

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA

**ASPECTOS NUTRIGENÉTICOS NA PRESSÃO ARTERIAL:  
INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NOS GENES *ACE* E *AGT* E  
O CONSUMO DE MICRONUTRIENTES DA DIETA**

Luana Maria Wollinger

Lajeado, Dezembro de 2014

Luana Maria Wollinger

**ASPECTOS NUTRIGENÉTICOS NA PRESSÃO ARTERIAL:  
INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NOS GENES ACE E AGT E  
O CONSUMO DE MICRONUTRIENTES DA DIETA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *STRICTO SENSU* em Biotecnologia, do Centro Universitário Univates, como parte da exigência para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, na linha de pesquisa Aspectos Moleculares em Processos Fisiopatológicos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Júlia Pasqualini Genro

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Morelo Dal Bosco

Lajeado, Dezembro de 2014

**Dedico este trabalho**

A meus pais, Sidnei e Cesinha, por seu amor e dedicação, pela vida...

A meu noivo, Bruno, por todo carinho e apoio presente...

## **AGRADECIMENTOS**

Aos participantes voluntários que tornaram possível a realização deste trabalho e às professoras orientadoras, que posso dizer que são três: Júlia Pasqualini Genro, Simone Morelo Dal Bosco e Verônica Contini. E a todo o Grupo de Pesquisa em Nutrigenética, bolsistas e colegas mestrandas.

Pela bolsa Capes/Prosup que tornou possível a realização do mestrado, e pelas demais bolsas de Iniciação Científica concedidas durante a graduação. Às minhas primeiras professoras orientadoras Claudete Rempel e Andreia Guimarães Strohschoen.

E a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

“Não podemos responder antes – ou durante – as dificuldades.  
Só quando as ultrapassamos entendemos por que estavam ali.”

Paulo Coelho em *O Monte Cinco*

## RESUMO

**Introdução:** A Pressão Arterial (PA), bem como a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), são fenótipos complexos onde fatores genéticos e ambientais influenciam na sua etiologia. Dentre os fatores genéticos, polimorfismos nos genes da Enzima Conversora de Angiotensina (*ACE*) e Angiotensinogênio (*AGT*) vem sendo associados a estes desfechos. Em relação aos fatores ambientais, a dieta é um dos fatores de maior importância no processo evolutivo da doença, principalmente no que diz respeito ao consumo de sódio.

**Objetivo:** Verificar se existe interação entre os polimorfismos Inserção/Deleção do gene *ACE* e rs699 do gene *AGT* e o consumo de micronutrientes (sódio, potássio, cálcio e magnésio) da dieta; e se esta interação influencia os valores de PA em uma amostra de brasileiros adultos saudáveis. **Metodologia:**

Realizou-se um estudo do tipo transversal com 341 indivíduos brasileiros adultos de ambos os gêneros. Os valores de PA foram aferidos em equipamento digital marca Omron® modelo HEM-710INT. A análise dietética foi feita por meio do *software* Dietwin versão 2008 a partir do método de Recordatório Alimentar de 24 horas. A genotipagem do polimorfismo InsDel foi realizada através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), com *primers* específicos, seguida de eletroforese em gel de agarose 1,5 %; o polimorfismo rs699 foi genotipado através do sistema de discriminação alélica TaqMan (Applied Biosystems). A Análise estatística foi realizada pelo uso do *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20.0. **Resultados:**

As frequências genotípicas de ambos os polimorfismos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Em relação ao consumo dos micronutrientes, observou-se uma associação com o polimorfismo InsDel do gene *ACE*, onde indivíduos homozigotos Del/Del consomem menos cálcio do que os heterozigotos (Ins/Del) ( $p=0,007$ ). Na comparação da PA entre os genótipos, verificou-se uma associação com o polimorfismo rs699 do gene *AGT*. Indivíduos homozigotos GG apresentaram maior PA Sistólica quando comparados aos indivíduos AA ( $p=0,028$ ). As análises de interação indicaram uma associação entre o genótipo heterozigoto do polimorfismo rs699 do gene *AGT* no consumo de cálcio e magnésio na modulação dos valores de PA. **Conclusão:** Os polimorfismos dos genes *ACE* e *AGT* parecem estar associados com fatores do consumo alimentar e PA, assim como o gene *AGT* pode ter um papel importante nas relações nutrigenéticas nos desfechos relacionados a PA.

**Palavras-chave:** Gene *ACE*. Gene *AGT*. Dieta. Pressão Arterial. Nutrigenética.

## ABSTRACT

**Introduction:** The Blood Pressure (BP) and Hypertension are complex phenotypes, in which genetic and environment factors influence in the etiology. In the genetics factors, polymorphisms of the Angiotensin Converting Enzyme (*ACE*) and Angiotensinogen (*AGT*) gene, has been associated with on outcomes. In relation to environmental factors, the diet is a factor the most importance on evolutionary process of the disease, particularly with regard to the consumption of sodium. **Objective:** To verificate if there is interaction between polymorphisms Insertion/Deletion (InsDel) of the *ACE* gene and rs699 of the *AGT* gene and the micronutrientes intake (sodium, potassium, calcium and magnesium) in the diet; and if there is interaction influences the BP values in the healthy brasilian sample. **Methodology:** Performed a cross-section study with 341 brazilian adult individuals of both genders. The BP values was measurement by digital equipment Omron® model HEM-710INT. The dietary analysis was assessed by the software Dietwin version 2008 from the 24-hour recall method. InsDel polymorphism genotyping was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR), using specific primers, and analyzed on 1,5% agarose gel; the rs699 polymorphism was genotyped using the TaqMan SNP genotyping assays (Applied Biosystems). The statistical analysis was performe by the software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 20.0. **Results:** The genotype frequencies of both polymorphisms are balance Hardy-Weinberg. In relation micronutrients intake, our results show a association with InsDel polymorphism of the *ACE* gene, in which homozygotes Del/Del intake fewer calcium than heterozygotes (Ins/Del) ( $p=0,007$ ). Comparing BP between genotypes, our results indicate a association with rs699 polymorphism of the *AGT* gene. Homozygotes GG showed greater Systolic BP than individuals AA ( $p=0,028$ ). The interaction analysis indicate a association between heterozygote of the rs699 polymorphism and calcium and magnesium inatke in the modulation BP values. **Conclusion:** The polymorphisms of the *ACE* and *AGT* gene seem to be associated with factors of the food consumption and BP, as well as, the *AGT* gene may have an important role in nutrigenetics relationships on outcomes related to BP.

**Keywords:** *ACE* gene. *AGT* gene. Diet. Blood Pressure. Nutrigenetics

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1 – Sistema Renina-Angiotensina (RAS).....	20
Figura 2 – Localização genômica do gene <i>ACE</i> .....	21
Figura 3 – Localização genômica do gene <i>AGT</i> .....	25
Gráfico 1 – Interpretação dos termos de interação significativos descritos na Tabela 8.....	48

### LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Recomendações para as medidas de circunferência.....	38
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos com o polimorfismo InsDel do gene <i>ACE</i> e fenótipos da pressão arterial e hipertensão.....	23
Tabela 2 – Estudos com o polimorfismo rs699 do gene <i>AGT</i> e fenótipos da pressão arterial e hipertensão.....	27
Tabela 3 – Estudos de interação gene x dieta relacionados com a pressão arterial e hipertensão.....	32
Tabela 4 – Características clínicas e laboratoriais da amostra.....	42
Tabela 5 – Frequencia dos genótipos e alelos do polimorfismo InsDel do gene <i>ACE</i> e rs699 do gene <i>AGT</i> .....	43
Tabela 6 – Características clínicas e laboratoriais da amostra de acordo com o polimorfismo InsDel do gene <i>ACE</i> .....	44
Tabela 7 – Características clínicas e laboratoriais da amostra de acordo com o polimorfismo rs699 do gene <i>AGT</i> .....	46
TABELA 8 – Interações do polimorfismo InsDel*nutriente e polimorfismo rs699*nutriente sobre a pressão arterial (modelo com duas <i>dummies</i> representando os 3 genótipos de cada polimorfismo).....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE - Enzima Conversora da Angiotensina

ADD - Aducina

AGT – Angiotensinogênio

ATP2B1 - ATPase de Transporte de Cálcio da Membrana Plasmática

AVC - Acidente Vascular Cerebral

BIA - Bioimpedância

COEP - Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário UNIVATES

CT - Colesterol Total

DASH - *Dietary Approaches to Stop Hypertension*

DRI - *Dietary Reference Intakes*

EAR - *Estimated Average Requirements*

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

FV – Frutas e Verduras

GWAS - *Genome-Wide Association Studies*

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

IAM - Infarto Agudo do Miocárdio

ICC - Insuficiência Cardíaca Congestiva

IMC - Índice de Massa Corporal

MTHFR – Metilenotetrahidrofolato Redutase

NOS3 – Óxido Nítrico Sintase 3

PA - Pressão Arterial

PAD – Pressão Arterial Diastólica

PAS – Pressão Arterial Sistólica

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

RAS - Sistema Renina-Angiotensina

R24hs - Recordatório Alimentar de 24 horas

RCQ - Relação Cintura-Quadril

SNP - *Single Nucleotide Polymorphism*

SPSS - *Software Package for the Social Sciences*

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TG - Triglicerídeos

WHO - *World Health Organization*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1 Tema.....	13
1.2 Problema.....	13
1.3 Objetivos.....	13
1.3.1 Objetivo Geral.....	13
1.3.2 Objetivos Específicos.....	14
1.4 Justificativa.....	14
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
2.1 Etiologia da Pressão Arterial.....	16
2.2 Sistema Renina-Angiotensina (RAS).....	20
2.3 Interação dos polimorfismos e dieta.....	31
<b>3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....</b>	<b>35</b>
3.1 Anamnese Nutricional.....	36
3.2 Análise Dietética.....	36
3.3 Avaliação Antropométrica.....	37
3.4 Coleta de Sangue.....	38
3.5 Exame de Bioimpedância.....	38
3.6 Pressão Arterial.....	39
3.7 Avaliação Bioquímica.....	39
3.8 Extração de DNA.....	40
3.9 Genotipagem.....	40
3.10 Análise Estatística.....	41
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>74</b>

# **ASPECTOS NUTRIGENÉTICOS NA PRESSÃO ARTERIAL: INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NOS GENES ACE E AGTE O CONSUMO DE MICRONUTRIENTES DA DIETA**

## **1 INTRODUÇÃO**

As doenças crônicas são as que mais matam no mundo acarretando elevados custos para a saúde pública mundial. Dentre elas citam-se a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes mellitus, câncer e outras. Estas doenças possuem uma herança complexa, portanto estão relacionadas tanto a fatores genéticos como ambientais.

Os principais fatores ambientais associados ao risco do surgimento destas doenças são o uso de bebidas alcoólicas, tabagismo, sedentarismo, consumo alimentar inadequado além de fatores sócio-econômicos. Contudo, podemos destacar dentre estes fatores, a dieta, pelo motivo de que os indivíduos são expostos diária e permanentemente ao longo da vida. Os fatores genéticos também representam um papel importante no risco para o surgimento de doença crônicas. Doenças como a obesidade, HAS e cardiovasculares apresentam clara agregação familiar e valores de herdabilidade, em média, superiores a 40%. As pesquisas genéticas ao longo das últimas décadas buscaram esclarecer o papel dos genes e de que forma as variações destes afetam a relação saúde e doença. Entretanto a maioria destes estudos não analisam os fatores genéticos e ambientais em conjunto (ORDOVAS & CORELLA, 2004).

A genômica nutricional tem como objetivo entender a interação entre a genética e a dieta. Deste modo, busca-se compreender de que forma a nutrição influencia as vias metabólicas e controle homeostático; como esta regulação é alterada na relação dieta e doença; e por fim, como o genótipo individual contribui para cada doença. A partir deste conceito mais amplo da genômica nutricional, a nutrigenética estuda de que maneira as variantes genéticas (polimorfismos) podem influenciar na resposta aos fatores da dieta. Neste sentido, também tem como objetivo entender de que maneira a interação gene x dieta pode modular o risco para o desenvolvimento das doenças crônicas (ORDOVAS & CORELLA, 2004). Portanto, a nutrigenética estuda a interação entre estes componentes (gene e dieta) nas vias metabólicas: Indivíduos com determinadas variações genéticas podem possuir necessidades dietéticas diferentes dos demais e ter respostas distintas em relação ao mesmo fator da dieta sobre desfechos relacionados a doenças complexas. Através do entendimento da relação entre o fator genético aliado ao fator dietético pode-se indicar quais os indivíduos mais suscetíveis a desenvolver uma determinada patologia (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2010).

Para análises em nutrigenética são listados quatro fatores que são essenciais para o entendimento e aplicação da ciência: (a) conhecer os conceitos básicos, termos técnicos e a tecnologia envolvida; (b) determinar como esta ciência irá otimizar a saúde humana, prevenção e o tratamento de doenças; (c) determinar a leitura, entendimento e a interpretação dos resultados; (d) e em como estes estudos irão potencializar/ transformar os conhecimentos sobre nutrição e práticas dietéticas (FENECH et al, 2011). Diversas variáveis são consideradas nas pesquisas de nutrigenética em humanos. São consideradas as características físicas (antropométricas), gênero, idade, parâmetros bioquímicos, prática de atividade física e demais fatores do estilo de vida, bem como o consumo e absorção dos nutrientes. Ainda, somada a estas variáveis, temos que considerar as variantes genéticas a serem analisadas. Na maioria dos casos utilizamos a abordagem gene candidato onde escolhemos genes que codificam proteínas que estão relacionadas aos processos fisiológicos dos fenótipos estudados. Conhecendo a interação entre os genes e os fatores da dieta, bem como sua influência sob

os desfechos relacionados a uma patologia, podemos pensar não somente em uma nutrição individualizada, mas também, em minimizar os riscos para o desenvolvimento de patologias.

A HAS é uma doença complexa, portanto fatores genéticos e ambientais são importantes na sua etiologia. As escolhas alimentares feitas diariamente juntamente com o genótipo e metabolismo individual configuram fatores de risco para o desenvolvimento da doença (STEEMBURGO et al, 2009). O fator dietético que se relaciona na modulação dos valores de Pressão Arterial (PA) é o consumo de micronutrientes da dieta: sódio, potássio, cálcio e magnésio. E genes que codificam proteínas do Sistema Renina-Angiotensina (RAS) são considerados importantes por estarem envolvidos na regulação da PA. Portanto, a nutrigenética visa analisar a interação das variantes genéticas e seu consumo alimentar sobre a influência na saúde e no risco de doenças como a HAS (ADA, 2014).

## **1.1 Tema**

Analisar a interação entre polimorfismos dos genes Enzima Conversora da Angiotensina (*ACE*) e Angiotensinogênio (*AGT*) com o consumo de micronutrientes da dieta sobre os valores de pressão arterial.

## **1.2 Problema**

A interação entre os polimorfismos InsDel do gene *ACE* e rs699 do gene *AGT* aliados ao consumo de micronutrientes influenciam os valores de pressão arterial de indivíduos adultos?

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo Geral**

Verificar se existe interação entre os polimorfismos InsDel (gene *ACE*) e rs699 (gene *AGT*) e o consumo de micronutrientes (sódio, potássio, cálcio e magnésio); e se esta interação influencia os valores de pressão arterial de indivíduos adultos saudáveis.

### 1.3.2 Objetivos Específicos

- Verificar se existe associação entre os polimorfismos InsDel (gene *ACE*) e rs699 (gene *AGT*) e o consumo de micronutrientes da dieta (sódio, potássio, cálcio e magnésio);
- Verificar se existe associação entre os polimorfismos citados acima e os valores de pressão arterial sistólica e diastólica;
- Verificar se existe interação entre o consumo dos micronutrientes e os polimorfismos avaliados; e se esta interação influencia os valores de pressão arterial;

### 1.4 Justificativa

Com o aumento da expectativa de vida também se elevam os casos de doenças complexas gerando um grande problema de saúde pública em todo o mundo. As doenças cardiovasculares estão entre as doenças com a maior taxa de mortalidade. Estima-se que entre 40 a 75% das causas de morte são relacionadas a problemas cardiovasculares (Infarto Agudo do Miocárdio - IAM, Acidente Vascular Cerebral - AVC e Insuficiência Cardíaca Congestiva - ICC) (CORELLA & ORDOVAS, 2014; WHO, 2010). Valores elevados de Pressão Arterial (PA) são um importante fator de risco para o desenvolvimento de Hipertensão Arterial Sistólica (HAS) e doenças relacionadas, como as cardiovasculares. A *World Health Organization* (WHO), em 2008, estimou que cerca de 40% da população mundial acima dos 25 anos possui o diagnóstico de HAS (WHO, 2013).

A PA é um fenótipo complexo e multifatorial cuja etiologia é relacionada tanto aos fatores ambientais como genéticos. Em relação ao fator genético, a herdabilidade da PA é estimada entre 20 a 60%, mostrando a importância dos genes na variação deste fenótipo (LEVY et al, 2000; WARD, 1990). Dentre os fatores ambientais, o consumo de sódio, potássio, cálcio e magnésio são fatores da dieta que estão diretamente relacionados com os valores de PA. Os estudos de nutrigenética visam entender a interação gene x dieta sobre desfechos de doenças complexas. Considerando a importância do Sistema

Renina-Angiotensina (RAS) e do consumo de sais da dieta na fisiologia da PA, estudar a interação de polimorfismos neste sistema com a dieta pode auxiliar no entendimento da etiologia da doença.

No futuro podemos pensar em utilizar este conhecimento para identificar quais indivíduos são mais propensos a desenvolver uma determinada doença no intuito de auxiliar no diagnóstico e manejo destes a partir da dieta (PHILLIPS, 2013).

## **2 REFERÊNCIAL TEÓRICO**

Valores elevados de Pressão Arterial (PA) representam um fator de risco para o surgimento da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e consequentemente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A HAS é caracterizada por valores de PA sistólica acima de 140 mmHg e/ou PA diastólica acima de 90 mmHg, presente em mais de duas medidas repetidas. A HAS é responsável por aproximadamente 45% das mortes por doenças cardiovasculares em todo o mundo, sendo que no Brasil, esta estimativa fica em 31%. Dados da WHO, em 2008, mostraram que aproximadamente 40% da população mundial adulta acima dos 25 anos possui o diagnóstico da HAS (WHO, 2013).

### **2.1 Etiologia da Pressão Arterial**

A PA é um fenótipo complexo, onde fatores ambientais e genéticos influenciam no seu controle. A interação entre os fatores genéticos e ambientais participam da determinação dos valores de PA e na suscetibilidade dos indivíduos para o desenvolvimento da HAS.

#### **- Fatores Ambientais**

Muitos fatores ambientais são associados com o surgimento de alteração nos valores de PA, bem como para o desenvolvimento da HAS. Alguns fatores influenciam de uma maneira significativa no risco para a doença.

O sedentarismo, estresse, consumo de bebidas alcoólicas, tabagismo e o consumo alimentar rico em gorduras e sódio quando presentes na vida do indivíduo, apresentam um impacto importante no aumento dos valores de PA (WHO, 2013).

A dieta é um dos fatores ambientais de maior importância no processo evolutivo da HAS. O consumo de micronutrientes na dieta está diretamente envolvido na determinação dos valores de PA. Alguns estudos de revisão mostraram que, principalmente o consumo de sódio, mas também de potássio, cálcio e magnésio podem modular os valores de PA (WHELTON & HE, 2014; DAS, 2001; HERMANSEN, 2000).

O consumo de sódio em excesso (>2g/dia) ocasiona o aumento dos valores de PA (HA, 2014). O aumento da concentração de sódio na corrente sanguínea estimula a liberação da renina e consecutivamente, angiotensina II, que são enzimas atuantes na cascata do Sistema Renina-Angiotensina (RAS) que regula os valores de PA. Elevadas quantidades do consumo de sódio afetam a regulação do tônus vascular, desencadeando uma resistência do músculo vascular e conseqüentemente, um estímulo vasoconstritor (WEBER et al, 1999). Sódio em excesso no organismo eleva as chances de morbidades e mortalidade por doença cardiovascular e renal; afetando principalmente o endotélio vascular, estrutura e função cardiovascular. Cerca de 28 estudos do tipo caso e controle foram analisados em uma revisão recente, dos quais analisaram o consumo de sódio em diferentes tempos de intervenção. Os estudos indicaram que a ingestão elevada de sódio ativa os marcadores de falência renal, inflamação, estresse oxidativo e disfunção vascular indicando um fator de risco para a progressão de complicações (AARON & SANDERS, 2013).

O consumo de potássio também está relacionado na modulação dos valores de PA. Alguns trabalhos mostram que o aumento do consumo de potássio está relacionado a uma diminuição dos valores de PA. A biodisponibilidade do potássio promove a troca intracelular do sódio nos diversos tecidos corpóreos, aumentando a sua concentração plasmática e promovendo a sua maior excreção renal. O papel do potássio limita a atividade da renina e também atua com uma função vasoativa (HADDY et al, 2006).

Sendo assim, o sódio e potássio agem de forma conjunta, através da bomba sódio e potássio, com o papel de regular a pressão osmótica, equilíbrio hídrico do organismo e ação muscular (WHELTON & HE, 2014).

O cálcio está relacionado com os valores de PA em função do seu papel na contração muscular. Quando temos um consumo adequado de cálcio os valores de PA tendem a se manter estáveis. Mas quando a biodisponibilidade do cálcio é baixa existe uma tendência de aumentar os valores de PA. O transporte intracelular do cálcio é feito pela forma ativa da vitamina D, a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ; e quando há um baixo consumo do nutriente, a vitamina D eleva a concentração do cálcio intracelular no músculo vascular e isto aumenta a resistência vascular e os valores de PA. Já o consumo adequado de cálcio na dieta reduz a PA em grande parte devido a supressão da vitamina D, normalizando a concentração intracelular de cálcio. Os efeitos do consumo de cálcio na redução dos valores de PA são mais visíveis em indivíduos hipertensos quando comparados aos normotensos. O que significa que o aumento do consumo de cálcio atua de uma maneira mais significativa reduzindo os valores de PA em indivíduos hipertensos (TORRES & SANJULIANI, 2011; ZEMEL, 2001).

O magnésio, da mesma maneira que o potássio e cálcio, também está relacionado inversamente com os valores de PA. O magnésio atua como co-fator em mais de 300 reações químicas, e pode influenciar na estrutura e tônus vascular e também atua na saída e entrada celular de outros sais com o objetivo de auxiliar na regulação da PA (SONTIA & TOUYZ, 2007). Achados sugerem que o magnésio possa estar atuando como um antagonista do cálcio, evitando assim, a calcificação do tecido vascular e o surgimento de doenças cardiovasculares (HRUBY et al, 2014; SONTIA & TOUYZ, 2007).

A dieta *Dietary Approaches to Stop Hypertension* (DASH) foi um modelo de dieta descrito em 1993 que teve por objetivo auxiliar na redução dos valores de PA a partir da ação dos nutrientes. As principais características nutricionais da dieta DASH são a redução no consumo de sódio e o aumento de potássio, cálcio e magnésio. Esta dieta é composta por uma alimentação rica em frutas, verduras, laticínios com baixo teor de gordura, oleaginosas, grãos integrais e a baixa quantidade de gorduras saturadas e carnes vermelhas. A dieta DASH se

mostrou um modelo dietético adequado para a redução dos valores de PA, resistência insulínica e risco de doenças cardiovasculares. Uma revisão recente analisou seis estudos e demonstrou que a implementação desta dieta pode proporcionar um efeito protetor contra o surgimento de doenças cardiovasculares (SALEHI-ABARGOUEI et al, 2013). As evidências tem demonstrado a importância dos fatores dietéticos na modulação dos valores de PA e HAS.

### **- Fatores Genéticos**

A genética apresenta um papel importante na determinação dos valores de PA e na suscetibilidade da HAS. Estudos de família mostram que a correlação entre os valores de PA é maior entre indivíduos da mesma família quando comparados aos valores da população geral. Além disso, a herdabilidade estimada para a PA está entre 20 a 60% (LEVY et al, 2000; WARD, 1990). Da mesma maneira, podemos observar a importância dos fatores genéticos na HAS, onde 70 a 80% dos indivíduos afetados apresentam um histórico familiar positivo para esta patologia (REVANASIDDAPPA & BHADAURIA, 2013). Estudos com gêmeos mostram uma maior concordância para HAS em gêmeos monozigóticos quando comparados aos dizigóticos, estes estudos sugerem que a herdabilidade para esta doença fique entre 45 a 60% (KUPPER et al, 2005).

