme discutido adiante. É importante ressaltar que diferenças basais podem ocorrer mesmo em estudos randomizados de intervenção nutricional como o *THIS-DIET Study*, no qual pacientes sob intervenção dietética tinham níveis basais de LDL-C significativamente diferentes dos pacientes pertencentes ao grupo controle (Tuttle *et al.* 2008).

A otimização da aderência foi realizada por vários métodos, tanto específicos - como os questionários de aderência à DM e à DTLC mostrando escores favoráveis em ambas - quanto gerais - como os registros alimentares de 4 dias. Estes permitiram análise qualitativa e quantitativa das dietas aplicadas, sendo método amplamente utilizado em estudos de intervenção com desenhos semelhantes ao nosso (Vincent-Baudry *et al.* 2005; Tuttle *et al.* 2008). Neste sentido, os resultados que mostram alto grau de aderência dos pacientes, quer ao padrão mediterrâneo, quer ao padrão TLC, são importantes para permitir entender o potencial pleno destas intervenções dietéticas. Os pacientes sob DM e sob DTLC iniciaram o estudo com valores similares em macronutrientes, proporção de ácidos graxos saturados, poliinsaturados, ômega-3, ômega-6 e trans, colesterol, vitamina C, fibras, sódio, potássio, cálcio e fósforo. Exceção ocorreu quanto aos ácidos graxos monoinsaturados, cujos teores eram significativamente maiores na DM comparados à DTLC. Tal fato, inerente ao desenho de nosso estudo, parece não ter influenciado nos resultados após intervenção, uma vez que os pacientes sob DM tiveram o esperado aumento, enquanto os pacientes sob DTLC tiveram

redução de consumo de monoinsaturados, de acordo com os objetivos lipídicos dessas dietas.

Além de terem iniciado as intervenções sob características basais semelhantes, os resultados dos registros alimentares mostraram aderência aos aspectos mais características de cada dieta. Além de os pacientes sob DM terem atingido as metas de consumo de carboidratos e ácidos graxos ômega-3 estabelecidas em nossos objetivos, houve aproximação da composição lipídica ao padrão mediterrâneo, com redução do consumo de ácidos graxos saturados em favor de monoinsaturados, que aumentaram de 9 a 15% VCT, enquanto os poliinsaturados mantiveram-se próximos aos níveis basais já adequados (<10% VCT). Lipídeos totais, apesar de não terem alcançado o mínimo de 33% VCT estabelecidos no padrão mediterrâneo, aumentaram de 30 para 31% VCT. Com relação ao valor calórico total da DM, nossos resultados mostraram redução média significativa de 464 Calorias/dia, significativa pelo fato de ter ocorrido em grupo com sobrepeso basal. É importante ressaltar que o menor consumo de calorias e redução do IMC ocorreu apesar do consumo diário de 328 Calorias em alimentos hipercalóricos, como azeite de oliva e oleaginosas. A associação entre DM e aumento de peso é controversa na literatura. Nossos dados corroboram com os de Schroder et al, por exemplo, que reportaram associação inversa entre grau de aderência à dieta Mediterrânea e tendência à obesidade (Schroder *et al.* 2006), enquanto Trichopoulou et al (Trichopoulou *et al.* 2005) não encontraram relação entre tais fatores. Recente análise por Drichoutis et al (Drichoutis *et al.* 2008) utilizando um escore capaz de estimar com maior precisão a influência de vieses no efeito de um tratamento (*propensity score matching*), concluiu não ser possível afirmar que exista uma relação causal entre DM e aumento de IMC. Neste sentido, o resultado de nosso estudo indicando que a aderência à DM, desde que adequadamente orientada, é capaz de proporcionar redução de IMC e gordura corporal, inclusive abdominal, é relevante e indica uma alternativa viável para a redução de fatores de risco cardiovascular mesmo em pacientes com sobrepeso (FAO/WHO 2003). Com relação à aderência ao padrão preconizado pelas

diretrizes de colesterol americanas, NCEP/ATPIII, nossos resultados mostraram que os pacientes sob DTLC apresentaram também redução significativa de peso e dados antropométricos em geral, assim como ocorreu com a DM. As metas nutricionais propostas pelo NCEP/ATPIII foram atingidas quase na totalidade, com exceção de proteínas, cuja proporção em relação ao valor calórico total permaneceu acima do recomendado, fato também ocorrido com pacientes sob DM. Tanto pacientes sob DTLC como sob DM mantiveram ótimos níveis de vitamina C, potássio, fibras e reduziram significativamente a ingestão de colesterol e ácidos graxos trans, além de sódio. Os níveis ótimos de vitamina C, potássio e fibras observados já na condição basal, foram possivelmente reflexo do aconselhamento dietético prévio ao nosso estudo. Houve redução significativa do teor de lipídeos totais em relação ao basal, um dos objetivos do padrão alimentar TLC e também um dos fatores que o diferencia em relação ao padrão mediterrâneo. Essa redução de lípidos ocorreu principalmente devido à redução em ácidos graxos saturados, importantes no aumento do risco cardiovascular (Mensink *et al.* 1992). Os ácidos graxos monoinsaturados diminuíram nos pacientes sob DTLC em oposição ao ocorrido com os pacientes sob DM, porém essa diminuição não foi significativa em relação ao basal e a proporção desses ácidos graxos manteve-se dentro dos padrões recomendados pelo NCEP/ATPIII. Em resumo, índices de aderência à DM e à DTLC foram elevados e mostraram que a maioria dos objetivos dietéticos estipulados para nossa amostra foi alcançada em ambos os grupos.

Outro aspecto relevante em nosso estudo foi a aplicação de estratégias idênticas de orientação nutricional tanto nos pacientes sob DM como nos controles sob DTLC. As razões que nos motivaram a valorizar esse aspecto foram: 1) seria eticamente questionável aplicar orientações nutricionais de maneira otimizada apenas no grupo experimental, especialmente em pacientes de alto risco cardiovascular; onde a dietoterapia é um dos pilares na prevenção secundária; 2) são poucos os estudos de intervenção dietética que utilizam grupo controle igualmente tratado, dificultando a análise e comparação adequada. Assim, nosso

estudo incluiu grupo controle orientado e acompanhado de maneira equivalente ao grupo experimental.

O efeito mais relevante das dietas em nosso estudo esteve relacionado às variáveis clínicas com diminuição significativa das variáveis antropométricas: peso corporal, IMC, circunferência abdominal e de valores médios de pressão arterial sistólica e diastólica. Em recente análise de 57 estudos prospectivos, num total de 900 000 indivíduos, resultados mostraram que valores de IMC > 25 kg/m² estão associados a um aumento progressivo na mortalidade, especialmente por doenças cardiovasculares (Whitlock *et al.* 2009).

Tendo em vista que nossa amostra era constituída de pacientes de alto risco cardiovascular, totalmente medicados e após evento coronariano, o fato de termos observado um grau de efeito de ambas as dietas relativamente moderado em variáveis laboratoriais não é surpreendente. Uma importante questão ser discutida, desta forma, é a possível implicação e relevância de tais efeitos na prevenção secundária de risco cardiovascular. Com relação aos marcadores lipídicos, ambos os padrões dietéticos estudados foram eficazes, porém sob aspectos distintos. Enquanto os pacientes sob DM mostraram aumento ($p = 0.053$, valores médios de 40 a 43 mg/dL) dos valores basais de HDL-C plasmático, pacientes sob DTLC mantiveram níveis de HDL em 38 mg/dL. Considerando que cada aumento de 1 mg/dL nos níveis plasmáticos de HDL-C está associado a uma diminuição no risco de eventos coronarianos em cerca de 2-3% (Gordon *et al.* 1989), estes resultados têm potencial relevância clínica, particularmente em população de alto risco cardiovascular como a do presente estudo. Os mecanismos dos efeitos benéficos da HDL-C são inúmeros, mas o principal tem sido o transporte reverso de colesterol (Assmann *et al.* 2004; Tabet *et al.* 2009). Níveis séricos de HDL-C podem também aumentar em decorrência da prática de exercícios físicos (Ashen *et al.* 2005; Iborra *et al.* 2008). Todavia, os pacientes de nosso estudo não modificaram o padrão de exercícios físicos em relação ao que faziam antes do período de intervenção nutricional. Tendo em vista a dificuldade de se conseguir aumentos dos níveis de HDL-C, é possível que DM seja

intervenção coadjuvante útil na otimização terapêutica do perfil lipídico. Pacientes sob DTLC, em relação a pacientes sob DM, mostraram diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol total e LDL-C plasmáticos, além de redução de LDL oxidada e apolipoproteína B. Estes dados confirmam relatos das diretrizes de colesterol do NCEP-ATP III coincidentes com as diretrizes da SBC (Sposito *et al.* 2007), nas quais é descrita e indicada como dieta hipolipemiante visando à redução do LDL-C plasmático (NCEP-ATP 2002).

