

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

NAYARA MOREIRA LACERDA MASSA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA *CITRULLUS LANATUS*
(MELANCIA) E ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DE
POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM ADULTOS
DISLIPIDÊMICOS**

JOÃO PESSOA – PB

2013

NAYARA MOREIRA LACERDA MASSA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA *CITRULLUS LANATUS*
(MELANCIA) E ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DE
POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM ADULTOS
DISLIPIDÊMICOS**

JOÃO PESSOA – PB

2013

NAYARA MOREIRA LACERDA MASSA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA *CITRULLUS LANATUS*
(MELANCIA) E ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DE
POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM ADULTOS
DISLIPIDÊMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição. Área de concentração: Ciências da Nutrição.

Linha de Pesquisa: Nutrição Clínica e Epidemiologia.

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

CO-ORIENTADOR: Prof^º. Dr^º. Alexandre Sérgio Silva

JOÃO PESSOA – PB

2013

NAYARA MOREIRA LACERDA MASSA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA *CITRULLUS LANATUS* (MELANCIA) E ANÁLISE
DA INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM ADULTOS
DISLIPIDÊMICOS**

Dissertação _____ em ____ / ____ /2013.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves
Coordenadora da Banca Examinadora
(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/PPGCN)

Prof^º. Dr^º. Alexandre Sérgio Silva
Co-orientador
(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/PPGCN)

Prof^ª. Dra. Maria José de Carvalho Costa
Examinador Interno - Titular
(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/PPGCN)

Prof^ª. Dra. Liana Clébia Soares Lima de Moraes
Examinador Interno - Suplente
(UFPB/Centro de Ciências da Saúde/PPGCN)

Prof^ª. Dr^ª. Darlene Camati Persuhn
Examinador Externo - Titular
(UFPB/ Departamento de Biologia Molecular / CCEN)

Prof^ª. . Dr^ª. Luiza Sônia Rios Ascutti
Examinador Externo - Suplente
(Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba – FCM/PB)

Dedico este trabalho a **Deus**, minha fonte de renovação e sustentação, especialmente ao meu marido **Igor** e minha amada mãe **Zilene**.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por me proporcionar toda força que precisei nos mais variados momentos da minha vida, permitindo que eu nunca desista de nada que eu realmente queira. A **Nossa Senhora**, que guiou meus passos e me concedeu tranquilidade nesta etapa de minha vida.

A minha amada **mãe Zilene**, que esteve em todos os momentos de minha vida me apoiando e sempre me incentivando a não desistir de meus sonhos, nos momentos mais difíceis me pegou pela mão e nunca me deixou desistir. Todas as palavras seriam poucas para agradecer a este exemplo de mulher e mãe por todo amor e carinho dedicado a mim e a meus irmãos.

Ao meu **esposo Igor**, meu amor e companheiro, meu mais belo presente que Deus me deu. Obrigado por compreender toda a minha ausência e por sempre acreditar em meus sonhos, me dando força e coragem para continuar a luta. Com você é tudo mais fácil e belo.

Aos meus irmãos queridos **Nadjamena, Silvano e Isabel** pelo amor, admiração, carinho e por toda nossa trajetória juntos, desde a infância até onde Deus permitir. Aos meus sobrinhos **Pedro e João**, os quais são motivos de acreditar que tudo vale a pena. Ao meu pai **Raul** e minha madrastra **Isabel** que mesmo na distância sei que torcem por minha vitória.

Aos meus **familiares**, especialmente a minhas avós **Da Paz e Darcy**, as quais sempre com muito carinho e incentivo festejaram com minhas vitórias. A minha tia Bi (in memória) que sempre confiou em mim e em todos os passos que eu daria na minha carreira profissional.

A minha segunda família, meu sogro **Alcides** e minha sogra **Fátima**, os quais sempre me acolhem com muito amor e carinho em sua casa me fazendo sentir como uma filha.

Agradecer minha amiga **Joana**, pois sem ela teria sido muito difícil fazer todas as coletas de dados. Obrigado por sempre ter estado ao meu lado, seja nas madrugadas ou durante a noite e por todas as palavras de incentivo e carinho. **Aninha e Débora** vocês foram essenciais para a realização deste trabalho.

