

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - DEPARTAMENTO DE  
ALIMENTOS E NUTRIÇÃO  
MESTRADO EM CIÊNCIAS NUTRICIONAIS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE QUINOA  
(*CHENOPODIUM QUINOA*) EM UM GRUPO DE MULHERES PÓS-  
MENOPAUSADAS – ESTUDO PROSPECTIVO, RANDOMIZADO, DUPLO CEGO.

FLÁVIA GIOLO DE CARVALHO

ARARAQUARA

2011

FLÁVIA GIOLO DE CARVALHO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE QUINOA  
(*CHENOPODIUM QUINOA*) EM UM GRUPO DE MULHERES PÓS-  
MENOPAUSADAS – ESTUDO PROSPECTIVO, RANDOMIZADO, DUPLO CEGO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Nutricionais.

**Orientador:** Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro.

ARARAQUARA

2011

### Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP – Campus de Araraquara

C331a Carvalho, Flávia Giolo de  
Avaliação dos efeitos metabólicos da ingestão de quinoa (*Chenopodium quinoa*) em um grupo de mulheres pós-menopausadas – estudo prospectivo, randomizado, duplo cego / Flávia Giolo de Carvalho. – Araraquara, 2011  
78 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição

Orientador: Anderson Marliere Navarro

1. Quinoa. 2. Pós-menopausa. 3. Enterolignanas. 4. Estresse oxidativo. 5. Inflamação. I. Navarro, Anderson Marliere, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

## COMISSÃO EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro  
Orientador

---

Profa. Dra. Thais Borges César

---

Profa. Dra. Telma Maria Braga Costa

### ***Dedicatória***

*À DEUS, por tudo que me tem proporcionado em todos os dias da minha vida, por disponibilizar força e persistência para vencer todos os obstáculos.*

*À meus pais Jesus e Reinilda, e ao meu irmão André por estarem sempre ao meu lado, auxiliando e apoiando as minhas decisões! E dando força para persistir na busca pelos meus sonhos.*

## **Agradecimentos**

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro, agradeço o carinho e atenção disponibilizada, ao estímulo e às tarefas confiadas. E também a paciência e a calma que me transmitia a cada momento em que eu me sentia insegura.*

*À profa. Dra. Thaís Borges Cesar pelo carinho e apoio disponibilizado desde a minha iniciação na pós-graduação até a minha dissertação. Pela amizade construída e pelas “caipirinhas de morango”!!! E também por me despertar a vocação da docência.*

*Aos professores Dr. Julio Sérgio Marchini e Dr. Alceu Jordão Junior pelo acolhimento e disponibilização dos laboratórios do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP.*

*À Sueli Gobbo Budoia, agradeço por ter me apresentado ao pessoal do Laboratório de Clínica Médica-FMRP-USP e ter aberto as portas da pós-graduação.*

*À Alice, Aline, Carolina e Michele, pelo carinho, amizade e acolhimento em sua república, na cidade de Araraquara.*

*As amigas e parceiras de laboratório Roberta Souza Santos e Adriana Lelis Carvalho. Sou muito grata pela paciência, incentivo, carinho, amizade e apoio durante os momentos de ansiedade e preocupações.*

*Ao técnico Gilberto Padovan, por ter me dado a oportunidade de experienciar a prática laboratorial e ter despertado o interesse pelos caminhos da pós-graduação. Pela dedicação, carinho e paciência disponibilizados e por todo apoio técnico dado às análises laboratoriais.*

*À técnica Paula Payão, não só pelo auxílio nas análises, mas também pelo carinho, amizade, pelo apoio acadêmico e psicológico!*

*Às técnicas Virginia Lipoli, Marina Dias, Renata Látaro e Tânia Pereira pelo auxílio na utilização dos laboratórios e na realização das análises.*

*A todos os amigos da pós-graduação, em especial, Flavia Rosa, Luciana Abrão, Ruti Micheleto, Daniela Elias, Érika Bronzi, Jacqueline Queiroz, Cláudia Lima, Delfina Manjate, Patrícia Vieira e Vinicius Zaneti.*

*À equipe da Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP-USP pela disponibilização do local e de funcionárias para a realização das coletas de sangue para a pesquisa.*

*À comissão examinadora, às Professoras Doutoras Telma Maria Braga Costa e Thaís Borges Cesar.*

*Aos professores e funcionários da pós-graduação da FCFAR- UNESP, pelo auxílio e atenção dispensados.*

*As voluntárias que participaram deste estudo, pela disponibilidade e colaboração, parte essencial do trabalho.*

*A CAPES, pela bolsa concedida.*

*À FAPESP pelo auxílio financeiro disponibilizado.*

*A todos que torceram de perto, de longe, por um instante ou constantemente para a realização deste trabalho...*

**Muito Obrigada!!!**

## LISTA DE TABELAS

---

### **CAPITULO II**

Tabela1: Características antropométricas dos grupos placebo e quinoa.....	56
Tabela 2: Comparação entre as concentrações de enterolignanas nos diferentes momentos para cada grupo.....	56
Tabela 3: Comparação entre as concentrações de glicose e lípides séricos nos diferentes momentos para cada grupo.....	57
Tabela 4: Comparação entre marcadores de estresse oxidativo e antioxidantes nos diferentes momentos para cada grupo.....	57

### **CAPITULO III**

Tabela1: Características antropométricas dos grupos placebo e quinoa.....	74
Tabela 2: Comparação entre as concentrações de enterolignanas nos diferentes momentos para cada grupo.....	74
Tabela 3: Comparação entre os marcadores inflamatórios entre os diferentes momentos para cada grupo.....	75



## LISTA DE ABREVIATURAS

---

CoA – coenzima A

DNA - ácido desoxirribonucléico

END- Enteroldiol

ENL- Enterolactona

FSH – Hormônio folículo estimulante

GLUT-4 - transportador de glicose do tipo 4

GSH – Glutathiona redutase

HCFMRP-USP- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

HDL-c- Lipoproteína de alta densidade

IL - Interleucina

IRS-1 - receptor insulina substrato-1

IMC – Índice de massa corporal

LDL-c- Lipoproteína de baixa densidade

LLP- Lipase lipoproteica

MDA – malondialdeído

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TNF- $\alpha$ -R2 - receptor de TNF- $\alpha$

TNF-  $\alpha$ - fator de necrose tumoral-alfa

TRH - terapia de reposição hormonal

USDA – Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture*).

VLDL-c- Lipoproteína de muito baixa densidade

WHO – Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)

## RESUMO

---

Mulheres pós-menopausadas estão mais susceptíveis a problemas de saúde relacionados hipoestrogenismo, o que favorece ao processo de estresse oxidativo, inflamatório e ao desenvolvimento de doenças crônicas. Visto que a inclusão de cereais integrais na alimentação veicula componentes bioativos de efeito antioxidante e hipolipemiante, como as lignanas, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos hipolipemiantes, inflamatórios e antioxidantes de lignanas provenientes da ingestão de quinoa (*Chenopodium quinoa*) em um grupo de mulheres pós-menopausadas. Foi realizado um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego e controlado por placebo, no qual participaram 35 mulheres que foram submetidas ao consumo diário de 25 gramas de quinoa em flocos ou placebo, no período de 4 semanas consecutivas. No início e ao final do tratamento, após as quatro semanas, foram realizadas avaliações antropométricas: peso corporal, estatura e circunferência da cintura; e coleta de sangue para a quantificação de glicose, colesterol total, LDL-C, HDL-C, triglicerídeos, marcadores de estresse (GSH e TBARS), Vitamina E, marcadores inflamatórios (IL-6 e TNF- $\alpha$ ) e enterolignanas (END e ENL); e urina de 24 horas para quantificação de enterolignanas. Os resultados obtidos foram analisados em dois diferentes estudos os quais foram escritos na forma de artigo científico, sendo que o primeiro artigo abordou o efeito do consumo de quinoa sobre as concentrações de glicose, colesterol total e frações e de marcadores de estresse oxidativo, e o segundo artigo abordou o efeito das enterolignanas sobre os marcadores inflamatórios em um grupo de mulheres pós-menopausadas. Ao comparar as dosagens no início e ao final do experimento, o presente estudo mostrou um possível efeito benéfico proveniente da ingestão do cereal quinoa, pois foram constatadas reduções significativas nas concentrações séricas de triglicerídeos, TBARS e vitamina E, e aumento na excreção urinária de enterolignanas nos grupos que consumiram quinoa e placebo. Houve redução do colesterol total e LDL-c, e aumento de GSH apenas no grupo que consumiu quinoa. Não foram constatadas alterações significativas nos marcadores inflamatórios.

**Palavras-chaves:** quinoa, enterolignanas, colesterolemia, estresse oxidativo, marcadores inflamatórios e pós-menopausa.

## ABSTRACT

---

Postmenopausal women are more susceptible to health problems related to declining estrogen concentrations, which favor the oxidative stress and inflammatory process and the development of chronic diseases. Since daily consumption of grains involves bioactive components with an antioxidant and hypolipidemic effects, like lignans, the aim of the present study was to investigate the effect of quinoa consumption on the concentrations of glucose, total cholesterol and fractions, oxidative stress and inflammatory markers in a group of postmenopausal women. A prospective, randomized, double-blind and placebo-controlled study has been conducted on 35 women who had to consume 25 grams/day of quinoa flakes or placebo, over a period of 4 consecutive weeks. At the beginning and at the end of the intervention, after four weeks, anthropometric assessment was performed by body weight, height and abdominal circumference; and blood was collected for the determination of glucose, total cholesterol and fractions, oxidative stress and inflammatory markers, vitamin E and enterolignans, and 24-h urine was obtained for the determination of enterolignans. The results were analyzed in two different studies which were written in the form of a scientific paper, the first one emphasizes the effect of quinoa intake on consumption on the concentrations of glucose, total cholesterol and fractions, oxidative stress markers and in the second paper investigated the effect of enterolignans on inflammatory markers in a group of postmenopausal women. Comparing the beginning and the end of the intervention, the present study showed a possible beneficial effect by quinoa intake, because significant reductions were observed in serum triglycerides, TBARS and vitamin E concentrations, and an increase in enterolignan urinary excretion in the groups that consumed quinoa and placebo. A significant reduction of total cholesterol and LDL-cholesterol and an increase in GSH was observed only in the quinoa group. No significant changes were observed in inflammatory markers.

**Key-words:** quinoa, enterolignans, cholesterolemia, oxidative stress, inflammatory markers and post menopause

## SUMÁRIO

---

### Capítulo I

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	14
2. OBJETIVOS .....	16
2.1 Objetivo Geral .....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 Mulheres pós-menopausadas.....	17
3.2 Conseqüências metabólicas do pós-menopausa.....	20
3.2.1 Inflamação e pós-menopausa.....	20
3.2.2. Estresse oxidativo e pós-menopausa.....	22
3.3 Quinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> ).....	25
3.3.1. Quinoa e as mulheres pós-menopausadas: efeito das fibras.....	26
3.3.2. Quinoa e as mulheres pós-menopausadas: proteção antioxidantes.....	28
3.3.3. Quinoa, mulheres pós-menopausadas e enterolignanas.....	30
4. REFERÊNCIAS.....	34

**Capítulo II** - Efeitos da ingestão de quinoa (*Chenopodium quinoa*) sobre a glicemia, colesterolemia e estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas.....40

RESUMO .....	41
1. INTRODUÇÃO.....	42
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
2.1 Avaliação Antropométrica.....	44
2.2 Análises Bioquímicas.....	45
2.3 Análises Estatísticas.....	46
3 RESULTADOS.....	46
4 DISCUSSÃO.....	48
5 CONCLUSÃO.....	51
Lista de Abreviações utilizadas.....	52
Financiamento.....	52
6 REFERÊNCIAS.....	52
TABELAS.....	56

<b>Capítulo III - Efeitos de enterolignanas provenientes da ingestão de quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>) sobre marcadores inflamatórios em mulheres pós-menopausadas.....</b>	<b>59</b>
RESUMO .....	60
1.INTRODUÇÃO.....	61
2.MATERIAIS E MÉTODOS.....	62
2.1 Avaliação Antropométrica.....	64
2.2 Análises Bioquímicas.....	64
2.3 Análises Estatísticas.....	65
3 RESULTADOS.....	66
4 DISCUSSÃO.....	67
5 CONCLUSÃO.....	71
6 REFERÊNCIAS.....	71
TABELAS.....	74

## **ANEXOS**

Anexo A. Protocolo CEP/HCFRMRP-USP.....	77
Anexo B. Comprovante de submissão do artigo “Efeitos da ingestão de quinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> ) sobre a glicemia, colesterolemia e estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas” .....	78

# *Capítulo I*

---

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

---

As mulheres que estão no período de pós-menopausa estão susceptíveis a problemas de saúde relacionados ao declínio dos níveis circulantes de estrogênio, o que favorece à alterações metabólicas e ao desenvolvimento de doenças crônicas. A condição do hipoestrogenismo pode influenciar a elevação dos níveis de glicemia, colesterol e triglicérides (HEIDARI et al., 2010). Ademais, as alterações cardiovasculares, comuns no período de pós-menopausa, estão relacionadas ao aumento do estresse oxidativo, a um desbalanço entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes, principalmente no coração, induzindo a um aumento no estresse oxidativo (SANCHES et al., 2006).

Sabe-se que o aumento do consumo de cereais integrais estão diretamente associados à redução do risco cardiovascular devido à sua composição em nutrientes que apresentem efeito potencialmente protetor. Porém, poucos estudos intervencionais avaliaram os efeitos do consumo de alimentos nomeados funcionais sobre os indicadores de risco cardiovascular e os processos inflamatórios em mulheres pós-menopausadas (ABUGOCH, 2009; MA et al, 2008; VEGA-GALVEZ et al., 2010).

A quinoa (*Chenopodium quinoa*) é um cereal de origem andina, extensamente cultivado no Peru, Chile e Bolívia. É considerada uma fonte significativa de fitoquímicos de ação antioxidante como ácidos fenólicos, flavonóides, vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos e outros compostos, que podem modular a resposta antioxidante orgânica, podendo impedir o aumento do estresse oxidativo (VEGA-GALVEZ et al., 2010). No entanto, não foram encontrados estudos que

avaliem a influência da ingestão de quinoa sobre os marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios em mulheres pós-menopausadas.