A fração LDL-C permanece o principal alvo da terapia hipolipemiante, considerando a forte evidência de associação positiva entre níveis de LDL-C e aterogênese em modelos animais (Bonthu *et al.* 1997) e humanos (Goldstein *et al.* 1977) e principalmente a clara associação entre diminuição de LDL-C e redução do risco de doença arterial coronariana (Karalis 2009), com queda de 1% no risco cardiovascular para cada redução de 1.8 mg/dl do LDL-C (Katcher *et al.* 2009). É possível, assim, propor que a redução dos ácidos graxos saturados foi o mecanismo pelo qual níveis de LDL-C caíram significativamente mais com DTLC comparado à DM. De fato, é amplamente comprovada a diminuição de LDL-C pelo menor consumo de ácidos graxos saturados. O estudo DELTA, por exemplo, mostrou redução de 11% no LDL-C após diminuição de 15.0 para 6.1 % VCT do teor de ácidos graxos saturados (Ginsberg *et al.* 1998). No estudo beFIT, a dieta preconizada pelo NCEP (step II) promoveu redução de aproximadamente 8.0% no LDL-C plasmático em indivíduos hiperlipidêmicos (Walden *et al.* 1997; Walden *et al.* 2000). No entanto, nossos dados indicaram que menor consumo de gorduras saturadas ocorreu em graus semelhantes tanto com DTLC como DM, sem que esta última tenha induzido diferença significativa nos níveis de colesterol total, LDL-C e apoB. Além disso, ambas as dietas continham altos teores de fibras, também implicadas na diminuição de colesterol total e LDL-C (Brown *et al.* 1999). Assim, apesar do menor consumo de ácidos graxos saturados e trans pelos pacientes da dieta TLC, acreditamos que as respostas marcantes nos lípidos plasmáticos nesses pacientes possam estar mais associadas ao consumo de fitosteróis do que às mudanças no consumo de gordura saturada e trans, ou fibras

dietéticas. De fato, o uso de 2g/dia de fitosteróis pelos pacientes sob dieta TLC pode ter levado a diminuições do LDL-C na ordem de 6 a 15%, conforme dados do NCEP-ATP (NCEP-ATP 2002). Particularmente, tal redução ocorreu com nenhuma modificação na fração HDL-C. Um estudo recente (Chen *et al.* 2009) mostrou que o efeito redutor dos fitosteróis na fração LDL-C é independente e adicional ao efeito atribuído à redução de gordura em dietas hipolipídicas. Tal estudo avaliou duas dietas, uma com baixo teor de gordura total e saturada (26.4 e 7.7% VCT, respectivamente, dieta TLC do NCEP-ATPIII) e outra típica americana, com respectivos valores de gordura total e saturada de 33.5 e 13.2% VCT. Após o consumo das dietas por 23 dias, pacientes sob dieta com baixo teor de gordura tiveram reduções médias de 4.3% no colesterol total, 4.5% no LDL-C e 2.5% na apoB comparado ao grupo de dieta tradicional americana. Contudo, com a adição de fitosteróis à dieta com baixo teor de gordura, os pacientes apresentaram diminuição adicional dos níveis de colesterol total em 9.0%, de LDL-C em 12.4% e de apoB em 6.1%, sem modificar os níveis de HDL-C e apo A-1 (Chen *et al.* 2009). Nossos resultados com a dieta TLC acrescida de fitosteróis foram bastante semelhantes, mostrando reduções de 8.5% no colesterol total, 12.0% no LDL-C e 12.1% em apoB, também sem modificações na fração HDL-C e apoA-1. Estes dados reforçam o papel dos fitosteróis dietéticos como potencializadores da redução do colesterol, em especial do LDL-C, mesmo em pacientes sob medicação hipolipemiante e com níveis de LDL-C dentro dos padrões de referência.

A dieta TLC induziu significativa diminuição dos níveis de LDL oxidada entre início e fim do estudo, não ocorrida nos pacientes sob DM. É importante ressaltar que os níveis basais de LDL oxidada foram significativamente menores nos pacientes sob DM em relação aos pacientes alocados para DTLC. Este fato possivelmente se deve ao desenho de nosso estudo, que pode ter incorporado pequenas diferenças basais no grau de aderência à DM. Neste sentido, um aspecto importante é o teor basal significativamente maior de ácidos graxos monoinsaturados nos pacientes sob DM. É importante enfatizar que os valores

finais de LDL oxidada após a redução induzida pela DTLC foram muito próximos aos observados com DM. Além disso, os valores da relação LDL oxidada/ LDL total foram semelhantes entre os distintos momentos e grupos. De qualquer modo, este resultado é surpreendente, considerando que vários estudos associaram DM a reduções da LDL oxidada. O estudo ATTICA e o estudo da cidade de Québec mostraram associação inversa entre níveis plasmáticos de LDLox e aderência à DM (Panagiotakos *et al.* 2004; Lapointe *et al.* 2005). O ensaio clínico randomizado PREDIMED (*Prevención con Dieta Mediterránea*) comparou a eficácia de 2 modelos de DM na oxidação de lipoproteínas, um enriquecido com azeite de oliva extra-virgem e outro com oleaginosas, com a dieta preconizada pelo NCEP-ATPIII (Fito *et al.* 2007). Os resultados desse estudo, após 3 meses de intervenção, mostraram redução significativa em ambos os modelos de DM, enquanto a dieta do NCEP-ATPIII não mostrou mudança significativa desse marcador. É importante ressaltar que embora o papel da oxidação lipídica na doença cardiovascular seja reconhecido (Steinberg 2009), o valor prognóstico dos níveis plasmáticos de LDL oxidada, bem como a relação entre LDL oxidada e distintos modelos dietéticos são ainda incertos (Tsimikas 2006).

Embora tenha-se sugerido um efeito da DM no controle de variáveis da síndrome metabólica, entre elas, a glicose sérica (McKeown *et al.* 2004; Minich *et al.* 2008; Salas-Salvado *et al.* 2008; Urquiaga *et al.* 2008), nossos dados não indicaram efeitos específicos dessa dieta nessa variável. Por outro lado, o estudo THIS-DIET (Tuttle *et al.* 2008), cujo desenho e estratégias de acompanhamento foram semelhantes aos nossos, mostraram valores de glicose após 3 meses de intervenção praticamente idênticos aos de nosso estudo (81 para 83 mg/dL Med x 85 para 89 mg/dL TLC).

Um aspecto intrigante de nosso estudo é a relativa resistência dos marcadores inflamatórios e de função endotelial estudados a se alterarem em paralelo com os efeitos da dieta na melhora de variáveis clínicas e bioquímicas de risco cardiovascular. Este aspecto pode ter sido devido a vários fatores,

particularmente (1) o período relativamente curto de observação e (2) uso de medicações com efeitos antiinflamatórios vasculares evidentes, especialmente estatinas e inibidores da angiotensina II. Mesmo com estes fatores, alguns efeitos interessantes foram observados. A DM teve efeito peculiar na contagem de leucócitos circulantes, resultando em diminuição uniforme em 81% dos pacientes sob DM, em contraste ao aumento nos pacientes sob DTLC. Resultado semelhante foi encontrado no estudo ATTICA, que avaliou 1514 homens e 1528 mulheres e obteve redução significativa 14% em leucócitos circulantes em pacientes com maior grau de aderência à DM (Chrysohoou *et al.* 2004). Em sintonia com este resultado, outros estudos (Chrysohoou *et al.* 2004; Esposito *et al.* 2004) têm sugerido que o baixo risco cardiovascular associado com a dieta tipo Mediterrânea poderia ser mediado, pelo menos em parte, por antagonismo do processo inflamatório, embora mecanismos da associação entre leucócitos circulantes e inflamação não estejam claros. Em particular, metanálise de estudos prospectivos (Danesh *et al.* 1998) concluiu haver forte associação entre valores basais de leucócitos, entre outros fatores, com risco de doença arterial coronariana. Vários estudos têm mostrado um papel importante da PCR como preditiva de risco cardiovascular mesmo em pacientes assintomáticos (Ridker *et al.* 2008). Entretanto, as alterações dos níveis de PCR em nosso estudo não foram significativas.