Agradecer a minha querida orientadora Prof^ª Dra **Maria da Conceição**, por todo seu tempo já dedicado a meus estudos, tendo início na monitoria ainda quando estudante de Nutrição. Falar muito obrigada por toda sua compreensão, paciência, dedicação, confiança e relação de amizade fortalecida ao longo do percurso. Serei sempre grata e lembrarei de todo esse processo com carinho e saudades devido à sua companhia e amizade.

A Prof^ª Dra **Darlene** por todo seu cuidado, carinho e dedicação comigo. Aprender genética, como é difícil, tantos detalhes, mas com uma pessoa tão especial e atenciosa ao meu lado fez tudo parecer mais simples e belo. Por você tenho muito carinho e admiração.

A Prof^a Dra **Lúcia**, exemplo de professora, a qual tive prazer de conhecer e conviver por alguns meses em seu laboratório. Não esquecendo os anjos que encontrei no laboratório **Priscila** e **Neuza**, que me guiaram e auxiliaram em minha pesquisa.

Ao meu Prof^o Dr **Alexandre Sérgio** por toda a sua dedicação à realização do meu projeto de pesquisa, por ter me acompanhado em cada passo da escrita do meu artigo me dando força e coragem para continuar a luta.

Aos professores doutores **Liana Clébia, Luiza Ascitti e Maria José de Carvalho** por terem aceitado compor esta banca examinadora e pela valiosa colaboração com meu projeto de pesquisa.

Aos meus amigos da **turma do mestrado**, companheiros nesta batalha, pelos ensinamentos compartilhados, alegrias, experiências e amizade. Vocês sempre estarão presentes em minha memória e em meu coração. Especialmente a **Caio** e **Vinícius**, os quais me ajudaram na coleta e análise de dados.

Aos amigos do **LETFADS** os quais fizeram parte da construção de meu trabalho. Obrigado por todo incentivo e carinho encontrado a cada vez que nos encontrávamos no laboratório ou nas coletas de dados. Agradecer de todo coração a **Surama**, o anjo como enfermeira que Deus colocou para me auxiliar.

Aos **funcionários do curso de Pós-graduação** em Ciências da Nutrição pela colaboração com a realização de meu trabalho durante todo o curso.

A todos os **participantes da pesquisa**, funcionários do Restaurante Universitário e da divisão de Nutrição do Hospital Universitário, por abdicarem de seu precioso tempo para contribuírem com a Ciência da Nutrição. Muito obrigada sem vocês nada teria sido possível.

Por fim, meu agradecimento ao **CNPq** pelo financiamento do meu projeto de pesquisa, o que possibilitou a realização deste trabalho.

“Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso e pessoas fracassadas. O que existem são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles.”

Augusto Cury

RESUMO

A dislipidemia e polimorfismos genéticos estão relacionados com risco aumentado para desenvolver doenças cardiovasculares e a melancia parece possuir potencial para melhorar hiperlipidemia devido à presença de nutrientes como arginina e citrulina. Investigou-se o efeito hipolipemiante do extrato de melancia e a influência do genótipo da metilenoetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T) e da apolipoproteína E na resposta a suplementação. Foi desenvolvido um estudo experimental, clínico de fase II, randomizado, duplo cego com placebo controlado. Inicialmente foram realizados exames bioquímicos para avaliação do perfil lipídico com 92 funcionários de uma instituição pública, de forma aleatória. Destes, quarenta e três sujeitos diagnosticados com dislipidemia foram randomicamente divididos em dois grupos, o experimental (n=22) e controle (n=21). Os sujeitos foram suplementados diariamente (6 g) durante 42 dias com extrato de melancia ou uma mistura de hidratos de carbono (sacarose/glicose/frutose). Foram avaliados parâmetros antropométricos (peso, índice de massa corporal, circunferência da cintura e relação cintura quadril), bioquímicos (perfil lipídico), pressão arterial sistêmica e atividade autonômica cardíaca. O consumo do extrato de melancia reduziu concentrações plasmáticas de colesterol total ($p<0,05$) e lipoproteína de baixa densidade ($p<0,01$), sem modificar valores de triglicérido, lipoproteína de alta densidade e lipoproteína de muito baixa densidade em humanos adultos com dislipidemia, pré hipertensos, com sobrepeso e glicemia próximo ao limite superior. Portadores do alelo T (MTHFR C677T) do grupo experimental apresentaram redução da lipoproteína de baixa densidade ($p<0,01$), já portadores do alelo C não reduziram os níveis desta variável. Os sujeitos do grupo experimental e controle apresentaram o sistema simpático estimulado, sem modificações após suplementação em ambos os grupos. Efeito benéfico do extrato sobre níveis de pressão arterial, reduzindo significativamente valores de pressão arterial sistólica ($p<0,01$) e diastólica ($p<0,01$) no grupo experimental, sem alterações significativas no grupo controle. Não foram encontradas modificações dos parâmetros antropométricos em ambos os grupos após a suplementação com o extrato de melancia. Em resumo, o presente estudo demonstrou pela primeira vez efeito benéfico do consumo do extrato de melancia na redução dos níveis plasmáticos de lipídios e pressão arterial sistólica e diastólica em seres humanos, onde polimorfismo MTHFR C677T não influenciou os níveis de lipídios plasmáticos, mas torna os indivíduos mais responsivos ao tratamento com a melancia. O consumo deste alimento funcional pode representar uma alternativa terapêutica no tratamento coadjuvante de pacientes com dislipidemia, acarretando promoção da saúde e minimização do desenvolvimento de fatores de risco para as doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: Melancia, Dislipidemia, Polimorfismo, MTHFR C677T.