Diante das propriedades funcionais do cereal quinoa e do alto risco de desenvolvimento de doenças crônicas, evidencia-se a necessidade da realização de estudos que avaliem o efeito sobre marcadores de estresse oxidativo e inflamatório da ingestão de quinoa em mulheres pós-menopausadas. O presente estudo buscou investigar o efeito da ingestão habitual de quinoa a fim de verificar se este cereal poderia ser utilizado como uma alternativa de inclusão de componentes que permitiriam a prevenção ou tratamento dos sintomas característicos deste grupo.



## 2. OBJETIVOS

---

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos hipolipemiantes, antiinflamatórios e antioxidantes de lignanas provenientes da ingestão de quinoa (*Chenopodium quinoa*) em um grupo de mulheres pós-menopausadas.

### 2.2 Objetivos Específicos

Investigar os efeitos da ingestão de quinoa sobre os parâmetros antropométricos em mulheres pós-menopausadas.

Avaliar o efeito da ingestão diária de quinoa sobre a glicemia, colesterol total e frações (LDL-C, HDL-C, triglicérides).

Quantificar os marcadores de estresse oxidativo indicativos de peroxidação lipídica: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) e glutathiona reduzida; e fatores antioxidantes no sangue: vitamina E.

Quantificar os marcadores séricos pró-inflamatórios: fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6).

Determinar a concentração de enterodiol e enterolactona no soro, na urina e na quinoa em flocos.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

#### 3.1 Mulheres pós-menopausadas

A menopausa natural é definida por interrupção do ciclo menstrual por 12 meses consecutivos, sem outra causa patológica evidente. Já o Climatério refere-se ao período de transição gradual da fase reprodutiva para a não reprodutiva, iniciando-se a partir dos 40 anos, quando se verificam as primeiras alterações endócrinas, em decorrência do esgotamento dos folículos ovarianos, e da dessincronização de sinais neuronais no hipotálamo e sistema nervoso central (ALDRIGHI et al., 2005). A mulher ocidental atinge a menopausa natural, em média, aos 51,4 anos (NAMS, 2002).

Após a menopausa, inicia-se o período de pós-menopausa, o qual é caracterizado pela redução da produção de estrógenos nos ovários, resultando em um quadro de hipoestrogenismo. O diagnóstico é confirmado com a dosagem dos hormônios Estradiol e Folículo Estimulante (FSH), estando estes em concentração abaixo de 20 pg/ml e acima de 40mIU/ml, respectivamente (ANTUNES, MARCELINO, AGUIAR, 2003).

As mulheres que estão no período de pós-menopausa estão mais susceptíveis a problemas de saúde relacionados ao declínio da concentração de estrogênio, o que favorece processo de estresse e ao desenvolvimento de doenças crônicas. A condição do hipoestrogenismo pode influenciar a elevação da concentração de colesterol e triglicérides (BRASIL, 2008), além de comprometer o metabolismo de carboidratos, podendo resultar em intolerância glicídica e hiperinsulinemia (HEIDARI et al., 2010).

Na adolescência, os estrógenos são responsáveis pelo aparecimento dos sinais sexuais secundários femininos e pela distribuição de gordura corporal feminina (OLIVEIRA e LEMGRUBER, 2001). Além desta relação com os lípides corporais, os estrógenos têm a função de modular a ação de alguns hormônios, como por exemplo, a ação do hormônio cortisol sobre os adipócitos viscerais. Deste modo o hipoestrogenismo, característico do período pós-menopausa, favorece ao acúmulo de gordura abdominal devido à atuação do cortisol, que potencializa a atividade da enzima lipase lipoproteica (LLP) nos adipócitos, principalmente nos que estão localizados na região abdominal, favorecendo o acúmulo de gordura nessa região (STEPTOE e WARDLE, 2005).

A ativação da LLP é essencial para o catabolismo de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, incluindo quilomícrons e VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade). Porém, um desequilíbrio na atuação destas lipases pode gerar um menor clearance de partículas ricas em triglicerídeos, que competem pela mesma via lipolítica, resultando em excesso destas partículas na circulação, favorecendo à formação de ateromas (BARROSO, ABREU, FRANCISCHETTI, 2002). Neste sentido, os estrógenos estão envolvidos também com a regulação dos lípides séricos, e a condição do hipoestrogenismo pode influenciar a elevação da concentração de colesterol e triglicérides sanguíneos em mulheres pós-menopausadas (BRASIL, 2008).

O hipoestrogenismo pode também ocasionar aumento de peso e a acumulo de gordura intra-abdominal pois este hormônio está envolvido com o controle do apetite. De acordo com Kimura et al (2002), a ausência de estrogênio pode estar relacionada com a diminuição de receptores de leptina no hipotálamo, o que compromete os mecanismos de controle de fome e saciedade, resultando em uma

diminuição da saciedade e conseqüentemente maior ingestão de alimentos e maior ganho de massa corpórea (KIMURA et al., 2002).

Ainda, os adipócitos viscerais também sofrem ação da leptina presente nas células, resultante da ativação do sistema do neuropeptídeo presente no sistema nervoso central. A ativação do neuropeptídeo Y ocasiona a resistência da célula à ação da leptina, a qual ocasionará a inibição do mecanismo de saciedade, favorecendo então o aumento da ingestão de alimentos e da deposição de gordura visceral (BJONTORP, 2001).

O acúmulo de gordura na região central está relacionado com o desenvolvimento da resistência à insulina e da síndrome metabólica (hiperinsulinemia, dislipidemia, intolerância à glicose e hipertensão), pois a gordura abdominal contém um maior número de células e de receptores de glicocorticóides e androgênicos, devido a sua capacidade de se ligarem aos receptores de cortisol e desencadear efeitos similares, potencializam o efeito do cortisol (LERÁRIO et al, 2002).

De acordo com Lerário et al. (2002), os depósitos viscerais de triglicerídeos possuem turnover mais acelerado quando comparado a outras regiões, aumentando a disponibilidade de ácidos graxos livres ao sistema porta. Desta forma, estimulam a gliconeogênese e inibem a depuração hepática da insulina, favorecendo o aumento da concentração da glicose sérica, e conseqüentemente a insulinemia e a resistência insulínica.

Sabe-se que após os 50 anos de idade, a mulher apresenta uma maior tendência ao aumento de peso em conseqüência da redução do gasto energético em repouso decorrente do processo de envelhecimento natural, que corresponde a queda de 2% a cada década (ARMELLINI et al., 2000). A diminuição da taxa

metabólica basal, associada à alimentação inadequada e baixos níveis de atividade física, são as principais causas do aumento da prevalência de obesidade e suas comorbidades em mulheres pós-menopausadas (DUBNOV, BRZEZINSKI, BERRY, 2003; SHI e CLEGG, 2009).

## **3.2 Conseqüências metabólicas da pós-menopausa**

### **3.2.1 Inflamação e pós-menopausa**

É fato que as mulheres pós-menopausadas tem uma maior pré-disposição ao acúmulo de gorduras na região abdominal (Lerário et al, 2002; Brasil, 2008). Atualmente, sabe-se a adiposidade intra-abdominal está associada ao desenvolvimento de atividade inflamatória subclínica (LAHOZA e MOSTAZAA, 2007).

O estado de inflamação crônica subclínica provoca lesão tissular por meio da ativação, em longo prazo, do sistema imune inato, podendo resultar em posterior manifestação de doenças crônicas não transmissíveis, ou seja, o desenvolvimento de aterosclerose, hipertensão arterial, resistência insulínica e Diabetes mellitus tipo 2 e dislipidemia (HERMSDORFF e MONTEIRO, 2004). O mecanismo pelo qual os mediadores pró-inflamatórios induzem ao aparecimento de tais doenças está envolvido com redução da atividade insulínica, mobilização de gorduras, disfunção endotelial e estresse oxidativo (LAHOZA e MOSTAZAA, 2007).

Segundo Hermsdorff e Monteiro (2004), o adipócito é capaz de secretar diversas citocinas, as quais são denominadas adipocinas. Entre as adipocinas, pode-se destacar o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e a interleucina-6 (IL- 6) como principais fatores envolvidos com o desencadeamento de processo

inflamatório. A produção de adipocinas é proporcional aos depósitos de gordura corporal, sendo que nos casos de obesidade, comum em mulheres pós-menopausadas, ocorre um aumento da expressão das adipocinas, contribuindo para a exacerbação e perpetuação do processo inflamatório crônico (REXRODE et al., 2003).

O TNF- $\alpha$  é uma citocina que atua diretamente no adipócito, promovendo apoptose celular e inibição da lipogênese, via inibição da expressão da LLP, do GLUT-4 e da acetil CoA sintetase, bem como aumento da lipólise, e desta forma auxilia na regulação do acúmulo de gordura no tecido adiposo (HERMSDORFF e MONTEIRO, 2004).

Autores evidenciam uma correlação inversa entre TNF- $\alpha$  e metabolismo de glicose em indivíduos obesos, pois o TNF- $\alpha$  suprime a sinalização da insulina, e conseqüentemente reduz a fosforilação do receptor insulina substrato-1 e a atividade do receptor insulina quinase. Tais sinalizações podem resultar na redução de síntese e translocação do transportador de glicose (GLUT-4) para a membrana e conseqüente reduzir a captação de glicose pelas células mediada pela ação da insulina, ocasionando a resistência à insulina (RAJALA e SCHERER, 2003; SMITH, 2002).

Além disso, o TNF- $\alpha$  está envolvido no processo inflamatório da aterogênese, pois está envolvido com a conversão de monócitos em macrófagos na parede endotelial, por meio da transcrição do fator  $\kappa$ - $\beta$ , o qual tem ação moduladora pró-inflamatórias no tecido vascular (LYON, LAW, HSUEH, 2003).

O estudo de Hong et al. (2007) investigou a associação entre adipocinas séricas e os níveis séricos de estrogênio em mulheres saudáveis na pré e pós-menopausa, e constaram concentrações de TNF- $\alpha$  significativamente maiores após

a menopausa. Tal fato permitiu inferir que a deficiência de estrogênio resulta no aumento de citocinas inflamatórias séricas, podendo contribuir para o desenvolvimento de aterosclerose e diabetes mellitus tipo 2.

Segundo Medeiros, Maitelli e Nince (2007), o hipoestrogenismo, associado ao processo natural de envelhecimento, podem resultar no aumento da liberação de IL-6 e de TNF- $\alpha$ , assim como ocasionar uma hiperresponsividade das células do organismo a estas citocinas, devido ao aumento do número de receptores e cofatores facilitadores da ação destas citocinas, o que pode levar a uma maior tendência às infecções.

Miyatani et al. (2008) avaliaram as associações entre citocinas e a concentração de estradiol sérico em mulheres saudáveis nos períodos de pré-menopausa, perimenopausa e pós-menopausa e constataram que a concentração de IL-6 durante a transição da menopausa foi negativamente correlacionada com a concentração de estradiol no soro.

O estudo de Straub et al. (2000) investigou o papel da terapia de reposição hormonal (TRH) na concentração sérica de IL-6 e suas relações com a gordura corporal em mulheres pós-menopausadas. Constatou-se que as mulheres que realizam com TRH apresentaram redução significativa na concentração de IL-6 quando comparadas à mulheres sem uso de TRH, confirmando a relação entre o hipoestrogenismo e o aumento na produção de IL-6.

### **3.2.2 Estresse oxidativo e pós-menopausa**

As alterações hormonais características do período de pós-menopausa favorecem ao acúmulo de gordura abdominal, e este, associado ao processo normal de envelhecimento, favorece ao aumento do estresse oxidativo metabólico, situação

resultante de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a sua eliminação (SANCHES et al., 2006). O metabolismo humano tem enzimas antioxidantes que protegem as células aeróbicas e demais estruturas de injúrias oxidativas causadas por radicais livres, são elas a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, mas nos casos de estresse exacerbado, elas podem não ser eficazes na neutralização destes radicais (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006).

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação do estresse oxidativo, sendo a membrana celular um dos mais atingidos em decorrência da peroxidação lipídica, que provoca alterações em sua estrutura e na permeabilidade, resultando em expansão do líquido intracelular e risco de ruptura da célula. Além disso, ocorre perda da seletividade na troca iônica, liberação do conteúdo de organelas celulares, e formação de produtos citotóxicos como o malondialdeído (MDA) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), ocasionando morte celular (VAN DER LINDE et al., 2006).

Na peroxidação lipídica, os radicais livres atacam ácidos graxos poliinsaturados presentes nos fosfolípidios das membranas celulares, desintegrando-os e permitindo a entrada dessas espécies nas estruturas intracelulares. A fosfolipase, ativada pelas espécies tóxicas desintegra os fosfolípidios, provocando a liberação de ácidos graxos não saturados (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006). Como conseqüências deste processo podem ocorrer mutações do DNA (ácido desoxirribonucléico), oxidação dos lipídeos insaturados e indução de fagocitose das partículas de LDL (lipoproteína de baixa densidade) contendo colesterol oxidado, resultando em aterosclerose, instabilidade da placa ateromatosa e manifestações clínicas da doença cardiovascular (VAN DER LINDE et al., 2006).



A magnitude do estresse oxidativo pode ser monitorada determinando marcadores indicativos da peroxidação lipídica, tais como TBARS e glutathiona reduzida (GSH) (VALKO et al., 2007).

De acordo com Trevisan (2001) o envelhecimento pode resultar na redução nas atividades das enzimas antioxidantes, assim como aumento na peroxidação lipídica. Este desequilíbrio entre pró- e antioxidantes está também associado às alterações fisiológicas decorrentes do período da pós-menopausa, sugerindo-se a relação entre tais fatores e o hipoestrogenismo. Para Strehlow et al. (2003), tal efeito está relacionado à capacidade do estradiol aumentar a expressão da enzima superóxido dismutase in vitro e in vivo, devido a ativação do receptor do estradiol.

O estudo realizado por Bednarek-Tupikowaska et al. (2004), detectou uma correlação negativa entre as concentrações de estradiol endógeno e a formação de lipoperóxidos no soro, levantando-se a hipótese de que o estradiol pode modular a ação das enzimas antioxidantes celulares. Um outro estudo realizado por Naziroglu et al. (2004) avaliou o efeito da reposição hormonal sobre o estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas e constatou diminuição nos níveis de TBARS e aumento nos níveis de GSH, corroborando para a hipótese sugerida.