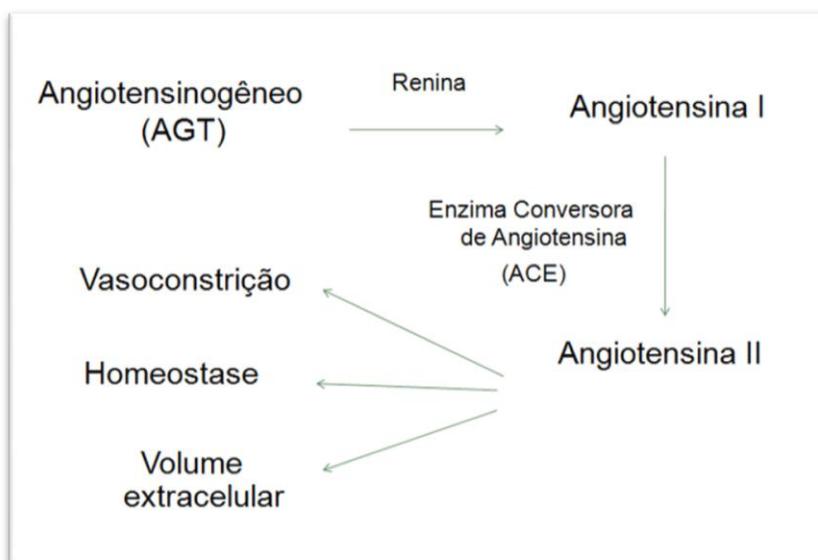
Considerando a importância da genética nos fenótipos da HAS, muitos estudos foram feitos para identificar quais as variantes genéticas estão associadas com a patologia. Dentro de uma abordagem molecular, vários estudos de associação já foram realizados no intuito de identificar genes importantes nos fenótipos relacionados a HAS. Nesta abordagem, de genes candidatos, a maioria dos estudos se concentrou nos genes relacionados ao RAS. Entretanto outros genes já foram associados com este desfecho: aducina 1 e 2 (*ADD1* e 2), ATPase de transporte de cálcio da membrana plasmática (*ATP2B1*), metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*) e óxido nítrico sintase 3 (*NOS3*), por exemplo (REVANASIDDAPPA & BHADAURIA, 2013; LIND & CHIU, 2013; BASSON et al, 2012). Em uma meta-análise realizada a partir de estudos de varredura genômica (*Genome-Wide Association Studies - GWAS*), outros genes foram associados aos desfechos de PA e HAS. Este estudo

analisou mais de 80 mil indivíduos descrevendo 11 genes novos e confirmando 27 associações prévias (JOHNSON et al, 2011). Embora estes estudos de GWAS tenham identificados alguns dos genes envolvidos nestas patologias, estes genes explicam apenas 2% da herdabilidade estimada para o fenótipo da PA (PADMANABHAN et al, 2012). Sendo assim, a abordagem gene candidato associada a fatores ambientais pode ajudar a esclarecer o papel da genética nestes fenótipos.

## 2.2 Sistema Renina-Angiotensina (RAS)

O Sistema Renina-Angiotensina (RAS) é um sistema formado por um conjunto de enzimas que atuam principalmente na regulação da PA, volume extracelular e homeostase eletrolítica. A enzima que inicia a ativação do RAS é a renina, que é secretada pelas células justaglomerulares dos rins quando os valores de PA ficam abaixo da normalidade. A função da renina é converter o Angiotensinogênio (AGT), secretado pelo fígado, para a angiotensina I. A angiotensina I é convertida em um segundo hormônio, a angiotensina II, por meio da Enzima Conversora da Angiotensina (ACE). Por fim, a angiotensina II atua na homeostase dos eletrólitos, volume extracelular e na vasoconstrição das arteríolas, elevando os valores de PA até a normalidade (Figura 1) (BONFIM-SILVA & RIOS, 2012).

FIGURA 1 – Sistema Renina-Angiotensina (RAS)



Fonte: Adaptado de BONFIM-SILVA & RIOS, 2012.

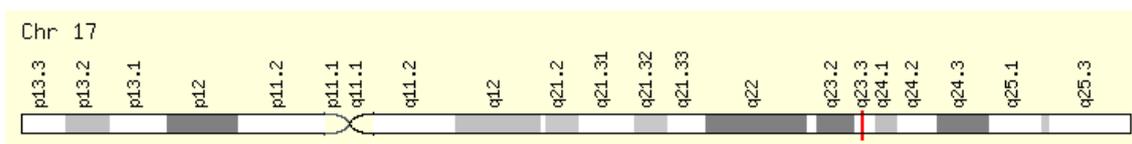
O RAS é conhecido e estudado a mais de cem anos, e possui o papel central de regular a PA. A sua forma de atuação clássica é como um sistema endócrino; entretanto, achados recentes também sugerem a sua atuação como um sistema parácrino, autócrino e intrácrino. Uma revisão recente mostra a participação de novas proteínas bioativas e receptores envolvidos no RAS, que são expressos de acordo com o tecido local (FERRÃO et al, 2014). O RAS é expresso nos tecidos cardíaco, renal, glândulas adrenais, cerebral, adiposo, hepático e vascular periférico (BODIGA & BODIGA, 2013; ABADIR et al, 2012).

Considerando a importância de cada proteína envolvida na cascata do RAS, para o controle da PA, os genes que codificam estas proteínas se apresentam como bons candidatos para estudos moleculares com o fenótipo.

### - Gene *ACE*

O gene *ACE* é responsável por codificar a enzima ACE (Enzima Conversora da Angiotensina) envolvida na conversão da angiotensina I para a angiotensina II (Figura 2). Este gene está localizado no cromossomo 17 e tem vários polimorfismos descritos.

FIGURA 2 - Localização genômica do gene *ACE*



Fonte: Gene Card, 2014

Um dos polimorfismos mais estudado deste gene é um polimorfismo de Inserção e Deleção, localizado no íntron 16, onde a variação consiste na presença ou ausência de um fragmento de DNA de 287 pb (RIGAT et al, 1990).

Alguns estudos mostram que este polimorfismo possa ter um papel funcional. A variante está fortemente associada com os níveis circulantes da proteína ACE; sugerindo que indivíduos Del/Del possam ter duas vezes mais níveis de ACE circulantes quando comparados aos indivíduos homocigotos Ins/Ins (RIGAT et al, 1990). Muitos estudos de associação já foram realizados

no intuito de investigar a relação do polimorfismo com os valores de PA ou a HAS. Estes estudos estão descritos na TABELA 1.

TABELA 1 - Estudos com o polimorfismo InsDel do gene ACE e fenótipos da pressão arterial e hipertensão

<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
Hipertensão	211 hipertensos 211 normotensos	Indiana	O alelo Del aumenta o risco para a hipertensão nos homens.	SINGH et al, 2014
Hipertensão	187 hipertensos 75 normotensos	Brasileira	O genótipo Ins/Ins é mais prevalente no grupo dos normotensos.	VILELA-MARTIN et al, 2013
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	107 hipertensos 253 normotensos	Colombiana	Não associado com a hipertensão ou com os valores de PA.	VALENCIA et al, 2013
Hipertensão	104 hipertensos 99 normotensos	Indonésia	Não associado com a hipertensão.	RASYID et al, 2012
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	3460 hipertensos 5811 normotensos	Japonesa	Não associado com a hipertensão ou com os valores de PA.	TAKEUCHI et al, 2012
Hipertensão	220 hipertensos 235 normotensos	Chinesa	O alelo Del aumenta o risco de hipertensão.	JIANG et al, 2009
Hipertensão	344 (casos e controles)	Indiana	Não associado com a hipertensão.	ALVI & HASNAIN, 2009
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	256 hipertensos 257 normotensos	Colombiana	O genótipo Del/Del aumenta o risco de hipertensão e os valores de PA.	BAUTISTA et al, 2008
Hipertensão	413 hipertensos 404 normotensos	Eslovênia	Não associado com a hipertensão.	GLAVNIK & PETROVIC, 2007
Hipertensão	82 hipertensos 78 normotensos	Brasileira	O genótipo Del/Del aumenta o risco de hipertensão.	FREITAS et al, 2007
Hipertensão	299 hipertensos 281 normotensos	Mongoliana	O genótipo Ins/Del ou Del/Del aumenta o risco de hipertensão, somente nos homens da amostra.	GUI-YAN et al, 2006
Hipertensão	119 hipertensos 125 normotensos	Croata	O genótipo Del/Del aumenta o risco de hipertensão.	BARBALIC et al, 2006
Pressão Arterial (PA)	30 hipertensos 31 normotensos	-	O alelo Del aumenta os valores de PA sistólica.	PENESOVA et al, 2006
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	79 hipertensos 16 normotensos	Homens caucasianos	Não associado com a hipertensão ou com os valores de PA.	DELL'OMO et al, 2006
Hipertensão	638 hipertensos 720 normotensos	Alemã	Não associado com a hipertensão.	MONDRY et al, 2005
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	290 hipertensos 244 normotensos	Cazaquistânês vivendo na China	Não associado com a hipertensão ou com os valores de PA.	WANG et al, 2004

<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
Hipertensão	1850 hipertensos 611 normotensos	Italiana	Não associado com a hipertensão.	CASTELLANO et al, 2003
Hipertensão	109 hipertensos 86 normotensos	Turca	O alelo Del aumenta o risco de hipertensão.	AGACHAN et al, 2003
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	44 hipertensos 59 normotensos	Asiática	O alelo Del ou genótipo Del/Del aumentam os riscos de hipertensão. O genótipo Del/Del aumenta os valores de PA, somente nos homens da amostra.	MORSHED et al, 2002
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	106 hipertensos 135 normotensos	Chinesa	O alelo Del aumenta o risco de hipertensão e os valores de PA, somente nas mulheres da amostra.	GESANG et al, 2002
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	185 hipertensos 350 normotensos	Espanhola	Não associado com a hipertensão ou com os valores de PA.	GINER et al, 2001
Pressão Arterial (PA)	205 PA elevada 196 PA baixa	Espanhola-Mediterrânea	Não associado com os valores de PA.	MARTÍNEZ et al, 2000
Hipertensão	1200 hipertensos 3814 normotensos	Japonesa	O genótipo Del/Del aumenta o risco de hipertensão nos homens.	HIGAKI et al, 2000
Hipertensão	128 hipertensos 128 normotensos	Escocesa	Não associado com a hipertensão.	CLARK et al, 2000
Hipertensão	165 hipertensos 143 normotensos	Turca	Não associado com a hipertensão.	BEDIR et al, 1999
Hipertensão	169 hipertensos 152 normotensos	Chinesa	O alelo Del aumenta o risco de hipertensão.	LIU et al, 1999
Pressão Arterial (PA)	178 hipertensos 101 normotensos	Japonesa	Não associado com os valores de PA.	NAKANO et al, 1998
Hipertensão	51 hipertensos 52 normotensos	Asiática	Não associado com a hipertensão.	CHOWDHURY et al, 1998
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	220 hipertensos 180 normotensos	Jamaicana	Não associado com a hipertensão ou com os valores de PA.	FORRESTER et al, 1997
Hipertensão	157 hipertensos 115 normotensos	Chinesa	O alelo Del aumenta o risco de hipertensão.	CHIANG et al, 1996
Hipertensão	87 hipertensos 95 normotensos	Japonesa	Não associado com a hipertensão.	ISHIGAMI et al, 1995

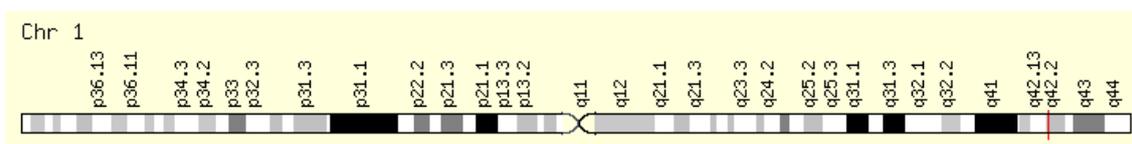
Analisando os estudos descritos na tabela podemos observar que metade destes não encontraram associação do polimorfismo com desfechos de PA. Entretanto, os demais estudos que detectaram associação mostraram um efeito do alelo Del. Indivíduos portadores do alelo Del ou homocigotos Del/Del apresentaram maiores valores de PA ou chances aumentadas de desenvolver a HAS.

Estudos de meta-análise avaliando em conjunto estes achados confirmam a associação entre o polimorfismo e valores de PA e HAS. Estes estudos foram realizados com diferentes populações. Indica-se que indivíduos com genótipo Del/Del tendem a ter mais riscos de HAS quando comparados aos indivíduos com outros genótipos (TAKEUCHI et al, 2012; JI et al, 2010; ZAMAN et al, 2001). Outras meta-análises observaram a associação do mesmo genótipo deste polimorfismo com o risco de Acidente Vascular Cerebral (AVC) (ZHAO et al, 2014; WANG et al, 2012) e em complicações cardiovasculares e renais (STAESSEN et al, 1997).

### - Gene *AGT*

A proteína codificada pelo gene *AGT*, o angiotensinogênio (AGT), é responsável por servir de substrato para a enzima renina até a clivagem da angiotensina I (Figura 3). O gene é localizado no cromossomo 1 e possui como um dos polimorfismos mais estudados o polimorfismo rs699.

FIGURA 3 - Localização genômica do gene *AGT*



Fonte: Gene Card, 2014

Este polimorfismo rs699 é um *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) que representa uma troca de G para A, o qual varia o aminoácido Metionina (M) por uma Treonina (T). A posição da troca deste aminoácido é no códon 235 e por este motivo o polimorfismo rs699 pode ser também denominado de M235T.

Estudos indicam que a variante está associada com os níveis circulantes da proteína AGT. Indivíduos homocigotos AA parecem ter os níveis desta proteína 11% mais elevados quando comparados aos homocigotos GG (SETHI et al, 2003). Sugerindo uma funcionalidade neste polimorfismo (NORTON et al, 2010).

JEUNEMAITRE e cols (1992) foram os primeiros a reportar uma associação entre esta variante com a HAS em caucasianos. A partir de então, outros estudos de associação foram realizados para elucidar a relação do polimorfismo com populações diversas. Os estudos estão descritos na TABELA 2.

TABELA 2 - Estudos com o polimorfismo rs699 do gene *AGT* e fenótipos da pressão arterial e hipertensão

<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
Hipertensão	211 hipertensos 211 normotensos	Indiana	O alelo A aumenta o risco de hipertensão nas mulheres.	SINGH et al, 2014
Hipertensão	83 hipertensos 60 normotensos	Egípcia	O alelo A aumenta o risco de hipertensão.	SHAMAA et al, 2013
Hipertensão	249 hipertensos 248 controles	Indiana	O polimorfismo rs699, somente quando associados a outros polimorfismos do gene, aumenta o risco de hipertensão.	CHARITA et al, 2012
Hipertensão	279 hipertensos 200 normotensos	-	O genótipo GG aumenta o risco de hipertensão, somente nas mulheres da amostra.	MOHANA et al, 2012
Hipertensão e Obesidade	142 hipertensos 191 normotensos	Turca	O genótipo AA aumenta o risco de hipertensão. Não houve associação com os valores do índice de massa corporal.	MEHRI et al, 2012
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	140 hipertensos 52 normotensos	Brasileira	O alelo A aumenta o risco em 58% (heterozigotos) e 78% (homozigotos) de hipertensão e os valores de PA.	GATTI et al, 2012
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	3460 hipertensos 5811 normotensos	Japonesa	O polimorfismo se relaciona com a hipertensão e com os valores de PA.	TAKEUCHI et al, 2012
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	104 hipertensos 131 normotensos	Indianos	O genótipo AA aumenta os valores de PA.	CHAND et al, 2011
Pressão Arterial (PA) na acromegalia	33 acromegalia 63 controles	Turca	O genótipo AG aumenta os valores de PA sistólica.	TURGUT et al, 2011
Hipertensão resistente	70 hipertensos resistentes 80 hipertensos controlados 70 normotensos	-	Alelo A aumenta o risco de hipertensão resistente.	YUGAR-TOLEDO et al, 2011
Hipertensão	243 hipertensos 258 normotensos	Mongoliana	Não houve associação com a hipertensão.	YING et al, 2010
Hipertensão no bypass coronariano	154 pacientes 155 controles	Grega	O genótipo AA foi mais frequente nos hipertensos do que nos pacientes de bypass coronariano que eram normotensos.	RAGIA et al, 2010

<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
Hipertensão	271 hipertensos 267 normotensos	Chinesa	O alelo A, quando associado a outro polimorfismo do gene, aumenta o risco de hipertensão.	YUAN et al, 2009
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	200 hipertensos 198 normotensos	Malasiana	Não associado com a hipertensão ou com os valores de PA.	GHAZALI et al, 2008
Hipertensão	82 hipertensos 78 normotensos	Brasileira	Não associado com a hipertensão.	FREITAS et al, 2007
Hipertensão	413 hipertensos 404 normotensos	Eslovênia	Não associado com a hipertensão.	GLAVNIK & PETROVIC, 2007
Hipertensão	119 hipertensos 125 normotensos	Croata	Não associado com a hipertensão.	BARBALIC et al, 2006
Pressão Arterial (PA)	30 hipertensos 31 normotensos	-	O genótipo AA aumenta os valores de PA sistólica.	PENESOVA et al, 2006
Hipertensão	299 hipertensos 281 normotensos	Mongoliana	O genótipo GA ou GG do polimorfismo rs699, quando associado ao polimorfismo Ins/Del do gene ACE, aumenta o risco de hipertensão.	GUI-YAN et al, 2006
Hipertensão e Pressão Arterial (PA)	101 hipertensos 87 normotensos	Malasiana	O genótipo AA ou alelo A aumenta o risco de hipertensão. Não associado com os valores de PA.	SAY et al, 2005
Doença Arterial Coronariana (DAC)	201 com DAC 104 controles	Brasileira	Não associado com a DAC.	ARAUJO et al, 2005
Hipertensão	638 hipertensos 720 normotensos	Alemã	O genótipo AA reduz em 48% o risco de hipertensão, somente nas mulheres da amostra.	MONDRY et al, 2005
Hipertensão	109 hipertensos 86 normotensos	Turca	O genótipo AA aumenta o risco de hipertensão.	AGACHAN et al, 2003
Hipertensão	107 hipertensos 96 normotensos	Taiwanesa	O alelo A aumenta o risco de hipertensão.	WANG et al, 2002
Pressão Arterial (PA)	1322 controles 205 PA elevada 196 PA baixa	Mediterrânea	O alelo A, quando associado a outro polimorfismo do gene, aumenta os valores de PA.	MARTÍNEZ et al, 2002
Doença Arterial Coronariana (DAC)	304 com DAC 315 controles	Espanhola	O genótipo AA aumenta o risco de DAC quando associado com o diabetes e hipertensão.	ORTEGA et al, 2002
Hipertensão	38 hipertensos 21 normotensos	Romena	O genótipo AA aumenta o risco de hipertensão.	PROCOPCIUC et al, 2002

<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
Doença Arterial Coronariana (DAC)	304 com DAC 315 controles	Espanhola	O alelo A aumenta o risco de DAC.	RODRIGUEZ-PEREZ et al, 2001
Hipertensão	237 hipertensos 242 normotensos	Espanhola	Não associado com a hipertensão.	RODRIGUEZ-PEREZ et al, 2000
Doença Arterial Coronariana (DAC)	205 com DAC 209 controles	Italiana	Não associado com a DAC.	FATINI et al, 2000
Hipertensão	121 hipertensos 125 normotensos	Alemã	Não associado com a hipertensão.	MONDORF et al, 1998
Hipertensão	64 hipertensos 62 normotensos	Chilena	Não associado com a hipertensão.	FARDELLA et al, 1998
Hipertensão	229 (casos e controles)	Árabe	O alelo A aumenta o risco de hipertensão e menor expectativa de vida.	FROSSARD et al, 1998
Hipertensão	116 hipertensos 138 normotensos	Nigeriana	Não associado com a hipertensão.	ROTIMI et al, 1997
Hipertensão	102 hipertensos 49 normotensos	Taiwanesa	O genótipo AA ou alelo A aumenta o risco de hipertensão.	CHIANG et al, 1997
Doença Arterial Coronariana (DAC) e Infarto Agudo do Miocárdio (IAM)	281 asiáticos + 58 americanos com IAM  256 asiáticos + 64 americanos controles	Asiática e Americana	O genótipo AA aumenta o risco de DAC na amostra asiática.	LUDWIG et al, 1997
Hipertensão	425 asiáticos + 158 americanos hipertensos  376 asiáticos + 158 americanos normotensos	Asiática e Americana	O alelo A aumenta o risco de hipertensão na amostra asiática e americana.	BORECKI et al, 1997
Hipertensão	219 hipertensos 92 normotensos	-	O alelo A aumenta o risco de hipertensão.	SCHMIDT et al, 1995
Pressão Arterial (PA) e Infarto Agudo do Miocárdio (IAM)	630 com IAM 741 controles	Francesa e Irlandesa	Não associado com os valores de PA ou com o IAM.	TIRET et al, 1995

<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
Hipertensão	104 hipertensos 195 normotensos	Americana	Não associado com a hipertensão.	FORNAGE et al, 1995
Hipertensão	105 hipertensos 81 normotensos	Japonesa	O alelo A aumenta o risco de hipertensão.	HATA et al, 1994
Hipertensão	92 hipertensos 95 normotensos	Britânica	Não associado com a hipertensão.	BENNETT et al, 1993

Avaliando os estudos descritos na tabela podemos verificar que mais da metade dos trabalhos encontraram associação positiva. Indivíduos com o genótipo AA ou portadores do alelo A tendem a ter maiores valores de PA ou maiores chances de desenvolver a HAS. Estudos de meta-análise confirmam as mesmas associações entre o polimorfismo e valores de PA e HAS (TAKEUCHI et al, 2012; JI et al, 2010; MONDRY et al, 2005). O alelo A ainda é indicador de risco para o desenvolvimento de AVC (LIANG et al, 2013; WANG et al, 2012).

### **2.3 Interação dos polimorfismos e dieta**

Considerando que ainda não estão claros os estudos que analisam apenas a genética para desfechos como a PA e HAS e levando em conta a importância dos fatores da dieta na etiologia da PA, alguns estudos foram realizados com o objetivo de analisar se a interação dos polimorfismos e dieta influenciam nos desfechos de PA e HAS. Entender a interação gene x dieta sobre um determinado fenótipo se torna importante para elucidar os mecanismos de uma patologia. Estudos de interação estão descritos na TABELA 3.