Um resultado intrigante de nosso estudo foi ausência de efeito marcante de ambas as dietas, Mediterrânea e TLC, na reatividade vascular dependente do endotélio. A disfunção endotelial é um evento inicial no desenvolvimento da doença arterial coronariana e está associada com aterosclerose e seus fatores de risco, incluindo a hipercolesterolemia (Vogel 1999). Nosso estudo mostrou melhora significativa na hipercolesterolemia, tanto nos valores de colesterol total como em LDL-C dos pacientes sob dieta TLC, no entanto, nenhuma modificação acentuada na função endotelial foi observada. A melhora da função endotelial medida através do exame de reatividade vascular pode estar também associada a fatores dietéticos como ácidos graxos ômega-3, maior teor de antioxidantes

naturalmente encontrado nos alimentos e L-arginina, através do maior consumo de oleaginosas, como as nozes (Brown *et al.* 2001). A dieta Mediterrânea orientada em nosso estudo preconizava aumento do consumo de todos estes alimentos, entretanto não acarretou melhora detectável na função endotelial. Ros *et al.*, em estudo com pacientes hipercolesterolêmicos, verificou que a dilatação mediada pelo fluxo melhorou apenas nos pacientes com dieta rica em nozes (40-65g/dia) comparada a uma dieta tipo Mediterrânea, rica em azeite de oliva extravirgem. Porém, a melhora da dieta rica em nozes ocorreu somente naqueles pacientes que tiveram maior diferença na razão colesterol/HDL-C. O estudo de Ros *et al.* mostrou correlação inversa entre mudanças na dilatação mediada pelo fluxo e alterações na razão colesterol/HDL-C (Ros *et al.* 2004). Neste sentido, nossos resultados corroboram com os de Ros quanto à dieta Mediterrânea, rica em azeite de oliva, onde não foram observadas alterações significativas na dilatação mediada pelo fluxo. No entanto, na situação basal (pré-exame de reatividade vascular), observamos que ambos os grupos dietéticos melhoraram a velocidade de fluxo, por outro lado, apenas pacientes sob DM apresentaram aumento no diâmetro da artéria braquial versus pacientes sob DTLC. Estes resultados, em conjunto com redução significativa de ADMA e aumento na razão L-arginina/ADMA sugerem que pacientes sob DM apresentaram resposta endotelial dependente de NO.

Limitações do estudo

Limitações potenciais de nosso estudo incluem o fato de que os pacientes foram altamente selecionados, como parte do próprio desenho. O uso de estatinas também foi outro fator limitante, pois pode ter interferido, em certo grau, na análise de alguns mecanismos. Portanto, nossos dados não devem ser analisados em contextos como, por exemplo, prevenção primária em uma população geral. Tempo de estudo relativamente curto interferindo na detecção de certas alterações nas variáveis analisadas também pode ter sido outro fator limitante, especialmente em variáveis inflamatórias.

O estudo não foi desenhado para abordar efeitos das dietas em desfechos cardiovasculares. No entanto, é possível sugerir que os efeitos das dietas observados nas variáveis clínicas, se mantidos por tempo prolongado, tenham o potencial de ter impacto positivo na morbimortalidade.

Segundo a Organização Mundial da Saúde, estudos mostram que melhora nas variáveis, tais como pressão arterial, peso, IMC, de magnitude semelhante às observadas em nosso estudo, induzem redução de mortalidade (FAO/WHO 2003). O recente estudo OASIS que avaliou 18 809 pacientes após síndrome coronariana aguda, (Chow *et al.* 2010) demonstrou que pacientes que adotam estilo de vida saudável, incluindo dieta, apresentam menor probabilidade de eventos cardiovasculares recorrentes e mortalidade por todas as causas. Nesse sentido, nossos dados podem justificar estudos futuros abordando distintas aderências às dietas a longo-prazo, assim como comparação entre custo-efetividade de tratamentos dietéticos agressivos versus orientação dietética generalizada.

Conclusões

F. Conclusões

O efeito da dieta neste grupo de pacientes estudado foi eficaz quanto à diminuição de pressão arterial, peso, IMC entre outros marcadores antropométricos.

Marcadores inflamatórios basais pouco alterados mostraram respostas relativamente restritas à dieta, embora níveis de ADMA e relação L-arginina/ADMA tenham evidenciado melhora.

O padrão DM apresentou resultados semelhantes ao DTLC em variáveis clínicas e antropométricas. O padrão DTLC teve efeito mais marcante em lípides e o padrão DM associou-se à redução de leucócitos e melhora mais evidente na vasodilatação basal.

Em conjunto, estes dados indicam um perfil de efeitos da DM e DTLC compatíveis com redução do risco cardiovascular mesmo em pacientes intensamente medicados em prevenção secundária. Embora os mecanismos de efeitos de cada dieta indiquem diferenças relevantes, nosso estudo sugere que, adequadamente aplicados, ambos os padrões dietéticos podem ter resultados positivos em pacientes sob prevenção secundária de doença arterial coronariana.

Referências

G. Referências

- Ascherio, A. (2002). "Epidemiologic studies on dietary fats and coronary heart disease." Am J Med **113 Suppl 9B**: 9S-12S.
- Ashen, M. D. and R. S. Blumenthal (2005). "Clinical practice. Low HDL cholesterol levels." N Engl J Med **353**(12): 1252-60.
- Assmann, G. and A. M. Gotto, Jr. (2004). "HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis." Circulation **109**(23 Suppl 1): III8-14.
- Bemelmans, W. J., J. Broer, K. F. Hulshof, F. W. Siero, J. F. May and B. Meyboom-de Jong (2004). "Long-term effects of nutritional group education for persons at high cardiovascular risk." Eur J Public Health **14**(3): 240-5.
- Bjelakovic, G., D. Nikolova, L. Gluud, R. Simonetti and C. Gluud (2008). "Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases." Cochrane Database Syst Rev. **2**(CD007176).
- Blankenberg, S., H. J. Rupprecht, C. Bickel, M. Torzewski, G. Hafner, L. Tiret, M. Smieja, F. Cambien, J. Meyer and K. J. Lackner (2003). "Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease." N Engl J Med **349**(17): 1605-13.
- Bonthu, S., D. D. Heistad, D. A. Chappell, K. G. Lamping and F. M. Faraci (1997). "Atherosclerosis, vascular remodeling, and impairment of endothelium-dependent relaxation in genetically altered hyperlipidemic mice." Arterioscler Thromb Vasc Biol **17**(11): 2333-40.
- Brennan, M. L., M. S. Penn, F. Van Lente, V. Nambi, M. H. Shishehbor, R. J. Aviles, M. Goormastic, M. L. Pepoy, E. S. McErlan, E. J. Topol, S. E. Nissen and S. L. Hazen (2003). "Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain." N Engl J Med **349**(17): 1595-604.
- Brown, A. A. and F. B. Hu (2001). "Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease." Am J Clin Nutr **73**(4): 673-86.
- Brown, H. and R. Prescott, Eds. (2006). Applied Mixed Models in Medicine. Chichester, West Sussex, England, John Wiley & Sons Ltd.
- Brown, L., B. Rosner, W. W. Willett and F. M. Sacks (1999). "Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis." Am J Clin Nutr **69**(1): 30-42.
- Brown, M. S., P. T. Kovanen and J. L. Goldstein (1981). "Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors." Science **212**(4495): 628-35.
- Cai, H. and D. G. Harrison (2000). "Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress." Circ Res **87**(10): 840-4.

- Cai, H. and D. G. Harrison (2000). "Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress." Circ Res **87**(10): 840-4.
- Cardounel, A. J., H. Cui, A. Samouilov, W. Johnson, P. Kearns, A. L. Tsai, V. Berka and J. L. Zweier (2007). "Evidence for the pathophysiological role of endogenous methylarginines in regulation of endothelial NO production and vascular function." J Biol Chem **282**(2): 879-87.
- Chen, S. C., J. T. Judd, M. Kramer, G. W. Meijer, B. A. Clevidence and D. J. Baer (2009). "Phytosterol intake and dietary fat reduction are independent and additive in their ability to reduce plasma LDL cholesterol." Lipids **44**(3): 273-81.
- Chow, C. K., S. Jolly, P. Rao-Melacini, K. A. Fox, S. S. Anand and S. Yusuf (2010). "Association of diet, exercise, and smoking modification with risk of early cardiovascular events after acute coronary syndromes." Circulation **121**(6): 750-8.
- Chrysohoou, C., D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, U. N. Das and C. Stefanadis (2004). "Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study." J Am Coll Cardiol **44**(1): 152-8.
- Corretti, M. C., T. J. Anderson, E. J. Benjamin, D. Celermajer, F. Charbonneau, M. A. Creager, J. Deanfield, H. Drexler, M. Gerhard-Herman, D. Herrington, P. Vallance, J. Vita and R. Vogel (2002). "Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force." J Am Coll Cardiol **39**(2): 257-65.
- Costa, R. F. d. (2001). Composição Corporal: teoria e prática da avaliação. São Paulo, Manole.
- DaLuz, P. L. and S. R. Coimbra (2004). "Wine, alcohol and atherosclerosis: clinical evidences and mechanisms." Braz J Med Biol Res **37**(9): 1275-95.
- DaLuz, P. L., F. R. M. Laurindo and A. C. P. Chagas (2003). Endotélio e Doenças Cardiovasculares. São Paulo, Atheneu.
- Danesh, J., R. Collins, P. Appleby and R. Peto (1998). "Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies." Jama **279**(18): 1477-82.
- de Lorgeril, M., P. Salen, J. L. Martin, I. Monjaud, J. Delaye and N. Mamelle (1999). "Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study." Circulation **99**(6): 779-85.
- Deanfield, J. E., J. P. Halcox and T. J. Rabelink (2007). "Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance." Circulation **115**(10): 1285-95.
- Dietary fat consensus statements (2002). "Dietary fat consensus statements." Am J Med **113 Suppl 9B**: 5S-8S.