Diante das alterações metabólicas provenientes do período de pós-menopausa vistas acima, é necessário buscar alternativas nutricionais que auxiliem no tratamento para minimização dos efeitos da pós-menopausa, e uma possibilidade seria a inclusão de quinoa na alimentação destas mulheres.

### 3.3 Quinoa (*Chenopodium quinoa*)

A quinoa (*Chenopodium quinoa*) é um cereal de origem andina, extensamente cultivada no Peru, Chile e Bolívia. É reconhecida nesses países como “cereal dos Deuses” devido ao seu alto valor nutricional, principalmente em relação às proteínas (VEGA-GALVEZ et al., 2010).

O consumo de quinoa tem aumentado mundialmente principalmente entre pessoas que buscam alternativas alimentares com baixo teor de colesterol e ausência de glúten. Entre os maiores exportadores de quinoa estão Bolívia e Peru, o que representa 88% da produção mundial (VILCHE, GELY, SANTALLA, 2003).

A Embrapa de Brasília, desde 1990, tem realizado trabalhos pioneiros com a quinoa a fim de adaptá-la ao plantio no Brasil. Seu cultivo apresenta inúmeras vantagens nos setores de pesquisa, na produção e desenvolvimento, no ambiente, na economia, no desenvolvimento de novos alimentos, incluindo sua incorporação na alimentação humana e animal (LOPES , 2009).

Segundo Borges et al. (2010), o consumo de quinoa no Brasil é limitado devido ao alto custo do grão, que mesmo sendo cultivado no país, a maior parte do produto disponível ao consumidor é importada dos países andinos. Além disso, outros fatores limitantes seriam o desconhecimento da população, e os hábitos e costumes tradicionais de ingestão de cereais como arroz, trigo e milho e também da baixa disponibilidade de cultivares no próprio país.

O interesse pelo cereal tem crescido ultimamente devido ao seu alto teor protéico. De acordo com a Tabela de Composição de Alimentos Americana (USDA, 2010), a quinoa apresenta cerca de 14% de proteínas, sendo esta considerada de alto valor biológico devido a sua composição em aminoácidos essenciais, podendo-se destacar o alto teor de metionina e cisteína, que são aminoácidos encontrados

em baixa concentração ou ausentes nos demais cereais, propiciando ao cereal quinoa um valor proteico semelhante ao da caseína (VEGA-GALVEZ et al., 2010).

Além disso, a quinoa é um alimento de importância, principalmente para portadores de doença Celíaca, pois não contém as frações proteicas glutenina e gliadina, possibilitando a utilização deste cereal para a elaboração de produtos farináceos isentos de glúten (CASTRO et al. 2007).

O conteúdo lipídico total presente na quinoa é de 6% (USDA, 2010), sendo que entre estes, cerca de 70% são ácidos graxos insaturados, sendo o ácido linolênico o mais abundante na quinoa (ABUGOCH, 2009).

A quinoa destaca-se por apresentar alto teor de minerais como cálcio, magnésio, ferro, cobre e zinco, sendo que estes se encontram em concentrações superiores aos demais cereais cultivados na região andina, e em quantidades suficientes para uma dieta humana equilibrada (REPO-CARRASCO, ESPINOZA, JACOBSEN, 2003).

Em relação às vitaminas, Koziol (1992) comparou os teores de vitaminas de quinoa com outros cereais como arroz, cevada e trigo, e constatou que a quinoa contém mais riboflavina,  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) e carotenóides do que os demais cereais, resultado também encontrado por Repo-Carrasco, Espinoza e Jacobsen (2003).

### **3.3.1 Quinoa e as mulheres pós-menopausadas: efeito das fibras**

As mulheres pós-menopausadas estão mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças crônicas em decorrência do declínio dos níveis circulantes de estrogênio (HEIDARI et al., 2010). Sendo assim, a inclusão de alimentos que veiculam componentes bioativos de efeito antioxidante, antiinflamatório e hipolipemiante, seria

uma alternativa para prevenção e tratamento das alterações metabólicas conseqüentes da pós-menopausa.

Conforme discutido previamente, a quinoa contém nutrientes potencialmente benéficos, porém não foram encontrados estudos que avaliassem os efeitos de seu consumo sobre os indicadores de risco cardiovascular e os processos inflamatórios em mulheres pós-menopausadas. Para Prasad (2005), a maioria dos estudos avalia o efeito da suplementação de compostos nutricionais funcionais na forma isolada, e não da forma que se encontram naturalmente nos alimentos, ou então, apenas correlacionam resultados de avaliações da ingestão alimentar por recordatórios e questionários alimentares (NEWBY et al, 2007; MA et al. 2008) com o perfil bioquímico sanguíneo, inviabilizando a determinação da quantidade exata a ser consumida de um alimento para se obter um efeito benéfico.

Visto que o hipoestrogenismo pode influenciar a elevação dos níveis de colesterol e triglicérides, além de comprometer o metabolismo de carboidratos, uma das formas de intervenção nutricional seria a inclusão de cereais integrais na alimentação diária, os quais são fontes de fibras solúveis e insolúveis, que auxiliam na regulação do metabolismo lipídico (HEIDARI et al., 2010).

Segundo Anderson et al. (2009), devido à sua capacidade de formação de gel, as fibras alimentares interagem no intestino delgado com os demais nutrientes contidos em uma refeição, e conseqüentemente reduzem a taxa de difusão de nutrientes através do conteúdo intraluminal do intestino delgado para os enterócitos e aumentam a eliminação destes através das fezes, contribuindo para a redução da absorção intestinal de lipídeos e de colesterol. Além disso, podem modular a reposta insulínica pós-prandial pelo fato de diminuírem também a taxa de absorção de glicose proveniente das refeições (JUNTUNEM et al., 2003).

Ademais, as fibras alimentares têm a capacidade de quelar ácidos biliares, resultando em uma maior eliminação destes. Esse efeito promove um aumento na conversão de colesterol endógeno em ácidos biliares, reduzindo, assim, o colesterol hepático e sangüíneo (LOPES, 2009). Sendo assim, a inserção de flocos de quinoa na alimentação diária pode contribuir para o controle lipídico, visto que cada 100 gramas deste cereal contêm cerca de sete gramas de fibras totais (USDA, 2010).

O estudo de Ganji e Kuo (2008) avaliou a suplementação de 15 gramas diárias de Psyllium, um variedade de fibra do tipo solúvel, durante o período de seis semanas em mulheres pós-menopausadas hipercolesterolêmicas, e constatou uma redução significativa na concentração sérica de colesterol total, comprovando o efeito benéfico das fibras sobre o metabolismo lipídico.

Ma et al.(2008) avaliaram a relação entre ingestão de fibras e marcadores inflamatórios em mulheres pós-menopausadas do Women's Health Initiative Observational Study. Os autores analisaram a ingestão alimentar por questionários de frequência alimentar semi-quantitativos aplicados em 1986 e 1990. A parcela da população de mulheres com maior consumo de fibras (24,7 g/dia), em comparação aquelas com menor consumo (7,7 g/dia), apresentou redução plasmática de IL-6 e TNF- $\alpha$ -R2 (receptor de TNF- $\alpha$ ), mostrando o efeito protetor da ingestão de fibras proveniente, principalmente, de cereais.

### **3.3.2 Quinoa e mulheres pós-menopausadas: proteção antioxidante**

Estudos in vitro indicam que os componentes antioxidantes presentes na quinoa podem resultar em proteção contra danos oxidativos em alguns tecidos, no entanto, o potencial antioxidante desses compostos não foram investigada em modelos animais ou em humanos (PASKO et al., 2010).

A vitamina E, um antioxidante presente naturalmente na quinoa, é um eficiente inibidor da peroxidação de lipídios *in vivo*, pois ela interage com radicais livres por meio da doação de um átomo de hidrogênio, convertendo-os em espécies eletricamente estáveis ou menos reativos, conseqüentemente previnem o estresse oxidativo (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006). Apesar de ser considerada uma boa fonte de vitamina E, não foram encontrados na literatura publicações que avaliaram as propriedades antioxidantes das sementes de quinoa *in vivo*.

Pasko et al. (2010) avaliou o efeito da suplementação de sementes de quinoa sobre o status oxidativo de ratos alimentados com dieta suplementada em frutose para indução de estresse e constataram que a administração das sementes de quinoa provocou uma redução nos níveis de MDA plasmático e também a diminuição da atividade de enzimas antioxidantes. Estes resultados demonstram que as sementes de quinoa podem agir como um moderado agente de proteção contra potenciais agentes de peroxidação lipídica, aumentando a capacidade antioxidante do sangue.

Outro estudo (Alvarez et al, 2006) investigou os efeitos da suplementação de diferentes frações de cereais (Gérmen, farinha e farelo de trigo; e farelo de arroz) em ratos saudáveis, durante o período de cinco semanas e constatou a redução significativa de GSH após a suplementação com todas as frações de cereais. A GSH desempenha um papel importante na defesa antioxidante, no metabolismo de nutrientes e na regulação de eventos celulares, e sua deficiência contribui na patogênese do estresse oxidativo relacionados de várias doenças crônicas (Wu et al., 2004). Os autores concluem que a suplementação à base de cereais pode exercer efeitos benéficos na saúde de camundongos e, assim, sugerem que

populações saudáveis possam também se beneficiar desta suplementação (Alvarez et al., 2006).

Nsimba, Kikuzaki e Konishi (2008) avaliaram o potencial antioxidante de extratos de quinoa (*Chenopodium quinoa*) e amaranto (*Amaranto sp.*) e constataram altos teores de compostos fenólicos e não-fenólicos, os quais justificam o possível efeito protetor deste alimento. Sendo assim, a atividade antioxidante da quinoa pode ser de especial interesse para pesquisadores da área médica e necessita de maior atenção quanto à sua utilização como um potente antioxidante natural (VEGA-GALVEZ et al., 2010).

### **3.3.3 Quinoa, mulheres pós-menopausadas e enterolignanas**

Tem sido descrito na literatura que cereais, bem como linhaça e gergelim, são fonte de fitoesteróis, e sua ingestão resulta na obtenção de lignanas. A inclusão de tais alimentos no consumo diário veicula componentes bioativos que apresentam efeito antioxidante, antiinflamatório e hipolipemiante (BATHENA; VELASQUEZ, 2002).

De acordo com Vega-Galvez et al. (2010), autores especulam a presença de fitoestrógenos como isoflavonas, lignanas, diadzeína e genisteína na quinoa, mas não foram encontrados estudos que quantificaram o teor de lignanas na quinoa.

Os fitoestrógenos, também denominados como fitoesteróis, são hormônios presentes em plantas, que apresentam semelhança estrutural aos hormônios estrógenos humanos. Estes compostos, quando adicionados à alimentação, são absorvidos e reconhecidos por receptores alfa e beta de estrógenos em seres humanos (VEGA-GALVEZ et al., 2010).

As lignanas, principais fitoestrógenos descritos na literatura, são compostos por anéis difenólicos e estão presentes naturalmente em plantas, principalmente em sementes e óleo de cereais como linhaça, soja, gergelim; assim como em diversos legumes e frutas. Alguns tipos de chá, café e vinho também apresentam quantidades significativas (PEÑALVO et al., 2008).

Após a ingestão, as lignanas são absorvidas, metabolizadas pelas bactérias colônicas e convertidas em enterodiol e enterolactona, substâncias metabolicamente ativas em humanos, e excretadas na urina (HALLUND, 2008). A determinação das concentrações plasmáticas e urinárias destes compostos é considerada um bom biomarcador para avaliar o efeito da ingestão destes alimentos fontes de lignanas (CEDERROTH & NEF, 2009). Além disso, o uso de biomarcadores reflete a variação entre as participantes da pesquisa, em termos de microflora intestinal, visto que a metabolização de enterolignanas depende da integridade intestinal, mas é também influenciada por fatores como estresse, hábitos alimentares, doença intestinal, genética e uso de antibióticos, entre os outros fatores (WARD et al., 2008).

Kuijsten et al. (2005) avaliou o efeito da suplementação de secoisolariciresinol diglucosídeo, substância precursora de enterolignanas, na excreção de enterolignanas e constatou que a dose-resposta foi melhor refletida na excreção urinária. De acordo com Lampe, Atkinson e Hullar (2006), apesar dos métodos de quantificação serem extremamente sensíveis, as concentrações séricas de enterolignanas encontradas na literatura são relativamente baixas, às vezes até inferiores ao limite de quantificação.

Além da função de biomarcador, as enterolignanas possuem diversas atividades biológicas, podendo apresentar potenciais efeitos benéficos para a saúde. Bhatena e Velasquez (2002) evidenciam que o consumo de fitoestrógenos pode



influenciar favoravelmente a homeostase da glicose, a secreção de insulina e o metabolismo lipídico, através da inibição da captação de glicose de membrana escova da parede intestinal, desta forma pode evitar a progressão do processo inflamatório.

Estudos sugerem que altas concentrações de enterolactona no plasma estão associadas a uma diminuição no risco de problemas coronários (PRASAD, 2005; HORNER et al., 2002). As lignanas podem interferir no metabolismo de colesterol, pois pode modular a atuação das enzimas 7- $\alpha$ -hidroxilase e Acetil Coa Transferase, reduzindo a concentração de colesterol sérico (Tarpila et al., 2002). Ainda, sua ação antioxidante inibe a peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados in vitro e conseqüentemente reduz a oxidação de LDL - colesterol (PRASAD, 2005).

Um estudo realizado com mulheres canadenses pós-menopausadas, analisou a ingestão de fitoestrógenos por meio da aplicação de diários alimentares e observou que as mulheres que ingeriam maior quantidade de lignanas apresentaram maior nível sérico de enterolactona, e um melhor perfil metabólico, incluindo maior sensibilidade da insulina e menores medidas de adiposidade (MORISSET et al., 2009).

Rhee e Brunt (2011) investigaram o efeito da suplementação de 40 gramas de linhaça e placebo, por um período de 12 semanas, em obesos portadores de intolerância à glicose e constataram a redução significativa de TBARS e no teste de resistência à insulina (HOMA-IR), estando estas alterações relacionadas à ingestão de lignanas provenientes da linhaça.