ABSTRACT

Dyslipidemia and genetic polymorphisms are associated with increased risk for developing cardiovascular diseases and watermelon appears to possess the potential to improve hyperlipidemia due to the presence of nutrients such as arginine and citrulline. We investigated the hypolipidemic effect of the extract of watermelon and influence of genotype of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T) and apolipoprotein E in response to supplementation. We developed an experimental, clinical phase II, randomized, double blind placebo controlled. Initially biochemical tests were performed to evaluate the lipid profile with 92 employees of a public institution, randomly. Of these, forty-three subjects diagnosed with dyslipidemia were randomly divided into two groups, the experimental (n = 22) and control (n = 21). The subjects were supplemented daily (6 g) for 42 days with extract of watermelon or a mixture of carbohydrates (sucrose / glucose / fructose). We evaluated anthropometric parameters (weight, body mass index, waist circumference and waist-hip ratio), biochemical (lipid profile), systemic arterial pressure and cardiac autonomic activity. The use of the extract of watermelon reduced plasma total cholesterol (p <0.05) and low density lipoprotein (p <0.01) without modifying values triglyceride, high density lipoprotein and very low density lipoprotein in human adults with dyslipidemia, pre hypertensive, overweight and glucose levels close to the upper limit. T allele carriers (C677T) in the experimental group presented a reduction of low density lipoprotein (p <0.01), longer allele C did not reduce the levels of this variable. The subjects in the experimental group and control had stimulated the sympathetic system, without modifications after supplementation in both groups. Beneficial effect of the extract on blood pressure levels, significantly reducing systolic blood pressure (p <0.01) and diastolic (p <0.01) in the experimental group, no significant changes in the control group. There were no changes in anthropometric parameters in both groups after supplementation with the extract of watermelon. In summary, the present study first demonstrated the beneficial effect of the consumption of watermelon extract in reducing plasma levels of lipids and systolic and diastolic blood pressure in humans, where MTHFR C677T polymorphism did not influence the levels of plasma lipids, but makes individuals more responsive to treatment with watermelon. The consumption of functional food may be an alternative therapy in the adjuvant treatment of patients with dyslipidemia, causing health promotion and minimizing the development of risk factors for cardiovascular disease.

Key-words: Watermelon, Dyslipidemia, Polymorphism, MTHFR C677T.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

Figura 1	<i>Citrullus lanatus</i>	25
Diagrama 1	Protocolo Experimental.....	41

FIGURAS DO ARTIGO

Figura 1	A suplementação com extrato de melancia reduziu as concentrações de colesterol total e LDL colesterol.....	96
Figura 2	O genótipo da C677T da MTHFR influencia positivamente na redução dos níveis plasmáticos de LDL colesterol após suplementação com extrato de melancia.....	97

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1	Comparação do perfil lipídico dos grupos de genótipos da MTHFR C677T..	95
-----------------	--	----

LISTA DE TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1	Atividade Nervosa Autonômica Cardíaca após suplementação com extrato de melancia.....	98
Tabela 2	Valores da Pressão Arterial Sistêmica no grupo experimental após suplementação com extrato de melancia.....	98
Tabela 3	Consumo Alimentar de sujeitos dislipidêmicos no tempo basal.....	99