- Diggle, P. J., K. Y. Liang and S. L. Zeger., Eds. (1994). Analysis of Longitudinal Data. New York, New York, Oxford University Press.
- DRI (2010). Dietary Reference Intakes, United States Department of Agriculture - National Agricultural Library. **2010**.
- Drichoutis, A. C., P. Lazaridis, R. M. Nayga, Jr., M. Kapsokefalou and G. Chrysoschoidis (2008). "A theoretical and empirical investigation of nutritional label use." Eur J Health Econ **9**(3): 293-304.
- Ernst, N. D. and J. I. Cleeman (2002). "National cholesterol education program keeps a priority on lifestyle modification to decrease cardiovascular disease risk." Curr Opin Lipidol **13**(1): 69-73.
- Esposito, K., R. Marfella, M. Ciotola, C. Di Palo, F. Giugliano, G. Giugliano, M. D'Armiento, F. D'Andrea and D. Giugliano (2004). "Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial." Jama **292**(12): 1440-6.
- FAO/WHO (2003). "Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases." World Health Organ Tech Rep Ser **916**: i-viii, 1-149, backcover.
- Ferrieres, J. (2004). "The French paradox: lessons for other countries." Heart **90**(1): 107-11.
- Fito, M., M. Guxens, D. Corella, G. Saez, R. Estruch, R. de la Torre, F. Frances, C. Cabezas, C. Lopez-Sabater Mdel, J. Marrugat, A. Garcia-Arellano, F. Aros, V. Ruiz-Gutierrez, E. Ros, J. Salas-Salvado, M. Fiol, R. Sola and M. I. Covas (2007). "Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial." Arch Intern Med **167**(11): 1195-203.
- Forman, H. J., J. M. Fukuto and M. Torres (2004). "Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers." Am J Physiol Cell Physiol **287**(2): C246-56.
- Fox, T. A., J. Heimendinger and G. Block (1992). "Telephone surveys as a method for obtaining dietary information: a review." J Am Diet Assoc **92**(6): 729-32.
- Gibson, R. (1990). Principles os Nutritional Assessment. New York, Oxford University Press.
- Ginsberg, H. N., P. Kris-Etherton, B. Dennis, P. J. Elmer, A. Ershow, M. Lefevre, T. Pearson, P. Roheim, R. Ramakrishnan, R. Reed, K. Stewart, P. Stewart, K. Phillips and N. Anderson (1998). "Effects of reducing dietary saturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in healthy subjects: the DELTA Study, protocol 1." Arterioscler Thromb Vasc Biol **18**(3): 441-9.
- Goldstein, J. L. and M. S. Brown (1977). "The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis." Annu Rev Biochem **46**: 897-930.
- Gordon, D. J., J. L. Probstfield, R. J. Garrison, J. D. Neaton, W. P. Castelli, J. D. Knoke, D. R. Jacobs, Jr., S. Bangdiwala and H. A. Tyroler (1989). "High-

- density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies." Circulation **79**(1): 8-15.
- Griendling, K. K. and G. A. FitzGerald (2003). "Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS." Circulation **108**(16): 1912-6.
- Griendling, K. K. and G. A. FitzGerald (2003). "Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies." Circulation **108**(17): 2034-40.
- Gutierrez, M. A., P. E. Pilon and S. G. Lage (2002). "Assessment of carotid diameter and wall thickness in ultrasound images using active contours improved by a resolution technique." Proc SPIE **4683**: 248-255.
- Han, T. S., N. Sattar and M. Lean (2006). "ABC of obesity. Assessment of obesity and its clinical implications." Bmj **333**(7570): 695-8.
- Hansson, G. K. (2005). "Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease." N Engl J Med **352**(16): 1685-95.
- Higuchi, M. (2007). "Regulation of mitochondrial DNA content and cancer." Mitochondrion **7**(1-2): 53-7.
- Hsia, J., R. Rodabough, M. C. Rosal, B. Cochrane, B. V. Howard, L. Snetselaar, W. H. Frishman and M. L. Stefanick (2002). "Compliance with National Cholesterol Education Program dietary and lifestyle guidelines among older women with self-reported hypercholesterolemia. The Women's Health Initiative." Am J Med **113**(5): 384-92.
- Hu, F. B. (2003). "The Mediterranean diet and mortality--olive oil and beyond." N Engl J Med **348**(26): 2595-6.
- Iborra, R. T., I. C. Ribeiro, M. Q. Neves, A. M. Charf, S. A. Lottenberg, C. E. Negrao, E. R. Nakandakare and M. Passarelli (2008). "Aerobic exercise training improves the role of high-density lipoprotein antioxidant and reduces plasma lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus." Scand J Med Sci Sports **18**(6): 742-50.
- Iestra, J., K. Kooops, D. Kromhout, L. de Groot, D. Grobbee and W. van Staveren (2006). "Lifestyle, Mediterranean diet and survival in European post-myocardial infarction patients." Eur J Cardiovasc Prev Rehabil **13**(6): 894-900.
- Jones, D. P., J. L. Carlson, V. C. Mody, J. Cai, M. J. Lynn and P. Sternberg (2000). "Redox state of glutathione in human plasma." Free Radic Biol Med **28**(4): 625-35.
- Karalis, D. G. (2009). "Intensive lowering of low-density lipoprotein cholesterol levels for primary prevention of coronary artery disease." Mayo Clin Proc **84**(4): 345-52.
- Katan, M. B., P. L. Zock and R. P. Mensink (1995). "Dietary oils, serum lipoproteins, and coronary heart disease." Am J Clin Nutr **61**(6 Suppl): 1368S-1373S.

- Katcher, H. I., A. M. Hill, J. L. Lanford, J. S. Yoo and P. M. Kris-Etherton (2009). "Lifestyle approaches and dietary strategies to lower LDL-cholesterol and triglycerides and raise HDL-cholesterol." Endocrinol Metab Clin North Am **38**(1): 45-78.
- Kersting, C., N. Tidow, H. Schmidt, C. Liedtke, J. Neumann, W. Boecker, P. J. van Diest, B. Brandt and H. Buerger (2004). "Gene dosage PCR and fluorescence in situ hybridization reveal low frequency of egfr amplifications despite protein overexpression in invasive breast carcinoma." Lab Invest **84**(5): 582-7.
- Keys, A., C. Aravanis, H. W. Blackburn, F. S. Van Buchem, R. Buzina, B. D. Djordjevic, A. S. Dontas, F. Fidanza, M. J. Karvonen, N. Kimura, D. Lekos, M. Monti, V. Puuddu and H. L. Taylor (1966). "Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40-59 in seven countries." Acta Med Scand Suppl **460**: 1-392.
- Keys, A., A. Menotti, M. J. Karvonen, C. Aravanis, H. Blackburn, R. Buzina, B. S. Djordjevic, A. S. Dontas, F. Fidanza, M. H. Keys and et al. (1986). "The diet and 15-year death rate in the seven countries study." Am J Epidemiol **124**(6): 903-15.
- Knoops, K., L. d. Groot, D. Kromhout, A. Perrin, O. Varela, A. MEnotti and W. v. Staveren (2004). "Mediterranean diet, lifestyle factors and 1-year mortality in elderly European men and womes." JAMA **292**(12): 1433-1439.
- Knoops, K. T., L. C. de Groot, D. Kromhout, A. E. Perrin, O. Moreiras-Varela, A. Menotti and W. A. van Staveren (2004). "Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project." Jama **292**(12): 1433-9.
- Lapointe, A., J. Goulet, C. Couillard, B. Lamarche and S. Lemieux (2005). "A nutritional intervention promoting the Mediterranean food pattern is associated with a decrease in circulating oxidized LDL particles in healthy women from the Quebec City metropolitan area." J Nutr **135**(3): 410-5.
- Laurindo, F. (2003). Desequilíbrio redox, resposta vascular à lesão e aterosclerose. Endotélio e doenças cardiovasculares. P. DaLuz, F. Laurindo and A. Chagas. São Paulo, Editora Atheneu: 115-133.
- Laurindo, F. and P. DaLuz (2002). "Estresse Oxidativo na Aterosclerose e Reestenose Pós-Angioplastia: Conceitos Básicos e Implicações Clínicas." Atheros **13**(3): 81-85.
- Lean, M. E., T. S. Han and C. E. Morrison (1995). "Waist circumference as a measure for indicating need for weight management." Bmj **311**(6998): 158-61.
- Leite, P. F., M. Liberman, F. Sandoli de Brito and F. R. Laurindo (2004). "Redox processes underlying the vascular repair reaction." World J Surg **28**(3): 331-6.
- Libby, P. (2002). "Inflammation in atherosclerosis." Nature **420**(6917): 868-74.