Por outro lado, o estudo realizado por Hallund et al (2006) avaliou o efeito do consumo diário de *muffins* enriquecidos com um composto isolado de lignanas extraído de sementes de linhaça, por um período de seis meses, sobre a absorção e

excreção de enterodiol, o metabolismo de colesterol total sérico e suas frações, e sobre a capacidade antioxidante plasmáticos em mulheres pós-menopausadas saudáveis. Os autores constataram que o consumo dos *muffins* aumentou significativamente a concentração de enterodiol sérico e urinário, porém não promoveu alterações significativas nos lipídes e antioxidantes plasmáticos.

De acordo com Aluko e Monu (2003), estudos científicos realizados indicam que os fitoestrógenos podem ser encontrados na maioria dos cereais, porém até os dias de hoje não foram realizados estudos que quantificassem os teores presentes nos grãos de quinoa. Não há estudos que avaliem os efeitos metabólicos de sua inclusão na alimentação em mulheres pós-menopausadas. Sendo assim, estudos que avaliem o efeito metabólico da quinoa na alimentação de mulheres pós-menopausadas, seria uma alternativa de inclusão de componentes que permitiriam a prevenção ou tratamento dos sintomas característicos deste grupo.

#### 4. REFERENCIAS

---

- ABUGOCH, L.E. Quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Adv Food Nutr Res.* v.58, p.1–31, 2009.
- ALDRIGHI, J. M.; CALVOSO JUNIOR, R.; FALUDI, A. A; MANSUR, A. P. Climatério e menopausa. In: Aldrighi, J. M.; Faludi, A. A.; Mansur, A. P. *Doença cardiovascular no climatério.* São Paulo: Atheneu, 2005. p. 23-9.
- ALUKO, R. E.; MONU, E. Functional and Bioactive Properties of Quinoa Seed Protein Hydrolysates. *J Food Sci.* v. 68, n. 4, 2003.
- ALVAREZ, P.; ALVARADO, C.; MATHIEU, F.; JIMÉNEZ, L.; DE LA FUENTE, M. Diet supplementation for 5 weeks with polyphenol-rich cereals improves several functions and the redox state of mouse leucocytes. *Eur J Nutr.* v.45, n.8, p.428-38, 2006.
- ANDERSON, J.W.; BAIRD, P.; DAVIS, R.H.J.; FERRERI, S.; KNUDTSON, M.; KORAYM, A.; WATERS, V.; WILLIAMS, C.L. Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev.* v. 67, n.4, p.188–205, 2009.
- ANTUNES, S.; MARCELINO, O.; AGUIAR, T. Fisiopatologia da Menopausa. *Rev Port Clin Geral.* n.19, p.353-7, 2003.
- ARMELLINI, F; ZAMBONI, M; MINO, A; BISSOLI, L.; MICCIOLO, R.; BOSELLO, O. Postabsorptive resting metabolic rate and thermic effect of food in relation to body composition and adipose tissue distribution. *Metabolism.* v.149, n. 1, p.6-10, 2000.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim. Nova.* v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BARROSO, S. G.; ABREU, V. G.; FRANCISCHETTI, E. A.. A Participação do Tecido Adiposo Visceral na Gênese da Hipertensão e Doença Cardiovascular Aterogênica: Um Conceito Emergente. *Arq. Bras. Cardiol.* v.78, n.6, p. 618-630, 2002.
- BEDNAREK-TUPIKOWASKA, G.; TUPIKOWSKI, K.; BIDZIŃSKA, B.; BOHDANOWICZ-PAWLAK, A.; ANTONOWICZ-JUCHNIEWICZ, J.; KOSOWSKA, B.; MILEWICZ, A. Serum lipid peroxides and total antioxidant status in postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Gynecol Endocrinol.* v. 19, p. 57-63, 2004.
- BHATHENA, S. J.; VELASQUEZ, M. T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr.* n. 76, p. 1191–1201, 2002.
- BJONTORP, P. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? *Obes Ver.* n. 2, p.73-86, 2001.

BORGES, J. T.; BONOMO, R. C.; PAULA, C. D.; OLIVEIRA, L.C.; CESÁRIO, M. C. Características físico-químicas, nutricionais e formas de consumo da quinoa. *Temas Agrários*. v. 15, n.1, p. 9 – 23, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Atenção à Mulher no Climatério / Menopausa. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Série Direitos Sexuais e Direitos Reprodutivos. Brasília, 2008. Caderno de Atenção Básica, n. 9, ed. 1, 2008.

CASTRO, L. I. A.; VILA REAL, C. M.; PIRES, I. S. C.; PIRES, C. V.; PINTO, N. A. V. D.; MIRANDA, L. S.; ROSA, B. C; DIAS, P. A. Quinoa (*Chenopodium quinoa willd*): digestibilidade in vitro, desenvolvimento e análise sensorial de preparações destinadas a pacientes celíacos. *Alim. Nutr.* v. 18, n.4, p. 413-419, 2007.

CEDERROTH, C. R.; NEF, S. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Mol Cell Endocrinol.* n. 304, p. 30–42, 2009.

DUBNOV, G; BRZEZINSKI, A.; BERRY, E. M. Weight control and management of obesity after menopause: the role of physical activity. *Maturitas.* n. 44, p.89-101, 2003.

GANJI, V.; KUO, J. Serum lipid responses to psyllium fiber: differences between preand post-menopausal, hypercholesterolemic women. *Nutr J.* n.7, p. 22- 26, 2008.

HALLUND, J.; RAVN-HAREN, G.; BÜGEL, S.; THOLSTRUP, T.; TETENS, I. A Lignan Complex Isolated from Flaxseed Does Not Affect Plasma Lipid Concentrations or Antioxidant Capacity in Healthy Postmenopausal Women. *J. Nutr.* n.136, p. 112–116, 2006.

HEIDARI, R.; SADEGHI, M.; TALAEI, M; RABIEI, K; MOHAMMADIFARD, N; SARRAFZADEGAN, N. Metabolic syndrome in menopausal transition: Isfahan Healthy Heart Program, a population based study. *Diabetology & Metabolic Syndrome.* v.2, p.6-9, 2010.

HERMSDORFF, H. H. M.; MONTEIRO, J. B. R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? *Arq Bras Endocrinol Metab.* n. 48, p. 803-11, 2004.

HONG, S.C.; YOO, S. W.; CHO, G. J.; KIM, T.; HUR, J. Y.; PARK, Y. K.; LEE, K. W.; KIM, S. H. Correlation between estrogens and serum adipocytokines in premenopausal and postmenopausal women. *Menopause.* v.14, n. 5, p. 835-40, 2007.

HORNER, N. K.; KRISTAL, A. R.; PRUNTY, J.; SKOR, H. E.; POTTER, J. D.; LAMPE, J. W. Dietary Determinants of Plasma Enterolactone. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* v. 11, p.121–126, 2002.

JUNTUNEN, K. S.; LAAKSONEN, D. E.; POUTANEN, K. S.; NISKANEN, L. K.; MYKKÄNEN, H. M. High-fiber rye bread and insulin secretion and sensitivity in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* n. 77, p. 385–91, 2003.

KIMURA, M; IRAHARA, M.; YASUI, T.; SAITO, S.; TEZUKA, M.; YAMANO, S.; KAMADA, M.; AONO, T. The obesity in bilateral ovariectomized rats is related to a decrease in the expression of leptin receptors in the brain. *Biochem Biophys Res Commun.* v. 290, n. 4, p. 1349-53, 2002.

KOZIOL, M. Chemical composition and nutritional evaluation of Quinoa (*Chenopodium quinoa willd*). *J Food Comp. Anal.* v.5, p.35–68, 1992.

KUIJSTEN, A; ARTS, I. C. W.; VREE, T. B.; HOLLMAN, P. C. H. Pharmacokinetics of enterolignans in healthy men and women consuming a single dose of secoisolariciresinol diglucoside. *J. Nutr.* v. 135, p. 795–801, 2005

LAHOZA, C.; MOSTAZAA, J M. Atherosclerosis as a systemic disease. *Rev Esp Cardiol.* n. 60, p.184-95, 2007.

LAMPE, J.W.; ATKINSON, C.; HULLAR, M. A. J. Assessing Exposure to Lignans and Their Metabolites in Humans. *J AOAC Int.* v. 89, n. 4, p. 1174-81, 2006.

LERARIO, D. D. G.; GIMENO, S. G.; FRANCO, L. J.; IUNES, M.; FERREIRA, S. R.G. Excesso de peso e gordura abdominal para a síndrome metabólica em nipo-brasileiros. *Rev Saúde Publica.* v. 36, n.1, p. 4-11, 2002.

LOPES, C. O.; DESSIMONI, G. V.; COSTA DA SILVA, M.; VIEIRA, G.; PINTO, N. A. V. D. Nutritional and non nutritional characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Alim. Nutr.* v. 20, n. 4, p. 669-675, 2009.

LYON, C. J.; LAW, R. E.; HSUEH, W. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology.* v.144, n. 6, p. 2195-200, 2003.

MA, Y.; HÉBERT, J. R.; LI, W.; BERTONE-JOHNSON, E. R.; OLENDZKI, B.; PAGOTO, S. L.; TINKER, L.; ROSAL, M. C.; OCKENE, I. S.; OCKENE, J. K.; GRIFFITH J. A.; LIU, S. Association between dietary fiber and markers of systemic inflammation in the Women's Health Initiative Observational Study. *Nutrition.* v.24, n.10, p.941-9, 2008.

MEDEIROS, S. F.; MAITELLI, A.; NINCE, A. P. B. Efeitos da terapia hormonal na menopausa sobre o sistema imune. *Rev Bras Ginecol Obstet.* v.29, n.11, p.593-601, 2007.

MIYATANI Y; YASUI T, UEMURA H, YAMADA M, MATSUZAKI T, KUWAHARA AKIRA, et al. Associations of circulating adiponectin with estradiol and monocyte chemotactic protein-1 in postmenopausal women. *Menopause.* v. 15, n. 3, p. 536-541, 2008.

MORISSET, A.S.; LEMIEUX, S; VEILLEUX, A; BERGERON, J.; WEISNAGEL, J.; TCHERNOF, A. Impact of a lignan-rich diet on adiposity and insulin sensitivity in post-menopausal women. *British Journal of Nutrition.* v. 102, n. 2, p. 195-200, 2009.

[NAMS] North American Menopause Society. Menopause core curriculum study guide. The North American Menopause Society; 2002.

NAZIROGLU, M.; SIMŞEK, M.; SIMŞEK, H.; AYDILEK, N.; OZCAN, Z.; ATILGAN, R. The effects of hormone replacement therapy combined with vitamin C and E on antioxidant levels and lipid profile in postmenopausal women with Type 2 diabetes. *Clinica Chimica Acta*. v. 344, p. 63-67, 2004.

NEWBY, P. K.; MARAS, J.; BAKUN, P.; MULLER, D.; FERRUCCI, L.; TUCKER, K.L. Intake of whole grains, refined grains and cereal fiber measured with 7-d diet records and associations with risk factors of chronic disease. *Am J Clin Nutr*. n.86, p. 1745-53, 2007.

NSIMBA, R. Y.; KIKUZAKI, H.; KONISHI, Y. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. seeds. *Food Chem*. v.106, p. 760–766, 2008.

OLIVEIRA, H. C.; LEMGRUBER, I. *Tratado de Ginecologia: FREBASG*. Rio de Janeiro; Revinter; v. I. 2001.

PASKO, P.; BARTON, H.; ZAGRODZKI, P.; IZEWSKA, A.; KROSNIAK, M.; GAWLIK, M.; GAWLIK, M.; GORINSTEIN, S. Effect of Diet Supplemented with Quinoa Seeds on Oxidative Status in Plasma and Selected Tissues of High Fructose-Fed Rats. *Plant Food Hum Nutr*. v.65, p.146–15, 2010.

PEÑALVO, J. L.; ADLERCREUTZ, H.; UEHARA, M.; RISTIMAKI, A.; WATANABE, S. Lignan Content of Selected Foods from Japan. *J. Agric. Food Chem*. v.56, p. 401–409, 2008.

PRASAD, K. Seicolariciresinol diglucoside from flaxseed delays the development of type 2 diabetes in Zucker rat. *Journal Laboratory Clinical Medicine*. v.138, n.1, p. 32-39, 2005.

RAJALA, M. W.; SCHERER, P. E. Minireview: the adipocyte-at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Neuroendocrinol*.v. 144, n. 9, p. 3765- 73, 2003.

RHEE, Y.; BRUNT, A. Flaxseed supplementation improved insulin resistance in obese glucose intolerant people: a randomized crossover design. *Nutrition Journal*. v. 10, n. 44-50, 2011.

REPO-CARRASCO, R.; ESPINOZA, C.; JACOBSEN, S. E. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and ka niwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Rev Int*. v.19, p.179–189, 2003.

REXRODE, K. M.; PRADHAN, A.; MANSON, J. E.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Ann Epidemiol*. n.13, p. 1-9, 2003.

SANCHES, I. C.; JORGE, L.; PONCIANO K. R.; PUREZA, D. Y.; ANGELIS, K. Doença cardiovascular na mulher. *Integração*. n. 44, p. 41-48, 2006.

SHI, H.; CLEGG, D.J. Sex differences in the regulation of body weight. *Physiol Behav.* v.97, n.2, p.199-204, 2009.

SMITH U. Impaired (“diabetic”) insulin signaling and action occur in fat cells long before glucose intolerance – is insulin resistance initiated in the adipose tissue? *Int J Obes.* n.26, p. 897-904, 2002.

STEPTOE, A.; WARDLE, J. Cardiovascular stress responsivity, body mass and abdominal adiposity. *Int J Obes.* n. 29, v.11, p. 1329-37, 2005.

STRAUB, R. H.; HENSE, H. W.; ANDUS, T.; SCHOLMERICH, J.; RIEGGER, G. A.; SCHUNKERT, H. Hormone replacement therapy and interrelation between serum interleukin-6 and body mass index in postmenopausal women: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab.* n.85, v. 3, p. 1340-4, 2000.

STREHLOW, K.; ROTTER, S.; WASSMANN, S.; ADAM, O.; GROHÉ, C.; LAUFS, K.; BÖHM, M.; NICKENIG, G. Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. *Circulation Research.* v. 93, p. 170-177, 2003.