TABELA 3 - Estudos de interação gene x dieta relacionados com a pressão arterial e hipertensão

<b>Gene (Polimorfismo)</b>	<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>Fator da Dieta</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
<i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA)	32 mulheres obesas	Restrição calórica	Japonesa	Não houve associação polimorfismo x restrição calórica sobre os valores de PA. Genótipo Del/Del x restrição calórica aumentam a redução de gordura corporal.	HAMADA et al, 2011
<i>AGT</i> (rs699)	Pressão Arterial (PA)	11384 indivíduos	Excreção de sódio e potássio na urina; e consumo de potássio	Inglesa	Não houve associação polimorfismo x valores de potássio sobre os valores de PA. Alelo A x maior excreção de sódio aumentam os valores de PA sistólica. Genótipo GA x maior excreção de sódio aumentam os valores de PA diastólica.	NORAT et al, 2008
<i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA)	2823 indivíduos	Consumo de sódio/ Sensibilidade ao sal	Japonesa	Genótipo Ins/Ins x maior consumo de sódio aumentam os valores de PA diastólica; ou seja, são indivíduos mais sensíveis ao sal.	YAMAGISHI et al, 2007
<i>ACE</i> (InsDel)	Hipertensão	284 indivíduos	Consumo de sal	Japonesa	Genótipo Ins/Ins e Ins/Del x maior consumo de sódio possuem maior risco de hipertensão.	ZHANG et al, 2006
<i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA)	27 indivíduos	Consumo de sódio 50 e 200 mmol/dia	Holandesa	Genótipo Del/Del x consumo de 200 mmol de sódio aumentam os valores de PA.	KLEIJ et al, 2002
<i>AGT</i> (rs699) <i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA)	355 indivíduos	Dieta DASH e Dieta Frutas e Verduras (FV)	Americana	Não houve associação polimorfismo Ins/Del x dieta DASH e FV sobre os valores de PA. Genótipo AA x dieta DASH diminuem os valores de PA sistólica e diastólica.	SVETKEY et al, 2001
<i>AGT</i> (rs699) <i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA)	46 indivíduos idosos	Suplementação de sódio 50, 100, 200 e 300 mmol/dia	Australiana	Não houve associação polimorfismo Ins/Del x suplementação de sódio sobre os valores de PA. Genótipo AA x suplementação de sódio abaixo de 200 mmol diminuem os valores de PA diastólica. Genótipo GG e GA x suplementação de sódio abaixo de 200 mmol aumentam os valores de PA diastólica. Genótipo GG x suplementação de sódio de 300 mmol aumentam os valores de PA diastólica.	JOHNSON et al, 2001
<i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA)	35 indivíduos idosos	Consumo de sódio/ Sensibilidade ao sal	Americana	Genótipo Ins/Ins x maior consumo de sódio diminuem os valores de PA.	DENGEL et al, 2001

<b>Gene (Polimorfismo)</b>	<b>Fenótipo Avaliado</b>	<b>Número Amostral</b>	<b>Fator da Dieta</b>	<b>População</b>	<b>Principais achados</b>	<b>Referências</b>
<i>AGT</i> (rs699) <i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA)	71 indivíduos hipertensos	Consumo de sal/ Sensibilidade ao sal	Espanhola	Genótipo Ins/Ins x maior consumo de sódio aumentam os valores de PA; ou seja, são indivíduos mais sensíveis ao sal.	POCH et al, 2001
<i>AGT</i> (rs699) <i>ACE</i> (InsDel)	Pressão Arterial (PA) Hipertensão	50 indivíduos	Consumo de sal/ Sensibilidade ao sal	Espanhola	Não houve associação polimorfismo x consumo de sal sobre os valores de PA. Porém, se o paciente diagnosticado com hipertensão e genótipo Ins/Ins x maior consumo de sal aumentam os valores de PA.	GINER et al, 2000
<i>AGT</i> (rs699)	Pressão Arterial (PA)	187 homens jovens	Dieta com alto e baixo teor de sódio/ Sensibilidade ao sal	Alemã	Não houve associação polimorfismo x consumo de sal sobre os valores de PA.	SCHORR et al, 1999
<i>AGT</i> (rs699)	Pressão Arterial (PA)	40 indivíduos	Fibras solúveis e insolúveis	Canadense	Genótipo AA x consumo de fibra insolúvel diminui os valores de PA diastólica; Genótipo GA ou GG x consumo de fibra solúvel diminui os valores de PA diastólica.	HEGELE et al, 1997
<i>ACE</i> (InsDel)	Hipertensão	66 indivíduos hipertensos	Consumo de sal/ Sensibilidade ao sal	Japonesa	Paciente hipertenso e genótipo Ins/Ins são mais Sensíveis ao sal.	HIRAGA et al, 1996

Para o polimorfismo InsDel do gene *ACE*, cinco artigos detectaram a associação da interação gene x dieta sobre a sensibilidade ao sal; onde indivíduos com o genótipo Ins/Ins são mais sensíveis ao sal na elevação dos valores de PA (YAMAGISHI et al, 2007; ZHANG et al, 2006; POCH et al, 2001; GINER et al, 2000; HIRAGA et al, 1996). Somente um estudo indicou o contrário, determinando que indivíduos Ins/Ins no alto consumo de sódio permanecem com menores valores de PA (DENGEL et al, 2001). Outro estudo mostrou uma interação do polimorfismo com a restrição calórica na redução de gordura corporal, mas esta interação não surtiu efeito nos valores de PA (HAMADA et al, 2011). Já SVETKEY e cols (2001) analisaram a interação deste polimorfismo com a dieta DASH e com a dieta de Frutas e Verduras (FV) sobre os valores de PA, e não detectaram interação na modulação dos valores de PA.

Para o polimorfismo rs699 do gene *AGT* dois estudos detectaram associação dos fatores da dieta sobre os valores de PA. SVETKEY e cols (2001) mostraram que indivíduos com genótipo AA que seguiram a dieta DASH tendem a ter valores reduzidos de PA. HEGELE e cols (1997) mostraram que indivíduos com o mesmo genótipo AA no consumo de fibras insolúveis reduziram os valores de PA Diastólica (PAD); enquanto que para indivíduos com o genótipo GA ou GG foi o consumo de fibras solúveis que fez com que os valores de PAD diminuíssem. Outros três estudos que analisaram este polimorfismo com o consumo sal e potássio não detectaram associação com os valores de PA (NORAT et al, 2008; POCH et al, 2001; GINER et al, 2000; SCHORR et al, 1999).

Considerando a importância das relações gene x dieta e o pequeno número de estudos com esta abordagem, pode ser promissor estudar estas relações para o entendimento destes fenótipos.

### **3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS**

A amostra foi composta por adultos, entre 18 e 60 anos de idade, de ambos os gêneros. Os participantes eram professores, alunos e funcionários do Centro Universitário UNIVATES. E os critérios de exclusão foram indivíduos com nefropatias, distúrbios de coagulação, doença infecto-contagiosa conhecida, doença renal, doença adrenal, anões, deficientes mentais que não compreenderam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A), mulheres grávidas e indivíduos com câncer.

Os dados utilizados estão vinculados ao projeto de pesquisa intitulado “Aspectos nutrigenéticos de parâmetros bioquímicos e antropométricos: implicações para a saúde humana”. O Projeto de Pesquisa está aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Univates (COEP) sob número de protocolo 110/11 cumprindo com os princípios éticos para as pesquisas em seres humanos da Resolução 196/96 atualmente substituída pela Resolução 466 de 2012.

Os possíveis riscos ao paciente podem ter sido o desconforto durante a entrevista e aferição das medidas antropométricas ou durante a coleta de sangue. O risco foi minimizado pela realização de treinamento e pelas técnicas serem realizadas por pesquisadores treinados. Os materiais para a coleta de sangue foram descartáveis e de proteção para evitar qualquer risco de contaminação. Os benefícios da participação na pesquisa foi a disponibilidade dos exames bioquímicos impressos e assinados em laudos, e

os resultados do exame de Bioimpedância (BIA). A identificação dos participantes foi mantida em sigilo identificada através de numeração.

A coleta de dados ocorreu em duas etapas, ambas realizadas no Ambulatório de Nutrição do Centro Universitário UNIVATES. Primeiramente foi feito o convite aos participantes e após o aceite, foi realizada a anamnese nutricional, análise dietética e avaliação nutricional. No mesmo momento, foi agendado uma outra data para a segunda etapa: coleta de sangue, realização das medidas de circunferências e exame de BIA. Os participantes que não aceitaram participar da pesquisa receberam o tratamento padrão do Ambulatório de Nutrição, sem qualquer prejuízo no atendimento.

### **3.1 Anamnese Nutricional**

A anamnese nutricional (ANEXO B) se caracteriza por um conjunto de questionamentos sobre o estilo de vida, hábitos alimentares, histórico familiar de patologias e perfil sócio econômico do participante. As perguntas foram feitas durante a consulta no Ambulatório de Nutrição.

### **3.2 Análise Dietética**

A análise dietética para os micronutrientes sódio, potássio, cálcio e magnésio foram realizados com o método de Recordatório Alimentar de 24 horas (R24hs) (ANEXO B). O participante foi questionado sobre os detalhes de sua alimentação do dia anterior pelas estagiárias do Curso de Nutrição durante a consulta no Ambulatório de Nutrição.

Através do R24hs é possível ter a descrição dos alimentos e suas quantidades consumidas pelo indivíduo, e estas informações são repassadas, posteriormente, para um *software* que faz a conversão para a quantidade dos micro e macronutrientes desejados. Os cálculos foram feitos através do *software* Dietwin® profissional 2008 por profissionais treinados da área de nutrição. Seguiu-se uma lista de medidas caseiras e respectivas quantidades para cada alimento cadastrado no *software* como padrão para a análise (ANEXO C).

Em 1993, criou-se um quadro contendo as recomendação nutricional denominado de *Dietary Reference Intakes* (DRI) (ANEXO D). As DRIs englobam quatro tipos de recomendações para indivíduos saudáveis e a usada para a presente pesquisa são os valores da *Estimated Average Requirements* (EAR) pelo motivo de avaliar a quantidade estimada para grupos populacionais. Estes são valores numéricos estimados do consumo de nutrientes. As quantidades recomendadas dos nutrientes se encontra dividida de acordo com o gênero e faixa etária (IOF, 2011).

### 3.3 Avaliação Antropométrica

A altura e o peso dos participantes foram medidas durante a consulta no Ambulatório de Nutrição. A altura foi aferida com estadiômetro marca Wiso® tendo o participante descalço com calcanhares, glúteos, costas e cabeça encostados na parede sem rodapé. Para a medida do peso o participante fez o uso de uma bermuda e jaleco para então minimizar o peso excessivo de outras roupas, utilizou-se a balança antropométrica adulto marca Welmy® modelo R-110 em superfície plana.

O Índice de Massa Corporal (IMC) é um indicador simples de estado nutricional que é calculado a partir da seguinte fórmula: peso atual (kg) / altura (m) elevada ao quadrado. Os parâmetros de classificação seguem a recomendação internacional da WHO (1998): Baixo Peso IMC < 18,5 Kg/m<sup>2</sup>, Normalidade IMC 18,5 – 24,9 Kg/m<sup>2</sup>, Pré-Obeso IMC 25,0 – 29,9 Kg/m<sup>2</sup>, Obeso Classe I IMC 30,0 – 34,9 Kg/m<sup>2</sup>, Obeso Classe II IMC 35,0 – 39,9 Kg/m<sup>2</sup>, Obeso Classe III IMC ≥ 40,0 Kg/m<sup>2</sup>.

As circunferências de cintura e quadril, para também realizar o cálculo da relação cintura-quadril (RCQ), foram medidas no mesmo dia da coleta de sangue e do exame de Bioimpedância (BIA). Foi utilizada fita inelástica marca Cescorf® e demais recomendações de medição através do material da WHO (2008). Os valores de normalidade para os gêneros estão descritos no quadro a seguir:

QUADRO 1 – Recomendações para as medidas de circunferência

	<b>Circunferência da Cintura</b>	<b>Relação Cintura-Quadril</b>
<b>Homem</b>	Até 94 cm	Até 0,90 cm
<b>Mulher</b>	Até 80 cm	Até 0,85 cm

Fonte: Adaptado de WHO, 2008.

### 3.4 Coleta de Sangue

Para a coleta de sangue os participantes receberam a orientação da prática de jejum de 8 a 12 horas. A coleta de sangue foi realizada em turno diurno no Ambulatório de Nutrição. Foram coletados 10 ml de sangue periférico, por profissional treinado, para as dosagens bioquímicas e extração de DNA. Caso o participante tenha relatado dor ou desconforto, a coleta foi suspensa e reagendada.

Os 10 ml de sangue coletados foram divididos em três tubos: tubo siliconizado, tubo contendo fluoreto e tubo contendo Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA). Os tubos siliconizados e com fluoreto foram levados até o Laboratório de Bioquímica do Centro Universitário UNIVATES e realizada a separação do soro (ANEXO E). Após, o soro foi colocado em tubos *ependorfs* e armazenados em freezer para posterior dosagem bioquímica. O tubo contendo EDTA foi armazenado também em freezer para posterior extração de DNA.

### 3.5 Exame de Bioimpedância

O exame de Bioimpedância (BIA) indica os valores de percentual de gordura corporal, massa magra, massa de gordura, taxa de metabolismo basal e total de água no corpo. O exame foi feito pela BIA modelo Biodynamics tetrapolar marca Conmed®. Quatro eletrodos foram afixados em pontos específicos na mão e no pé direito do indivíduo avaliado. Os eletrodos foram trocados a cada cinco participantes.

Para a realização da técnica o participante seguiu as recomendações estipuladas pelo Projeto Diretrizes (2009) e normas do Ambulatório de Nutrição (ANEXO F): realizar jejum de pelo menos 4 horas; não praticar exercícios físicos nas últimas 12 horas; não ingerir bebidas alcoólicas, cafeína, chimarrão, refrigerantes nas últimas 24 horas; suspender o uso de medicamentos diuréticos nas últimas 24 horas; não fumar nas últimas 5 horas; e para as mulheres, não estar em período pré ou menstrual; e no momento do exame, retirar objetos de metal presos ao corpo.

Os valores médios de normalidade para o percentual de gordura corporal, para indivíduos entre 18 e 25 anos de idade, são de 23 a 25 % para as mulheres e de 14 a 16 % para os homens. Se abrangermos a faixa etária, de 26 a 35 anos, os valores médios de normalidade para as mulheres permanecem entre 24 e 25%, e para os homens de 18 a 20% (DAL BOSCO et al, 2014).

### **3.6 Pressão Arterial**

Os valores de PA foram aferidos em triplicata com equipamento digital, de braço, marca Omron® modelo HEM-710INT. A coleta seguiu os parâmetros de recomendação das VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (2010). O indivíduo permaneceu sentado durante as três medidas com um intervalo de um minuto entre elas. Durante as medidas o participante permaneceu em silêncio, com as pernas descruzadas, pés apoiados no chão e dorso recostado na cadeira.

### **3.7 Avaliação Bioquímica**

As dosagens bioquímicas foram feitas utilizando kits da marca Bioclin em equipamento analisador químico BS120 da marca Mindray no Laboratório de Análises Clínicas do Centro Univeristário UNIVATES. Para a interpretação dos resultados utilizou-se como referencia os valores contidos na bula de cada kit. Foram analisados os marcadores de perfil lipídico – Colesterol Total (CT),

Colesterol HDL e Triglicerídeos (TG) - e Glicose em jejum. Os valores de Colesterol LDL foram determinados por fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD, 1972) na qual consiste em realizar a seguinte equação:  $CT - HDL - (TG/5)$ .

### 3.8 Extração de DNA

A extração de DNA foi feita a partir do método *salting-out* de técnica adaptada (ANEXO G) primeiramente descrita por Lahiri & Nurnberger (1991). A prática foi feita no Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular do Centro Universitário UNIVATES. As amostras de DNA foram armazenadas a - 4°C. Após a extração de DNA, a quantidade extraída foi quantificada utilizando espectrofotometria de densidade óptica em equipamento L-Quant®.

### 3.9 Genotipagem

A genotipagem do polimorfismo InsDel do gene *ACE* foi efetuada através da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), com as sequências de primers: 5' CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT 3' e 5' ATGTGGCCATCACATTCGTCGTCAGAT 3'. A amplificação foi determinada com 35 ciclos (94°C por 1 min; 55°C por 1 min; 72°C por 1 min). O produto da PCR foi separado em gel de agarose a 1,5%, em 90v, por 1 hora, com marcador de bases de 100pb. Dois fragmentos de DNA foram observados durante a eletroforese: um fragmento a 190 pb (indicando o alelo Del) e outro a 490 pb (indicando o alelo In).

Já o polimorfismo rs699 do gene *AGT* foi analisado por técnica de discriminação alélica *TaqMan* (Applied Biosystems®) a partir da PCR em Tempo Real pelo equipamento StepOne (Applied Biosystems®).

### 3.10 Análise Estatística

Os dados foram tabulados em um banco de dados no *Software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20.0, no qual também foram realizados os testes estatísticos.

As freqüências alélicas foram estimadas por contagem direta e o Equilíbrio de Hardy-Weinberg calculado com base nessas freqüências pelo teste do qui-quadrado de Pearson. Os testes estatísticos realizados foram ANOVA ou Kruskal-Wallis e qui-quadrado ou teste exato de Fisher para as variáveis categóricas, ANOVA de duas vias, teste de Tukey e teste de Regressão linear múltipla para testar as interações gene-gene e gene-nutriente. O nível de significância assumido foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS

A amostra foi composta por 341 indivíduos adultos com idade média de 25,5±6,6 anos, sendo na sua maioria mulheres (78,9%). A descrição das variáveis analisadas em relação as características clínicas e laboratoriais da amostra estão apresentadas na Tabela 4.

**Tabela 4** – Características clínicas e laboratoriais da amostra

	<b>Todos (n = 341)</b>
Idade (anos)	25,5 (6,6)
Gasto calórico (kcal)	335,7 (817,8) <sup>a</sup>
Gênero (homem)	72 (21,1)
Tabagismo <i>lifetime</i> (sim)	14 (4,1)
Uso de álcool (sim)	197 (57,8)
<b>Recordatório de 24 horas</b>	
Sódio (mg R24 horas)	1884,8 (1095,8)
Potássio (mg R24 horas)	1922,7 (835,8)
Cálcio (mg R24 horas)	646,1 (376,5)
Magnésio (mg R24 horas)	244,8 (137,0)
<b>Bioquímica</b>	
Glicemia (mg/dl)	86,6 (7,7)
Colesterol total (mg/dl)	175,5 (40,4)
Colesterol HDL (mg/dl)	61,4 (16,2)
Colesterol LDL (mg/dl)	95,5 (33,1)
Triglicerídeos (mg/dl)	86,5 (53,8) <sup>a</sup>
<b>Parâmetros antropométricos</b>	
Peso (kg)	67,5 (13,7)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,0 (4,1)
Cintura (cm)	75,4 (9,9)
RCQ	0,76 (0,07)
Gordura corporal (%)	26,7 (6,5)
<b>Pressão arterial</b>	
Pressão sistólica (mmHg)	115,9 (11,2)
Pressão diastólica (mmHg)	71,9 (8,6)

Os dados estão expressos como média e (desvio padrão) ou n e (%);

<sup>a</sup>Mediana e (amplitude interquartil).

As frequências alélicas e genóticas do polimorfismo InsDel do gene *ACE* e rs699 do gene *AGT* estão descritas na Tabela 5. Ambos os polimorfismos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

TABELA 5 – Frequencia dos genótipos e alelos do polimorfismo InsDel do gene *ACE* e rs699 do gene *AGT*

<b>Genótipo</b>		<b>n (%)</b>
<i>ACE</i> _InsDel	Ins/Ins	70 (20,5)
	Ins/Del	149 (43,7)
	Del/Del	122 (35,8)
	Alelo Ins	0,4238
	Alelo Del	0,5762
<i>AGT</i> _rs699	GG	65 (19,1)
	GA	155 (45,5)
	AA	121 (35,4)
	Alelo G	0,4179
	Alelo A	0,5821

A Tabela 6 mostra as comparações entre as características da amostra em relação ao polimorfismo InsDel do gene *ACE*. Observamos diferença significativa no uso de bebidas alcoólicas; onde indivíduos homozigotos Del/Del fazem o maior uso de álcool quando comparados aos Ins/Ins ( $p=0,036$ ).

Ao analisar o consumo de micronutrientes (sódio, potássio, cálcio e magnésio), detectamos uma associação do polimorfismo InsDel com o consumo de cálcio. Indivíduos homozigotos Del/Del consomem menos cálcio do que os heterozigotos (Ins/Del) ( $p=0,007$ ). Não observamos associação quando comparamos os valores bioquímicos e medidas antropométricas em relação aos diferentes genótipos do polimorfismo. Também não detectamos associação entre o polimorfismo do gene *ACE* e os valores de PA.

**Tabela 6** – Características clínicas e laboratoriais da amostra de acordo com o polimorfismo InsDel do gene ACE

	ACE InsDel			Valor P
	Ins/Ins (n = 70)	Ins/Del (n = 149)	Del/Del (n = 122)	
Idade (anos)	25,4 (6,3)	25,6 (6,6)	25,6 (6,6)	0,974
Gasto calórico (kcal)	36,7 (817,5) <sup>a</sup>	369,0 (947,6) <sup>a</sup>	336,0 (633,6) <sup>a</sup>	0,391 <sup>b</sup>
Gênero (homem)	16 (22,9)	28 (18,8)	28 (23,0)	0,640
Tabagismo <i>lifetime</i> (sim)	4 (5,7)	6 (4,0)	4 (3,3)	0,680 <sup>c</sup>
Uso de álcool (sim)	33 (47,1)	84 (56,4)	80 (65,6)	0,036 <sup>e</sup>
<b>Recordatório de 24 horas</b>				
Sódio (mg R24 horas)	1949,1 (1145,6)	1960,3 (1093,7)	1753,3 (1065,1)	0,271
Potássio (mg R24 horas)	2017,3 (898,0)	1945,7 (841,8)	1836,9 (787,7)	0,329
Cálcio (mg R24 horas)	643,2 (285,0)	706,2 (409,5)	573,3 (370,9)	0,007 <sup>b,f</sup>
Magnésio (mg R24 horas)	250,8 (116,4)	255,0 (162,1)	228,6 (11,4)	0,279
<b>Bioquímica</b>				
Glicemia (mg/dl)	85,6 (7,5)	86,3 (7,5)	87,6 (7,9)	0,182
Colesterol total (mg/dl)	173,3 (46,6)	174,8 (37,3)	177,6 (40,6)	0,751
Colesterol HDL (mg/dl)	60,5 (15,2)	60,9 (16,5)	62,6 (16,4)	0,619
Colesterol LDL (mg/dl)	94,7 (40,0)	93,9 (28,2)	97,9 (24,6)	0,607 <sup>b</sup>
Triglicerídeos (mg/dl)	76,5 (35,3) <sup>a</sup>	92,0 (58,0) <sup>a</sup>	87,0 (52,5) <sup>a</sup>	0,088 <sup>b</sup>
<b>Parâmetros antropométricos</b>				
Peso (kg)	65,9 (12,3)	68,3 (13,3)	67,4 (14,8)	0,483
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	23,3 (3,9)	24,3 (4,1)	23,9 (4,2)	0,239
Cintura (cm)	74,4 (8,8)	76,1 (10,0)	75,1 (10,4)	0,482
RCQ	0,75 (0,07)	0,76 (0,08)	0,76 (0,06)	0,563
Gordura corporal (%)	26,2 (6,5)	27,4 (6,6)	26,3 (6,5)	0,392
<b>Pressão arterial</b>				
Pressão sistólica (mmHg)	115,1 (10,5)	116,6 (10,1)	115,5 (11,8)	0,556
Pressão diastólica (mmHg)	70,7 (8,8)	72,6 (8,9)	71,6 (8,1)	0,290

Os dados estão expressos como média e (desvio padrão) ou n e (%);

<sup>a</sup>Mediana e (amplitude interquartil); <sup>b</sup>Teste Kruskal-Wallis; <sup>c</sup>Teste exato de Fisher; <sup>e</sup> Ins/Ins difere significativamente de Del/Del: P<sub>Bonferroni</sub> = 0,037; <sup>f</sup> Ins/Del difere significativamente de Del/Del: P<sub>Bonferroni</sub> = 0,007.

*Gênero, glicemia (mg/dl) e triglicerídeos (mg/dl)* também foram associados aos desfechos (pressão sistólica e pressão diastólica) com um valor P menor do que 0,2. Dessa forma, essas variáveis foram consideradas potenciais confundidores nas análises subsequentes.

A Tabela 7 mostra as comparações entre as características clínicas e laboratoriais da amostra em relação ao polimorfismo rs699 do gene *AGT*. Detectamos uma associação do polimorfismo com o tabagismo, onde os indivíduos heterozigotos GA apresentavam maior frequência de tabagismo ( $p=0,009$ ). Não observamos associação desta variante com o consumo de micronutrientes da dieta. Também não detectamos associação com os valores bioquímicos e medidas antropométricas entre os genótipos do polimorfismo.

Na comparação dos valores de PA em relação ao polimorfismo rs699, observamos uma associação, onde a média da PA Sistólica (PAS) foi maior em indivíduos GG quando comparados aos homozigotos AA ( $p=0,028$ ).