- Libby, P., P. M. Ridker and A. Maseri (2002). "Inflammation and atherosclerosis." Circulation **105**(9): 1135-43.
- Lichtenstein, A. H., L. J. Appel, M. Brands, M. Carnethon, S. Daniels, H. A. Franch, B. Franklin, P. Kris-Etherton, W. S. Harris, B. Howard, N. Karanja, M. Lefevre, L. Rudel, F. Sacks, L. Van Horn, M. Winston and J. Wylie-Rosett (2006). "Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee." Circulation **114**(1): 82-96.
- Liu, H. and T. Wu (2005). "Sample Size Calculation and Power Analysis of Time-Averaged Difference." Journal of Modern Applied Statistical Methods **4** (2): 434-445.
- Liuzzo, G., L. M. Biasucci, J. R. Gallimore, R. L. Grillo, A. G. Rebuzzi, M. B. Pepys and A. Maseri (1994). "The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina." N Engl J Med **331**(7): 417-24.
- Livak, K. J. and T. D. Schmittgen (2001). "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method." Methods **25**(4): 402-8.
- Lusis, A. J. (2000). "Atherosclerosis." Nature **407**(6801): 233-41.
- Mansur, A. P. and D. Favaratto (2001). Arq Bras Cardiologia **76**(6): 497 - 503.
- Marques, A. C., P. C. Yu, D. Calderaro, D. M. Gualandro and B. Caramelli (2007). "High-risk patients undergoing major vascular surgery: to operate or not to operate?" J Am Coll Cardiol **50**(14): 1398-9; author reply 1399.
- Martinez-Gonzalez, M. A., E. Fernandez-Jarne, M. Serrano-Martinez, M. Wright and E. Gomez-Gracia (2004). "Development of a short dietary intake questionnaire for the quantitative estimation of adherence to a cardioprotective Mediterranean diet." Eur J Clin Nutr **58**(11): 1550-2.
- McKeown, N. M., J. B. Meigs, S. Liu, E. Saltzman, P. W. Wilson and P. F. Jacques (2004). "Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort." Diabetes Care **27**(2): 538-46.
- Mensink, R. P. and M. B. Katan (1992). "Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials." Arterioscler Thromb **12**(8): 911-9.
- Minich, D. M. and J. S. Bland (2008). "Dietary management of the metabolic syndrome beyond macronutrients." Nutr Rev **66**(8): 429-44.
- Mochari, H., Q. Gao and L. Mosca (2008). "Validation of the MEDFICTS dietary assessment questionnaire in a diverse population." J Am Diet Assoc **108**(5): 817-22.
- Nancy, E. and C. James (2002). "National Cholesterol Education Program keeps a Priority on Lifestyle Modification to Decrease Cardiovascular Disease Risk." Curr Opin Lipidol **13**(1): 69-73.

- NCEP-ATP (2002). "Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report." Circulation **106**(25): 3143-421.
- NCEP-ATPIII (2001). Executive Summary of The Third Report of the National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Bethesda, MD, US Department of Health and Human Services.
- NCEP/ATP (2001). "Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III)." Jama **285**(19): 2486-97.
- NEPA-UNICAMP., Ed. (2006). Tabela brasileira de composição de alimentos NEPA-UNICAMP.- T113 Versão II. Campinas, SP, NEPA-UNICAMP.
- Nestle, M. (1995). "Mediterranean diets: historical and research overview." Am J Clin Nutr **61**(6 Suppl): 1313S-1320S.
- Panagiotakos, D. B., C. Pitsavos, C. Chrysohoou, J. Skoumas and C. Stefanadis (2004). "Status and management of blood lipids in Greek adults and their relation to socio-demographic, lifestyle and dietary factors: the ATTICA Study. Blood lipids distribution in Greece." Atherosclerosis **173**(2): 353-61.
- Paoletti, R., A. M. Gotto, Jr. and D. P. Hajjar (2004). "Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy." Circulation **109**(23 Suppl 1): III20-6.
- Parikh, P., M. C. McDaniel, M. D. Ashen, J. I. Miller, M. Sorrentino, V. Chan, R. S. Blumenthal and L. S. Sperling (2005). "Diets and cardiovascular disease: an evidence-based assessment." J Am Coll Cardiol **45**(9): 1379-87.
- Pearson, T. A., G. A. Mensah, R. W. Alexander, J. L. Anderson, R. O. Cannon, 3rd, M. Criqui, Y. Y. Fadl, S. P. Fortmann, Y. Hong, G. L. Myers, N. Rifai, S. C. Smith, Jr., K. Taubert, R. P. Tracy and F. Vinicor (2003). "Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association." Circulation **107**(3): 499-511.
- Rallidis, L. S., J. Lekakis, A. Kolomvotsou, A. Zampelas, G. Vamvakou, S. Efstathiou, G. Dimitriadis, S. A. Raptis and D. T. Kremastinos (2009). "Close adherence to a Mediterranean diet improves endothelial function in subjects with abdominal obesity." Am J Clin Nutr **90**(2): 263-8.
- Ridker, P. M., N. J. Brown, D. E. Vaughan, D. G. Harrison and J. L. Mehta (2004). "Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events." Circulation **109**(25 Suppl 1): IV6-19.
- Ridker, P. M., E. Danielson, F. A. Fonseca, J. Genest, A. M. Gotto, Jr., J. J. Kastelein, W. Koenig, P. Libby, A. J. Lorenzatti, J. G. MacFadyen, B. G. Nordestgaard, J. Shepherd, J. T. Willerson and R. J. Glynn (2008).

- "Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein." N Engl J Med **359**(21): 2195-207.
- Rimm, E. B. and R. C. Ellison (1995). "Alcohol in the Mediterranean diet." Am J Clin Nutr **61**(6 Suppl): 1378S-1382S.
- Robertson, R. M. and L. Smaha (2001). "Can a Mediterranean-style diet reduce heart disease?" Circulation **103**(13): 1821-2.
- Ros, E., I. Nunez, A. Perez-Heras, M. Serra, R. Gilabert, E. Casals and R. Deulofeu (2004). "A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects: a randomized crossover trial." Circulation **109**(13): 1609-14.
- Sacks, F. M. and M. Katan (2002). "Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease." Am J Med **113** Suppl **9B**: 13S-24S.
- Salas-Salvado, J., J. Fernandez-Ballart, E. Ros, M. A. Martinez-Gonzalez, M. Fito, R. Estruch, D. Corella, M. Fiol, E. Gomez-Gracia, F. Aros, G. Flores, J. Lapetra, R. Lamuela-Raventos, V. Ruiz-Gutierrez, M. Bullo, J. Basora and M. I. Covas (2008). "Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial." Arch Intern Med **168**(22): 2449-58.
- Schroder, H., J. Marrugat and M. I. Covas (2006). "High monetary costs of dietary patterns associated with lower body mass index: a population-based study." Int J Obes (Lond) **30**(10): 1574-9.
- Schwab, U. S., E. S. Sarkkinen, A. H. Lichtenstein, Z. Li, J. M. Ordovas, E. J. Schaefer and M. I. Uusitupa (1998). "The effect of quality and amount of dietary fat on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidation in subjects with impaired glucose tolerance." Eur J Clin Nutr **52**(6): 452-8.
- Serra-Majem, L., B. Roman and R. Estruch (2006). "Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review." Nutr Rev **64**(2 Pt 2): S27-47.
- Shaper, A. G. (1996). "Reflections on the Seven Countries Study." Lancet **347**(8996): 208.
- Sociedade Brasileira de Hipertensão (2004). IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. Arq Bras Cardiol. **82**: 1-14.
- Spadafora-Ferreira, M., J. A. Fonseca, C. Granja, D. M. Malheiros, J. Kalil and V. Coelho (2001). "Predominant IL-10 production in indirect alloreactivity is not associated with rejection." Clin Immunol **101**(3): 315-27.
- Sposito, A. C., B. Caramelli, F. A. Fonseca, M. C. Bertolami, A. Afiune Neto, A. D. Souza, A. M. Lottenberg, A. P. Chacra, A. A. Faludi, A. A. Loures-Vale, A. C. Carvalho, B. Duncan, B. Gelonese, C. Polanczyk, C. R. Rodrigues Sobrinho, C. Scherr, C. Karla, D. Armaganijan, E. Moriguchi, F. Saraiva, G. Pichetti, H. T. Xavier, H. Chaves, J. L. Borges, J. Diamant, J. I. Guimaraes, J. C. Nicolau, J. E. dos Santos, J. J. de Lima, J. L. Vieira, J. P. Novazzi, J.