TARPILA, S.; ARO, A.; SALMINEN, I.; TARPILA, A.; KLEEMOLA, P.; AKKILA, J.; ADLERCREUTZ, H. The effect of flaxseed supplementation in processed foods on serum fatty acids and enterolactone. *Eur J Clin Nutr.* v. 56, n. 2, p. 157-165, 2002.

TREVISAN, M.; BROWNE, R.; RAM, M.; MUTI, P.; FREUDENHEIM, J.; CAROSELLA, A. M.; ARMSTRONG, D. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol.* v. 154, p. 348-356, 2001.

USDA. United State Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 2, 2010.

VAN DER LINDE, N. A. J.; SIJBRANDS, E. J. G.; BOOMSMA, F.; VAN DEN MEIRACKER, A. H. Effect of low-density lipoprotein cholesterol on angiotensin II sensitivity: a randomized trial with fluvastatin. *Hypertension,* v. 47, p. 1125-30, 2006.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell B.* v.39, p.44–84, 2007.

VEGA-GALVEZ, A.; MIRANDA, M.; VERGARA, J.; URIBE, E.; PUENTE, L.; MARTINEZ, EA. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: a review. *J Sci Food Agri.* v.90, p. 2541–2547, 2010.

VILCHE, C.; GELY, M.; SANTALLA, E. Physical properties of quinoa seeds. *Biosys. Engin.* v. 86, n.1, p. 59-65, 2003.

WARD, H.; CHAPELAIS, G.; KUHNLE, G. G. C.; LUBEN, R.; KHAW, K. T.; BINGHAM, S. Breast cancer risk in relation to urinary and serum biomarkers of phytoestrogen exposure in the European Prospective into Cancer-Norfolk cohort study. *Breast Cancer Res.* v. 10, n. 2, p. R32, 2008.

WU, G.; FANG, Y. Z.; YANG, S.; LUPTON, J. R.; TURNER, N. D. Glutathione metabolism and its implication for health. *J Nutr.* v.134, p.489–492, 2004.

## *Capítulo II*

---



EFEITOS DA INGESTÃO DE QUINOA (*CHENOPODIUM QUINOA*) SOBRE A GLICEMIA, COLESTEROLEMIA E ESTRESSE OXIDATIVO EM MULHERES PÓS-MENOPAUSADAS

INGESTÃO DE QUINOA EM MULHERES PÓS-MENOPAUSADAS

**Autores:** Flávia Giolo de Carvalho<sup>1</sup>, Paula Payao Ovídio<sup>2</sup>, Gilberto João Padovan<sup>2</sup>, Alceu Afonso Jordão Junior<sup>2</sup>, Julio Sérgio Marchini<sup>2</sup>, Odilon Iannetta<sup>3</sup>, Anderson Marliere Navarro<sup>2</sup>.

**Afiliação:**

<sup>1</sup> Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – UNESP.

<sup>2</sup> Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP.

<sup>3</sup> Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP.

**Autor Correspondente:** Flávia Giolo de Carvalho. Endereço: Avenida Bandeirantes, 3900. Monte Alegre, 14049-900. Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Telefone-fax: (55) (16) 3633 6695 ou (55) (16) 3602 2466. flaviagiolo@gmail.com

Artigo submetido à Revista “*Maturitas*”.  
Qualis A2

## **Resumo**

**Objetivo:** Investigar o efeito da ingestão de quinoa sobre a glicemia, a colesterolemia e marcadores de estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas. **Delineamento do**

**estudo:** Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego e controlado por placebo, no qual participaram 35 mulheres que foram submetidas ao consumo diário de 25 gramas de quinoa em flocos ou placebo, no período de 4 semanas consecutivas.

**Principais medidas de resultado:** Realizou-se avaliação antropométrica e coleta de sangue para a dosagem de glicose, colesterol total e frações, marcadores de estresse oxidativo, vitamina E e enterolignanas; e urina de 24 horas para dosagem de enterolignanas, no início e ao final da intervenção. **Resultados:** De acordo com a classificação do IMC, em média, as voluntárias encontram-se na faixa de excesso de peso ao longo do período de intervenção. Foram observadas alterações significativas no peso corporal e IMC apenas no grupo Placebo. Observou-se no grupo Placebo a redução significativa em relação ao enterodiol sérico e urinário e aumento na enterolactona sérica e urinária. Já no grupo Quinoa, houve uma diminuição significativa na concentração de enterolactona sérica e aumento na urinária, comparando-se os momentos inicial e final. Foram encontradas reduções significativas na concentração sérica de triglicérides, TBARS e vitamina E nos dois grupos de estudo. Por outro lado, constatou-se uma redução significativa de colesterol total e LDL-colesterol, e aumento de GSH apenas no grupo Quinoa.

**Conclusão:** O consumo de 25 gramas de quinoa durante o período de 4 semanas resultou em alterações significativas na colesterolemia e nos marcadores de estresse oxidativo, mostrando um possível efeito benéfico do consumo do cereal em estudo.

**Palavras-chaves:** colesterolemia, enterolignanas, estresse oxidativo, quinoa e pós-menopausa.

## 1. INTRODUÇÃO

A quinoa (*Chenopodium quinoa*) é um cereal de origem andina, extensamente cultivado no Peru, Chile e Bolívia. É considerada uma fonte significativa de fitoquímicos de ação antioxidante como flavonóides, ácidos fenólicos, vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos e outros compostos [1], que podem modular a resposta oxidativa orgânica, podendo impedir o aumento do estresse oxidativo [2]. Não foram encontrados estudos que avaliem a influência da ingestão de quinoa sobre o status antioxidante em mulheres pós-menopausadas.

As mulheres que estão no período de pós-menopausa estão mais susceptíveis a problemas de saúde relacionados ao declínio da concentração de estrogênio, o que favorece processo de estresse e ao desenvolvimento de doenças crônicas. A condição do hipoestrogenismo pode influenciar a elevação da concentração de colesterol e triglicérides, além de comprometer o metabolismo de carboidratos, podendo resultar em intolerância glicídica e hiperinsulinemia [3].

O déficit de estrogênio pode ocasionar aumento de peso e favorecer ao acúmulo de gordura abdominal, devido a desregulação da distribuição da gordura corporal [4] mas também pelo fato de este hormônio modular a ação da leptina no cérebro, diminuindo a atuação de seus receptores, conseqüentemente reduz a saciedade, resultando em maior ingestão de alimentos e maior ganho de massa corpórea [5]. Além disso, o acúmulo de gordura na região central está relacionado com o desenvolvimento da resistência à insulina e da síndrome metabólica (hiperinsulinemia, dislipidemia, intolerância à glicose e hipertensão) [5], e este, associado ao processo natural de envelhecimento, favorece ao aumento do estresse oxidativo metabólico [6].

Visto que a inclusão de cereais integrais no consumo diário veicula componentes bioativos que apresentam efeito antioxidante e hipolipemiante [9], o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do consumo de quinoa sobre as concentrações de glicose, de colesterol total e frações e de marcadores de estresse oxidativo em um grupo de mulheres pós-menopausadas.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

Foi realizado um estudo com 35 mulheres pós-menopausadas a pelo menos 2 anos, sem utilização de terapia hormonal, apresentando concentração sérica de estradiol de 10 a 20 pg/ml e de hormônio folículo estimulante igual ou superior 35 mUI/mL [7]. Foram considerados como critérios de exclusão a utilização de terapia de reposição hormonal, nos últimos seis meses, ou de suplementos de isoflavonas, vitaminas ou minerais, ou drogas hipolipemiantes nas últimas duas semanas, presença de doenças infecciosas ou hipermetabólicas (neoplásicas, hepatopatias) e tabagismo (HALLUND, 2008).

As voluntárias eram atendidas no Ambulatório Multidisciplinar de Climatério do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP). O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética do HCFMRP-USP, processo HCRP nº 7896/2009.

Trata-se um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego e controlado por placebo, no qual as participantes foram submetidas ao consumo diário de 25 gramas de quinoa em flocos ou placebo (flocos de milho) no período de quatro semanas consecutivas.

Foram realizadas coleta de dados, avaliação antropométrica e coleta de sangue e urina de 24 horas em dois momentos distintos: T1- início da intervenção e T2 – pós-intervenção, sendo o período de intervenção de 4 semanas. As coletas ocorreram na Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP-USP, com auxílio das enfermeiras da unidade. Além das coletas, no T1 as voluntárias recebiam o cereal-teste e foram orientadas a consumir diariamente o conteúdo total de cada embalagem (25 gramas) podendo este ser adicionado à frutas, sucos, vitamina de frutas com leite, e/ou sobre as preparações do almoço ou jantar, em seus pratos individuais.

Os cereais foram colocados em embalagens Trad Pouch® metalizadas, para evitar a interferência do pesquisador, e cada participante recebia um kit contendo 28 embalagens, com 25 gramas de cereal por embalagem, distribuídos gratuitamente para as voluntárias no momento T1. Toda a manipulação dos cereais ocorreu no Laboratório de Nutrição e Dietética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Semanalmente as voluntárias eram contactadas via telefone por outra pesquisadora, não envolvida com o sorteio dos cereais-teste, para o monitoramento da ingestão, esclarecimento de possíveis dúvidas e orientações em relação ao consumo do cereal. As participantes foram solicitadas a não ingerir alimentos considerados grandes fontes de lignanas como, por exemplo, linhaça e soja.

## **2.1 Avaliação Antropométrica**

Foram mensurados peso e estatura, o índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela fórmula  $(\text{peso}/\text{altura}^2)$  em T1 e T2, sendo considerado eutrofia quando os valores de IMC estivessem entre 18,5 e 24,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , excesso de peso quando IMC entre 25 e 29,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , obesidade quando IMC ente 30 a 35  $\text{kg}/\text{m}^2$  e

obesidade grave quando IMC superior a 35 kg/m<sup>2</sup> [8]. Aferiu-se também a circunferência da cintura, medida utilizando-se a fita métrica inextensível, de 200 cm e variação de 0,1 cm, na menor circunferência do tronco, a qual forneceu o valor em centímetros [9].

## 2.2 Análises Bioquímicas

Foram realizadas coletas de sangue em tubos de 5 mL contendo gel separador e ativador de coágulo, nos momentos T1 e T2, estando as voluntárias em jejum de 12h. Foram coletadas amostras urina de 24 horas para a determinação da excreção urinária de lignanas e monitoramento da ingestão dos cereais. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer a -80°C até o momento da análise.

As concentrações de glicose foram determinadas através de Kit colorimétrico Labtest® Glicose PAP Liquiform, e o colesterol total (CT), triglicérides (TG) e HDL-colesterol (HDL-c) foram quantificados através de kit Colesterol Total Liquiform, Kit Colesterol HDL e Kit Triglicérides Liquiform, da Labtest diagnóstica®. O cálculo da fração LDL-colesterol (LDL-c) foi realizado através da fórmula de Friedewald et al. [10].

Foram quantificados os marcadores de estresse oxidativo indicativos de peroxidação lipídica: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), pelo método proposto por Buege e Aust [11] e Glutathiona reduzida (GSH) pelo método descrito por Sedlack e Lindsay [12]. Realizou-se também a dosagem de vitamina E sanguínea, na forma de  $\alpha$ -tocoferol, pelo método de Arnaud et al. [13]. Todos estes métodos foram padronizados no Laboratório de Bromatologia do Curso de Nutrição

e Metabolismo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.

A determinação da concentração de enterodiol e da enterolactona, no soro e na urina, realizou-se por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), utilizando-se o método de SICILIA et al. [14], também padronizado no Laboratório de Espectrometria de Massa do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.

### **2.3 Análises Estatísticas**

Os resultados foram expressos em média e desvio padrão conforme os grupos de estudo, sendo o grupo experimental nomeado de “Grupo Quinoa”, e o outro grupo nomeado “Placebo”.

Foi realizado o modelo de regressão para dados de análise pré-teste pós-teste para comparar os resultados dos grupos Quinoa e Placebo e para comparar diferenças entre os momentos dentro do mesmo grupo (T1 e T2), considerando o comportamento de cada indivíduo no grupo. Este modelo leva em conta a magnitude das medidas pré-teste e o pós-teste, o qual é modelado por uma função passando pela origem de um diagrama de dispersão do pré-teste pós-teste [15]. Foi considerada diferença estatisticamente significativa quando o  $p < 0,05$ . Os resultados foram obtidos com o auxílio do software SAS® 9.0, através da PROC NL MIXED [16].

## **3. RESULTADOS**

Foram recrutadas 35 mulheres, com idade média de  $61 \pm 7$  anos, sendo 17 mulheres participantes do grupo placebo e 18 do grupo quinoa.

O efeito da ingestão de 25 gramas de quinoa ou placebo após quatro semanas sobre as variáveis antropométricas e são mostrados na tabela 1. Foram observadas alterações significativas no peso corporal e IMC apenas no grupo Placebo. De acordo com a classificação do IMC da *World Health Organization* [9], em média, as voluntárias encontram-se na faixa de excesso de peso ao longo do período de intervenção.

#### TABELA 1

Em relação às enterolignanas (Tabela 2), ao comparar T1 e T2, observou-se no grupo Placebo a redução significativa em relação ao enterodiol (END) sérico ( $p=0,045$ ) e urinário ( $p= 0,001$ ); e aumento na enterolactona (ENL) sérica ( $p=0,021$ ) e urinária ( $p=0,010$ ).

Já no grupo Quinoa, constatou-se apenas alterações significativas nas concentrações de ENL, houve uma diminuição de ENL sérica ( $p=0,029$ ) e aumento na urinária ( $p=0,0018$ ), comparando-se os momentos T1 e T2.

#### TABELA 2

A tabela 3 refere-se à concentração glicêmica e lipídica nos grupos Placebo e Quinoa. Foram encontradas reduções estatisticamente significativas na concentração média de Colesterol total das participantes do grupo Quinoa ( $p= 0,012$ ), Triglicerídeos ( $p= 0,017$ ) e LDL- colesterol ( $p= 0,001$ ) comparando-se T1 e T2. Também foi encontrada uma redução significativa na concentração de Triglicerídeos do grupo Placebo ( $p= 0,0004$ ), comparando-se T1 e T2. . Não houve alterações significativas na concentração de HDL- colesterol e na glicemia.