LISTA DE QUADROS DA DISSERTAÇÃO

Quadro 1	Classificação das Dislipidemias.....	19
Quadro 2	Recomendações dietéticas para o tratamento das hipercolesterolemias.....	23
Quadro 3	Composição química (100 g ou mL de polpa) de melancia.....	28
Quadro 4	Atividades Biológicas de extratos e frações de <i>Citrullus lanatus</i>	35
Quadro 5	Classificação dos valores de IMC.....	43
Quadro 6	Classificação da pressão arterial de acordo com a medida casual no consultório (> 18 anos):.....	45
Quadro 7	Valores de referência para o diagnóstico das dislipidemias em adultos > 20 anos.....	46
Quadro 8	Relação dos métodos, material e valores de referência utilizados para cada exame.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAC	Atividade Autonômica Cardíaca
ALT	Alanina aminotransferase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ApoE	Apolipoproteína E
AST	Aspartato aminotransferase
ATP III	Adult Treatment Panel III
BT	Bilirrubina total
CT	Colesterol Total
DAC	Doença Arterial Coronariana
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças Cardiovasculares
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	High density lipoprotein
HULW	Hospital Universitário Lauro Wanderley
LDL	Low density lipoprotein
LETFADS	Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e Saúde
MEV	Mudança do estilo de vida
MRR	Média de dois intervalos RR consecutivos normais
MTHFR	Metilenoetrahidrofolato redutase
NCEP	National Cholesterol Education Program
OMS	Organização Mundial de Saúde
SDNN	Desvio padrão da diferença entre os intervalos
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	Triglicerídeos
VLDL	Very low density lipoprotein

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
	2.1 DISLIPIDEMIA.....	19
	2.2 <i>CITRULLUS LANATUS</i> (Melancia).....	23
	2.2.1 Origem, caracterização botânicas e morfológica	23
	2.2.2 Composição Nutricional	26
	2.2.3 Atividade Biológica da <i>Citrullus lanatus</i> (Melancia)	32
	2.2.3.1 <i>Síndrome Metabólica e peroxidação lipídica</i>	32
	2.2.3.2 <i>Diabetes Mellitus e agente hipoglicemiante</i>	33
	2.2.3.3 <i>Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS)</i>	33
	2.3 POLIMORFISMOS GENÉTICOS.....	36
	2.3.1 Polimorfismo da MTHFR C677T	36
	2.3.2 Polimorfismo da apolipoproteína E	36
	2.3.2.1 <i>APOE e dislipidemia</i>	37
3	MATERIAIS E MÉTODOS	39
	3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	39
	3.2 CASUÍSTICA.....	39
	3.2.1 Seleção da amostra e população do estudo	39
	3.2.2 Critérios de elegibilidade da amostra	39
	3.3 QUESTÕES ÉTICAS.....	40
	3.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	40
	3.4.1 Suplementação com extrato de melancia	41
	3.5 COLETA DE DADOS.....	42
	3.6 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA.....	42
	3.6.1 Peso	42
	3.6.2 Altura	42
	3.6.3 Índice de Massa Corporal	43
	3.6.4 Circunferência da Cintura	43
	3.6.5 Relação Cintura Quadril	44
	3.7 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR.....	44
	3.8 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL.....	44

3.9 REGISTRO DA ATIVIDADE AUTONÔMICA CARDÍACA (AAC).....	45
3.10 COLETA E AVALIAÇÃO DE MATERIAL BIOQUÍMICO.....	46
3.11 COLETA E AVALIAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO.....	47
3.11.1 Coleta das células da mucosa oral.....	47
3.11.2 Extração do DNA genômico de leucócitos.....	48
3.11.3 Identificação do polimorfismo C677T do gene MTHFR.....	48
3.11.4 Identificação do polimorfismo da apolipoproteína E.....	49
3.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICES.....	64
ANEXOS.....	73
ARTIGO 1.....	75
OUTROS RESULTADOS.....	98

1 INTRODUÇÃO

Concentrações alteradas dos níveis séricos de lipídios caracterizam as dislipidemias, sendo estas determinadas por fatores genéticos e ambientais (FRANCA; ALVES, 2006). Níveis elevados de colesterol total (CT), LDL colesterol (LDL-c) e triglicerídeos (TG), assim como níveis reduzidos de HDL colesterol (HDL-c), estão relacionados com maior incidência de hipertensão arterial e doença arterial coronariana (DAC) (STOCKER; KEANEY, 2004; FRANCA; ALVES, 2006).