- R. Faria Neto, K. P. Torres, A. Pinto Lde, L. Bricarello, L. C. Bodanese, L. Introcaso, M. V. Malachias, M. C. Izar, M. E. Magalhaes, M. I. Schmidt, M. Scartezini, M. Nobre, M. Foppa, N. A. Forti, O. Berwanger, O. C. Gebara, O. R. Coelho, R. C. Maranhao, R. D. dos Santos, R. P. Costa, S. Barreto, S. Kaiser, S. Ihara, T. Carvalho, T. L. Martinez, W. G. Relvas and W. Salgado (2007). "[IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]." Arq Bras Cardiol **88 Suppl 1**: 2-19.
- Steinberg, D. (2009). "The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update." J Lipid Res **50 Suppl**: S376-81.
- Steinhubl, S. R. (2008). "Why have antioxidants failed in clinical trials?" Am J Cardiol **101**(10A): 14D-19D.
- Stocker, R. and J. F. Keaney, Jr. (2004). "Role of oxidative modifications in atherosclerosis." Physiol Rev **84**(4): 1381-478.
- Tabet, F. and K. A. Rye (2009). "High-density lipoproteins, inflammation and oxidative stress." Clin Sci (Lond) **116**(2): 87-98.
- Tarpey, M. M. and I. Fridovich (2001). "Methods of detection of vascular reactive species: nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxynitrite." Circ Res **89**(3): 224-36.
- Tavani, A. and C. La Vecchia (1995). "Fruit and vegetable consumption and cancer risk in a Mediterranean population." Am J Clin Nutr **61**(6 Suppl): 1374S-1377S.
- Taylor, A. J., H. Wong, K. Wish, J. Carrow, D. Bell, J. Bindeman, T. Watkins, T. Lehmann, S. Bhattarai and P. G. O'Malley (2003). "Validation of the MEDFICTS dietary questionnaire: a clinical tool to assess adherence to American Heart Association dietary fat intake guidelines." Nutr J **2**: 4.
- Trichopoulou, A., A. Naska, P. Orfanos and D. Trichopoulos (2005). "Mediterranean diet in relation to body mass index and waist-to-hip ratio: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study." Am J Clin Nutr **82**(5): 935-40.
- Tsimikas, S. (2006). "Oxidative biomarkers in the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease." Am J Cardiol **98**(11A): 9P-17P.
- Tuttle, K. R., L. A. Shuler, D. P. Packard, J. E. Milton, K. B. Daratha, D. M. Bibus and R. A. Short (2008). "Comparison of low-fat versus Mediterranean-style dietary intervention after first myocardial infarction (from The Heart Institute of Spokane Diet Intervention and Evaluation Trial)." Am J Cardiol **101**(11): 1523-30.
- Urquiaga, I., G. Echeverria, G. Polic, O. Castillo, Y. Liberona, J. Rozowski, D. Perez, C. Martinez, L. Vasquez, P. Strobel, D. Mezzano and F. Leighton (2008). "Mediterranean food and diets, global resource for the control of metabolic syndrome and chronic diseases." World Rev Nutr Diet **98**: 150-73.

USDA and USDHHS (2000). Dietary Guidelines for Americans. Washington, DC, United States Department of Agriculture

United States Department of Health and Human Services.

Vincent-Baudry, S., C. Defoort, M. Gerber, M. C. Bernard, P. Verger, O. Helal, H. Portugal, R. Planells, P. Grolier, M. J. Amiot-Carlin, P. Vague and D. Lairon (2005). "The Medi-RIVAGE study: reduction of cardiovascular disease risk factors after a 3-mo intervention with a Mediterranean-type diet or a low-fat diet." Am J Clin Nutr **82**(5): 964-71.

Vogel, R. A. (1999). "Cholesterol lowering and endothelial function." Am J Med **107**(5): 479-87.

Walden, C. E., B. M. Retzlaff, B. L. Buck, B. S. McCann and R. H. Knopp (1997). "Lipoprotein lipid response to the National Cholesterol Education Program step II diet by hypercholesterolemic and combined hyperlipidemic women and men." Arterioscler Thromb Vasc Biol **17**(2): 375-82.

Walden, C. E., B. M. Retzlaff, B. L. Buck, S. Wallick, B. S. McCann and R. H. Knopp (2000). "Differential effect of National Cholesterol Education Program (NCEP) Step II diet on HDL cholesterol, its subfractions, and apoprotein A-I levels in hypercholesterolemic women and men after 1 year: the beFIT Study." Arterioscler Thromb Vasc Biol **20**(6): 1580-7.

Whitlock, G., S. Lewington, P. Sherliker, R. Clarke, J. Emberson, J. Halsey, N. Qizilbash, R. Collins and R. Peto (2009). "Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies." Lancet **373**(9669): 1083-96.

WHO, W. H. O. (2003). Diet, Nutrition, and The Prevention of Chronic Diseases. Report of a WHO Study Group. Geneva, WHO Technical Report Series.

Willett, W. C. (1994). "Diet and health: what should we eat?" Science **264**(5158): 532-7.

Anexos

Anexo A: Breve questionário sobre hábitos alimentares

Questionário Sobre Hábitos Alimentares
(Parte integrante dos Critérios de Elegibilidade do Projeto)

Nome:**Data:****RG InCor:**

1. O paciente apresenta alergia alimentar a algum alimento especificamente?
2. Quais alimentos o paciente não “tolera”?
3. Quais são os alimentos preferidos?
4. O paciente tem o hábito de consumir margarina?
5. Qual o tipo de óleo utilizado na alimentação (preparo e tempero)?
6. O paciente toma bebida alcoólica? Tipo? Frequência?

Anexo B: Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M Ž F Ž
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO:..... CIDADE
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M Ž F Ž
DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

Efeito da dieta tipo Mediterrânea na função endotelial e inflamação da aterosclerose: estudo comparativo com a dieta TLC (“Therapeutic Lifestyle Changes”, do NCEP-ATP III)

PESQUISADOR: **Maria Cristina Dias Thomazella**

CARGO/FUNÇÃO: Pós-graduanda / Nutricionista

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº : CRN-3 3261 UNIDADE DO HCFMUSP: InCor

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCOŽ RISCO MÍNIMOX RISCO MÉDIOŽ RISCO BAIXOŽ RISCO MAIORŽ

(probabilidade de o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 4 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa ; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

1. O objetivo principal da pesquisa é verificar o efeito de duas dietas (tipo Mediterrânea e TLC americana) na aterosclerose em pacientes pós cirurgia cardíaca (revascularização miocárdica). Iremos avaliar qual o efeito que ambas as dietas irão causar nos pacientes estudados através de exames realizados antes e após o seguimento das dietas.

Relevância: ambas as dietas (Mediterrânea e TLC americana) têm sido apontadas pelas pesquisas científicas como dietas que ajudam a diminuir o risco cardíaco. Porém, ainda não está claro qual a dieta ideal e se essas dietas agem em alguns aspectos da doença cardiovascular (inflamação, estresse oxidativo, função endotelial). Entender esse processo é importante para melhorar a eficácia do tratamento e também a prevenção dessa doença.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

a) Coleta de sangue inicial e após 3 meses de seguimento da dieta orientada. Objetivo: análise das substâncias que indicam o estado e o grau de desenvolvimento da doença.

b) Avaliação nutricional: medidas corpóreas (peso, estatura, circunferência da cintura) no início e ao término da pesquisa. Objetivo: avaliar o estado nutricional do paciente antes e após a intervenção dietética.

c) Avaliação clínica médica: exame físico.

d) Teste de reatividade vascular da artéria braquial

É um teste não-invasivo para avaliar a função endotelial das artérias do braço usando ultrassom, denominado de reatividade vascular. Neste exame, garrotearemos o braço por 5 minutos e isto pode levar a um formigamento passageiro do braço. Também é utilizado isordil embaixo da língua podendo levar à queda de pressão, o que pode ser resolvido com elevação das pernas e infusão de líquido endovenoso; e/ou cefaléia (dor de cabeça) que pode persistir durante o dia todo, podendo ser prescrito analgésico para alívio da dor. Com este exame, poderemos detectar precocemente quais os pacientes que apresentam disfunção endotelial e quais os que possuem risco aumentado para desenvolvimento de infarto e, conhecendo-se os fatores de risco, pode-se melhorar essas condições.

e) Intervenção dietética: serão feitas orientações dietéticas específicas (Mediterrânea ou TLC) através de atendimento individualizado e acompanhamento também individualizado.

Desconfortos e riscos esperados

- a) Coleta de material: sangue
- b) Teste de reatividade vascular da artéria braquial: dor de cabeça leve pode aparecer após o teste.
- c) Dietas: não são esperados quaisquer desconfortos de riscos com ambas as dietas, conforme a literatura. Pelo contrário, as duas dietas são usualmente recomendadas no tratamento de doenças cardiovasculares.

Benefícios que poderão ser obtidos: ambas as dietas são amplamente associadas à melhora do risco cardiovascular.

Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo: o paciente poderá identificar os tipos de alimentação que lhe podem ser úteis em seu tratamento.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.

Os pacientes terão acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos que estão sendo realizados, assim como os riscos e benefícios do consumo correto dos produtos, da coleta de sangue e do teste de reatividade vascular. Todas as dúvidas serão sanadas em todas as ocasiões que surgirem.

2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.

O paciente pode, a qualquer momento, retirar seu consentimento, deixando assim de participar da pesquisa. Esta decisão não irá trazer nenhum prejuízo ao paciente ou à continuidade na sua assistência nesta instituição.

3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

Os pesquisadores se comprometem em manter sigilo sobre a identidade do paciente, assim como os resultados confidenciais, mantendo a privacidade dos mesmos.

4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

Em caso de eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa, haverá assistência disponível no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

Em caso de danos à saúde comprovadamente decorrentes da pesquisa, haverá indenização ao paciente.