#### TABELA 3



A tabela 4 destaca os resultados encontrados nas dosagens de marcadores de estresse oxidativo GSH e TBRAS. Constatou-se o aumento significativo na concentração de GSH ( $p=0,0005$ ) no grupo Quinoa, comparando-se os momentos T1 e T2. Ocorreu a redução na concentração de TBARS tanto no grupo Quinoa ( $p=0,0014$ ), quanto no grupo Placebo ( $p=0,0001$ ), e na concentração de vitamina E nos grupos Quinoa ( $p=0,002$ ) e Placebo ( $p=0,02$ ), comparando T1 e T2.

TABELA 4

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que a ingestão diária do cereal quinoa, não alterou os parâmetros antropométricos, como o peso, IMC e circunferências da cintura das voluntárias. As participantes iniciaram e finalizaram o experimento com a mesma classificação do estado nutricional [8].

Em relação à circunferência da cintura, encontraram-se valores médios de acima do valor recomendado (80 cm) nos dois grupos de estudo, sinalizando a presença de risco aumentado de complicações metabólicas associadas à obesidade, de acordo com a classificação da WHO [9]. Tal fato confirma a influência do hipoestrogenismo sobre a obesidade abdominal relatado por diversos autores [4,5,6].

As enterolignanas foram utilizadas como biomarcadores séricos e urinários de exposição à fitoestrógenos e indicador do consumo dos cereais em estudo. Ademais, o uso de biomarcadores reflete a variação entre as participantes da pesquisa, em termos de microflora intestinal, visto que a metabolização de enterolignanas depende da integridade intestinal, mas é também influenciada por

fatores como estresse, hábitos alimentares, doença intestinal, genética e uso de antibióticos, entre os outros fatores [17].

No presente estudo, as concentrações de enterolignanas confirmaram a ingestão dos alimentos-teste, visto que houve aumento significativo na excreção de enterolactona urinária nos dois grupos em estudo. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Kuijsten et al. [18] o qual avaliou o efeito da suplementação de secoisolariciresinol diglucosídeo, substância precursora de enterolignanas, na excreção de enterolignanas e constatou que a dose-resposta foi melhor refletida na excreção urinária. De acordo com Lampe, Atkinson e Hullar [19], apesar dos métodos de quantificação serem extremamente sensíveis, as concentrações séricas de enterolignanas encontradas na literatura são relativamente baixas, às vezes até inferiores ao limite de quantificação.

Quanto ao perfil lipídico, observou-se que a inclusão diária de 25 gramas de cereal quinoa resultou em uma possível melhora no perfil lipídico. Já o grupo Placebo não apresentou comportamento semelhante, podendo-se então sugerir que esta alteração esteja relacionada ao fato de que a quinoa possui uma maior quantidade de fibras alimentares, cerca de sete gramas/100 gramas, comparada aos flocos de milho (1,1 grama/100 gramas de alimento) utilizados como placebo [20]. Quanto a redução na concentração sérica de triglicérides constatada no grupo Placebo, sugere-se a hipótese de que a inclusão deste cereal na alimentação pode ter ocasionado alteração na ingestão habitual e, conseqüentemente a redução no consumo de outros alimentos fontes de lípidos.

Jenkins et al. [21] avaliaram o efeito da suplementação com alimentos (cereais matinais, pães, massas congeladas, bolos e biscoitos) enriquecidos com Psyllium (7,2 g) e Aveia (0,75 g de betaglucanas) no período de um mês, em 37

homens e 31 mulheres pós-menopausadas e hipercolesterolêmicos. Os autores constataram reduções significativas nas concentrações de lipídeos séricos, confirmando o efeito benéfico proveniente da ingestão de fibras alimentares.

Outro estudo duplo-cego, realizado por Balcázar-Muñoz et al. [22] avaliou o efeito da administração oral diária de fibras isoladas ( 7 gramas de inulina) sobre o perfil lipídico e sensibilidade à insulina em 12 indivíduos obesos e dislipidêmicos, com idade entre 19 e 32 anos. Constatou-se que a suplementação de inulina reduziu o colesterol total, LDL-colesterol, VLDL e níveis triglicéridos, sem alterações na sensibilidade à insulina.

Em relação à defesa antioxidante, observou-se uma redução significativa na concentração de vitamina E sérica nos dois grupos do presente estudo. Visto que no período da pós-menopausa o hipoestrogenismo favorece ao acúmulo de gordura abdominal e para o aumento do estresse oxidativo [4,7], a alteração na concentração sérica de vitamina E constatada, sinalizou um possível aumento na utilização orgânica desta vitamina para a eliminação de radicais livres conseqüentes do estresse em mulheres pós-menopausadas. Porém, a redução na concentração de vitamina E no grupo Quinoa foi menor do que a redução observada no grupo Placebo, o que possivelmente está relacionado ao fato de que a quinoa apresenta maior teor de vitamina E (2,44 mg a cada 100 gramas de alimento), comparada aos flocos de milho, que corresponde a 0,13 mg a cada 100 gramas de alimento [20].

No entanto, observou-se que os marcadores de estresse oxidativo apresentaram comportamentos diferentes entre os grupos Placebo e Quinoa. Após 4 semanas de intervenção constatou-se a redução na concentração sérica de TBARS e aumento na GSH no grupo Quinoa, sendo que, no grupo Placebo ocorreu apenas a redução significativa na TBARS . A TBARS é uma substância produzida em

situação de estresse oxidativo, em decorrência da peroxidação lipídica. Já glutathione (GSH) está relacionada à defesa antioxidante e sua deficiência contribui na patogênese do estresse oxidativo relacionados de várias doenças crônicas [23]. Sendo assim, as alterações encontradas no presente estudo sinalizaram uma possível proteção aos efeitos do estresse oxidativo, principalmente no grupo Quinoa, associando-se os resultados dos marcadores de estresse, a concentração de vitamina E e a presença de enterolignanas.

Pasko et al. [2] avaliou o efeito da suplementação de sementes de quinoa sobre o status oxidativo de ratos alimentados com dieta suplementada em frutose para indução de estresse e constataram uma redução nos níveis de MDA plasmático e também a diminuição da atividade de enzimas antioxidantes, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo. Autores sugerem que a proteção antioxidante proveniente do consumo de quinoa possa estar relacionada à presença de compostos fenólicos e não-fenólicos e também por ser fonte de vitamina E[1].

## **5. CONCLUSÃO**

O presente estudo mostrou um possível efeito benéfico proveniente da ingestão do cereal em estudo, visto que foram constatadas reduções significativas nas concentrações séricas de triglicerídeos, TBARS e vitamina E, e aumento na excreção urinária de enterolignanas nos dois grupos de estudo. Por outro lado, houve redução do colesterol total e LDL-c, e aumento de GSH apenas no grupo Quinoa.

### **Lista de Abreviações utilizadas**

IMC – Índice de massa corporal, END- enteroldiol, ENL- enterolcatona, GSH – glutathiona redutase, HCFMRP-USP- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, FMRP-USP - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, HDL- lipoproteína de alta densidade, LDL- lipoproteína de baixa densidade, TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico, USDA - *United States Department of Agriculture*, WHO - *World Health Organization*.

### **Financiamento**

O estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo: 2009/11463-6). O financiamento foi utilizado para a compra dos cereais em estudo e de todos os materiais necessários para a coleta e análises das amostras biológicas.

## **6. REFERENCIAS**

- [1] Vega-galvez A, Miranda M, Vergara J, Uribe E, Puente, L, Martinez EA. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: a review. *J Sci Food Agr.* 2010; 90: 2541–2547.
- [2] Pasko P, Barton H, Zagrodzki P, Izewska A, Krosniak M, Gawlik M, Gawlik M, Gorinstein S. Effect of Diet Supplemented with Quinoa Seeds on Oxidative Status in Plasma and Selected Tissues of High Fructose-Fed Rats. *Plant Foods Hum Nutr.* 2010; 65:146–151.

- [3] Heidari R, Sadeghi M, Talaei M, Rabiei K, Mohammadifard N, Sarrafzadegan N. Metabolic syndrome in menopausal transition: Isfahan Healthy Heart Program, a population based study. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2010; 2: 6-9.
- [4] Steptoe A, Wardle J. Cardiovascular stress responsivity, body mass and abdominal adiposity. *Int J Obes*. 2005; 29(11):1329-37.
- [5] Kimura M, Irahara M, Yasui T, Saito S, Tezuka M, Yamano S, Kamada M, Aono T. The obesity in bilateral ovariectomized rats is related to a decrease in the expression of leptin receptors in the brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 290(4): 1349-53.
- [6] Sanches IC, Jorge L, Ponciano KR, Pureza DY, Angelis K. Doença cardiovascular na mulher. *Integração*. 2006; 44: 41-48.
- [7] Sites CK, Calles-Escandón J, Brochu M, Butterfield M, Ashikaga T, Poehlman E T. Relation of regional fat distribution to insulin sensitivity in postmenopausal women. *Fertil. Steril*. 2000; 73: 61-5.
- [8] World Health Organization. BMI Classification. [Access in July 1st, 2011]. Available in <<http://apps.who.int/bmi/>>.
- [9] World Health Organization. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio, 2008. [Access in July 1st, 2011]. Available in: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501491\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501491_eng.pdf) >.
- [10] Friedwald WT, Levy RI, Friedrickson DS. Estimation of concentration of LDL cholesterol in plasma without preparation or ultracentrifugation. *Clinical Chem*, 1972; 18: 449-502.
- [11] Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*. 1978; 52:302-10.

- [12] Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 1968; 25(1):192-205.
- [13] Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1991; 572(1):103-16.
- [14] Sicilia T, Niemeyer HB, Honig DM, Metzler M. Identification and Stereochemical Characterization of Lignans in Flaxseed and Pumpkin Seeds. *J. Agri. Food Chem.* 2003; 51(5):1181-1188.
- [15] Singer JM, Andrade DF. Regression Models for the Analysis of Pretest/Posttest Data, *Biometrics*, 1997; 53:729–735.
- [16] SAS/STAT® User's Guide, Version 9.0, Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., 2002.
- [17] Ward H, Chapelais G, Kuhnle GGC, Luben R, Khaw KT, Bingham S. Breast cancer risk in relation to urinary and serum biomarkers of phytoestrogen exposure in the European Prospective into Cancer-Norfolk cohort study. *Breast Cancer Res.* 2008, 10(2): R32.
- [18] Kuijsten A, Arts ICW, Vree TB, Hollman PCH. Pharmacokinetics of enterolignans in healthy men and women consuming a single dose of secoisolariciresinol diglucoside. *J. Nutr.* 2005; 135: 795–801.
- [19] Lampe JW, Atkinson C, Hullar MAJ. Assessing Exposure to Lignans and Their Metabolites in Humans. *J AOAC Int.* 2006. 89(4):1174-81.
- [20] USDA. United States Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 2, 2010.
- [21] Jenkins DJA, Kendall CWC, Vuksan V, Vidgen E, Parker T, Faulkner D, et al. Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for

a claim of health benefits: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75:834-9.

[22] Balcázar-Muñoz BR, Martínez-Abundis E, González-Ortiz M. Effect of oral inulin administration on lipid profile and insulin sensitivity in dyslipidemic obese subjects. *Rev Med Chil.* 2003;131(6):597-604.

[23] Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implication for health. *J Nutr.* 2004;134:489–492.



## TABELAS

Tabela1: Características antropométricas dos grupos placebo e quinoa.

	Placebo		Quinoa	
	T1	T2	T1	T2
Peso (Kg)	67,1±13 <sup>a</sup>	67,4±12 <sup>b</sup>	71,7±11	71,8±11
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28,1±5 <sup>a</sup>	28,2±5 <sup>b</sup>	29,5±4	29,5±4
Circunferência da Cintura (cm)	85,2±11	84,5±10	87,7±7	87,6±7

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão. T1 (início) e T2 (após) 4 semanas de intervenção. IMC= índice de massa corporal. Letras diferentes p <0,05.

Tabela 2: Comparação entre as concentrações de enterolignanas nos diferentes momentos para cada grupo.

	Placebo		Quinoa	
	T1	T2	T1	T2
END sérico (nm/ml)	1,07±0,5 <sup>a</sup>	1,02±0,8 <sup>b</sup>	0,75±0,5	0,73±0,4
ENL sérica (nm/ml)	0,43±0,3 <sup>a</sup>	0,45±0,5 <sup>b</sup>	0,32±0,3 <sup>a</sup>	0,27±0,2 <sup>b</sup>
END urinário (nm/ml)	4,68±2,7 <sup>a</sup>	3,79±3,3 <sup>b</sup>	2,14±2,1	2,62±2,1
ENL urinária (nm/ml)	2,05±1,3 <sup>a</sup>	2,24±1,4 <sup>b</sup>	2,9±1,6 <sup>a</sup>	3,2±2,7 <sup>b</sup>

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão. T1 (antes) e T2 (após) 4 semanas de intervenção. END= enterodiol, ENL= enterolactona. Letras diferentes p <0,05.

Tabela 3: Comparação entre as concentrações de glicose e lípides séricos entre os diferentes momentos para cada grupo.

	Placebo		Quinoa	
	T1	T2	T1	T2
Glicose (mg/L)	97,5± 18,2	97,2±25,4	96,7±17,8	95,0±16,9
Colesterol total (mg/dL)	188,1± 36,3	178,5±46	191±35 <sup>a</sup>	181,3±28,7 <sup>b</sup>
HDL-c (mg/dL)	42,6±12	42,4±8,2	39,08±8,4	37,8±6,9
LDL-c (mg/dL)	118,7±37,9	113,4±45	129,5±35,4 <sup>a</sup>	121,9±26,9 <sup>b</sup>
Triglicérides (mg/dL)	133,9±89,4 <sup>a</sup>	113,7±57 <sup>b</sup>	112,3±35 <sup>a</sup>	107,9±33,1 <sup>b</sup>

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão. T1 (antes) e T2 (após) 4 semanas de intervenção. Letras diferentes p <0,05.

Tabela 4: Comparação entre marcadores de estresse oxidativo e antioxidantes entre os diferentes momentos para cada grupo.