**Tabela 7** – Características clínicas e laboratoriais da amostra de acordo com o polimorfismo rs699 do gene *AGT*

	AGT rs699			Valor P
	GG (n = 65)	GA (n = 155)	AA (n = 121)	
Idade (anos)	25,1 (5,7)	25,8 (7,4)	25,5 (6,1)	0,784
Gasto calórico (kcal)	367,5 (943,6) <sup>a</sup>	334,2 (835,5) <sup>a</sup>	343,8 (759,0) <sup>a</sup>	0,772 <sup>b</sup>
Gênero (homem)	16 (24,6)	39 (25,2)	17 (14,0)	0,066
Tabagismo <i>lifetime</i> (sim)	1 (1,5)	12 (7,7)	1 (0,8)	0,009 <sup>c,d</sup>
Uso de álcool (sim)	36 (55,4)	93 (60,0)	68 (56,2)	0,743
<b>Recordatório de 24 horas</b>				
Sódio (mg R24 horas)	1972,3 (1092,8)	1820,6 (1022,5)	1922,8 (1191,1)	0,589
Potássio (mg R24 horas)	1901,8 (830,8)	1919,5 (893,4)	1936,6 (763,5)	0,964
Cálcio (mg R24 horas)	598,5 (356,9)	660,6 (353,4)	652,5 (415,3)	0,536 <sup>b</sup>
Magnésio (mg R24 horas)	244,9 (113,1)	244,8 (156,3)	244,6 (121,6)	0,999
<b>Bioquímica</b>				
Glicemia (mg/dl)	85,2 (7,0)	86,7 (8,0)	87,3 (7,5)	0,200
Colesterol total (mg/dl)	171,2 (37,2)	175,3 (39,4)	178,2 (43,2)	0,531
Colesterol HDL (mg/dl)	60,8 (17,1)	60,3 (15,0)	63,3 (17,0)	0,308
Colesterol LDL (mg/dl)	91,8 (34,6)	95,8 (29,8)	97,0 (36,5)	0,593 <sup>b</sup>
Triglicerídeos (mg/dl)	89,5 (49,0) <sup>a</sup>	82,0 (50,0) <sup>a</sup>	87,0 (56,0) <sup>a</sup>	0,924 <sup>b</sup>
<b>Parâmetros antropométricos</b>				
Peso (kg)	67,8 (14,1)	68,5 (14,4)	66,0 (12,4)	0,299
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,3 (4,4)	24,0 (4,2)	23,8 (3,9)	0,689
Cintura (cm)	75,0 (10,0)	76,0 (10,4)	74,8 (9,3)	0,608
RCQ	0,76 (0,08)	0,76 (0,07)	0,75 (0,06)	0,371 <sup>b</sup>
Gordura corporal (%)	25,9 (6,9)	26,5 (7,0)	27,4 (5,5)	0,302
<b>Pressão arterial</b>				
Pressão sistólica (mmHg)	117,5 (12,1)	116,9 (12,0)	113,8 (9,3)	0,028 <sup>§</sup>
Pressão diastólica (mmHg)	71,8 (9,6)	72,5 (8,8)	71,1 (7,7)	0,414

Os dados estão expressos como média e (desvio padrão) ou n e (%);

<sup>a</sup>Mediana e (amplitude interquartil); <sup>b</sup>Teste Kruskal-Wallis; <sup>c</sup>Teste exato de Fisher; <sup>d</sup>GA difere significativamente de AA: P<sub>Bonferroni</sub> = 0,009; <sup>§</sup>GG difere significativamente de AA: P<sub>Bonferroni</sub> = 0,045.

*Gênero, glicemia (mg/dl) e triglicerídeos (mg/dl)* também foram associados aos desfechos (pressão sistólica e pressão diastólica) com um valor P menor do que 0,2. Dessa forma, essas variáveis foram consideradas potenciais confundidores nas análises subsequentes.

As interações gene x dieta foram testadas a partir do teste de Regressão Múltipla. Foram analisadas as interações dos polimorfismos com o consumo de micronutrientes sobre os valores de PA. A Tabela 8 mostra as relações testadas e o Gráfico 1 representa os resultados significativos.

Para o polimorfismo InsDel do gene *ACE* não detectamos nenhuma interação com o consumo de micronutrientes sobre os desfechos de PA. Já para o polimorfismo rs699 do gene *AGT* observamos uma interação entre o genótipo GA e o consumo de cálcio ( $p=0,022$ ), onde o aumento do consumo de cálcio foi relacionado ao aumento da PAD. Detectamos outra interação com o mesmo heterozigoto com o consumo de magnésio ( $p=0,006$ ), onde o aumento no consumo de magnésio foi relacionado à diminuição da PAD.

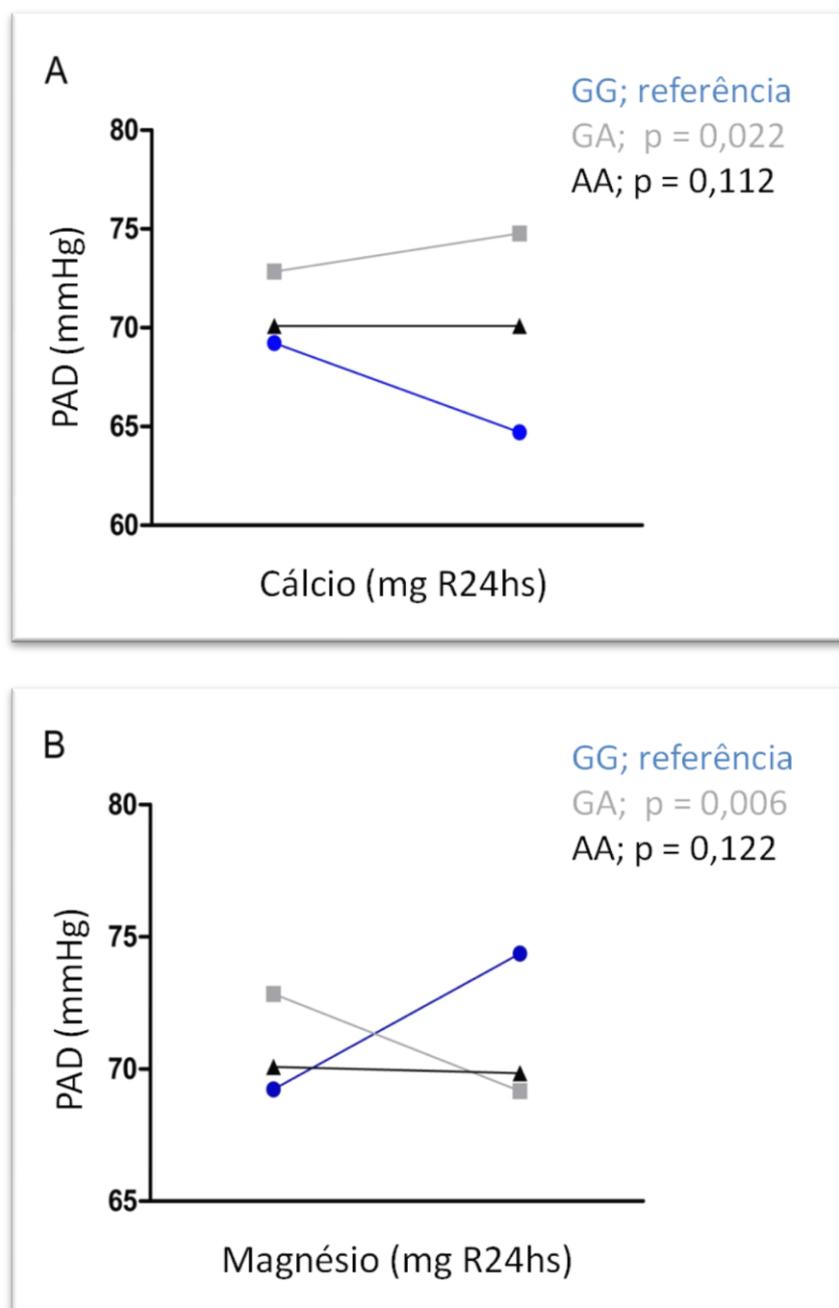
TABELA 8 – Interações do polimorfismo InsDel\*nutriente e polimorfismo rs699\*nutriente sobre a pressão arterial (modelo com duas *dummies* representando os 3 genótipos de cada polimorfismo)

	$R^2$ ajustado	B	Valor P	beta
<b>Pressão Sistólica (mmHg)</b>				
	0,161		<0,000001	
Constante		102,096		
ACE (Ins/Del)		2,169	0,149985	0,096
ACE (Del/Del)		0,637	0,682531	0,027
AGT (GA)		-0,554	0,716519	-0,025
AGT (AA)		-2,500	0,118390	-0,106
Gênero		10,724	<0,000001	0,391
<b>Pressão Diastólica (mmHg)</b>				
	0,022608		0,066416	
Constante		69,226		
ACE (Ins/Del)		1,826	0,145795	0,106
ACE (Del/Del)		0,618	0,633545	0,034
AGT (GA)		3,615	0,239928	0,210
AGT (AA)		0,859	0,790511	0,048
Cálcio (mg R24h)		-0,007	0,088616	-0,291
Magnésio (mg R24h)		0,021	0,086646	0,335
<b>Interações</b>				
AGT (GA)*Cálcio (mg R24h)		0,010	0,022279	0,482
AGT (AA)*Cálcio (mg R24h)		0,007	0,112033	0,325
AGT (GA)*Magnésio (mg R24h)		-0,036	0,006446	-0,679
AGT (AA)*Magnésio (mg R24h)		-0,022	0,122389	-0,352

Procedimento *backward*.

Termos de interação inseridos nos modelos iniciais: *ACE* (Ins/Del)\*sódio, *ACE* (Del/Del)\*sódio, \*potássio, \*cálcio, \*magnésio, *AGT*(GA)\*sódio, *AGT* (AA)\*sódio, \*potássio, \*cálcio e \*magnésio.

GRÁFICO 1 - Interpretação dos termos de interação significativos descritos na Tabela 8



Os termos de interação foram interpretados a partir da equação geral de regressão  $y = a + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_1x_2$ . Depois que a reta de regressão foi estimada para cada genótipo,  $x_2$  (cálcio mg R 24 horas) e  $x_2$  (magnésio mg R 24 horas) foram substituídos por 646,1 e 244,8 (médias de consumo de cálcio e de magnésio na amostra estudada, Tabela 4).

Analizamos a interação gene x gene, na qual, os valores de PA foram ajustados para gênero, glicemia e triglicerídeos, mas não detectamos associação para as interações testadas.

## 5 DISCUSSÃO

O Sistema Renina-Angiotensina (RAS) é uma cascata de peptídeos (proteínas) que controlam a homeostase eletrolítica, pressão arterial (PA) e secreção hormonal (ABADIR et al, 2012). Em relação aos nossos resultados, ao analisarmos os polimorfismos InsDel do gene *ACE* e rs699 do gene *AGT* com hábitos de vida, detectamos associações com o uso de álcool e tabagismo. Observamos uma associação significativa com o polimorfismo InsDel e o uso de álcool, sendo que indivíduos com o genótipo Del/Del apresentavam maior uso. Detectamos também uma associação do polimorfismo rs699 com o tabagismo, onde indivíduos heterozigotos GA apresentavam maior frequência de tabagismo. Em relação ao tabagismo com o polimorfismo rs699 (*AGT*) outros dois estudos também detectaram esta associação (KIM et al, 2014; GATTI et al, 2013). Evidências a partir de estudos em modelos animais e ensaios clínicos sugerem que o RAS esteja envolvido nas complexas funções cerebrais, como a dependência do uso de substâncias psicoativas (álcool e tabagismo). Para o desenvolvimento deste tipo de dependência, são mediadas ações de um sistema hormonal (hormônio liberador de corticotropina), sendo que o RAS interage com o hipotálamo e com este sistema hormonal (SOOMER & SAAVEDRA, 2008). Ainda assim, achados sugerem que os receptores de angiotensina II (receptor AT<sub>1</sub>) modulam a sensibilidade dos receptores de dopamina D2 os quais se relacionam com a ação do consumo de álcool (MOORE et al, 2007). Considerando as relações descritas do RAS com as funções hormonais e cerebrais, podemos pensar que estes polimorfismos podem estar modulando o comportamento e

consequentemente os fatores ambientais aos quais os indivíduos estarão expostos. Ao mesmo tempo em que estes fatores ambientais também são importantes fatores de risco para o desenvolvimento da HAS.

Comparamos também o consumo de micronutrientes (sódio, potássio, cálcio e magnésio) com os dois polimorfismos. Nossos resultados mostraram uma associação do polimorfismo InsDel do gene *ACE* com o consumo de cálcio. Indivíduos Del/Del consomem menos cálcio, quando comparados aos indivíduos heterozigóticos; sendo que esta média de consumo é inferior aos parâmetros recomendados. Estes resultados corroboram a ideia de que o consumo de cálcio está relacionado com o comportamento alimentar. Quando o consumo de cálcio é baixo, é desencadeada uma resposta hormonal para que o consumo alimentar aumente e a partir de fontes alimentares ricas em cálcio as quantidades deste nutriente possam ser repostas a normalidade; porém, o que acontece é uma maior sensação de fome a qual pode então proporcionar o aumento de peso (CHAPUT et al, 2014). Contribuindo com esta hipótese o genótipo Del/Del já foi associado em muitos trabalhos com fenótipos da obesidade e hipertensão (MAO & HUANG, 2013). Talvez as associações detectadas com este gene estejam mais relacionadas com o comportamento alimentar em si, desencadeando suscetibilidade para as patologias classicamente associadas com este polimorfismo.

Não detectamos associação com as medidas antropométricas e bioquímicas com ambos os polimorfismos analisados. Estes resultados poderiam ser paradoxais à hipótese descrita anteriormente com obesidade. No entanto, considerando que a nossa amostra é bastante jovem, poderíamos pensar que estes indivíduos ainda possam desenvolver obesidade e HAS no futuro.

Em relação às comparações dos polimorfismos com os valores de PA, não detectamos associação com o polimorfismo InsDel (*ACE*), mas detectamos com o polimorfismo rs699 (*AGT*). Indivíduos homozigotos GG apresentam maior PA Sistólica (PAS) quando comparados aos indivíduos AA. A associação dos polimorfismos InsDel e rs699 dos respectivos genes *ACE* e *AGT* já foram extensivamente estudados conforme descritas nas Tabelas 1 e 2. Em relação ao polimorfismo InsDel os resultados são controversos, pois aproximadamente

metade dos estudos não detecta associação com estes desfechos. Nós também não detectamos esta associação. Uma possível explicação é que realmente este polimorfismo não influencie neste desfecho na nossa amostra. Mas também podemos pensar que este polimorfismo esteja influenciando o comportamento alimentar, portanto a idade do indivíduo e outros fatores ambientais, podem estar modulando a suscetibilidade ao desenvolvimento de HAS.

Em relação ao gene *AGT* detectamos associação do genótipo GG com maiores valores de PAS. Comparando com os dados da literatura descritos na Tabela 2 também observamos resultados contraditórios. Dentre os trabalhos que detectaram associação, a maioria foi com o genótipo AA. Embora MOHANA e cols (2012) e GUI-YAN e cols (2006) mostraram associação com o mesmo genótipo associado no presente estudo.

#### **- Interação Gene x Dieta na Pressão Arterial**

Estudos que relacionam fatores genéticos e dietéticos sobre o desfecho de PA ainda são poucos e inconsistentes. Nosso estudo analisou indivíduos adultos, jovens, sem patologias aparentes afim de contribuir para elucidar a influencia genética no complexo sistema de controle da PA.

Em nossos resultados, não observamos a interação dos polimorfismos InsDel (*ACE*) ou rs699 (*AGT*) aliados ao consumo de sódio ou potássio sobre o desfecho dos valores de PA. Alguns estudos descreveram associação do polimorfismo InsDel do gene *ACE* com a sensibilidade ao sal (YAMAGISHI et al, 2007; ZHANG et al, 2006; KLEIJ et al, 2002; POCH et al, 2001). Para o polimorfismo rs699 do gene *AGT* apenas um estudo detectou associação, porém o sódio foi medido pela excreção via urina, e não pelo consumo alimentar (NORAT et al, 2008). Outro estudo, analisou a intervenção com o modelo da dieta DASH, que tem como papel reduzir o consumo de sódio e aumentar o consumo de potássio, e sua interação com os polimorfismos InsDel (*ACE*) e rs699 (*AGT*). Os autores observaram uma interação com o polimorfismo rs699, onde indivíduos AA durante a dieta DASH reduziram os valores de PA (SVETKEY et al, 2001).

Em relação a interação dos polimorfismos com o consumo de cálcio e magnésio sobre os valores de PA, detectamos apenas associação do polimorfismo rs699 (*AGT*) com o consumo de cálcio e magnésio sobre o desfecho da PA Diastólica (PAD). Indivíduos com o genótipo GA com o maior consumo de cálcio obtiveram maiores valores de PAD; sendo que os mesmos indivíduos heterozigotos com o maior consumo de magnésio obtiveram menores valores de PAD. Entretanto é importante ressaltar que os valores médios de PAD estão normais de acordo com os padrões recomendados por WHO (2013). Bem como, também é importante citar que a média do consumo de cálcio e magnésio estão abaixo dos valores recomendados (Tabela 4). Valores estipuladas pela EAR preconizam o consumo de 1000 mg/dia de cálcio para ambos os gêneros e para magnésio, 255 mg/dia para mulheres e 330 mg/dia para homens (IOF, 2011).

Não encontramos na literatura outros estudos analisando a interação dos polimorfismos InsDel (*ACE*) e rs699 (*AGT*) com o consumo de cálcio e magnésio sobre os valores de PA. Entretanto, outros trabalhos analisam a importância destes micronutrientes na PA. O consumo de cálcio e magnésio é relacionado inversamente com os valores de PA, ou seja, quanto maior o consumo dos nutrientes, menor os valores de PA (KASS et al, 2012; TORRES & SANJULIANI, 2011; JEE et al, 2002). Os nossos resultados corroboram a relação no consumo de magnésio, na qual observamos que indivíduos com genótipo GA e maior consumo de magnésio obtiveram uma diminuição dos valores de PAD. No entanto, os mesmos indivíduos heterozigotos no aumento do consumo de cálcio obtiveram maiores valores de PAD. Nos nossos achados a média do consumo de cálcio é inferior ao recomendado, e pode haver uma relação entre o baixo consumo do nutriente e o aumento dos valores de PA. No consumo inferior de cálcio a vitamina D permanece ativa e em altas concentrações, e esta ação permite a entrada excessiva de íons de cálcio no músculo esquelético vascular, o qual promove uma vasoconstrição e então o aumento nos valores de PA (CENTENO et al, 2009).

O fato de termos detectado associação apenas com genótipo heterozigoto nos faz pensar em duas hipóteses. Talvez para polimorfismo, o genótipo heterozigoto esteja relacionado com um função biológica diferencial

que ainda não está elucidada. De encontro a esta ideia, outros estudos de associação já descreveram resultados positivos com este genótipo. Gatti e cols (2013) detectaram associação com o genótipo heterozigoto do polimorfismo rs699 (*AGT*) com HAS. Os autores descrevem que indivíduos GA possuem um risco de até 58% mais chances de desenvolver a doença. Outro estudo também descreve uma associação com o heterozigoto da variante, porém não com valores de PA ou HAS. Assareh e cols (2014) analisaram uma amostra de idosos australianos com lesão cerebral e indicaram um maior volume da lesão em indivíduos com o genótipo GA quando comparados aos AA, mas somente na parcela masculina. Outra possibilidade para explicar os resultados com o heterozigoto estão relacionadas a funcionalidade do polimorfismo, pois este polimorfismo não está localizado perto do sítio de clivagem da proteína AGT (ASSAREH et al, 2014). Sugere-se então, que a variante não seja funcional, mas sim de que, possa estar em desequilíbrio de ligação com outros polimorfismos do gene (-6G-A, -532C-T e 174T-M) e estes influenciam a expressão da proteína (BRAND et al, 2002). Muitas variantes gênicas do RAS podem estar atuando de forma conjunta até a modulação da PA.

### **Considerações Finais**

O estudo observou associações já descritas, bem como outras inovadoras. Foram associados ao polimorfismo InsDel do gene *ACE* o uso de bebidas alcoólicas e o consumo de cálcio. Já o polimorfismo rs699 do gene *AGT* observamos associações com o tabagismo, valores de PAS, e a interação com o consumo de cálcio e magnésio na modulação dos valores de PAD. Os nossos resultados indicam que indivíduos brasileiros de genótipo GA para o polimorfismo rs699 (*AGT*) com maior consumo de cálcio obtiveram valores aumentados de PAD, e com maior consumo de magnésio menores valores de PAD.

As investigações sobre a regulação dos valores de PA aliados a fatores nutrigenéticos ainda não estão claros. Na prática clínica as diferenças encontradas tanto para a média do consumo de cálcio e magnésio quanto para os valores de PA, quando comparadas às recomendações, são mínimas. Salienta-se ainda, a variabilidade do consumo alimentar, uso de

suplementação ou outras dietas existentes, interferências medicamentosas e a prática ou não de exercícios físicos. Muitas variáveis podem interferir na modulação da PA o que dificulta a interpretação dos dados, de forma correta, na realização da análise de uma pesquisa.

Uma das limitações do nosso estudo é não ter avaliado as relações de interação gene x dieta, em um consumo adequado dos micronutrientes. Verificar se as associações se mantêm em um consumo adequado também pode ser importante para estabelecer recomendações no futuro. Analisar os fatores nutrigenéticos em indivíduos com a HAS pode ser uma perspectiva para estudos futuros.

## 6 CONCLUSÃO

Após a análise entre os polimorfismos de genes que codificam proteínas de um sistema importante no controle da pressão arterial, com o consumo alimentar e sua influência sobre os valores de pressão arterial, pôde-se observar diversos efeitos e associações. As interações dos polimorfismos com a dieta nos remete ao fato de que cada indivíduo é único e pode apresentar respostas dietéticas diferentes de acordo com seu genótipo.

É importante ressaltar que, apesar de todos os esforços para entender a ação de polimorfismos na patologia aliados aos fatores ambientais, estes ainda são insuficientes para determinar o risco clínico individual da doença. Ainda há muitos fatores para serem entendidos antes que esta informação possa ser traduzida em benefícios na prática em saúde. Sendo assim, análises mais extensas com forte impacto estatístico são necessárias para a elucidação da influência da interação gene x dieta na etiologia da HAS na população brasileira e para afirmar novas estratégias de prevenção e tratamento.

## REFERÊNCIAS

AARON, Kristal J & SANDERS, Paul W. Role of dietary salt and potassium intake in cardiovascular health and disease: A review of the evidence. **Mayo Clin Proceedings**. 2013 set 1; 88(9): 1-17.

ABADIR, Peter M; WALSTON, Jeremy D; CAREY, Robert M. Subcellular characteristics of functional intracellular renin–angiotensin systems. **Peptides**. 2012 set 29; 38:437-45.

ACE gene. **Gene Cards**. The human gene compendium, EUA, 2014. Disponível em: <<http://www.genecards.org/>> Acesso em: 10 set. 2014.

Academy of Nutrition and Dietetics - ADA. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Nutritional Genomics. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**. 2014; 114: 299-312.

ALVI, FM & HASNAIN, S. ACE I/D and G2350A polymorphisms in Pakistani hypertensive population of Punjab. **Clinical and Experimental Hypertension**. 2009 jul; 31(5): 471-480.

AGACHAN, Bedia; ISBIR, Turgay; YILMAZ, Hulya; AKOGLU, Emel. Angiotensin converting enzyme I/D, angiotensinogen T174M-M235T and angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphisms in Turkish hypertensive patients. **Experimental and Molecular Medicine**. 2003 dec; 35(6): 545-549.

AGT gene. **Gene Cards**. The human gene compendium, EUA, 2014. Disponível em: <<http://www.genecards.org/>> Acesso em: 10 set. 2014.

ARAÚJO, Messias Antônio; MENEZES, Bruno Soares; LOURENÇO, Clauber; CORDEIRO, Elisângela Rosa; GATTI, Renata Ríspoli; GOULART, Luiz Ricardo. O gene do angiotensinogênio (M235T) e o infarto agudo do miocárdio. **Revista da Associação Médica Brasileira**. 2005; 51(3): 164-169.

ASSAREH, Amelia A; MATHER, Karen A; CRAWFORD, John D; WEN, Wei; ANSTEY, Kaarin J; EASTEAL, Simon; et al. Renin–Angiotensin System Genetic Polymorphisms and Brain White Matter Lesions in Older Australians. **American Journal of Hypertension**. 2014 Feb 5; 1-8.

BARBALIC, M; SKARIC-JURIC, T; CAMBIEN, F; BARBAUX, S; POIRIER, O; TUREK, S; et al. Gene polymorphisms of the renin-angiotensin system and early development of hypertension. **American Journal of Hypertension**. 2006 Aug;19(8):837-842.

BASSON, Jacob; SIMINO, Jeannette; RAO, DC. Between candidate genes and whole genomes: Time for alternative approaches in blood pressure genetics. **Current Hypertension Reports**. 2012; 14: 46-61.

BAUTISTA, Leonelo E; VARGAS, Clara I; ORÓSTEGUI, Myriam; GAMARRA, Germán. Population- based case-control study of renin-angiotensin system genes polymorphisms and hypertension among Hispanics. **Hypertension Research**. 2008; 31: 401-408.

BEDIR, A; ARIK, N; ADAM, B; KILINC, K;GUMUS, T; GUNER, E. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and activity in Turkish patients with essential hypertension. **American Journal of Hypertension**. 1999 oct; 12(10): 1038-1043.

BODIGA, Vijaya Lakshmi & BODIGA, Sreedhar. Renin angiotensin system in cognitive function and dementia. **Asian Journal of Neuroscience**. 2013 aug 13: 1-18.

BONFIM-SILVA, Ricardo & RIOS, Domingos Lázaro Souza. Polimorfismos genéticos do sistema renina-angiotensina-aldosterona na doença arterial coronariana e na hipertensão arterial sistêmica. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. 2012; 10(1): 28-40.