**V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO
ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS
CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Dr. Francisco R. M. Laurindo

Av. Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 44

CEP: 05403-000 FONE: 3069-5084 / 3069-5085

Dra. Maria Cristina Dias Thomazella

Av. Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 44

CEP: 05403-000 FONE: 3069-5184 / 3069-5185

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 19 .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal.....

assinatura do pesquisador

(carimbo ou nome Legível)

Anexo C: Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa**APROVAÇÃO**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 25.05.05, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **364/05**, intitulado: **"Efeito da dieta tipo mediterrânea na função endotelial e inflamação da aterosclerose: estudo comparativo com a dieta TLC ("Therapeutic Lifestyle Changes", do NCEP-ATP III)"** apresentado pela **COMISSÃO CIENTÍFICA E DE ÉTICA DO INSTITUTO DO CORAÇÃO**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX. 2, letra "c")

Pesquisador(a) Responsável: **Prof. Dr. Francisco Rafael Martins Laurindo**
Pesquisador (a) Executante: **Sra. Maria Cristina Thomazella**

CAPPesq, 25 de Maio de 2005.

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP
Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP
Fone: 011 - 30696442 fax : 011 - 3069 6492 - e-mail : cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br

Anexo D: Anamnese Nutricional

Nome:		Data:
RG InCor:		No. Paciente:
DN:	Idade:	Grupo: Dieta
Contatos:		

Anamnese Nutricional

Diagnósticos Clínicos:

- Medicamentos atuais:
- Medicamentos “caseiros” (chás, ervas, etc.):
- Tabagismo: N () Há quanto tempo?
- Suplementos Nutricionais:
- Exames realizados ultimamente:
- Última coleta de sangue:
- Já fez tratamento com dieta anteriormente?
- Apetite:
- Sintomas Gastrointestinais: azia () flatulência () diarréia ()
vômito () distensão abdominal () cólicas ()
- Hábito intestinal: Frequência:
Fezes: Pastosas () Ressecadas () Líquidas ()
Sangue nas fezes? Sim () Não () Às vezes ()
Uso de laxantes:
- Hemorróidas Sim () Não ()
- Diverticulite Sim () Não ()
- Colite Sim () Não ()
- Alergia alimentar:
- Influência cultural / religiosa na alimentação:

Rotina de Vida

- Horário acordar:
- Horário de trabalho / dia:
- Horário de dormir:

Exercício Físico

- Tipo:
- Dias da semana:
- Duração:

Hábitos de rotina de vida X Alimentação

- Hábito de Comer “Fora” () S () N
- Frequência:
- Costuma “pular” refeições?
- Tem o hábito de comer algo entre as refeições?

Preparo das Refeições

- Quem?
- Responsável pelas compras de alimentos?

Fatores Emocionais x Alimentação

- Observa alguma modificação do apetite em função de alterações emocionais?

Recordatório de 24 horas (Folha à parte)

-
- Preferências:
 - Restrições:

Anexo E: Questionário de frequência alimentar

Nome:	Data:
RG InCor:	No. Paciente:
DN:	Grupo: Dieta

Avaliação Alimentar: Método de Frequência Alimentar Adaptado ao Protocolo DM**Grupo do Leite e Derivados**

- Você toma leite?
Tipo Quanto Frequência
- Você toma iogurte?
Tipo Quanto Frequência
- Você come queijo?
Tipo Quanto Frequência

Grupo dos Pães, Bolachas e Cereais Matinais

- Você come pão?
Tipo Quanto Frequência
Tipo Quanto Frequência
- Você come bolacha?
Tipo Quanto Frequência
Tipo Quanto Frequência
- Você come cereais “matinais”?
Tipo Quanto Frequência

Grupo das Frutas

- Que tipo de frutas você come?
Quanto? Frequência?
- Você costuma tomar sucos?
Tipo Quanto Frequência
Tipo Quanto Frequência

- Adiciona açúcar aos sucos?

Tipo Quanto

- Você come salada de frutas?

Quanto Frequência

- Adiciona algum outro alimento além das frutas?

Cereais e outros Carboidratos

Tipo Quanto Frequência

Arroz:

Milho:

Aveia:

Batata:

Mandioca:

Macarrão:

Verduras (folhas)

Costuma comer verduras (folhas)?

Tipo

Quanto

Frequência

Cruas ou cozidas

Costuma temperar a salada com o que?

Legumes

Você come legumes?

Tipo

Quanto

Preparo (crus ou cozidos)

Tempero?

Leguminosas

Feijão Quanto Frequência

Lentilha Quanto Frequência

Ervilha Quanto Frequência

Grão-de-bico Quanto Frequência

Soja Quanto Frequência

Outros tipos de feijão (branco, preto, etc.) Quanto Frequência

Carnes (“brancas e vermelhas”)

Tipos

Frequência

Quanto

Fígado, coração, miúdos de frango, etc?

Tipo

Quanto

Frequência

Preparo da carne? Frita _____ Gelhada _____ Assada _____ Cozida _____

Você come ovos?

Tipo

Quanto

Frequência

Preparo _____

Peixes e Frutos do Mar?

Tipo

Quanto

Frequência

Preparo _____

Gorduras

Qual o tipo de óleo que usa para preparo dos alimentos? _____

Quantas latas de óleo em média por mês? _____

Manteiga? Tipo

Quanto

Frequência

Margarina vegetal? Tipo

Quanto

Frequência

Gordura vegetal no preparo? Tipo

Quanto

Frequência

Costuma comer bacon ou toucinho? Tipo

Quanto

Frequência

Sal e Similares

Tipo (light ou normal?) _____ Quanto consome por mês em casa? _____

Você gosta de comida + salgada? _____ Costuma adicionar mais sal à mesa? _____

Aji-no-moto®? _____ Temperos prontos? _____ Caldos de carnes ou similares? _____

Açúcar e similares

Tipo

Quanto

Frequência

Onde você costuma adicionar açúcar? _____

Adoçantes Artificiais

Tipo

Quanto

Onde

Você come sobremesas à base de doces?

Tipo? Quanto? Freqüência?

Água

Você costuma beber água?

Quanto? Quando? Entre as refeições?

Refrigerante?

Tipo Quanto Freqüência_

Bebidas “esportivas” tipo isotônicos? (Gatorade®, etc.)

Tipo Quanto Freqüência

Você toma bebidas alcoólicas?

Tipo Quanto Freqüência

Toma café?

Puro ou não? Quanto Freqüência

Guloseimas

Você costuma comer guloseimas?

Tipo Quanto Freqüência

Come “frios” (salame, mortadela, presunto, copa....)

Tipo Quanto Freqüência

Oleaginosas

Você come amêndoa, pistache, castanha do pará, nozes, etc?

Tipo Quanto Freqüência

Hábitos Alimentares de Rotina

Quantas pessoas comem na casa?

Desj. _____ Almoço _____ Jantar _____

Substitui refeições de sal (A /J) por lanches?

Por que tipo? _____ Com que freqüência? _____

Consome alimentos prontos?

Tipo? Quanto?

Frequenta *fast foods*?

Tipo? Com que frequência?

Come pizza?

Tipo? Quanto?

Adiciona azeite em pratos prontos ou pizza?

Tipo? Quanto? Frequência

Comportamento Alimentar e/ou Fatores Psicológicos

Com quem costuma comer? _____

Quanto tempo leva em média para comer?

Desj.: _____ Almoço _____ Jantar _____

Quem prepara o prato? _____

Costuma fazer outra atividade enquanto come?

Tipo? _____

O que faz quando sente mais fome?

Repete? _____ Tenta esquecer? _____

Outras _____

Como reage quando é criticado por ter comido pouco ou muito ou não comido verduras, por ex.?

Você tem alteração de apetite quando está sob influência de

estresse? deprimido? raiva?

Tem o hábito de comer escondido? O que? Quando?

Anexo F: Registro alimentar

Nome: RG InCor:	Data:
----------------------------------	--------------

Registro Alimentar

Horário	Nome do Alimento ou da Preparação	Quantidade Ingerida	Local	Observações

Anexo G: Orientações para preenchimento dos registros alimentares

Nome:	Data:
-------	-------

Orientações para o Preenchimento dos Registros Alimentares

Favor anotar toda a alimentação ingerida nos dias estipulados. Cada dia alimentar deverá ser registrado em uma folha (em anexo). O impresso contém 4 colunas:

- **Horário:** anotar o horário de todos os alimentos que forem consumidos, inclusive guloseimas (balas, etc.) e líquidos (água ou outras bebidas).
- **Alimento:** colocar o nome e o tipo de alimento consumido. Por exemplo, no caso de leite com café, anotar da seguinte forma:
Leite: tipo desnatado, semi-desnatado, integral, de soja, etc.
Café: tipo: solúvel ou expresso ou “coado”
açúcar: caso tenha sido utilizado ou adoçante
- **Quantidade:** deve ser anotada na mesma linha do alimento. Por exemplo:

Horário	Alimento	Quantidade
7 horas	Leite integral	1 xícara de chá cheia
	Café solúvel	1 colher de chá cheia
	Açúcar	1 colher de chá rasa

Observações:

- 1- Líquidos: descrever o tipo de copo que utilizou, por exemplo “tipo requeijão” ou similar ou então, xícara (xícara de chá ou café).
- 2- Pães, Bolos, Bolachas, Frutas e similares: devem ser anotados em unidades ou fatias (pequena, média ou grande). Importante: anotar o tipo de recheio e quantidade, caso contenha. Como por exemplo, pão com requeijão: 1 colher de sopa de requeijão.
- 3- Açúcar: anotar em colher de chá, sobremesa ou de sopa, rasa ou cheia, sempre que adicionar aos alimentos.
- 4- Manteiga, margarina, geléia, requeijão e outros, anotar em colher (chá, sobremesa, sopa) ou ponta de faca. Não esquecer de detalhar se é tipo *light* ou não.
- 5- Arroz, feijão, purê, cremes e similares: registrar em colher de sopa, colher grande de arroz ou escumadeira.
- 6- Tortas ou similares: não esquecer de registrar o tipo e o tamanho (de um pires de chá, de um prato de sobremesa ou prato raso).