	Placebo		Quinoa	
	T1	T2	T1	T2
GSH (µmol/L)	1,82±0,2	1,85±0,2	1,78±0,4 <sup>a</sup>	1,91±0,4 <sup>b</sup>
TBARS (umol/L)	3,22±0,8 <sup>a</sup>	2,95±0,5 <sup>b</sup>	3,06±0,6 <sup>a</sup>	2,89±0,5 <sup>b</sup>
Vitamina E(µM)	19,5±4,9 <sup>a</sup>	17,9±4,4 <sup>b</sup>	17,9±3,5 <sup>a</sup>	16,9±2,9 <sup>b</sup>

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão. T1 (antes) e T2 (após) 4 semanas de intervenção. GSH= glutationa reduzida. TBARS- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Letras diferentes p <0,05.

## *Capítulo III*

---

EFEITOS DE ENTEROLIGNANAS PROVENIENTES DA INGESTÃO DE QUINOA  
(*CHENOPODIUM QUINOA*) SOBRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM  
MULHERES PÓS-MENOPAUSADAS

QUINOA, MARCADORES INFLAMATÓRIOS E MULHERES PÓS-  
MENOPAUSADAS

**Autores:** Flávia Giolo de Carvalho<sup>1</sup>, Roberta Deh Souza Santos<sup>2</sup>, Adriana Lelis Carvalho<sup>2</sup>, Renata Cristina Látaro<sup>2</sup>, Julio Sérgio Marchini<sup>2</sup>, Odilon Iannetta<sup>3</sup>, Anderson Marliere Navarro<sup>2</sup>.

**Afiliação:**

<sup>1</sup> Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – UNESP.

<sup>2</sup> Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP.

<sup>3</sup> Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP.

**Autor Correspondente:** Flávia Giolo de Carvalho. Endereço: Avenida Bandeirantes, 3900. Monte Alegre, 14049-900. Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Telefone-fax: (55) (16) 3633 6695 ou (55) (16) 3602 2466. flaviagiolo@gmail.com.

## RESUMO

**Objetivo:** Investigar o efeito de enterolignanas obtidas através da ingestão de quinoa sobre os marcadores de estresse oxidativo em mulheres pós-menopausadas.

**Delineamento do estudo:** Estudo prospectivo, randomizado, duplo cego e controlado por placebo. Participaram 35 mulheres, as quais foram submetidas ao consumo diário de 25 gramas de quinoa em flocos ou placebo, no período de 4 semanas consecutivas.

**Principais medidas de resultado:** Avaliação antropométrica e coleta de sangue para a dosagem dos marcadores inflamatórios interleucina-6 e fator de necrose tumoral-alfa, e de enterolignanas; e coleta de urina de 24 horas para dosagem de enterolignanas, no início e ao final da intervenção. **Resultados:** Em relação a classificação do IMC, as voluntárias apresentaram-se, em média, na faixa de excesso de peso ao longo do estudo. Foram observadas alterações significativas no peso corporal e IMC apenas no grupo Placebo. Observou-se no grupo Placebo a redução significativa da concentração de enterodiol sérico ( $p=0,045$ ) e urinário ( $p= 0,001$ ); e aumento na enterolactona sérica ( $p=0,021$ ) e urinária ( $p=0,010$ ). Já no grupo Quinoa, ocorreu uma diminuição de enterolactona sérica ( $p=0,029$ ) e um aumento na urinária ( $p=0,0018$ ), comparando-se os momentos T1 e T2. Em relação aos marcadores inflamatórios, constatou-se apenas um aumento significativo na concentração sérica de IL-6 no Grupo Placebo. **Conclusão:** O consumo diário de 25 gramas de quinoa durante o período de 4 semanas resultou em aumento na excreção urinária de enterolactona, porém não resultou em alterações significativas nas concentrações séricas de marcadores inflamatórios em um grupo de mulheres pós-menopausadas.

**Palavras-chaves:** enterolignanas, marcadores inflamatórios, quinoa e pós-menopausa.

## 1. INTRODUÇÃO

Mulheres pós-menopausadas tem uma maior pré-disposição ao acúmulo de gorduras na região abdominal em decorrência do déficit de estrogênio, e esta adiposidade está associada ao desenvolvimento de atividade inflamatória, a qual, em longo prazo, pode resultar em desenvolvimento de aterosclerose, hipertensão arterial, resistência insulínica e Diabetes mellitus tipo 2 e dislipidemia [1]. Ademais, o hipoestrogenismo, associado ao processo natural de envelhecimento, pode resultar no aumento da liberação de IL-6 e de TNF- $\alpha$ , assim como ocasionar uma hiperresponsividade das células do organismo a estas citocinas, agravando o processo inflamatório [2].

Tem sido descrito na literatura que a inclusão de cereais no consumo diário, bem como linhaça, quinoa e gergelim, adiciona à alimentação componentes bioativos que apresentam efeito antioxidante, antiinflamatório e hipolipemiante [3]. A quinoa (*Chenopodium quinoa*) é um cereal composto por diversos nutrientes potencialmente benéficos, podendo-se destacar a presença de fitoestrógenos, fibras alimentares e fatores antioxidantes. Autores especulam a presença de fitoestrógenos como isoflavonas, lignanas, diadzeína e genisteína na quinoa, mas não foram encontrados estudos que quantificaram o teor de lignanas na quinoa [4].

Em particular, as lignanas são fitoestrógenos presentes em plantas estruturalmente semelhantes aos hormônios estrógenos humanos. Após a ingestão, as lignanas são absorvidas, metabolizadas pelas bactérias colônicas e convertidas em enterodiol e enterolactona, substâncias metabolicamente ativas em humanos, e excretadas na urina [5]. As enterolignanas são utilizadas como biomarcador da ingestão de alimentos fonte de lignanas [6].

Estudos sugerem que altas concentrações de enterolactona no plasma estão associadas a uma diminuição no risco de problemas coronários, pois as lignanas podem interferir no metabolismo de colesterol através da modulação das enzimas 7- $\alpha$ -hidroxilase e Acetil Coa Transferase, reduzindo a concentração de colesterol sérico [7].

Além disso, os fatores antioxidantes podem evitar o aumento do estresse oxidativo, pois auxiliam na eliminação de radicais livres, mas também podem estar envolvidos na atenuação da resposta inflamatória [8]. Visto isso, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do consumo de quinoa sobre as concentrações os marcadores inflamatórios em um grupo de mulheres pós-menopausadas.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

Foi realizado um estudo com 35 mulheres pós-menopausadas a pelo menos 2 anos, sem utilização de terapia hormonal, apresentando concentração sérica de estradiol de 10 a 20 pg/ml e de hormônio folículo estimulante igual ou superior 35 mUI/mL [9]. Foram considerados como critérios de exclusão a utilização de terapia de reposição hormonal, nos últimos seis meses, ou de suplementos de isoflavonas, vitaminas ou minerais, ou drogas hipolipemiantes e antibióticos nas últimas duas semanas, presença de doenças infecciosas ou hipermetabólicas (neoplásicas, hepatopatias) e tabagismo (HALLUND, 2008).

As voluntárias eram atendidas no Ambulatório Multidisciplinar de Climatério do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade

de São Paulo (HCFMRP-USP). O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética do HCFMRP-USP, processo nº 7896/2009.

Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego e controlado por placebo, no qual as participantes foram submetidas ao consumo diário de 25 gramas de quinoa em flocos ou placebo (flocos de milho) no período de quatro semanas consecutivas.

Foram realizadas coleta de dados, avaliação antropométrica e coleta de sangue e urina de 24 horas em dois momentos distintos: T1- início da intervenção e T2 – pós-intervenção, sendo o período de intervenção de 4 semanas. As coletas de sangue e urina ocorreram na Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP-USP, com auxílio das enfermeiras da unidade. Além das coletas, no início, as voluntárias receberam o cereal-teste e foram orientadas a consumir diariamente o conteúdo total de cada embalagem (25 gramas) podendo este ser adicionado à frutas, sucos, vitamina de frutas com leite, e/ou sobre as preparações do almoço ou jantar, em seus pratos individuais.

Os cereais foram colocados em embalagens Trad Pouch® metalizadas, para evitar a interferência do pesquisador, e cada participante recebeu um kit contendo 28 embalagens, com 25 gramas de cereal por embalagem, distribuídos gratuitamente para as voluntárias no início (T1). Toda a manipulação dos cereais ocorreu no Laboratório de Nutrição e Dietética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Semanalmente as voluntárias eram contactadas via telefone por outra pesquisadora, não envolvida com o sorteio dos cereais-teste, para o monitoramento da ingestão, esclarecimento de possíveis dúvidas e orientações em relação ao consumo do cereal. As participantes foram solicitadas a não ingerir alimentos considerados fontes potenciais de lignanas como, por exemplo, linhaça e



soja, e orientadas a não fazerem alterações significativas na prática de atividades físicas e em sua alimentação habitual.

### **2.1 Avaliação Antropométrica**

Foram mensurados peso e estatura, o índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela fórmula ( $\text{peso}/\text{altura}^2$ ) em T1 e T2, sendo considerado eutrofia quando os valores de IMC estivessem entre 18,5 e 24,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , excesso de peso quando IMC entre 25 e 29,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , obesidade quando IMC entre 30 a 35  $\text{kg}/\text{m}^2$  e obesidade grave quando IMC superior a 35  $\text{kg}/\text{m}^2$  [10]. Aferiu-se também a circunferência da cintura, medida utilizando-se a fita métrica inextensível, de 200 cm e variação de 0,1 cm, na menor circunferência do tronco, a qual forneceu o valor em centímetros [11].

### **2.2 Análises Bioquímicas**

Foram realizadas coletas de sangue em tubos de 5 mL contendo gel separador e ativador de coágulo, nos momentos T1 e T2, estando as voluntárias em jejum de 12h. Foram coletadas amostras de urina de 24 horas para a determinação da excreção urinária de lignanas e monitoramento da ingestão dos cereais. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer a  $-80^\circ\text{C}$  até o momento da análise.

As dosagens dos marcadores inflamatórios interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) foram realizadas por meio do método enzimático de imunoluminescência utilizando o aparelho Immulite® 1000, empregando-se o kit Immulite® específico para cada dosagem (Immulite® IL-6 e Immulite® TNF).

A determinação da concentração de enterodiol e da enterolactona, no soro e na urina, realizou-se por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), utilizando-se o método de SICILIA et al. [12] também padronizado no Laboratório de Espectrometria de Massa do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.

### **2.3 Análises Estatísticas**

Os resultados foram expressos em média e desvio padrão conforme os grupos de estudo, sendo o grupo experimental nomeado de “Grupo Quinoa”, e o outro grupo nomeado “Grupo Placebo”.

Foi realizado o modelo de regressão para dados de análise pré-teste e pós-teste para comparar os resultados dos grupos Quinoa e Placebo, e comparar diferenças entre os diferentes momentos dentro do mesmo grupo (T1 e T2), considerando o comportamento de cada indivíduo no grupo. Este modelo leva em conta a magnitude das medidas pré-teste e o pós-teste é modelado por uma função passando pela origem de um diagrama de dispersão do pré-teste pós-teste [13], sendo considerada diferença estatisticamente significativa quando o  $p < 0,05$ . Os resultados foram obtidos com o auxílio do software SAS® 9.0, através da PROC NLMIXED [14].

### 3. RESULTADOS

Foram recrutadas 35 mulheres, com idade média de  $61 \pm 7$  anos, sendo 17 mulheres participantes do grupo placebo e 18 do grupo quinoa.

O efeito da ingestão de 25 gramas de quinoa ou placebo após quatro semanas sobre as variáveis antropométricas foram mostrados na Tabela 1. Foram observadas alterações significativas no peso corporal e IMC apenas no grupo Placebo. De acordo com a classificação do IMC da *World Health Organization* [10], em média, as voluntárias encontram-se na faixa de excesso de peso ao longo do período de intervenção.

#### TABELA 1

Em relação às enterolignanas (Tabela 2), ao comparar T1 e T2, observou-se no grupo Placebo a redução significativa em relação ao enterodiol (END) sérico ( $p=0,045$ ) e urinário ( $p= 0,001$ ); e aumento na enterolactona (ENL) sérica ( $p=0,021$ ) e urinária ( $p=0,010$ ).

Já no grupo Quinoa, constatou-se apenas alterações significativas nas concentrações de ENL, havendo uma diminuição de ENL sérica ( $p=0,029$ ) e um aumento na urinária ( $p=0,0018$ ), comparando-se os momentos T1 e T2.

#### TABELA 2

A Tabela 3 destaca os resultados encontrados nas dosagens de marcadores inflamatórios IL-6 e TNF- $\alpha$ . Não foram constatadas alterações significativas entre os diferentes momentos de estudo, havendo apenas um aumento significativo na concentração sérica de IL-6 ( $p= 0,049$ ) no grupo Placebo, comparando-se T1 e T2.

#### TABELA 3

#### 4. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a ingestão diária do cereal quinoa, não alterou os parâmetros antropométricos, como o peso, IMC e circunferências da cintura das voluntárias. As participantes iniciaram e finalizaram o experimento mantendo-se na classificação do estado nutricional de excesso de peso [10], mostrando que os grupos apresentaram-se homogêneos em relação às características antropométricas no início e ao final do estudo.

Em relação à circunferência da cintura, não ocorreram alterações significativas, comparando-se T1 e T2. No entanto, é importante destacar que foram encontrados valores médios acima do valor recomendado (80 cm) nos dois grupos de estudo, sinalizando a presença de risco aumentado de complicações metabólicas associadas à obesidade, de acordo com a classificação da WHO [11]. Tal fato confirma a influência do hipoestrogenismo sobre a obesidade abdominal relatado por diversos autores [15; 16]. HONG et al. [17] investigou a associação entre fatores inflamatórios e concentrações séricas de estrogênio em mulheres saudáveis na pré e pós-menopausa, e constatou concentrações de TNF- $\alpha$  significativamente maiores após a menopausa, confirmando a hipótese de que a deficiência de estrogênio pode resultar em um aumento de citocinas inflamatórias séricas.

A ingestão dos cereais em estudo foi monitorada pela dosagem de enterolignanas, que são biomarcadores séricos e urinários de exposição à fitoestrógenos. Além disso, o uso de biomarcadores reflete a variação entre as participantes da pesquisa, visto que as enterolignanas são metabolizadas pela flora intestinal, portanto depende da integridade do intestino [18]. A diferença entre os padrões de consumo alimentar e a composição da microflora intestinal são fatores determinantes para a variação na concentração plasmática e urinária de

enterolignanas em humanos [19]. Há outros fatores interferentes como estresse, hábitos alimentares, doença intestinal, genética e uso de antibióticos [18].