BRAND, Eva, CHATELAIN, Nathalie, PAILLARD, Françoise, TIRET, Laurence, VISVIKIS, Sophie, LATHROP, Mark, et al. Detection of putative functional angiotensinogen (AGT) gene variants controlling plasma AGT levels by combined segregation-linkage analysis. **European Journal of Human Genetics**. 2002 jul 10; 10: 715-723.

CASTELLANO, Maurizio; GLORIOSO, Nicola; CUSI, Daniele; SARZANI, Riccardo; FABRIS, Bruno; OPOCHER, Giuseppe; et al. Genetic polymorphism of the renin–angiotensin–aldosterone system and arterial hypertension in the

Italian population: the GENIPER Project. **Journal of Hypertension**. 2003; 21: 1853-1860.

CENTENO, Viviana; BARBOZA, Gabriela Díaz de; MARCHIONATTI, Ana; RODRÍGUEZ, Valeria; TALAMONI, Nori Tolosa de. Molecular mechanisms triggered by low-calcium diets. **Nutrition Research Reviews**. 2009; 22, 163-74.

CHAND, M Gobi; SRINATH, J; RAO, RS; LAKKAKULA, Bhaskar VKS; KUMAR, Satish; RAO, VR. Association Between the M268T Polymorphism in the Angiotensinogen Gene and Essential Hypertension in a South Indian Population. **Biochemical Genetics**. 2011; 49: 474–482.

CHAPUT, Jean-Philippe; PERUSSE, Louis; DESPRES, Jean-Pierre; TREMBLAY, Angelo; BOUCHARD, Claude. Findings from the Quebec Family Study on the Etiology of Obesity: Genetics and Environmental Highlights. **Current Obesity Reports**. 2014 jan 4; 3:54–66.

CHARITA, Bh; PADMA, G; SUSHMA, P; DEEPAK, P; PADMA, T. Estimation of risk and interaction of single nucleotide polymorphisms at angiotensinogen locus causing susceptibility to essential hypertension: a case control study. **Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System**. 2012 may 8; 13(4): 461-471.

CHIANG, FT; CHERN, TH; LAI, ZP; TSENG, CD; HSU, KL; LO, HM; TSENG, YZ. Age- and gender-dependent association of the angiotensin-converting enzyme gene with essential hypertension in a Chinese population. **Journal of Hypertension**. 1996 dec; 10(12): 823-826.

CHOWDHURY, AH; ZAMAN, MM; HAQUE, KM; ROUF, MA; SHAH, AT; NAKAYAMA, T; et al. Association of angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism with hypertension in a Bangladeshi population. **Bangladesh Medical Research Council Bulletin**. 1998 dec; 24(3): 55-59.

CLARK, Catherine J; DAVIES, Eleanor; ANDERSON, Niall H; FARMER, Rosemary; FRIEL, Elaine C; FRASER, Robert; CONNELL, John MC. a-Adducin and angiotensin i-converting enzyme polymorphisms in essential hypertension. **Hypertension**. 2000; 36: 990-994.

DAL BOSCO, Simone Morelo; SIPPEL, Crislene Aschebrock; BASTIAN, Rafaela Mundstock de Azvedo. **Avaliação Nutricional**. In: DAL BOSCO, Simone Morelo; GENRO, Júlia Pasqualini. *Nutrigenética e implicações na saúde humana*. São Paulo: Atheneu, 2014. p 23-42

DAS, Undurti N. Nutritional factors in the pathobiology of human essential hypertension. **Nutrition**. 2001; 17(4): 337-46.

DELL'OMO, Giulia; PENNO, Giuseppe; PUCCI, Laura; LUCCHESI, Daniela; FOTINO, Carmen; DEL PRATO, Stefano; PEDRINELLI, Roberto. *ACE gene insertion/deletion polymorphism modulates capillary permeability in hypertension*. **Clinical Science**. 2006; 111: 357–364.

DENGEL, Donald R; BROWN, Michael D; FERRELL, Robert E; SUPIANO, Mark A. Role of angiotensin converting enzyme genotype in sodium sensitivity in older hypertensives. **American Journal of Hypertension**. 2001 dec; 14(12): 1178-1184.

FATINI, G; ABBATE, R; PEPE, G; BATTAGLINI, B; GENSINI, F; RUGGIANO, G; et al. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms. **European Heart Journal**. 2000; 21: 633–638.

FENECH, Michael; EL-SOHEMY, Ahmed; CAHILL, Leah; FERGUSON, Lynnette R; FRENCH, Tapaeru-Ariki C; TAI, E Shyong; et al. Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**. 2011 may 28; 4: 69-89.

FERRÃO, Fernanda M; LARA, Lucienne S; LOWE, Jennifer. Renin-angiotensin system in the kidney: What is new? **World Journal of Nephrology**. 2014 aug 6; 3(3): 64-76.

FORNAGE, M; TURNER, ST; SING, CF; BOERWINKLE, E. Variation at the M235T locus of the angiotensinogen gene and essential hypertension: a population-based case-control study from Rochester, Minnesota. **Human Genetic**. 1995 sep; 96(3): 295-300.

FORRESTER, Terrence; MCFARLANE-ANDERSON, Norma; BENNETT, Franklyn I; WILKS, Rainford; COOPER, Richard; ROTIMI, Charles; et al. The angiotensin converting enzyme and blood pressure in Jamaicans. **American Journal of Hypertension**. 1997; 10: 519-524.

FREITAS, Silvia Regina Sampaio; CABELLO, Pedro Hernan; MOURA-NETO, Rodrigo Soares; DOLINSKY, Luciana Cresta; BÓIA, Marcio Neves. Análise combinada de fatores genéticos e ambientais na hipertensão essencial em um município da região amazônica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2007; 88(4): 447-451.

FRIEDEWALD, William T; LEVY, Robert I; FREDRICKSON, Donald S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**. 1972 jun; 18(6): 499-502.

FROSSARD, PM; HILL, SH; ELSHAHAT, YI; OBINECHE, EN; BOKHARI, AM; LESTRINGANT, GG; et al. Associations of angiotensinogen gene mutations with hypertension and myocardial infarction in a gulf population. **Clinical Genetics**. 1998 oct; 54(4): 285-293.

GATTI, Renata R; SANTOS, Paula S; SENA, Angela AS; MARANGONI, Karina; ARAÚJO, Messias A; GOULART, Luiz R. The interaction of *AGT* and *NOS3* gene polymorphisms with conventional risk factors increases predisposition to hypertension. **Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System**. 2013; 14(4): 360-368.

GESANG, Luobu; LIU, Guozhang; CEN, Weijun. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and its association with essential hypertension in a Tibetan Population. **Hypertension Research**. 2002 mar 6; 25: 481-485.

GHAZALI, Dzuzaini; REHMAN, Asia; RAHMAN, Abdul Rashid A. Candidate gene polymorphisms and their association with hypertension in Malays. **Clinica Chimica Acta**. 2008; 388: 46–50.

GINER, V; CORELLA, D; CHAVES, FJ; PASCUAL, JM; PORTOLÉS, O; MARÍN, P; et al. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and

essential hypertension in the Spanish population. **Medicina Clinica (Barc)**. 2001 nov 3; 117(14): 525-529.

GINER, Vicente; POCH, Esteban; BRAGULAT, Ernesto; ORIOLA, Josep; GONZÁLEZ, Daniel; COCA, Antonio; SIERRA, Alejandro de la. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension. **Hypertension**. 2000; 35: 512-517.

GLAVNIK, N & PETROVIC, D. M235T polymorphism of the angiotensinogen gene and Insertion/Deletion polymorphism of the angiotensin-1 converting enzyme gene in essential arterial hypertension in Caucasians. **Folia Biologica (Praha)**. 2007 feb 13; 53: 69-70.

GUI-YAN, W; YAN-HUA, W; QUN, X; WEI-JUN, T; MING-LING, G; JIAN, W; et al. Associations between RAS Gene polymorphisms, environmental factors and hypertension in Mongolian people. **European Journal of Epidemiology**. 2006; 21(4): 287-292.

HA, Sung Kyu. Dietary salt intake and hypertension. **Electrolyte Blood Press**. 2014 jun 17; 12: 7-18.

HADDY, Francis J; VANHOUTTE, Paul M; FELETOU, Michel. Role of potassium in regulating blood flow and blood pressure. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. 2006; 290: R546-R552.

HAMADA, Taku; KOTANI, Kazuhiko; NAGAI, Narumi; TSUZAKI, Kokoro; SANO, Yoshiko; MATSUOKA, Yukiyo; et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and obesity-related metabolic changes in response to low-energy diets in obese women. **Nutrition**. 2011; 27: 34-39.

HATA, Akira; NAMIKAWA, Chisato; SASAKI, Makoto; SATO, Koichi; NAKAMURA, Takamichi; TAMURA, Kohji; LALOUEL, Jean-Marc. Angiotensinogen as a Risk Factor for Essential Hypertension in Japan. **The Journal of Clinical Investigation**. 1994; 93: 1285-1287.

HEGELE, Robert A; JUGENBERG, Martin; CONNELLY, Philip W; JENKINS, David JA. Evidence for gene-diet interaction in the response of blood pressure to dietary fibre. **Nutrition Research**. 1997; 17(8): 1229-1238.

HERMANSEN, Kjeld. Diet, blood pressure and hypertension. **British Journal of Nutrition**. 2000; 83(1): S113-S119.

HIGAKI, Jitsuo; BABA, Shunroku; KATSUYA, Tomohiro; SATO, Noriyuki; ISHIKAWA, Kazuhiko; MANNAMI, Toshihumi; et al. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene increase risk of essential hypertension in Japanese men: The Suita Study. **Circulation**. 2000; 101: 2060-2065.

HIRAGA, H; OSHIMA, T; WATANABE, M; ISHIDA, M; ISHIDA, T; SHINGU, T; et al. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and salt sensitivity in essential hypertension. **Hypertension**. 1996 mar; 27(3): 569-572.

HRUBY, Adela; O'DONNELL, Christopher J; JACQUES, Paul F; MEIGS, James B; HOFFMANN, Udo; MCKEOWN, Nicola M. Magnesium intake is inversely associated with coronary artery calcification. **The Journal of the American College of Cardiology Imaging**. 2014 jan; 7(1): 59-69.

Institute Of Medicine - IOF. **Dietary Reference Intakes - DRIs**. Washington, National Academies Press. 2011.

ISHIGAMI, T; IWAMOTO, T; TAMURA, K; YAMAGUCHI, S; IWASAWA, K; UCHINO, K; et al. Angiotensin I converting enzyme (ACE) gene polymorphism and essential hypertension in Japan. Ethnic difference of ACE genotype. **American Journal of Hypertension**. 1995 jan; 8(1): 95-97.

JEE, Sun Ha; MILLER, Edgar R; GUALLAR, Eliseo; SINGH, Vikesh K; APPEL, Lawrence J; KLAG, Michael J. The effect of magnesium supplementation on blood pressure: A meta-analysis of randomized clinical trials. **American Journal of Hypertension**. 2002; 15: 691-696.

JEUNEMAITRE, Xavier; SOUBRIER, Florent; KOTELEVTSSEV, Yuri V; LIFTON, Richard P; WILLIAMS, Christopher S; CHARRU, Anne; et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. **Cell**. 1992 oct 2; 71: 169-180.

JI, Lin-dan; ZHANG, Li-na; SHEN, Peng; WANG, Ping; ZHANG, Yue-miao; XING, Wen-hua; XU, Jin. Association of angiotensinogen gene M235T and angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphisms with essential hypertension in Han Chinese population: a meta-analysis. **Journal of Hypertension**. 2010; 28: 419-28.

JIANG, X; SHENG H; LI, J; XUN, P; CHENG, Y; HUANG, J; et al. Association between renin–angiotensin system gene polymorphism and essential hypertension: a community-based study. **Journal of Human Hypertension**. 2009; 23: 176–181.

JOHNSON, Andrew D; NEWTON-CHEH, Christopher; CHASMAN, Daniel I; EHRET, Georg B; JOHNSON, Toby; ROSE, Lynda; et al. Association of hypertension drug target genes with blood pressure and hypertension in 86,588 individuals. **Hypertension**. 2011 may; 57(5): 903-910.

JOHNSON, Anthony G; NGUYEN, Tuan V; DAVIS, Darren. Blood pressure is linked to salt intake and modulated by the angiotensinogen gene in normotensive and hypertensive elderly subjects. **Journal of Hypertension**. 2001; 19: 1053-1060.

KASS, L; WEEKES, J; CARPENTER, L. Effect of magnesium supplementation on blood pressure: a meta-analysis. **European Journal of Clinical Nutrition**. 2012; 66: 411-418.

KIM, Hyung-Ki; LEE, Hwayoung; KWON, Jun-Tack; KIM, Hak-Jae. A polymorphism in *AGT* and *AGTR1* gene is associated with lead-related high blood pressure. **Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System**. 2014 jul 16; 1-8.

KLEIJ, Frank GH; JONG, Paul E de; HENNING, Rob H; ZEEUW, Dick de; NAVIS, Gerjan. Enhanced responses of blood pressure, renal function, and aldosterone to angiotensin I in the DD genotype are blunted by low sodium intake. **Journal of the American Society of Nephrology**. 2002; 13: 1025-1033.

KUPPER, Nina; WILLEMSSEN, Gonneke; RIESE, Harriette; POSTHUMA, Danielle; BOOMSMA, Dorret I; GEUS, Eco JC. Heritability of daytime ambulatory blood pressure in an extended twin design. **Hypertension**. 2005; 45: 80-85.

LAHIRI, Debomoy K & NURNBERGER, John I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**. 1991; 19(19).

LEVY, Daniel; DESTEFANO, Anita L; LARSON, Martin G; O'DONNELL, Christopher J; LIFTON, Richard P; GAVRAS, Haralambos; et al. Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17: Genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes in subjects from the Framingham Heart Study. **Hypertension**. 2000 jun 28; 36: 477-83.

LIANG, Baoyun; QIN, Lilan; WEI, Huijun; YAN, Yan; SU, Li; WU, Guangliang; et al. AGT M235T polymorphisms and ischemic stroke risk: A meta-analysis. **Journal of the Neurological Sciences**. 2013 jun 19; 331: 118-125.

LIND, Joanne Maree & CHIU, Christine Laiwan. Genetic discoveries in hypertension: steps on the road to therapeutic translation. **Heart**. 2013 mar 8; 99: 1645-51.

LIU, Y; QIU, C; ZHOU, W; ZHENG, Y; HOU, S; CAO, J. Gene polymorphisms of the renin-angiotensin system in essential hypertension. **Chinese Medical Journal (Engl)**. 1999 feb; 112(2): 115-120.

LUDWIG, EH; BORECKI, IB; ELLISON, RC; FOLSOM, AR; HEISS, G; HIGGINS, M; et al. Associations between Candidate Loci AngiotensinConvertitin-g Enzyme and Angiotensinogen with Coronary Heart Disease and Myocardial Infarction: The NHLBI Family Heart Study. **Annals of Epidemiology**. 1997; 7: 3-12.

MAHAN, L. Kathleen & ESCOTT-STUMP, Sylvia. **Krause, alimentos, nutrição e dietoterapia**. 12ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

MAO, Song & HUANG, Songming. A meta-analysis of the association between angiotensin-converting enzyme insertion/ deletion gene polymorphism and the

risk of overweight/obesity. **Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System**. 2013; 0(0): 1-8.

MARTÍNEZ, E; PURAS, A; ESCRIBANO, J; SANCHIS, C; CARRIÓN, L; ARTIGAO, M; et al. Angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphisms, serum ACE activity and blood pressure in a Spanish-Mediterranean population. **Journal of Human Hypertension**. 2000 feb; 14(2): 131-135.

MARTÍNEZ, E; PURAS, A; ESCRIBANO, J; SANCHIS, C; CARRIÓN, L; ARTIGAO, M; et al. Threonines at position 174 and 235 of the angiotensinogen polypeptide chain are related to familial history of hypertension in a Spanish-Mediterranean population. **British Journal of Biomedical Science**. 2002; 59(2): 95-100.

MEHRI, Sounira; MAHJOUR, Sinda; HAMMAMI, Sonia; ZAROUI, Amira; FRIH, Aneur; BETBOUT, Fathi; et al. Renin-angiotensin system polymorphisms in relation to hypertension status and obesity in a Tunisian population. **Molecular Biology Reports**. 2012; 39: 4059-4065.

MOHANA, Vamsi U; SWAPNA, N; SURENDER, Reddy S; VISHNUPRIYA, S; TIRUNILAI, Padma. Gender-related association of AGT gene variants (M235T and T174M) with essential hypertension – a case-control study. **Clinical and Experimental Hypertension**. 2012; 34(1): 38-44.

MONDRY, Adrian; LOH, Marie; LIU, Pengbo; ZHU, Ai- Ling; NAGEL, Mato. Polymorphisms of the insertion / deletion ACE and M235T AGT genes and hypertension: surprising new findings and meta-analysis of data. **BMC Nephrology**. 2005; 6:1.

MONDORF, Ulrich F; RUSS, Andreas; WIESEMANN, Annette; HERRERO, Martina; OREMEK, Gerhard; LENZ, Tomas. Contribution of Angiotensin I Converting Enzyme Gene Polymorphism and Angiotensinogen Gene Polymorphism to Blood Pressure Regulation in Essential Hypertension. **American Journal of Hypertension**. 1998; 11: 174-183.

MOORE, Rosanna; KRSTEW, Elena V; KIRCHHOFF, Jeppe; DAVISSON, Robin J; LAWRENCE, Andrew J. Central overexpression of angiotensin AT1A

receptors prevents dopamine D2 receptor regulation of alcohol consumption in mice. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**. 2007 jul; 31(7): 1128-1137.

MORSLED, Mahboob; KHAN, Haseena; AKHTERUZZAMAN, Sharif. Association between angiotensin i-converting enzyme gene polymorphism and hypertension in selected individuals of the Bangladeshi Population. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**. 2002 may; 35(3): 251-254.

NAKANO, Yukiko; OSHIMA, Tetsuya; HIRAGA, Hiroyuki; MATSUURA, Hideo; KAJIYAMA, Goro; KAMBE, Masayuki. DD genotype of the angiotensin i-converting enzyme gene is a risk factor for early onset of essential hypertension in Japanese patients. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**. 1998; 131: 502-506.

NORAT, Teresa; BOWMAN, Richard; LUBEN, Robert; WELCH, Ailsa; KHAW, Kay Tee; WAREHAM, Nick; BINGHAM, Sheila. Blood pressure and interactions between the angiotensin polymorphism AGT M235T and sodium intake: a cross-sectional population study. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 2008 feb 13; 88:392-7.

NORTON, Gavin R; BROOKSBANK, Richard; WOODIWISS, Angela J. Gene variants of the renin-angiotensin system and hypertension: from a trough of disillusionment to a welcome phase of enlightenment? **Clinical Science**. 2010; 118: 487-506.

ORDOVAS, Jose M & CORELLA, Dolores. Nutritional Genomics. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**. 2004; 5:71–118.

ORTEGA, Enrique Hernandez; FERNANDEZ-ACEITUNO, Alfonso Medina; ESPARRAGON, Francisco JR; PERERA, Octavio Hernandez; NUEZ, Francisco Melian; ESPINOSA, Antonio Delgado; et al. Relevancia de los polimorfismos génicos del sistema renina-angiotensina en la enfermedad coronária. **Revista Espanhola de Cardiologia**. 2002; 55(2): 92-99.

PADMANABHAN, Sandosh, NEWTON-CHEN, Christopher, DOMINICZAK, Anna F. Genetic basis of blood pressure and hypertension. **Trends in Genetics**. 2012 aug; 28(8): 397-408.

PENESOVA, A; CIZMAROVA, E; KVETNANSKY, R; KOSKA, J; SEDLAKOVA, B; KRIZANOVA, O. Insertion/deletion polymorphism on ACE gene is associated with endothelial dysfunction in young patients with hypertension. **Hormone and Metabolic Research**. 2006 sep; 38(9): 592-597.

PHILLIPS, Catherine M. Nutrigenetics and metabolic disease: current status and implications for personalised nutrition. **Nutrients**. 2013 jan10; 5:32-57.

POCH, Esteban; GONZÁLEZ, Daniel; GINER, Vicente; BRAGULAT, Ernesto; COCA, Antonio; SIERRA, Alejandro de la. Molecular basis of salt sensitivity in human hypertension: Evaluation of renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms. **Hypertension**. 2001 set 1; 38: 1204-1209.

PROCOPCIUC, Lucia; POPESCU, T; JEBELEANU, Gh; POP, D; ZDRENGHEA, D. Essential arterial hypertension and polymorphism of angiotensinogen M235T gene. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. 2002 may 8; 6(2): 245-250.

Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. **Utilização da bioimpedância para avaliação da massa corpórea**. Associação Brasileira de Nutrologia e Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral. 2009.

RAGIA, Georgia; NIKOLAIDIS, Eleftherios; TAVRIDOU, Anna; ARVANITIDIS, Kostas I; KANONI, Stavroula; DEDOISSIS, George V; et al. Renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms in coronary artery bypass graft surgery patients. **Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System**. 2010; 11(2): 136-145.

RASYID, Haerani; BAKRI, Syakib; YUSUF, Irawan. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms, blood pressure and pulse pressure in subjects with essential hypertension in a South Sulawesi Indonesian Population. **Acta Medica Indonesiana - The Indonesian Journal of Internal Medicine**. 2012 oct; 44(4): 280-283.

REVANASIDDAPPA, M & BHADAURIA, Dharmendra. The role of genetics in hypertension. **Clinical Queris: Nephrology**. 2013 aug 12; 120-125.

RIGAT, Brigitte; HUBERT, Christine; ALHENC-GELAS, François; CAMBIEN, François; CORVOL, Pierre; SOUBRIER, Florent. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin i-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **The Journal of Clinical Investigation**. 1990; 86: 1343-1346.

RODRIGUEZ-PEREZ, José C; RODRIGUEZ-ESPARRAGON, Francisco; HERNANDEZ-PERERA, Octavio; ANABITARTE, Aranzazu; LOSADA, Antonio; MEDINA, Alfonso; et al. Association of Angiotensinogen M235T and A(-6)G Gene Polymorphisms With Coronary Heart Disease With Independence of Essential Hypertension: The PROCAGENE Study. **Journal of the American College of Cardiology**. 2001; 37(6): 1536-1542.

RODRIGUEZ-PEREZ, JC; RODRIGUEZ-ESPARRAGON, FJ; HERNANDEZ-PERERA, O; FIUZA-PÉREZ, MD; ANABITARTE-PRIETO, A; LOSADA-CABRERA, A. Effects of the angiotensinogen gene M235T and A(-6)G variants on blood pressure and other vascular risk factors in a Spanish population. **Journal Humano f Hypertension**. 2000 dec; 14(12): 789-793.

SALEHI-ABARGOUEI, Amin; MAGHSOUDI, Zahra; SHIRANI, Fatemeh; AZADBAKHT, Leila. Effects of Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-style diet on fatal or nonfatal cardiovascular disease-Incidence: A systematic review and meta-analysis on observation prospective studies. **Nutrition**. 2013; 29: 611-18.

SAY, Yee-How; LING, King-Hwa; DURAISAMY, Gnanasothie; ISAAC, Suzanne; ROSLI, Rozita. Angiotensinogen M235T gene variants and its association with essential hypertension and plasma renin activity in Malaysian subjects: A case control study. **BMC Cardiovascular Disorders**. 2005, 5(7): 1-10.

SCHMIDT, S; SHARMA, AM; ZILCH, O; BEIGE, J; WALLA-FRIEDEL, M; GANTEN, D; et al. Association of M235T variant of the angiotensinogen gene

with familial hypertension of early onset. **Nephrology Dialysis Transplantation**. 1995; 10(7): 1145-1148.

SCHORR, Ulrike; BLASCHKE, Klaus; BEIGE, Joachim; DISTLER, Armin; SHARMA, Arya M. Angiotensinogen M235T variant and salt sensitivity in young normotensive caucasians. **Journal of Hypertension**. 1999; 17: 475-479.

SETHI, AA; NORDESTGAARD, BG; TYBJAERG-HANSEN, A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease: a meta-analysis. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**. 2003; 23(7): 1269-1275.

SHAMAA, Marium M; FOUAD, Hosny; HAROUN, Medhat; HASSANEIN, Mahmoud; HAY, Mohamed Ayman Abdel. Association between the Angiotensinogen (AGT) gene (M235T) polymorphism and Essential Hypertension in Egyptian patients. **The Egyptian Heart Journal**. 2013 oct 13; 1-5.