- 7- Saladas: tipo e quantidade de alimentos que as compõem e tipo e quantidade de molho.
- 8- Carnes: anotar tipo, quantidade e preparo (assada, frita, grelhada, cozida). Pode fazer uma comparação do tamanho com: caixa de fósforo, CD de música, bola de pingue-pongue (almôndega), por exemplo.

Anexo H: Método de cromatografia gasosa utilizado para análise da composição centesimal de azeite de oliva e do creme vegetal enriquecido com fitosteróis

Análise da composição centesimal dos produtos

O conteúdo de lípidos totais e a composição de ácidos graxos contidos nos produtos foram analisados. Gordura e ácidos graxos foram extraídos das margarinas e manteiga por métodos hidrolíticos, com adição de ácido pirogálico para evitar a oxidação durante o procedimento. A gordura foi extraída em éter, metilada para ésteres metílicos de ácidos graxos usando BF₃ (fluoreto de boro) em metano. A composição em ácidos graxos dos produtos foi determinada por cromatografia em fase gasosa, segundo normas da Association of Official Analytical Chemistry (Association of Official Analytical Chemists 2002) método 996.06, em cromatógrafo a gás GC 17 A Shimadzu/ Class GC 10. Foi utilizada coluna cromatográfica de sílica fundida SP-2560 (biscianopropil polisiloxana) de 100 m e 0.25 mm. de d.i.. As condições foram: temperatura da coluna = isotérmico a 180°C por 75 minutos, temperatura do vaporizador = 250°C, temperatura de detector: 260°C, gás de arraste = Hélio (1 ml/min.), razão de divisão da amostra no injetor = 1/200.

A composição qualitativa de ácidos graxos foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os dos respectivos padrões de ácidos graxos. A composição quantitativa foi realizada por normatização de área, sendo expressa como porcentagem em massa. As análises foram feitas em triplicata.

Os resultados foram expressos em grama do ácido graxo / 100 gramas de amostra e foram baseados nos teores de gordura encontrados nas amostras, utilizando-se fatores de correção conforme Holland (Holland 1994). Os resultados foram analisados através do software Class GC-10.

As análises foram realizadas no Laboratório de Lípidos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Referências:

Association of Official Analytical Chemists, Ed. (2002). Official Methods of Analysis. Arlington, Official Methods.

Holland, B., Ed. (1994). The composition of foods. . Cambridge, UK, Mc Cance and Widdowson's.

Anexo I: Valores de Referência de Exames Laboratoriais

Variável Laboratorial	Valor de Referência
Glicose sérica	70 a 99 mg/dL = Normal 100 a 125 mg/dL = Inapropriada ≥ 126 mg/dL = Elevada
Contagem global de leucócitos	4000 a 11000/mm ³
Proteína C-reativa	< 1.0 mg/L (0.10 mg/dL) para avaliação de risco vascular < 5.0 mg/L (0.50 mg/dL) para avaliação de processos inflamatórios/infecciosos
Colesterol	< 200 mg/dL = Ótimo 200 a 239 mg/dL = Limítrofe ≥ 240 mg/dL = Alto
HDL-Colesterol	≥ 40 mg/dL
LDL-Colesterol	< 100 mg/dL = Ótimo 100 a 129 mg/dL = Desejável 130 a 159 mg/dL = Limítrofe 160 a 189 mg/dL = Alto ≥ 190 mg/dL = Muito alto
Triglicérides	< 150 mg/dL = Ótimo 150 a 199 mg/dL = Limítrofe 200 a 499 mg/dL = Alto ≥ 500 mg/dL = Muito alto
Apolipoproteína A-1	1.10 a 2.05 g/L
Apolipoproteína B	0.55 a 1.40 g/L
Lipoproteína(a)	Até 30 mg/dL
Transaminase glutâmico oxalacética (TGO)	15 a 37 U/L
Transaminase glutâmico pirúvica (TGP)	30 a 65 U/L
Gama glutamil transferase (Gama GT)	15 a 85 U/L

Fonte: Laboratório de Análises Clínicas do InCor-HCFMUSP

Anexo J: Questionário de Aderência à Dieta Mediterrânea

Nome:	Data:
RG InCor:	No. Paciente:
DN:	Grupo: Dieta Mediterrânea

Questionário de Avaliação da Aderência à Dieta Mediterrânea

Alimentos	Avaliação Final Data:	SIM
Azeite de oliva (≥ 1 colher sopa/dia)		+ 1
Fruta (≥ 1 pç/dia)		+ 1
Vegetais ou salada (≥ 1 pç/dia)		+ 1
Fruta (≥ 1 pç/dia) e vegetais (≥ 1 pç/dia) (mesma refeição)		+ 1
Leguminosas (≥ 2 pç/sem)		+ 1
Peixe (≥ 3 pç/sem)		+ 1
Vinho (≥ 1 copo/dia)		+ 1
Carne Vermelha (< 1 pç/dia)		+ 1
Pão branco (< 1 /dia) e arroz branco (< 1 /sem) ou pão integral (> 5 /sem)		+ 1
Total		

LÁCTEOS

LEITE: porção média = 1 xícara (chá)

GRUPO 1: leite ou iogurte integral	0	3	7	1	2	3
---	---	---	---	---	---	---

GRUPO 2: leite semi-desn., desn. ou light, iog. light ou desnatado	0	0	0	0	0	0
---	---	---	---	---	---	---

QUEIJOS: porção média = 30g

GRUPO 1: cream cheese, ricota (1/4 xíc), queijo prato nl, cottage reg 1/2 xíc. (chá), muzzarella reg	0	3	7	1	2	3
---	---	---	---	---	---	---

GRUPO 2, light: muzzar, minas, cottage, prato, ricota (1/4 xíc)	0	0	0	0	0	0
--	---	---	---	---	---	---

SOBREMESAS GELADAS = 1/2 xíc (chá)

GRUPO 1: sorv ou milk shake reg	0	3	7	1	2	3
--	---	---	---	---	---	---

GRUPO 2: sorv light, frozen iog	0	0	0	0	0	0
--	---	---	---	---	---	---

CLASSIFICAÇÃO SEGUNDO O MÉTODO DE PREPARO DE ALIMENTOS: Carnes e Vegetais

GRUPO 1: batata frita, vegetais fritos ou empanados (1/2 xíc chá); frango, carne ou peixe frito (85,2g)	0	3	7	1	2	3
--	---	---	---	---	---	---

GRUPO 2: vegetais não fritos (1/2 xíc chá), carnes brancas e vermelhas assadas, cozidas, grelhadas, refogadas (85,2g)	0	0	0	0	0	0
--	---	---	---	---	---	---

PRODUTOS DE PADARIA, DOCES, BISCOITOS = 1 porção média

GRUPO 1: biscoitos geral, bolos, croissants, tortas, sonho, etc.	0	3	7	1	2	3
---	---	---	---	---	---	---

GRUPO 2: barrinha de cereais, biscoitos light, doces caseiros preparados c/ óleo vegetal, pães	0	0	0	0	0	0
---	---	---	---	---	---	---

ALIMENTOS PRONTOS

GRUPO 1: pratos prontos regulares, não light: pizza = 1 f.; macarrão = 1 xícara chá; sopas	0	3	7	1	2	3
---	---	---	---	---	---	---

GRUPO 2: pratos prontos light: pizza light, torta light, etc.	0	0	0	0	0	0
--	---	---	---	---	---	---

GORDURA DE ADIÇÃO = 1 colher (sopa)

GRUPO 1: manteiga, margarina não cremosa, molho de salada pronto regular, maionese	0	3	7	1	2	3
---	---	---	---	---	---	---

GRUPO 2: margarina light, molho de salada light, maionese light	0	0	0	0	0	0
--	---	---	---	---	---	---

LANCHES

Grupo 1: batata frita ("salgadinhos"), oleaginosas (30g), crackers (15g), bala (45g), pipoca regular (3 xícaras)	0	3	7	1	2	3
---	---	---	---	---	---	---

Grupo 2: prod light (biscoitos 15g, barrinhas, pipoca 3 xíc.chá), frutas	0	0	0	0	0	0
---	---	---	---	---	---	---