Outro fator seria a biodisponibilidade de lignanas. Autores relatam que pode haver diferenças na biodisponibilidade entre diferentes alimentos, pois o consumo de legumes, chá preto, pão integral, frutas e vinho, alimentos que são fontes de lignanas, não foram associados com as concentrações plasmáticas de enterolignanas. Já os cereais integrais, pães, frutas, nozes e vinho apresentam menor teor de lignanas, quando comparado a outros alimentos, porém todos foram associados significativamente com concentrações plasmáticas de enterolignanas [20].

No presente estudo, as concentrações de enterolignanas confirmaram a ingestão dos alimentos-teste, visto que houve aumento significativo na excreção de enterolactona urinária nos dois grupos em estudo. Kuijsten et al. [20] avaliaram o efeito da suplementação de secoisolariciresinol diglucosídeo, substância precursora de enterolignanas, na excreção de enterolignanas e constatou que a dose-resposta foi melhor refletida na excreção urinária, corroborando com o presente estudo. Diversos autores relatam que há correlação entre o consumo de alimentos que são fonte de lignanas e a resposta metabólica constatada através da dosagem de enterolignanas em amostras de sangue e urina [5; 18; 20].

Além da função de biomarcador, as enterolignanas possuem diversas atividades biológicas, podendo apresentar potenciais efeitos benéficos para a saúde. Bhatena e Velasquez [3] evidenciam que o consumo de fitoestrógenos pode influenciar favoravelmente a homeostase da glicose, a secreção de insulina e o metabolismo lipídico, através da inibição da captação de glicose de membrana

escova da parede intestinal, desta forma pode colaborar para evitar a progressão do processo inflamatório.

Um estudo realizado com mulheres canadenses pós-menopausadas, analisou a ingestão de fitoestrógenos por meio da aplicação de diários alimentares e observou que as mulheres que ingeriam maior quantidade de lignanas apresentaram maior nível sérico de enterolactona, e um melhor perfil metabólico, incluindo maior sensibilidade da insulina e menores medidas de adiposidade [21].

No entanto, a intervenção realizada no presente estudo não resultou em alterações nos marcadores inflamatórios. Resultado semelhante foi constatado por Hallund et al [5], os quais avaliaram o efeito do consumo diário de *muffins* enriquecidos com um composto isolado de lignanas extraído de sementes de linhaça, por um período de seis semanas, em mulheres pós-menopausadas e constataram o aumento significativo da concentração de enterodiol sérico e urinário, porém não foram constatadas alterações significativas nas concentrações séricas de IL-6 e TNF- $\alpha$ , corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

Entre os resultados obtidos, pode-se destacar um aumento significativo na concentração sérica de IL-6 no grupo Placebo, o que não ocorreu no grupo Quinoa. Sugere-se que este resultado provavelmente seja conseqüente das alterações provenientes do hipoestrogenismo característico da pós-menopausa, que pode resultar em aumento na liberação de IL-6 [2], e pode também estar relacionado ao excesso de gordura abdominal apresentado pelas participantes do presente estudo.

Além disso, é necessário considerar que a quinoa não é apenas uma possível fonte de lignanas, pois o consumo de quinoa implica na obtenção de outros nutrientes potencialmente benéficos como vitaminas, minerais, fibras, entre outros. De acordo com Vega-Galvez [4], a quinoa é uma boa fonte de vitaminas anti-

oxidantes, principalmente vitamina E, pois ela interage com radicais livres por meio da doação de um átomo de hidrogênio, convertendo-os em espécies eletricamente estáveis ou menos reativos, e assim previne o estresse oxidativo e conseqüentemente o processo inflamatório [22].

Outro nutriente importante seria a fibra alimentar. A quinoa contém cerca de 7 gramas/100 gramas de quinoa, quantidade relativamente superior aos flocos de milho (1,1 grama/100 gramas de alimento) utilizados como placebo [23], o que poderia ter contribuído para evitar aumentos significativos nas concentrações de fatores inflamatórios no grupo Quinoa. Ma et al.[24] avaliaram a relação entre ingestão de fibras e marcadores inflamatórios em mulheres pós-menopausadas do Women's Health Initiative Observational Study constataram que as mulheres que consomem uma maior quantidade de fibras apresentou menores concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF- $\alpha$ -R2 (receptor 2 de TNF- $\alpha$ ), mostrando o efeito protetor da ingestão de fibras proveniente, principalmente, de cereais.

É necessário considerar que um possível fator limitante do presente estudo é o tempo de intervenção, sugerindo-se que o período de 4 semanas não tenha sido suficiente para ingestão do cereal quinoa resultar em alterações significativas nos marcadores inflamatórios. Sendo assim, sugere-se que estudos futuros são necessários para investigar a efetividade da intervenção realizada em um maior período de tempo.

## 5. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que o consumo diário de 25 gramas de quinoa durante o período de 4 semanas aumentou significativamente a excreção urinária de enterolactona, porém não resultou em alterações significativas nas concentrações séricas de marcadores inflamatórios em um grupo de mulheres pós-menopausadas.

## 6. REFERÊNCIAS

- [1] Lahoza C, Mostaza JM. Atherosclerosis as a systemic disease. *Rev Esp Cardiol.* 2007; 60:184-95.
- [2] Medeiros SF, Maitelli A, Nince APB. Efeitos da terapia hormonal na menopausa sobre o sistema imune. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2007; 29(11):593-601.
- [3] Bhathena, S. J.; Velasquez, M. T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76:1191–1201.
- [4] Vega-galvez A, Miranda M, Vergara J, Uribe E, Puente, L, Martinez EA. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: a review. *J Sci Food Agr.* 2010; 90: 2541–2547.
- [5] Hallund J, Tetens I, Bu"Gel S, Tholstrup T, Bruun JM. The effect of a lignan complex isolated from flaxseed on inflammation markers in healthy postmenopausal women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008; 18: 497-502.
- [6] Cederroth CR, Nef S. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Mol Cell Endocrinol.* 2009; 304:30–42.
- [7] Tarpila S, Aro A, Salminen I, Tarpila A, Kleemola P, Akkila J, Adlercreutz, H. The effect of flaxseed supplementation in processed foods on serum fatty acids and enterolactone. *Eur J Clin Nutr.* 2002; 56(2):157-165.



- [8] Chun O, Chung S, Claycombe K, Song W. Serum C-reactive protein concentrations are inversely associated with dietary flavonoid intake in U.S. adults. *J Nutr.* 2008; 138:753-760.
- [9] Sites CK, Calles-Escandón J, Brochu M, Butterfield M, Ashikaga T, Poehlmann E T. Relation of regional fat distribution to insulin sensitivity in postmenopausal women. *Fertil. Steril.* 2000; 73: 61-5.
- [10] World Health Organization. BMI Classification. [Access in July 1st, 2011]. Available in <<http://apps.who.int/bmi/>>.
- [11] World Health Organization. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio, 2008. [Access in July 1st, 2011]. Available in: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501491\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501491_eng.pdf) >.
- [12] Sicilia T, Niemeyer HB, Honig DM, Metzler M. Identification and Stereochemical Characterization of Lignans in Flaxseed and Pumpkin Seeds. *J. Agri. Food Chem.* 2003; 51(5):1181-1188.
- [13] Singer JM, Andrade DF. Regression Models for the Analysis of Pretest/Posttest Data, *Biometrics*, 1997; 53:729–735.
- [14] SAS/STAT® User's Guide, Version 9.0, Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., 2002.
- [15] Steptoe A, Wardle J. Cardiovascular stress responsivity, body mass and abdominal adiposity. *Int J Obes.* 2005; 29(11):1329-37.
- [16] Sanches IC, Jorge L, Ponciano KR, Pureza DY, Angelis K. Doença cardiovascular na mulher. *Integração.* 2006; 44: 41-48.
- [17] Hong SC, Yoo SW, Cho GJ, Kim T, Hur JY, Park YK, Lee KW, Kim SH. Correlation between estrogens and serum adipocytokines in premenopausal and postmenopausal women. *Menopause.* 2007; 14(5):835-40.

- [18] Ward H, Chapelais G, Kuhnle GGC, Luben R, Khaw KT, Bingham S. Breast cancer risk in relation to urinary and serum biomarkers of phytoestrogen exposure in the European Prospective into Cancer-Norfolk cohort study. *Breast Cancer Res.* 2008, 10(2): R32.
- [19] Kilkkinen A, Stumpf K, Pietinen P, Valsta LM, Tapanainen H, & Adlercreutz H. Determinants of serum enterolactone concentration. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73:1094-1100.
- [20] Kuijsten A, Arts ICW, Vree TB, Hollman PCH. Pharmacokinetics of enterolignans in healthy men and women consuming a single dose of secoisolariciresinol diglucoside. *J. Nutr.* 2005; 135: 795–801.
- [21] Morisset AS, Lemieux S, Veilleux A, Bergeron J, Weisnagel J, Tchernof A. Impact of a lignan-rich diet on adiposity and insulin sensitivity in post-menopausal women. *Brit J Nutr.* 2009; 102(2): 195-200.
- [22] Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim. Nova.* 2006; 29(1):113-123.
- [23] USDA. United States Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 2, 2010.
- [24] Ma Y, Hébert JR, Li W, Bertone-Johnson ER, Olendzki B, Pagoto SL, Tinker L, Rosal MC, Ockene IS, Ockene JK, Griffith JA, Liu S. Association between dietary fiber and markers of systemic inflammation in the Women's Health Initiative Observational Study. *Nutrition.* 2008; 24(10):941-9.

## TABELAS

Tabela1: Características antropométricas dos grupos placebo e quinoa.

	Placebo		Quinoa	
	T1	T2	T1	T2
Peso (Kg)	67,1±13 <sup>a</sup>	67,4±12 <sup>b</sup>	71,7±11	71,8±11
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28,1±5 <sup>a</sup>	28,2±5 <sup>b</sup>	29,5±4	29,5±4
Circunferência da Cintura (cm)	85,2±11	84,5±10	87,7±7	87,6±7

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão. T1 (início) e T2 (após) 4 semanas de intervenção. IMC= índice de massa corporal. Letras diferentes= p <0,05.

Tabela 2: Comparação entre as concentrações de enterolignanas nos diferentes momentos para cada grupo.

	Placebo		Quinoa	
	T1	T2	T1	T2
END sérico (nm/ml)	1,07±0,5 <sup>a</sup>	1,02±0,8 <sup>b</sup>	0,75±0,5	0,73±0,4
ENL sérica (nm/ml)	0,43±0,3 <sup>a</sup>	0,45±0,5 <sup>b</sup>	0,32±0,3 <sup>a</sup>	0,27±0,2 <sup>b</sup>
END urinário (nm/ml)	4,68±2,7 <sup>a</sup>	3,79±3,3 <sup>b</sup>	2,14±2,1	2,62±2,1
ENL urinária (nm/ml)	2,05±1,3 <sup>a</sup>	2,24±1,4 <sup>b</sup>	2,9±1,6 <sup>a</sup>	3,2±2,7 <sup>b</sup>

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão. T1 (antes) e T2 (após) 4 semanas de intervenção. END= enterodiol, ENL= enterolactona. Letras diferentes= p <0,05.

Tabela 3: Comparação entre os marcadores inflamatórios entre os diferentes momentos para cada grupo.

	Placebo		Quinoa	
	T1	T2	T1	T2
IL-6	1,87±1,2 <sup>a</sup>	2,34±1,8 <sup>b</sup>	3,33±3,3	2,56±2,2
TNF- $\alpha$	10,1±3,4	9,69±1,8	9,94±4,8	9,83±3,8

Nota: Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. T1 (antes) e T2 (após) 4 semanas de intervenção. IL-6= interleucina-6. TNF- $\alpha$ = fator de necrose tumoral- $\alpha$ .

Letras diferentes=  $p < 0,05$ .

*Anexos*

---

**Anexo A- Cópia da aprovação do trabalho no Comitê de Ética em Pesquisa**



Ribeirão Preto, 16 de setembro de 2009

Ofício nº 3085/2009  
CEP/MGV

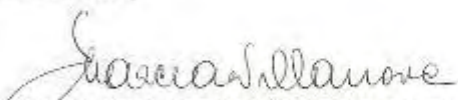
**Prezada Senhora,**

O trabalho intitulado **“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE QUINOA (*CHENOPODIUM QUINOA*) EM UM GRUPO DE MULHERES PÓS-MENOPAUSADAS – ESTUDO PROSPECTIVO, RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 295ª Reunião Ordinária realizada em 14/09/2009, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 7896/2009.

*Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (ICH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.*

*Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.*

Atenciosamente,

  
**DR. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA**  
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em  
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssima Senhora  
**FLÁVIA GIOLO DE CARVALHO**  
**DR. ANDERSON MARLIERI NAVARRO (Orientador)**  
Depto. de Clínica Médica

## Anexo B

Página 1 de 1

Orkut **Gmail** Agenda Docs Fotos Web mais ▾

maturitas

Procurar e-mail

Pesquisar na web

**E-mail**

Contatos

Tarefas

Escrever e-mail

Entrada

Buzz

Com estrela

Importante

Enviados

**Rascunhos (11)**

Pessoal

Viagem

Mais 6 ▾

**Flávia GC**

Procure, adicione ou convide

**Convide um amigo**

Higitec Limpeza de Caixa - www.Higitec.com.br - Desinfecção de Caixas d' Água.

Arquivar

Spam

Excluir

Mover para a Caixa de Ent

**A manuscript number has been assigned to your submission**

Entrada X

**Maturitas** para mim[mostrar detalhes](#) 20 jul

Dear Ms Deh Carvalho,

Your submission entitled "Effects of quinoa (Chenopodium quinoa) intake on g cholesterolemia and oxidative stress in postmenopausal women" has been be following manuscript number: MAT-D-11-00223.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the EI System as an author.

The URL is <http://ees.elsevier.com/mat/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

D. Jones  
Administrative Support Agent [30-Mar-11]  
Maturitas

[Responder](#)[Encaminhar](#)

Arquivar

Spam

Excluir

Mover para a Caixa de Ent

10% utilizados  
Utilizando 792 MB de seus 7613 MB

©2011 Google - [Termos e Priv](#)  
[Desativar o buzz](#)