SINGH, Kh Dhanachandra; JAJODIA, Ajay; KAUR, Harpreet; KUKRETI, Ritushree; KARTHIKEYAN, Muthusamy. Gender specific association of RAS gene polymorphism with essential hypertension: A case-control study. **BioMed Research International**. 2014 apr 17; 1-10.

SOMMER, Wolfgang H & SAAVEDRA, Juan M. Targeting brain angiotensin and corticotrophin-releasing hormone systems interaction for the treatment of mood and alcohol use disorders. **Journal of Molecular Medicine**. 2008 jun; 86(6): 723-728.

Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade Brasileira de Nefrologia. **VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2010; 95(1): 1-51.

SONTIA, Bruno & TOUYZ, Rhian M. Magnesium transport in hypertension. **Pathophysiology**. 2007; 14: 205-11.

STAESSEN, Jan A; WANG, Ji G; GINOCCHIO, Giuliana; PETROV, Victor; SAAVEDRA, Arturo P; SOUBRIER, Florent; et al. The deletion/insertion

polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. **Journal of Hypertension**. 1997; 15(12): 1579-1592.

STEEMBURGO, Thais; AZEVEDO, Mirela J de; MARTÍNEZ, José Alfredo. Interação entre gene e nutriente e sua associação à obesidade e ao diabetes melito. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia e Metabologia**. 2009; 53(5): 497-508.

SVETKEY, Laura P; MOORE, Thomas J; SIMONS-MORTON, Denise G; APPEL, Lawrence J; BRAY, George A; SACKS, Frank M; et al. Angiotensinogen genotype and blood pressure response in the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) study. **Journal of Hypertension**. 2001 jun 18; 19: 1949-56.

TAKEUCHI, F; YAMAMOTO, K; KATSUYA, T; SUGIYAMA, T; NABIKA, T; OHNAKA, K; et al. Reevaluation of the association of seven candidate genes with blood pressure and hypertension: a replication study and meta-analysis with a large sample size. **Hypertension Research**. 2012 aug; 35(8): 825-31.

TIRET, L; RICARD, S; POIRIER, O; ARVEILER, D; CAMBOU, JP; LUC, G; et al. Genetic variation at the angiotensinogen locus in relation to high blood pressure and myocardial infarction: the ECTIM Study. **Journal Hypertension**. 1995 mar; 13(3): 311-317.

TORRES, Márcia RSG & SANJULIANI, Antonio F. Ingestão de cálcio e fatores de risco cardiometabólicos: onde estamos? **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**. 2011 set; 10: 1-11.

TURGUT, Sebahat; AKIN, Fulya; AKELAR, Raziye; AYADA, Ceylan; TURGUT, Gunfer. Angiotensin converting enzyme I/D, angiotensinogen M235T and AT1-R A/C1166 gene polymorphisms in patients with acromegaly. **Molecular Biology Reports**. 2011; 38: 569-576.

VALENCIA, Diana María; NARANJO, Carlos Andrés; PARRA, María Victoria; CARO, María Antonieta; VALENCIA, Ana Victoria; JARAMILLO, Carlos José; BEDOYA, Gabriel. Asociación y efectos de interacción en los genes *AGT*, *AGTR1*, *ACE*, *ADRB2*, *DRD1*, *ADD1*, *ADD2*, *ATP2B1*, *TBXA2R* y *PTGS2* sobre la hipertensión en la población antioqueña. **Biomédica**. 2013; 33: 598-614.

VILELA-MARTIN, JF; VAZ-DE-MELO, RO; CONSENSO-MARTIN, LN; KUNIYOSHI, CH; YUGAR-TOLEDO, JC; PINHEL, MA; et al. Renin angiotensin system blockage associates with insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme in patients with hypertensive emergency. **DNA and Cell Biology**. 2013; 32(9): 541-548.

WANG, Bin; GUO, Qingqing; PENG, Yaguang; LU, Jiapeng; SINGH, Balwinder; HUA, Baojin. Association of AGT M235T and ACE I/D polymorphisms with the risk of ischemic stroke: Meta-analysis in Han Chinese population. **Journal of the Neurological Sciences**. 2012 jul 15; 320: 79-84.

WANG, JH; LIN, CM; WANG, LS; LAI, NS; CHEN, DY; CHERNG, JM. Association between molecular variants of the angiotensinogen gene and hypertension in Amis tribes of eastern Taiwan. **Journal of the Formosan Medical Association**. 2002 mar; 101(3): 183-188.

WANG, X; WANG, S; LIN, R; JIANG, X; CHENG, Z; TURDI, J; et al. GNB3 gene C825T and ACE gene I/D polymorphisms in essential hypertension in a Kazakh genetic isolate. **Journal of Human Hypertension**. 2004 mar 25; 18: 663-668.

WARD R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. New York, NY: **Raven Press Publishers**; 1990: 81-100.

WEBER, David S; FRISBEE, Jefferson C; LOMBARD, Julian H. Selective potentiation of angiotensin-induced constriction of skeletal muscle resistance arteries by chronic elevations in dietary salt intake. **Microvascular Research**. 1999; 57: 310–19.

WHELTON, Paul K & HE, Jiang. Health effects of sodium and potassium in humans. **Current Opinion in Lipidology**. 2014; 25(1): 75-79.

WHO. **Global status report on noncommunicable disease 2010**. Geneva: World Health Organization, 2010. Disponível em:

[http://www.who.int/nmh/publications/ncd\\_report\\_full\\_en.pdf](http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf)

WHO. **A global brief on hypertension**. Silent killer, global public health crisis. World Health Day 2013. Geneva: World Health Organization, 2013. Disponible en:

[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79059/1/WHO\\_DCO\\_WHD\\_2013.2\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79059/1/WHO_DCO_WHD_2013.2_eng.pdf?ua=1)

WHO. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 854. Geneva: World Health Organization, 1998. Disponible :

[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_854.pdf?ua=1](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_854.pdf?ua=1)

WHO. **Waist circumference and waist-hip ratio**. Report of a WHO Expert Consultation. Geneva: World Health Organization. 2008. Disponible en:

[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44583/1/9789241501491\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44583/1/9789241501491_eng.pdf)

YAMAGISHI, Kazumasa; TANIGAWA, Takeshi; CUI, Renzhe; TABATA, Minako; IKEDA, Ai; YAO, Masayuki; et al. High sodium intake strengthens the association of ACE I/D polymorphism with blood pressure in a community.

**American Journal of Hypertension**. 2007 jul; 20: 751-757.

YING, Chang-Qing; WANG, Yan-Hua; WU, Zheng-Lai; FANG, Ming-Wu; WANG, Jian; LI, Yong-Shan; et al. Association of the Renin Gene Polymorphism, Three Angiotensinogen Gene Polymorphisms and the Haplotypes with Essential Hypertension in the Mongolian Population. **Clinical and Experimental Hypertension**. 2010; 32(5): 293–300.

YUAN, J; TANG, W; CHUN, Y; YING, H; YANG, Y; XIAO, C. Angiotensinogen T174M and M235T variants and hypertension in the Hani and Yi minority groups of China. **Biochemical Genetics**. 2009 jun; 47(5-6): 344-350.

YUGAR-TOLEDO, JC; MARTIN, JF; KRIEGER, JE; PEREIRA, AC; DEMACG, C; COELHO, OR; et al. Gene variation in resistant hypertension: multilocus analysis of the angiotensin 1-converting enzyme, angiotensinogen, and endothelial nitric oxide synthase genes. **DNA and Cell Biology**. 2011 aug; 30(8): 555-564.

ZAMAN, MM; YOSHIKE, N; TANAKA, H. Dissecting the contradictory findings of angiotensin converting enzyme genetic polymorphism with blood pressure and hypertension. **Bangladesh Medical Research Council Bulletin**. 2001 dec; 27(3): 90-95.

ZEMEL, MB. Calcium modulation of hypertension and obesity: mechanisms and implications. **The Journal of the American College of Nutrition**. 2001 oct; 20(5): 428S-435S.

ZHANG, Ling; MIYAKI, Koichi; ARAKI, Jungo; SONG, Yixuan; KIMURA, Tomomi; OMAE, Kazuyuki; MURAMATSU, Masaaki. Interaction of angiotensin i-converting enzyme insertion-deletion polymorphism and daily salt intake influences hypertension in Japanese men. **Hypertension Research**. 2006 jun 19; 29: 751-758.

ZHAO, Jiangyang; QIN, Xue; LI, Shan; ZENG, Zhiyu. Association between the ACE I/D polymorphism and risk of ischemic stroke: An updated meta analysis of 47,026 subjects from 105 case-control studies. **Journal of the Neurological Sciences**. 2014 jul 10; 1-11.

## **ANEXOS**

## ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

30

### ANEXO 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa chamada “**Aspectos nutrigenéticos de parâmetros bioquímicos e antropométricos: implicações para saúde humana**”, que está sendo desenvolvida por um grupo de professores e alunos do Centro Universitário UNIVATES com o objetivo de investigar a interação entre a alimentação e polimorfismos genéticos, ou seja, verificar se as variações genéticas podem influenciar na maneira como o seu metabolismo responde à alimentação.

Como parte da sua consulta no Ambulatório de Nutrição você responderá um questionário sobre seus hábitos de vida e alimentares, e também descreverá tudo o que você comeu nas últimas 24 horas. Você também irá realizar a verificação da Pressão Arterial e Avaliação Antropométrica (verificação de peso, altura, dobras cutâneas), sendo todos os procedimentos realizados por profissionais capacitados e registrados pelo pesquisador.

Em uma segunda data, a ser combinada entre você e o pesquisador, será realizada a coleta de sangue e exame de Bioimpedância, que deverão ocorrer no turno da manhã com o participante em jejum. O aparelho de Bioimpedância determina a quantidade e o percentual de massa magra e massa gorda em seu corpo. Durante o teste você deverá ficar em repouso e deitado em uma maca. Serão colocados quatro eletrodos na superfície da sua pele, sendo dois em sua mão direita e dois em seu pé direito. O teste leva menos de 1 minuto para ser finalizado, e você não deverá sentir desconforto ou dor durante o procedimento. A coleta de sangue será realizada por um profissional treinado e serão coletados 10 ml de sangue de uma veia do braço, e você poderá sentir um desconforto da picada durante a coleta. Através desta coleta serão verificados valores de colesterol total, HDL, glicose, triglicerídeos e extração de DNA para análise genética. O material biológico será devidamente armazenado por 5 anos após o término do projeto, de acordo com as exigências legais.

Caso você necessite de uma dieta para perda de peso, será feita uma nova Avaliação Antropométrica, exame de Bioimpedância e coleta de sangue no prazo de dois meses que será agendada e realizada com o mesmo procedimento da primeira coleta, com a única diferença de ser coletados apenas 5 ml de sangue nesta segunda parte.

Os benefícios deste estudo poderão ser obtidos apenas em longo prazo e voltados para a população, não havendo benefício direto para o participante, apenas os resultados dos exames laboratoriais e de Bioimpedância. Os seus dados pessoais serão sempre tratados confidencialmente e a sua identidade será preservada. Os resultados deste estudo serão publicados com fins científicos, mas não haverá identificação pessoal ou publicação do seu nome. Sua participação no estudo é voluntária, você pode retirar o seu consentimento e desistir de participar em qualquer momento da pesquisa, sem que isso traga qualquer prejuízo para você no trabalho ou ensino. A sua possibilidade de desistência ou não-participação na pesquisa, não mudará em nada o seu atendimento no Ambulatório de Nutrição ou em qualquer outro serviço prestado.

Este projeto está inteiramente de acordo com as normas vigentes na

30

Resolução CNS196/96.

Esta pesquisa não implicará em nenhum gasto para o participante, bem como não haverá nenhuma forma de pagamento pela sua participação.

As responsáveis por esta pesquisa são as Professora Dra. Simone Morelo Dal Bosco e Professora Dra. Júlia Pasqualini Genro, que poderão ser contatadas para qualquer esclarecimento pelos respectivos telefones (051) 84438332 e (051) 93272527.

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVATES, que aprovou a execução deste projeto, também poderá ser contatado pelo telefone: (51) 3714-7000 Ramal 5339.

Este termo será assinado em duas vias, sendo que uma delas ficará com você e a outra será arquivada pelos pesquisadores durante o período de 5 anos e após serão incinerados.

Declaro que autorizo a minha participação nesta pesquisa e que fui devidamente informado(a), de uma forma clara e detalhada, tendo a oportunidade de tirar todas as minhas dúvidas livre de qualquer tipo de constrangimento.

Data: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador  
que aplica o questionário

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

COEP / UNIVATES  
Versão aprovada  
Em. 27.10.2011

\_\_\_\_\_  
*[Assinatura]*

## ANEXO B – Anamnese Nutricional

### AMBULATÓRIO DE NUTRIÇÃO ANAMNESE ALIMENTAR

Nome: \_\_\_\_\_

Vínculo com a UNIVATES: ( ) Aluno ( ) Funcionário ( ) Professor

DN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Objetivo: \_\_\_\_\_

Renda familiar mensal (em reais): \_\_\_\_\_

Quantas pessoas moram na casa (vivem desta renda): \_\_\_\_\_

Gasto familiar mensal com alimentação (em reais): \_\_\_\_\_ ( ) Não sei

Nível escolaridade:

( ) ensino fundamental (1 grau) incompleto, até que série fez: \_\_\_\_\_

( ) ensino fundamental (1 grau) completo

( ) ensino médio (2 grau) completo

( ) graduação (3 grau) completo

( ) pós graduação (abre: mestrado, doutorado, especialização)

( ) estudante graduação

( ) estudante pós graduação

**Hábitos de vida:**

Trabalha? ( ) sim ( ) não, Se sim: \_\_\_\_\_ horas/dia

Função: \_\_\_\_\_

Como você classifica o nível de stress do seu trabalho, de 0 a 10: \_\_\_\_\_

Posição: ( ) sentado ( ) em pé ( ) sentado/em pé

Pratica atividade física? ( ) sim ( ) não, Se sim:

Atividade física que pratica: \_\_\_\_\_

Frequência: \_\_\_\_\_ Duração: \_\_\_\_\_ hs/sem.

Segunda Atividade física que pratica: \_\_\_\_\_

Frequência: \_\_\_\_\_ Duração: \_\_\_\_\_ hs/sem.

Terceira Atividade física que pratica: \_\_\_\_\_

Frequência: \_\_\_\_\_ Duração: \_\_\_\_\_ hs/sem.

Outros: \_\_\_\_\_

Frequência: \_\_\_\_\_ Duração: \_\_\_\_\_ hs/sem.

Fumante: ( ) sim \_\_\_\_\_ cigarros/dia ( ) não ( ) ex-tabagista

Alguém fumante em sua casa? ( ) Sim, Quantas (além de você) \_\_\_\_\_ ( ) Não

Ingere álcool: ( ) sim ( ) não ( ) às vezes

Tipo de bebida:

( ) vinho, Frequência de ingestão: \_\_\_\_\_ x semana Quantidade ingerida: \_\_\_\_\_ ml/dia

( ) cerveja, Frequência de ingestão: \_\_\_\_\_ x semana Quantidade ingerida: \_\_\_\_\_ ml/dia

( ) destilado, Qual: \_\_\_\_\_ Frequência de ingestão: \_\_\_\_\_ x semana Quantidade ingerida: \_\_\_\_\_ ml/dia

Horas de sono: \_\_\_\_\_ hs/dia

**Hábitos Alimentares:**

Líquidos que ingere: ( ) água, Quantidade: \_\_\_\_\_ ml/dia

( ) chá, Quantidade: \_\_\_\_\_ ml/dia

( ) chimarrão, Quantidade: \_\_\_\_\_ ml/dia

( ) refrigerantes, Quantidade: \_\_\_\_\_ ml/dia

( ) suco, Quantidade: \_\_\_\_\_ ml/dia ( )

Outro \_\_\_\_\_ Quantidade: \_\_\_\_\_ ml/dia

Quantidade de líquido total do dia: \_\_\_\_\_ litros

Utiliza para adoçar: ( ) açúcar ( ) adoçante, Qual adoçante: \_\_\_\_\_ Qtde em gotas: \_\_\_\_\_

Consome leite: ( ) sim ( ) não - Quantos copos/dia: \_\_\_\_\_

Tipo de leite: ( ) integral ( ) semi-desnatado ( ) desnatado

Frequência que ingere doces: \_\_\_\_\_

Tipos de doce que consome e quantidade: \_\_\_\_\_

Consumo de frituras: ( ) 1 x semana ( ) 2 x semana ( ) 3 x semana ( ) mais de 4 x semana ( ) não consome

Ingere carnes: ( ) sim ( ) não

Tipo de carne consumida:

( ) gado, Frequência: \_\_\_\_\_ x semana

( ) porco, Frequência: \_\_\_\_\_ x semana

( ) peixe, Frequência: \_\_\_\_\_ x semana

( ) ave, Frequência: \_\_\_\_\_ x semana

Como geralmente essa carne é preparada? \_\_\_\_\_  
 Mal passada  Bem passada  
 Belisca:  sim  não Tipo de alimento: \_\_\_\_\_  
 Motivo da belisca: \_\_\_\_\_  
 Utiliza sal adicional na comida:  sim  não Quais preparações/dia: \_\_\_\_\_  
 Utiliza condimentos:  sim  não  
 Caldos de carnes, Frequência/Quantidade: \_\_\_\_\_  
 Catchup, Frequência/Quantidade: \_\_\_\_\_  
 Mostarda, Frequência/Quantidade: \_\_\_\_\_  
 Maionese, Frequência/Quantidade: \_\_\_\_\_  
 Pimenta, Frequência/Quantidade: \_\_\_\_\_

Você tem o hábito de tomar café da manhã:  sim  não  
 Local que costuma fazer as refeições:  
 Desjejum: \_\_\_\_\_ Almoço: \_\_\_\_\_  
 Jantar: \_\_\_\_\_ Lanches: \_\_\_\_\_  
 Preferências alimentares (quais): \_\_\_\_\_  
 Aversões alimentares (quais): \_\_\_\_\_  
 Alergias alimentares (quais): \_\_\_\_\_  
 Alergias medicamentosas (quais): \_\_\_\_\_  
 Intolerâncias alimentares (quais): \_\_\_\_\_  
 Já fez dieta?  sim  não, Quais? \_\_\_\_\_  
 Teve orientação:  sim  não - Se sim, quem orientou? \_\_\_\_\_  
 Resultado da dieta: \_\_\_\_\_  
 Utiliza suplementos alimentares  sim  não - Qual: \_\_\_\_\_

#### História Clínica:

DM:  sim  não Qual: \_\_\_\_\_  
 HAS:  sim  não Pressão arterial: \_\_\_\_\_  
 Cardiopatias:  sim  não Qual: \_\_\_\_\_  
 Colesterol elevado:  sim  não  
 Triglicérides elevados:  sim  não  
 TGI:  gastrite  úlcera  RGE  intestinais \_\_\_\_\_  
 Intestino:  regular  preso Frequência de evacuação: \_\_\_\_\_ x semana  
 Câncer:  sim  não Qual: \_\_\_\_\_  
 Obesidade:  sim  não  
 Medicamentos que utiliza: \_\_\_\_\_

#### História familiar :

DM:  sim  não Qual: \_\_\_\_\_  
 Parentesco Primário (pais e irmãos):  Materno  Paterno  
 Parentesco Secundário (avós, tios e primos):  Materno  Paterno  
 HAS:  sim  não  
 Parentesco Primário (pais e irmãos):  Materno  Paterno  
 Parentesco Secundário (avós, tios e primos):  Materno  Paterno  
 Cardiopatias:  sim  não Qual: \_\_\_\_\_  
 Parentesco Primário (pais e irmãos):  Materno  Paterno  
 Parentesco Secundário (avós, tios e primos):  Materno  Paterno  
 Colesterol elevado:  sim  não  
 Parentesco Primário (pais e irmãos):  Materno  Paterno  
 Parentesco Secundário (avós, tios e primos):  Materno  Paterno  
 Triglicérides elevados:  sim  não  
 Parentesco Primário (pais e irmãos):  Materno  Paterno  
 Parentesco Secundário (avós, tios e primos):  Materno  Paterno  
 Câncer:  sim  não Qual: \_\_\_\_\_  
 Parentesco Primário (pais e irmãos):  Materno  Paterno  
 Parentesco Secundário (avós, tios e primos):  Materno  Paterno  
 Obesidade:  sim  não  
 Parentesco Primário (pais e irmãos):  Materno  Paterno  
 Parentesco Secundário (avós, tios e primos):  Materno  Paterno

**Exames Laboratoriais:**

Hemograma: hemoglobina: \_\_\_\_\_ hematócrito: \_\_\_\_\_ outros: \_\_\_\_\_

Glicemia em jejum: \_\_\_\_\_

Colesterol total: \_\_\_\_\_ LDL: \_\_\_\_\_ HDL: \_\_\_\_\_

Triglicérides: \_\_\_\_\_

Ácido úrico: \_\_\_\_\_

Creatinina: \_\_\_\_\_

Eletrólitos: \_\_\_\_\_

TSH: \_\_\_\_\_ T3: \_\_\_\_\_ T4: \_\_\_\_\_

Outros: \_\_\_\_\_

**Recordatório Alimentar:**

Desjejum \_\_\_\_\_ hs:

Colação \_\_\_\_\_ hs:

Almoço \_\_\_\_\_ hs:

Sobremesa: \_\_\_\_\_

Lanche \_\_\_\_\_ hs:

Janta: \_\_\_\_\_ hs:

Ceia: \_\_\_\_\_ hs:

VET do recordatório: \_\_\_\_\_ Kcal

HC: \_\_\_\_\_ g \_\_\_\_\_ %

Ptn: \_\_\_\_\_ g \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ g/kg/PA

Lip: \_\_\_\_\_ g \_\_\_\_\_ %

Colesterol: \_\_\_\_\_ mg/dia

TMB: \_\_\_\_\_ Kcal

Fator atividade: \_\_\_\_\_

VET ideal: \_\_\_\_\_ Kcal/dia

Perda / ganho de peso programada: \_\_\_\_\_ g/dia

VET hipo: \_\_\_\_\_ Kcal/dia

VET hiper: \_\_\_\_\_ Kcal/dia

**Dados da dieta prescrita:**

VET : \_\_\_\_\_ Kcal

HC: \_\_\_\_\_ g \_\_\_\_\_ %

Ptn: \_\_\_\_\_ g \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ g/kg/PA

Lip: \_\_\_\_\_ g \_\_\_\_\_ %

Colesterol: \_\_\_\_\_ mg/dia

Cálcio: \_\_\_\_\_ mg/dia

Ferro: \_\_\_\_\_ mg/dia

Potássio: \_\_\_\_\_ mg/dia

Sódio: \_\_\_\_\_ mg/dia

Outros: \_\_\_\_\_

Vitaminas: \_\_\_\_\_





## ANEXO C – Lista de Padronização de Alimentos

Lista de padronização de alimentos do Dietwin

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
Açúcar, refinado (TACO)	1 colher de chá	5	
	1 colher de sobremesa	16	
	1 colher de sopa	24	
Açúcar, cristal (TACO)	1 colher de chá	4	
	1 colher de sobremesa	11	
	1 colher de sopa	17	
Alpim frito (Dietwin)	1 pedaço pequeno	35	
	1 pedaço médio	80	
	1 pedaço grande	155	
Alpim/mandioca (Dietwin)	1 pedaço pequeno	50	
	1 pedaço médio	100	cozido
	1 pedaço grande	180	
	1 colher de sopa	30	
Alface, americana, crua (TACO)	1 folha	10	
Ameiijoim, grão, cru (TACO)	1 unidade	1	se for ameiijoim doce, acrescentar açúcar
	1 punhado	30	
	1 colher de sopa	17	
Arroz, tipo 1, cozido (TACO)	1 colher de sopa	25	
	1 colher de servir	50	
Arroz, integral, cozido (TACO)	1 colher de sopa	25	quando for parboilizado, utilizar arroz integral
	1 colher de servir	50	
Avieia, flocos finos * (Dietwin)	1 colher de chá	2	
	1 colher de sobremesa	7	
	1 colher de sopa	15	
Azeite, de oliva, extra virgem (Dietwin)	1 colher de chá	5	
	1 colher de sopa	7,5	
Banana, prata, crua (TACO)	1 unidade	90	
Batata palha (Dietwin)	1 colher de sopa	15	
Batata, inglesa, frita (TACO)	1 porção pequena	100	
	1 porção média	200	
	1 porção grande	360	
	1 escumadeira média	65	
	1 colher de sopa	25	
Batata, inglesa, cozida (TACO)	1 unidade pequena	70	
	1 unidade média	140	
	1 unidade grande	290	
	1 colher de sopa	30	
Bergamota (Dietwin)	1 unidade pequena	100	
	1 unidade média	135	

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
Beterrra, cozida (TACO)	unidade grande 1 fatia	270 25	
	1 unidade pequena	75	
	1 unidade média	125	
	1 unidade grande	335	
Beterrra, crua (TACO)	1 colher de sopa	25	
	1 unidade pequena	80	
	1 unidade média	140	
	1 unidade grande	400	
Bife a parmegiana (Dietwin)	1 unidade grande	200	
Bife acebolado simples (Dietwin)	1 unidade média	150	
Bife na chada (Dietwin)	1 unidade média	100	considera-se também bife grelhado
Biscoito água e sal * (Dietwin)	1 unidade	5	
Biscoito amanteigado * (Dietwin)	1 unidade	10	
Biscoito cookies (Dietwin)	1 unidade	5	
Biscoito integral (Dietwin)	1 unidade	5	
Biscoito maria * (Dietwin)	1 unidade	5	
Biscoito recheado * (Dietwin)	1 unidade	10	todos os biscoitos recheados
Biscoito waffer * (Dietwin)	1 unidade	7,5	
Biscoito, polvilho doce (TACO)	1 unidade	30	utilizar este para rosas de polvilho
Biscoito, salgado, cream cracker (TACO)	1 unidade	5	
Bolinho de chuva com banana (Dietwin)	1 unidade	40	utilizar para cueca virada e churros
Bolo, cuca alemã (Dietwin)	1 fatia	80	se for com recheio, acrescentar este
Bolo, pronto, chocolate (TACO)	1 fatia	50	
Bombom ouro branco * (Dietwin)	1 unidade	22	utilizar para todos os bombons
Brigadeiro * (Dietwin)	1 unidade 20		
Brócolis, cozido (TACO)	1 buquê	15	
	1 prato de sobremesa	80	
Café solúvel (Dietwin)	1 colher de cafézinho	1	utilizar para café com leite
Café, infusão 10% (TACO)	1 xícara/1 copo	200	utilizar para café preto
Café cappuccino (Dietwin)	1 colher de chá	5	
	1 colher de sobremesa	10	
	1 colher de sopa	14	
Carne, bovina, acém, moída, cozida (TACO)	1 colher de sopa	25	
	1 colher de servir	50	
Carne, bovina, patinho, sem gordura, grelhada (TACO)	1 unidade pequena	80	utilizar para churrasco
	1 unidade média	100	
	1 fatia grande	120	
Carne de suíno, lombinho (Dietwin)	1 unidade pequena	80	
	1 unidade média	100	
	1 fatia grande	120	

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
Castanha do Brasil, crua (TACO)	1 unidade	5	
Castanha de caju, torrada com sal (TACO)	1 unidade	3	
Catchup (Dietwin)	1 colher de chá	6	
	1 colher de sobremesa	10	
Genoura, cozida (TACO)	1 colher de sopa	12	
	1 unidade pequena	46	
	1 unidade média	100	
	1 unidade grande	135	
	1 colher de sopa	75	
	1 colher de servir	48	
Genoura, crua (TACO)	1 unidade pequena	55	
	1 unidade média	120	
	1 unidade grande	160	
	1 colher de sopa	12	
Granal mistral, milho (TACO)	1 colher de sopa	10	
Carveja, pilsen (Dietwin)	1 copo	200	
	1 lata	350	
	1 latão	475	
	1 garrafa	600	
Chocolate, ao leite (TACO)	1 quadradinho	8	
	1 unidade pequena	30	
Couve-flor, cozida (TACO)	1 colher de sopa	17,5	
	1 ramo pequeno	30	
	1 ramo médio	60	
	1 ramo grande	100	
Creme de leite * (Dietwin)	1 colher de sopa	15	
	1 lata	300	
Doce de leite (Dietwin)	1 colher de chá	10	
	1 colher de sobremesa	20	
	1 colher de sopa	30	
Ervilha, enlatada, drenada (TACO)	1 colher de sobremesa	12	
	1 colher de sopa	20	
	1 lata	200	
Feijão, preto, cozido (TACO)	1 colher de sopa	18	
	1 concha pequena	60	
	1 concha média	80	
	1 concha grande	135	
Franco, conchão, grelhado (TACO)	1 unidade pequena	3	
	1 unidade média	5	
	1 unidade grande	8	
Franco, coxa, sem pele, cozido (TACO)	1 unidade	70	

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
Frango, sobrecoxa, sem pele, assado (TACO)	1 unidade pequena	65	
	1 unidade grande	100	
Frango, peito, sem pele, grelhado (TACO)	1 bife pequeno	80	
	1 bife médio	100	
	1 bife grande	120	
Galinhina preparada (Dietwin)	1 colher de sopa	25	
	1 xícara/1 copo/1 taca/1 tigela	120	
Geléia de frutas (Dietwin)	1 colher de chá	5	Schmier
	1 colher de sobremesa	10	
Granola (Dietwin)	1 colher de sopa	25	
	1 colher de chá	12,5	
	1 colher de sopa	25	
	1 copo americano	50	
Iogurte (Dietwin)	1 unidade comercial	120	
	1 copo	200	
Kiwi, cru (TACO)	1 unidade pequena	75	
Laranja, valência, crua (TACO)	1 unidade pequena	100	
	1 unidade média	160	
	1 unidade grande	200	
Laranja, valência, suco (TACO)	1 copo	200	
Lasanha a bolonhesa * (Dietwin)	1 pedaço pequeno	120	
	1 pedaço médio	190	
	1 pedaço grande	250	
	1 colher de sopa	50	
	1 copo/xicara	200	
Leite (desnatado) (Dietwin)	1 copo/xicara	200	
Leite (semi-desnatado) (Dietwin)	1 copo/xicara	200	
Leite (tipo longa vida) (Dietwin)	1 copo/xicara	200	leite integral
Lentilha, cozida (TACO)	1 colher de sopa	18	
	1 concha pequena	60	
	1 concha média	80	
	1 concha grande	135	
	1 colher de chá	5	
Limpaça, semente (TACO)	1 colher de sobremesa	8	
	1 colher de sopa	12	
Maçã, Fuji, crua (TACO)	1 unidade pequena	90	
	1 unidade média	120	
	1 unidade grande	180	
Macarrão cozido (Dietwin)	1 pegador pequeno	75	
	1 pegador grande	125	
	1 colher de sopa	25	
	1 colher de servir	50	

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
	1 prato raso	200	
	1 prato fundo	300	
Maionesa, hellmanns * (Dietwin)	1 colher de chá	6	
	1 colher de sobremesa	17	
	1 colher de sopa	27	
Maldextrina (Dietwin)	1 colher de sopa	15	dextrose
	1 fatia	120	
Mamão, papaia, cru (TACO)	1 unidade pequena	60	
	1 unidade média	140	
Manga, haden, crua (TACO)	1 unidade grande	220	
	1 fatia/pedaco	20	
Manteiga, com sal (TACO)	1 colher de chá	4	
	1 colher de sobremesa	7	
	1 colher de sopa	10	
Margarina * (Dietwin)	1 colher de chá	4	
	1 colher de sobremesa	7	
	1 colher de sopa	10	
Mc suco de laranja * (Dietwin)	1 copo	200	
Mel, de abelha (TACO)	1 colher de chá	3	sucos artificiais
	1 colher de sobremesa	9	
	1 colher de sopa	15	
	1 colher de sopa cheia	20	
Melado (TACO)	1 colher de chá	4	
	1 colher de sobremesa	10	
	1 colher de sopa	16	
	1 colher de sopa cheia	20	
Milho, verde, enlatado, drenado (TACO)	1 colher de sobremesa	15	
	1 colher de sopa	20	
	1 lata	200	
Molho à bolonhesa (Dietwin)	1 colher de sopa	22	
	1 colher de servir	35	
	1 concha pequena	63	
Molho tomate ref. tradicional * (Dietwin)	1 colher de sopa cheia	20	
	1 fatia	15	
Mortadela bolonha * (Dietwin)	1 colher de sobremesa	9	
Mostarda condimento (Dietwin)	1 colher de sopa	12	
	1 colher de sopa	10	
Nata (Dietwin)	1 colher de chá	3	
Nescau (Dietwin)	1 colher de sobremesa	9	
	1 colher de sopa	15	

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
Nutry barra - barra de cereal com frutas vermelhas e chocolate (Dietwin)	1 unidade comercial	25	utilizar para todas as barras de cereais
Ovo, de galinha, inteiro, cozido 10 minutos (TACO)	1 unidade	50	
Ovo frito (Dietwin)	1 unidade	50	
Pão integral (Dietwin)	1 fatia	25	todos os pães integrais, de centeio ou grãos
Pão de trigo forma * (Dietwin)	1 fatia	25	
Pão hot-dog * (Dietwin)	1 unidade	100	utilizar no cachorro quente
Pão, trigo, francês (TACO)	1 unidade	50	
Pão, de queijo, assado (TACO)	1 unidade grande	90	pão de queijo dos barzinhos da Univates
Pastel de carne (Dietwin)	1 unidade padrão	25	
	1 unidade pequena	40	pastel frito
	1 unidade média	60	
	1 unidade grande	95	
	1 risólis	25	
Pastelão de carne (Dietwin)	1 unidade pequena	40	pastel assado/forno
	1 unidade média	60	
	1 unidade grande	95	
	1 assado de festa	25	
Pepino, cru (TACO)	1 colher de sopa	15	
	1 unidade pequena	60	
	1 unidade média	100	
	1 unidade grande	140	
Pepino em conserva (Dietwin)	1 unidade pequena	37	
	1 unidade média	65	
Peito defumado chester fatiado Perdigão * (Dietwin)	1 fatia	20	
Pipoca, estourada em óleo salgada (Dietwin)	1 xícara	25	se for doce, acrescentar açúcar
	1 punhado	7,5	
Pizza de frango com caputiry (Dietwin)	1 fatia grande	135	utilizar este quando não estiver informado o sabor da pizza
	1 fatia média	100	
	1 fatia pequena	75	
	1 mini pizza	25	
Polenta frita (Dietwin)	1 unidade pequena	40	
Polenta pré-cozida (TACO)	1 colher de sopa	20	utilizar quando polenta mole
	1 colher de servir	50	
Presunto tradicional * (Dietwin)	1 fatia	20	
Purê de batata (Dietwin)	1 colher de sopa	30	
	1 colher de servir	80	
	1 concha	140	
Queijo mozzarella (Dietwin)	1 fatia	15	
Queijo prato (Dietwin)	1 fatia	15	utilizar quando referir queijo lanche
Queijo minas/frescal (TACO)	1 fatia pequena	20	

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
	1 fatia média	35	
	1 fatia grande	50	
Queijo, parmesão (TACO)	1 colher de sopa	10	
	1 colher de sobremesa	6	
	1 colher de chá	3	
Queijo, ricota (TACO)	1 fatia pequena	20	
	1 fatia média	35	
	1 fatia grande	50	
Refrigerante, tipo cola (TACO)	1 copo (padrão)	200	
	1 copo grande	300	quando não citado o sabor
Requeijão cremoso * (Dietwin)	1 colher de sopa cheia	30	
	1 colher de sopa rasa	15	
Repolho cozido (Dietwin)	1 colher de sopa cheia	50	
	1 colher de servir rasa	35	
	1 colher de sopa cheia	20	
	1 colher de sopa rasa	12	
Sagu com vinho (Dietwin)	1 colher de sopa	15	
	1 pote de sobremesa	75	
Salada de frutas completa (Dietwin)	1 pote de sobremesa	80	
Salame Italiano (Dietwin)	1 fatia pequena	10	
	1 fatia média	20	
	1 fatia grande	30	
Salsicha hot-dog a granel * (Dietwin)	1 unidade grande	50	
	1 unidade comercial	30	a de cachorro quente grande
Salsicha * (Dietwin)	1 unidade média	60	
	1 unidade grande	100	
Sopinha cremosa batata, cenoura, espinafre com macarrão (Dietwin)	1 colher de sopa	20	
	1 concha	250	
Stroganofe de carne (Dietwin)	1 colher de sopa	25	
	1 colher de servir	40	
	1 concha	170	
Tomate, salada (TACO)	1 fatia	20	
	1 colher de sopa	15	em cubos
	1 unidade	80	
Uva, Itália, crua (TACO)	1 cacho pequeno	170	
	1 cacho médio	350	
	1 cacho grande	560	

ALIMENTO (descrição conforme Dietwin)	Medida caseira	g/ml	Observação
<b>PREPARAÇÕES</b>			
<b>* Cachorro quente - 1 unidade</b>			
1 unidade (100g) de pão de hot-dog *			(Dietwin)
1 colher de sopa (20g) de Milho, verde, enlatado, drenado (TACO)			
1 colher de sopa (20g) de ervilha, enlatada, drenada (TACO)			
1 colher de sopa (15g) de batata palha (Dietwin)			
1 unidade (50g) de salsicha hot-dog à granel *			(Dietwin)
1 colher de sopa (20g) de molho tomate ref tradicional *			(Dietwin)
1 colher de sopa (27g) de maionese, hellmanns *			(Dietwin)
1 colher de sopa (12g) de catchup (Dietwin)			
1 colher de sopa (12g) de mostarda (Dietwin)			
<b>* Torta de bolacha - 1 colher de servir</b>			
3 unidades (15g) de biscoito maria *			(Dietwin)
1 colher de sopa (10g) de nata (Dietwin)			
1 colher de sobremesa (20g) de doce de leite (Dietwin)			
<b>* Canudinho - 1 unidade</b>			
1 unidade (15g) de pastel, massa, frita (TACO)			
1/2 copo de sopa (12,5g) de carne, bovina, acém, moída, cozida (TACO)			

ANEXO D – Tabelas *Dietary Reference Intake*

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Vitamins**  
Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Vit A (µg/d) <sup>a</sup>	Vit C (mg/d)	Vit D (µg/d) <sup>b,c</sup>	Vit E (mg/d) <sup>d</sup>	Vit K (µg/d)	Thia- (mg/d)	Ribo- (mg/d)	Niacin (mg/d) <sup>e</sup>	Vit B <sub>6</sub> (µg/d)	Folate (µg/d) <sup>f</sup>	Vit B <sub>12</sub> (µg/d)	Panto- thenic Acid (mg/d)	Biotin (µg/d)	Choline <sup>g</sup> (mg/d)
<b>Infants</b>														
0-6 mo	400*	40*	5*	4*	2.0*	0.2*	0.3*	2*	0.1*	65*	0.4*	1.7*	5*	125*
7-12 mo	500*	50*	5*	5*	2.5*	0.3*	0.4*	4*	0.3*	80*	0.5*	1.8*	6*	150*
<b>Children</b>														
1-3 y	300	15	5*	6	3.0*	0.5	0.5	6	0.5	150	0.9	2*	8*	200*
4-8 y	400	25	5*	7	3.5*	0.6	0.6	8	0.6	200	1.2	3*	12*	250*
<b>Adolescents</b>														
9-13 y	600	45	5*	11	6.0*	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	4*	20*	375*
14-18 y	900	75	5*	15	7.5*	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	5*	25*	550*
19-30 y	900	90	5*	15	12.0*	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	5*	30*	550*
31-50 y	900	90	5*	15	12.0*	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	5*	30*	550*
51-70 y	900	90	10*	15	12.0*	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	5*	30*	550*
> 70 y	900	90	15*	15	12.0*	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	5*	30*	550*
<b>Females</b>														
9-13 y	600	45	5*	11	6.0*	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	4*	20*	375*
14-18 y	700	65	5*	15	7.5*	1.0	1.0	14	1.2	400*	2.4	5*	25*	400*
19-30 y	700	75	5*	15	9.0*	1.1	1.1	14	1.3	400*	2.4	5*	30*	425*
31-50 y	700	75	5*	15	9.0*	1.1	1.1	14	1.3	400*	2.4	5*	30*	425*
51-70 y	700	75	10*	15	9.0*	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4*	5*	30*	425*
> 70 y	700	75	15*	15	9.0*	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4*	5*	30*	425*
<b>Pregnancy</b>														
14-18 y	750	80	5*	15	7.5*	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	6*	30*	450*
19-30 y	770	85	5*	15	9.0*	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	6*	30*	450*
31-50 y	770	85	5*	15	9.0*	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	6*	30*	450*
<b>Lactation</b>														
14-18 y	1,200	115	5*	19	7.5*	1.4	1.6	17	2.0	500	2.8	7*	35*	550*
19-30 y	1,300	120	5*	19	9.0*	1.4	1.6	17	2.0	500	2.8	7*	35*	550*
31-50 y	1,300	120	5*	19	9.0*	1.4	1.6	17	2.0	500	2.8	7*	35*	550*

NOTE: This table (taken from the DRI reports, see [www.nap.edu](http://www.nap.edu)) presents Recommended Dietary Allowances (RDAs) in bold type and Adequate Intakes (AIs) in ordinary type followed by an asterisk (\*). RDAs and AIs may both be used as goals for individual intake. RDAs are set to meet the needs of almost all (97 to 98 percent) individuals in a group. For healthy, breast-fed infants, the AI is the mean intake. The AI for older life stage and gender groups is believed to cover needs of all individuals in the group, but lack of data or uncertainty in the data prevent being able to specify with confidence the percentage of individuals covered by this intake.

<sup>a</sup>As retinol activity equivalents (RAE), whereas the RAE for preformed vitamin A is the same as RE. <sup>b</sup>As retinol equivalents (RE), whereas the RAE for preformed vitamin A is the same as RE. <sup>c</sup>As cholecalciferol, 1 µg cholecalciferol = 40 IU vitamin D. <sup>d</sup>In the absence of adequate exposure to sunlight. <sup>e</sup>As cholecalciferol, 1 µg cholecalciferol = 40 IU vitamin D. <sup>f</sup>As α-tocopherol, α-tocopherol includes RRR-α-tocopherol that occurs naturally in foods, and the 2R stereoisomeric forms of α-tocopherol (RRR-, RSR-, RRS-, and RSS-α-tocopherol) that occur in fortified foods and supplements. It does not include the 2S stereoisomeric forms of α-tocopherol (SSR-, SSR-, SRS-, and SSS-α-tocopherol), also found in fortified foods and supplements. <sup>g</sup>As niacin equivalents (NE), 1 mg of niacin = 60 mg of tryptophan. (1-6 months = preformed niacin from food (NI); 7-12 months = preformed niacin from food (NI) + 1 mg of niacin from breast milk.)

<sup>h</sup>Although AIs have been set for choline, there are few data to assess whether a dietary supply of choline is needed at all stages of the life cycle, and it may be that the choline requirement can be met by endogenous synthesis at some of these stages. <sup>i</sup>Because 10 to 30 percent of older people may malabsorb food-bound B<sub>12</sub>, it is advisable for those older than 50 years to meet their RDA mainly by consuming foods fortified with B<sub>12</sub> or a supplement containing B<sub>12</sub>. <sup>j</sup>In view of evidence linking folate intake with neural tube defects in the fetus, it is recommended that all women capable of becoming pregnant consume 400 µg from supplements or fortified foods in addition to intake of food folate from a varied diet. <sup>k</sup>It is assumed that women will continue consuming 400 µg from supplements or fortified food until their pregnancy is confirmed and they enter prenatal care, which ordinarily occurs after the end of the periconceptional period—the critical time for formation of the neural tube. Copyright 2004 by the National Academy of Sciences. All rights reserved.

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Elements**  
 Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Calcium (mg/d)	Chromium (µg/d)	Copper (µg/d)	Fluoride (mg/d)	Iodine (µg/d)	Iron (mg/d)	Magnesium (mg/d)	Manganese (mg/d)	Molybdenum (µg/d)	Phosphorus (mg/d)	Selenium (µg/d)	Zinc (mg/d)	Potassium (g/d)	Sodium (g/d)	Chloride (g/d)
<b>Infants</b>															
0-6 mo	210*	0.2*	200*	0.01*	110*	0.27*	30*	0.003*	2*	100*	15*	2*	0.4*	0.12*	0.18*
7-12 mo	270*	5.5*	220*	0.5*	130*	11	75*	0.6*	3*	275*	20*	3	0.7*	0.37*	0.57*
<b>Children</b>															
1-3 y	500*	11*	340	0.7*	90	7	80	1.2*	17	460	20	3	3.0*	1.0*	1.5*
4-8 y	800*	15*	440	1*	90	10	130	1.5*	22	500	30	5	3.8*	1.2*	1.9*
<b>Adolescents</b>															
9-13 y	1,300*	25*	700	2*	120	8	240	1.9*	34	1,250	40	8	4.5*	1.5*	2.3*
14-18 y	1,300*	35*	890	3*	150	11	410	2.2*	43	1,250	55	11	4.7*	1.5*	2.3*
19-30 y	1,000*	35*	900	4*	150	8	400	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.5*	2.3*
31-50 y	1,000*	35*	900	4*	150	8	420	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.5*	2.3*
51-70 y	1,200*	30*	900	4*	150	8	420	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.3*	2.0*
> 70 y	1,200*	30*	900	4*	150	8	420	2.3*	45	700	55	11	4.7*	1.2*	1.8*
<b>Females</b>															
9-13 y	1,300*	21*	700	2*	120	8	240	1.6*	34	1,250	40	8	4.5*	1.5*	2.3*
14-18 y	1,300*	24*	890	3*	150	15	360	1.6*	43	1,250	55	9	4.7*	1.5*	2.3*
19-30 y	1,000*	25*	900	3*	150	18	310	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.5*	2.3*
31-50 y	1,000*	25*	900	3*	150	18	320	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.5*	2.3*
51-70 y	1,200*	20*	900	3*	150	8	320	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.3*	2.0*
> 70 y	1,200*	20*	900	3*	150	8	320	1.8*	45	700	55	8	4.7*	1.2*	1.8*
<b>Pregnancy</b>															
14-18 y	1,300*	29*	1,000	3*	220	27	400	2.0*	50	1,250	60	12	4.7*	1.5*	2.3*
19-30 y	1,000*	30*	1,000	3*	220	27	350	2.0*	50	700	60	11	4.7*	1.5*	2.3*
31-50 y	1,000*	30*	1,000	3*	220	27	360	2.0*	50	700	60	11	4.7*	1.5*	2.3*
<b>Lactation</b>															
14-18 y	1,300*	44*	1,300	3*	290	10	360	2.6*	50	1,250	70	13	5.1*	1.5*	2.3*
19-30 y	1,000*	45*	1,300	3*	290	9	310	2.6*	50	700	70	12	5.1*	1.5*	2.3*
31-50 y	1,000*	45*	1,300	3*	290	9	320	2.6*	50	700	70	12	5.1*	1.5*	2.3*

NOTE: This table presents Recommended Dietary Allowances (RDAs) in bold type and Adequate Intakes (AIs) in ordinary type, followed by an asterisk (\*). RDAs and AIs may both be used as goals for individual intake. RDAs are set to meet the needs of almost all (97 to 98 percent) individuals in a group. For healthy, breastfed infants, the AI is the mean intake. The AI for other life-stage and gender groups is believed to cover needs of all individuals in the group, but lack of data or uncertainty in the data prevent being able to specify with confidence the percentage of individuals covered by this intake.

SOURCES: Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997); Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline (1998); Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Selenium, and Carotenoids (2000); Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001); and Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate (2004). These reports may be accessed via <http://www.nap.edu>

Dietary Reference Intakes (DRIs): Tolerable Upper Intake Levels (UL<sup>a</sup>), Vitamins

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Vitamin A (µg/d) <sup>b</sup>	Vitamin C (mg/d)	Vitamin D (µg/d)	Vitamin E (mg/d) <sup>c</sup>	Vitamin K (µg/d)	Thiamin (mg/d)	Ribo- flavin (mg/d)	Niacin (mg/d) <sup>d</sup>	Vitamin B <sub>6</sub> (mg/d)	Folate (µg/d) <sup>e</sup>	Vitamin B <sub>12</sub> (µg/d)	Pantothenic Acid	Biotin (µg/d)	Choline (g/d)	Carote- noids
<i>Infants</i>															
0-6 mo	600	ND <sup>f</sup>	25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7-12 mo	600	ND	25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Children</i>															
1-3 y	600	400	50	200	ND	ND	ND	10	30	300	ND	ND	ND	1.0	ND
4-8 y	900	650	50	300	ND	ND	ND	15	40	400	ND	ND	ND	1.0	ND
<i>Adolescents</i>															
9-13 y	1,700	1,200	50	600	ND	ND	ND	20	60	600	ND	ND	ND	2.0	ND
14-18 y	2,800	1,800	50	800	ND	ND	ND	30	80	800	ND	ND	ND	3.0	ND
19-70 y	3,000	2,000	50	1,000	ND	ND	ND	35	100	1,000	ND	ND	ND	3.5	ND
>70 y	3,000	2,000	50	1,000	ND	ND	ND	35	100	1,000	ND	ND	ND	3.5	ND
<i>Pregnancy</i>															
14-18 y	2,800	1,800	50	800	ND	ND	ND	30	80	800	ND	ND	ND	3.0	ND
19-50 y	3,000	2,000	50	1,000	ND	ND	ND	35	100	1,000	ND	ND	ND	3.5	ND
<i>Lactation</i>															
14-18 y	2,800	1,800	50	800	ND	ND	ND	30	80	800	ND	ND	ND	3.0	ND
19-50 y	3,000	2,000	50	1,000	ND	ND	ND	35	100	1,000	ND	ND	ND	3.5	ND

<sup>a</sup>UL = The maximum level of daily nutrient intake that is likely to pose no risk of adverse effects. Unless otherwise specified, the UL represents total intake from food, water, and supplements. Due to lack of suitable data, ULs could not be established for vitamins K, thiamin, riboflavin, vitamin B<sub>12</sub>, pantothenic acid, biotin, carotenoids. In the absence of ULs, extra caution may be warranted in consuming levels above recommended intakes.

<sup>b</sup>As performed vitamin A only.

<sup>c</sup>As α-tocopherol; applies to any form of supplemental α-tocopherol.

<sup>d</sup>The ULs for vitamin E, niacin, and folate apply to synthetic forms obtained from supplements, fortified foods, or a combination of the two.

<sup>e</sup>β-Carotene supplements are advised only to serve as a provitamin A source for individuals at risk of vitamin A deficiency.

<sup>f</sup>ND = Not determinable due to lack of data of adverse effects in this age group and concern with regard to lack of ability to handle excess amounts. Source of intake should be from food only to prevent high levels of intake.

**SOURCES:** Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997); Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline (1998); Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids (2000); and Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001). These reports may be accessed via <http://www.nap.edu>.

Copyright 2004 by the National Academy of Sciences. All rights reserved.

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Tolerable Upper Intake Levels (UL<sup>a</sup>), Elements**  
 Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Arsenic mg <sup>b</sup> (μg/d)	Boron μm (mg/d)	Calcium μm (mg/d)	Chromium μm (mg/d)	Copper μg (mg/d)	Fluoride μg (mg/d)	Iodine μg (μg/d)	Iron μm (mg/d)	Magnesium μm (mg/d)	Manganese μg (μg/d)	Molybdenum μg (μg/d)	Nickel μg (μg/d)	Potassium μm (mg/d)	Selenium μm (μg/d)	Silicon μm (mg/d)	Sulfate μm (mg/d)	Vanadium μm (μg/d)	Zinc μm (mg/d)	Sodium μm (mg/d)	Chloride μm (mg/d)
<b>Infants</b>																				
0-6 mo	ND <sup>c</sup>	ND	ND	ND	ND	0.7	ND	40	ND	ND	ND	ND	ND	45	ND	ND	ND	4	ND	ND
7-13 mo	ND	ND	ND	ND	ND	0.9	ND	40	ND	ND	ND	ND	ND	60	ND	ND	ND	5	ND	ND
<b>Children</b>																				
1-13 y	ND	3	2.5	ND	1,000	1.3	200	40	65	2	300	0.2	3	90	ND	ND	ND	7	1.5	2.3
4-8 y	ND	6	2.5	ND	1,000	2.2	300	40	110	3	600	0.3	3	150	ND	ND	ND	12	1.9	2.9
<b>Men</b>																				
9-13 y	ND	11	2.5	ND	5,000	10	600	40	350	6	1,100	0.6	4	280	ND	ND	ND	23	2.2	3.4
14-18 y	ND	17	2.5	ND	8,000	10	900	45	350	9	1,700	1.0	4	400	ND	ND	ND	34	2.3	3.6
19-70 y	ND	20	2.5	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	ND	ND	40	2.3	3.6
>70 y	ND	20	2.5	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	3	400	ND	ND	ND	40	2.3	3.6
<b>Pregnancy</b>																				
14-18 y	ND	17	2.5	ND	8,000	10	900	45	350	9	1,700	1.0	3.5	400	ND	ND	ND	34	2.3	3.6
19-50 y	ND	20	2.5	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	3.5	400	ND	ND	ND	40	2.3	3.6
<b>Lactation</b>																				
14-18 y	ND	17	2.5	ND	8,000	10	900	45	350	9	1,700	1.0	4	400	ND	ND	ND	34	2.3	3.6
19-50 y	ND	20	2.5	ND	10,000	10	1,100	45	350	11	2,000	1.0	4	400	ND	ND	ND	40	2.3	3.6

<sup>a</sup>UL = The maximum level of daily nutrient intake that is likely to pose no risk of adverse effects. Unless otherwise specified, the UL represents total intake from food, water, and supplements. Due to lack of suitable data, ULs could not be established for arsenic, chromium, silicon, potassium, and sulfate. In the absence of ULs, extra caution may be warranted in consuming levels above recommended intakes.  
<sup>b</sup>Although the UL was not determined for arsenic, there is no justification for adding arsenic to food or supplements.  
<sup>c</sup>The ULs for magnesium represent intake from a pharmacological agent only and do not include intake from food and water.  
<sup>d</sup>Although variation in food has not been shown to cause adverse effects in humans, there is no justification for adding silicon to supplements.  
<sup>e</sup>Although variation in laboratory animals and their data could be used to set a UL for adults but not children and adolescents.  
<sup>f</sup>on adverse effects in laboratory animals and their data could be used to set a UL for adults but not children and adolescents.  
<sup>g</sup>ND = Not determinable due to lack of data of adverse effects in this age group and concern with regard to ability to handle excess amounts. Source of intake should be from food only to prevent high levels of intake.

**SOURCES:** Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997); Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Nicotin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline (1998); Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids (2000); Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001); and Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate (2004). These reports may be accessed via <http://www.nap.edu>.

Copyright 2004 by the National Academy of Sciences. All rights reserved.

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Estimated Energy Requirements (EER) for Men and Women  
30 Years of Age<sup>a</sup>**

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Height (m [in])	PAL <sup>b</sup>	Weight for BMI <sup>c</sup>	Weight for BMI	EER, Men <sup>d</sup> (kcal/day)		EER, Women <sup>d</sup> (kcal/day)	
		of 18.5 kg/m <sup>2</sup> (kg [lb])	of 24.99 kg/m <sup>2</sup> (kg [lb])	BMI of 18.5 kg/m <sup>2</sup>	BMI of 24.99 kg/m <sup>2</sup>	BMI of 18.5 kg/m <sup>2</sup>	BMI of 24.99 kg/m <sup>2</sup>
1.50 (59)	Sedentary	41.6 (92)	56.2 (124)	1,848	2,080	1,625	1,762
	Low active			2,009	2,267	1,803	1,956
	Active			2,215	2,506	2,025	2,198
	Very active			2,554	2,898	2,291	2,489
1.65 (65)	Sedentary	50.4 (111)	68.0 (150)	2,068	2,349	1,816	1,982
	Low active			2,254	2,566	2,016	2,202
	Active			2,490	2,842	2,267	2,477
	Very active			2,880	3,296	2,567	2,807
1.80 (71)	Sedentary	59.9 (132)	81.0 (178)	2,301	2,635	2,015	2,211
	Low active			2,513	2,884	2,239	2,459
	Active			2,782	3,200	2,519	2,769
	Very active			3,225	3,720	2,855	3,141

<sup>a</sup> For each year below 30, add 7 kcal/day for women and 10 kcal/day for men. For each year above 30, subtract 7 kcal/day for women and 10 kcal/day for men.

<sup>b</sup> PAL = physical activity level.

<sup>c</sup> BMI = body mass index.

<sup>d</sup> Derived from the following regression equations based on doubly labeled water data:

Adult man:  $EER = 662 - 9.53 \times \text{age (y)} + PA \times (15.91 \times \text{wt [kg]} + 539.6 \times \text{ht [m]})$

Adult woman:  $EER = 354 - 6.91 \times \text{age (y)} + PA \times (9.36 \times \text{wt [kg]} + 726 \times \text{ht [m]})$

Where PA refers to coefficient for PAL.

PAL = total energy expenditure + basal energy expenditure

PA = 1.0 if PAL  $\geq$  1.0 < 1.4 (sedentary)

PA = 1.12 if PAL  $\geq$  1.4 < 1.6 (low active)

PA = 1.27 if PAL  $\geq$  1.6 < 1.9 (active)

PA = 1.45 if PAL  $\geq$  1.9 < 2.5 (very active)

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Acceptable Macronutrient Distribution Ranges**

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Macronutrient	Range (percent of energy)		
	Children, 1-3 y	Children, 4-18 y	Adults
Fat	30-40	25-35	20-35
<i>n</i> -6 polyunsaturated fatty acids <sup>a</sup> (linoleic acid)	5-10	5-10	5-10
<i>n</i> -3 polyunsaturated fatty acids <sup>a</sup> ( $\alpha$ -linolenic acid)	0.6-1.2	0.6-1.2	0.6-1.2
Carbohydrate	45-65	45-65	45-65
Protein	5-20	10-30	10-35

<sup>a</sup> Approximately 10% of the total can come from longer-chain *n*-3 or *n*-6 fatty acids.

SOURCE: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids* (2002).

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Macronutrients**  
Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Total Water <sup>a</sup> (L/d)	Carbohydrate (g/d)	Total Fiber (g/d)	Fat (g/d)	Linoleic Acid (g/d)	$\alpha$ -Linolenic Acid (g/d)	Protein <sup>b</sup> (g/d)
<i>Infants</i>							
0-6 mo	0.7*	60*	ND	31*	4.4*	0.5*	9.1*
7-12 mo	0.8*	95*	ND	30*	4.6*	0.5*	11.0 <sup>c</sup>
<i>Children</i>							
1-3 y	1.3*	130	19*	ND	7*	0.7*	13
4-8 y	1.7*	130	25*	ND	10*	0.9*	19
<i>Males</i>							
9-13 y	2.4*	130	31*	ND	12*	1.2*	34
14-18 y	3.3*	130	38*	ND	16*	1.6*	52
19-30 y	3.7*	130	38*	ND	17*	1.6*	56
31-50 y	3.7*	130	38*	ND	17*	1.6*	56
51-70 y	3.7*	130	30*	ND	14*	1.6*	56
> 70 y	3.7*	130	30*	ND	14*	1.6*	56
<i>Females</i>							
9-13 y	2.1*	130	26*	ND	10*	1.0*	34
14-18 y	2.3*	130	26*	ND	11*	1.1*	46
19-30 y	2.7*	130	25*	ND	12*	1.1*	46
31-50 y	2.7*	130	25*	ND	12*	1.1*	46
51-70 y	2.7*	130	21*	ND	11*	1.1*	46
> 70 y	2.7*	130	21*	ND	11*	1.1*	46
<i>Pregnancy</i>							
14-18 y	3.0*	175	28*	ND	13*	1.4*	71
19-30 y	3.0*	175	28*	ND	13*	1.4*	71
31-50 y	3.0*	175	28*	ND	13*	1.4*	71
<i>Lactation</i>							
14-18 y	3.8*	210	29*	ND	13*	1.3*	71
19-30 y	3.8*	210	29*	ND	13*	1.3*	71
31-50 y	3.8*	210	29*	ND	13*	1.3*	71

**NOTE:** This table presents Recommended Dietary Allowances (RDAs) in bold type and Adequate Intakes (AIs) in ordinary type followed by an asterisk (\*). RDAs and AIs may both be used as goals for individual intake. RDAs are set to meet the needs of almost all (97 to 98 percent) individuals in a group. For healthy infants fed human milk, the AI is the mean intake. The AI for other life stage and gender groups is believed to cover the needs of all individuals in the group, but lack of data or uncertainty in the data prevent being able to specify with confidence the percentage of individuals covered by this intake.

<sup>a</sup> Total water includes all water contained in food, beverages, and drinking water.

<sup>b</sup> Based on 0.8 g/kg body weight for the reference body weight.

<sup>c</sup> Change from 13.5 in prepublication copy due to calculation error.

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Additional Macronutrient Recommendations**  
Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Macronutrient	Recommendation
Dietary cholesterol	As low as possible while consuming a nutritionally adequate diet
Trans fatty acids	As low as possible while consuming a nutritionally adequate diet
Saturated fatty acids	As low as possible while consuming a nutritionally adequate diet
Added sugars	Limit to no more than 25% of total energy

**SOURCE:** *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids* (2002).

**Dietary Reference Intakes (DRIs): Estimated Average Requirements for Groups**  
Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies

Life Stage Group	Cholesterol (g/d)	Protein (g/d) <sup>a</sup>	Vit A (μg/d) <sup>b</sup>	Vit C (mg/d)	Vit E (mg/d) <sup>c</sup>	Thiamin (mg/d)	Riboflavin (mg/d)	Niacin (mg/d) <sup>d</sup>	Vit B <sub>6</sub> (mg/d)	Folate (μg/d) <sup>e</sup>	Vit B <sub>12</sub> (μg/d)	Copper (μg/d)	Iodine (μg/d)	Iron (mg/d)	Magnesium (mg/d)	Molybdenum (μg/d)	Phosphorus (mg/d)	Selenium (μg/d)	Zinc (mg/d)
Infants		9 <sup>a</sup>												6.9					2.5
7-12 mo																			
Children																			
1-3 y	100	11	210	13	5	0.4	0.4	5	0.4	120	0.7	260	65	3.0	65	13	380	17	2.5
4-8 y	100	15	275	22	6	0.5	0.5	6	0.5	160	1.0	340	65	4.1	110	17	405	23	4.0
Adolescents																			
9-13 y	100	27	445	39	9	0.7	0.8	9	0.8	250	1.5	540	73	5.9	200	26	1,055	35	7.0
14-18 y	100	44	630	63	12	1.0	1.1	12	1.1	330	2.0	685	95	7.7	340	33	1,055	45	8.5
19-30 y	100	46	625	75	12	1.0	1.1	12	1.1	330	2.0	700	95	6	330	34	580	45	8.5
31-50 y	100	46	625	75	12	1.0	1.1	12	1.1	330	2.0	700	95	6	350	34	580	45	9.4
51-70 y	100	46	625	75	12	1.0	1.1	12	1.4	330	2.0	700	95	6	350	34	580	45	9.4
> 70 y	100	46	625	75	12	1.0	1.1	12	1.4	330	2.0	700	95	6	350	34	580	45	9.4
Women																			
9-13 y	100	28	420	39	9	0.7	0.8	9	0.8	250	1.5	540	73	5.7	200	26	1,055	35	7.0
14-18 y	100	38	485	56	12	0.9	0.9	11	1.0	330	2.0	685	95	7.9	300	33	1,055	45	7.3
19-30 y	100	38	500	60	12	0.9	0.9	11	1.1	320	2.0	700	95	8.1	255	34	580	45	6.8
31-50 y	100	38	500	60	12	0.9	0.9	11	1.1	320	2.0	700	95	8.1	265	34	580	45	6.8
51-70 y	100	38	500	60	12	0.9	0.9	11	1.3	320	2.0	700	95	5	265	34	580	45	6.8
> 70 y	100	38	500	60	12	0.9	0.9	11	1.3	320	2.0	700	95	5	265	34	580	45	6.8
Pregnancy																			
14-18 y	135	50	530	66	12	1.2	1.2	14	1.6	520	2.2	785	160	23	335	40	1,055	49	10.5
19-30 y	135	50	550	70	12	1.2	1.2	14	1.6	520	2.2	800	160	22	290	40	580	49	9.5
31-50 y	135	50	550	70	12	1.2	1.2	14	1.6	520	2.2	800	160	22	300	40	580	49	9.5
Lactation																			
14-18 y	160	60	885	96	16	1.2	1.3	13	1.7	450	2.4	985	209	7	300	35	1,055	59	10.9
19-30 y	160	60	900	100	16	1.2	1.3	13	1.7	450	2.4	1,000	209	6.5	255	36	580	59	10.4
31-50 y	160	60	900	100	16	1.2	1.3	13	1.7	450	2.4	1,000	209	6.5	265	36	580	59	10.4

NOTE: This table presents Estimated Average Requirements (EARs), which were two purposes: for assessing adequacy of population intakes, and as the basis for calculating Recommended Dietary Allowances (RDAs) for individuals for those nutrients. EARs have not been established for Vitamin D, vitamin K, pantoic acid, biotin, choline, calcium, chromium, fluoride, manganese, or other nutrients not yet evaluated via the DRI process.  
<sup>a</sup> For individual at reference weight (Table 1-3). \* indicates change from population copy due to calculation error.  
<sup>b</sup> As retinol activity equivalents (RAEs). 1 RAE = 1 μg retinol, 12 μg β-carotene, 24 μg α-carotene, or 24 μg β-cryptoxanthin. The RAE for dietary provitamin A carotenoids is two-fold greater than retinol equivalents (RE), whereas the RAE for preformed vitamin A is the same as RE.  
<sup>c</sup> As α-tocopherol. α-Tocopherol includes RRR-α-tocopherol, the only form of α-tocopherol that occurs naturally in foods, and the 2R-stereoisomeric forms of α-tocopherol (RRR-, RSR-, RRS-, and RSS-α-tocopherol) that occur in fortified foods and supplements. It does not include the 2Z-stereoisomeric forms of α-tocopherol (SRR-, SSR-, SRS-, and SSS-α-tocopherol), also found in fortified foods and supplements.  
<sup>d</sup> As niacin equivalents (NE). 1 mg of niacin = 60 mg of tryptophan.  
<sup>e</sup> As dietary folate equivalents (DFE). 1 DFE = 1 μg food folate = 0.5 μg of folate acid from fortified food or as a supplement consumed with food = 0.5 μg of a supplement taken on an empty stomach.

**SOURCES:** *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Biotin* (1997); *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantoic Acid, Biotin, and Choline* (1998); *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids* (2000); *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc* (2001); and *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids* (2002). These reports may be accessed via [www.nap.edu](http://www.nap.edu).

**ANEXO E – Separação do Soro**  
**Separação do Soro – Laboratório de Bioquímica**  
**Sala 209/Prédio 8**

**Materiais:**

- Centrífuga;
- Pipeta de 1000 microlitros - Ponteiras azuis;
- Pinça para retirar os tubos da centrífuga;
- Estante para colocar os tubos;
- Becker para descarte de ponteiras (lavar após o uso);
- Eppendorfes - Caneta (para escrever nos eppendorfes).

OBS: Os materiais ficam na Sala Anexa em cima do armário (à esquerda) em um pote com a tampa azul;

1	Coloca-se os tubos na centrífuga azul de forma equilibrada;
2	Há dois tubos (um com a tampa cinza e outro com a tampa vermelha) ao lado da centrífuga para ajudar a equilibrar;
3	Liga-se o aparelho na tomada e o botão preto, no lado direito da centrífuga;
4	Para ajustar a hora deve-se ficar segurando o botão que tem um relógio e apertar nas flechinhas (para cima ou para baixo) e para ajustar as rotações, deve-se segurar o botão que tem duas flechas formando um círculo e apertar nas flechinhas (para cima ou para baixo);
5	O ajuste deve estar em 4 minutos e as rotações devem estar no número 30, que representam 3000 rpm;
6	Inicia-se o processo apertando o botão que está indicado o símbolo de liga/desliga;
7	Enquanto a centrífuga separa o soro, identificam-se os eppendorfes;
8	Para cada número (cada paciente) há dois eppendorfes. Em cada um, vai o número e a data, no espaço de escrever e na tampa. O eppendorf que irá o soro de glicose identifica-se com a letra “G”;
9	A Centrífuga se desligará sozinha, retira-se os tubos com uma pinça, que está ao lado da máquina e coloca-se na estante de tubos que está dentro dos potes dos materiais;
10	Utilizar a pipeta P1000 e a ponteira azul para pipetar o soro dentro dos eppendorfes, segurando o tubo e o eppendorf na mesma mão;
11	Cuidar para colocar o soro do tubo com a tampa cinza (com fluoreto) no eppendorf que tem o número do paciente e a letra G;
12	Fechar o eppendorf e colocar no copinho;
13	Descartar a ponteira em um copo de Becker e repetir o procedimento para cada tubo (fluoreto e siliconizado) e em cada paciente;
14	Logo após o processo descartar os tubos com resíduo de sangue e as ponteiras em saco leitoso/material contaminante;

## ANEXO F – Orientações para Exame de Bioimpedância



### ORIENTAÇÕES PARA REALIZAÇÃO DO EXAME DE BIOIMPEDÂNCIA:

- Ficar 4 horas sem comer e beber antes do exame.
- Não praticar exercícios físicos durante as 12 horas precedentes à avaliação, pois exercícios físicos alteram a quantidade de água no organismo.
- Não freqüentar sauna 12 horas antes do exame.
- Não ingerir bebidas alcoólicas durante as 24 horas precedentes à avaliação, pois o álcool é diurético.
- Não ingerir café, chás, bebidas efervescentes ou bebidas energéticas durante as 24 horas precedentes ao exame. A maioria dessas bebidas são diuréticas, reduzindo a quantidade de água corporal.
- Beber no mínimo 2 litros de água no dia anterior.
- Não fumar 5 horas antes.
- Retirar jóias, relógios e/ou objetos de metal na hora do exame.
- Mulheres em período pré-menstrual ou menstrual, não devem realizar o exame, pois pode haver retenção de líquidos.
- Não utilizar medicamentos diuréticos, pois podem alterar os resultados dos exames.
- Evitar refeições hipercalóricas por 4 horas antes do exame.
- É contra-indicado aos portadores de marcapasso e às gestantes.

## ANEXO G – Extração de DNA

### Extração de DNA adaptada de Lahiri & (1991)

#### Etapa Procedimentos para a extração de DNA

OBS: As lavagens dos materiais são feitas com solução EXTRAN (pouco).

Etapa	Procedimentos
1	Coletar sangue total em um tubo vacutainer contendo EDTA (100 µL EDTA 15%).
2	Transferir todo o conteúdo de sangue total para um tubo <i>Falcon</i> de 15 mL. Identificar os tubos <i>Falcon</i> de acordo com o número da amostra. Anotar a quantidade de sangue em um caderno de anotações. Adicionar volume igual de TKM1. Balancear as amostras em duplas para posterior centrifugação.
3	Adicionar 250µl de NONIDEC, com ponteira azul. Misturar bem por inversão várias vezes e passar no vórtex.
4	Centrifugar a 3000 RPM durante 10 minutos à temperatura ambiente. Cuidado em balancear as amostras na centrífuga.
5	Retirar o sobrenadante por inversão. Lavar/adicionar ao pellet 5 mL de TKM1, agitar bem por inversão e com o vórtex até desmanchar ao máximo o pellet. Centrifugar novamente a 3000 RPM durante 10 minutos. Repetir esse passo aproximadamente duas vezes, ou até que o pellet fique o mais limpo possível.
6	Retirar o sobrenadante por inversão. Adicionar ao pellet 800 µL de TKM2. Dar uma leve sacudida para desprender o pellet do fundo do tubo. Transferir, por inversão, para um eppendorf de 2 mL. Procurar desmanchar o pellet o máximo possível utilizando o vórtex.
7	Adicionar 50 µL de SDS 10%. Agitar e utilizar o vórtex. Incubar durante 15 minutos a 55°C em banho-maria líquido, controlando o tempo.
8	Adicionar 300 µL de NaCl 6M no tubo e agitar por inversão.
9	Centrifugar em uma microcentrífuga a 12000 RPM, durante 5 minutos. Durante este tempo já ir preparando os tubos eppendorfs com 1 ml de álcool 70% gelado, e identificados.
10	Coletar o sobrenadante do eppendorf e transferir para o tubo <i>Falcon</i> . Adicionar 2 ml de álcool 100% gelado. Inverter o tubo suavemente até o DNA aparecer. *
11	Com o auxílio de uma P100 ( <u>menor</u> ), pescar o DNA e transferir para um eppendorf. Cuidar para pegar “todo” o DNA presente. Este eppendorf já deve conter 1 ml de álcool 70% gelado. Centrifugar na microcentrífuga por 5 minutos a 12000 RPM.
12	Com uma pipeta, colocar fora o sobrenadante (que é o álcool). O DNA estará no fundo do tubo.
13	Aguarde aproximadamente 20 a 30 minutos para o álcool evaporar.
14	Adicionar 400 µL de TE (para um DNA grande) ou 250 µl para DNA pequeno. Inverter suavemente. Deixar em temperatura ambiente por 1 dia e após congelar ou levar à geladeira e deixar por três a quatro dias. Após armazenar no freezer.

\* Observação: Caso não seja detectado DNA, coletar a máxima quantidade desta solução e transferir para um eppendorf de 2 mL, conforme passo nº11.