Polimorfismos genéticos estão relacionados com risco aumentado para desenvolver Doenças Cardiovasculares (DCV). O polimorfismo da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T) é considerado um fator de risco para doenças ateroscleróticas (SZCZEKLIK et al., 2001; DEDOUSSIS et al., 2005) e estudo em modelo animal relacionam a deficiência em apolipoproteína E com o desenvolvimento de dislipidemias (BAGAVANT et al., 2011; OHSHIRO et al., 2011; LIMA et al., 2012).

Atualmente, para o tratamento das dislipidemias existe uma necessidade não satisfeita de terapias eficazes (DUBE; HEGELE, 2012). O tratamento farmacológico é realizado com o uso das estatinas, atuando na redução dos níveis de colesterol por inibição da hidroximetilglutaril-CoA redutase, a qual é a enzima limitante da via do mevalonato, via da síntese de colesterol (YANG et al., 2011). O seu uso pode acarretar efeitos adversos, como: cefaleia, dispepsia, dores musculares, exantema cutâneo, miopatia e danos hepáticos (MARTINEZ, 2003; YANG et al., 2011). O tratamento não protege um percentual significativo de pacientes de eventos cardiovasculares, apesar de eficiente para reduzir o colesterol (TAVRIDOU et al., 2011).

Neste âmbito terapêutico o uso da terapia nutricional se torna uma estratégia no controle das dislipidemias e combate a elevação das taxas de morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (BERTASSO, 2000). De acordo com Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007) o uso da terapia nutricional é uma meta na promoção e cuidado da saúde.

Considerando este fato, pacientes hipercolesterolêmicos têm recorrido a tratamentos utilizando diferentes alimentos com alegações de propriedades funcionais. Muitos alimentos são conhecidos científica e popularmente por apresentarem efeito hipolipemiante, tais como: berinjela, cenoura, cebola, jiló, alho, alcachofra, nozes, gordura monoinsaturada, fibras solúveis e insolúveis (BALBACH; BOARIM, 1992; HALTON et al., 2002; PIMENTEL; FRANCKI; GOLLUCKE, 2005; GONÇALVES et al., 2006) e frutas ricas em licopeno,

citrulina e arginina, poderosos antioxidantes presentes na melancia (RIMANDO; PERKINS-VEAZIE, 2005; FIGUEROA et al., 2011).

A melancia é uma fruta rica em licopeno e estudos epidemiológicos têm ligado reduções do risco de desenvolver doença cardiovascular e prevenção de aterogênese com o consumo de dietas ricas em licopeno. (RISSANEN et al., 2003; GIANETTI et al., 2002; AGARWAL; RAO, 2000). Neste contexto, pesquisa foi realizada em modelo animal para avaliar o efeito do consumo de melancia, aonde Poduri et al. (2012) descrevem que o consumo do extrato de melancia atenuou o desenvolvimento da aterosclerose em ratos hipercolesterolêmicos.

Atividades biológicas de extratos e frações de *Citrullus lanatus* foram elucidadas por meio de estudos científicos, denotando o efeito da melancia no tratamento do diabetes Mellitus (DUKE; AYENSU, 1985; YAMASAKI, 1996; ARAÚJO, 1999), atividade antibactericida (KUMAR et al., 1997), antioxidante (VINSON et al., 2001), atividade captadora do radical superóxido dismutase (ORHAN et al., 2003), no tratamento da síndrome metabólica (WU et al., 2007), disfunção da tireóide (PARMAR; KAR, 2008), hipertensão arterial (FIGUEROA et al., 2011, FIGUEROA et al., 2012) e proteção das células pancreáticas (AHN et al., 2011).

Apesar destes estudos, não ocorre um consenso na literatura quanto aos benefícios deste alimento, e particularmente sobre a melhora do perfil lipídico e pressão arterial, assim, pesquisas vêm sendo realizadas para comprovar efeito benéfico do uso da melancia. Relacionado ao perfil lipídico foram realizadas pesquisas em modelo animal com o uso do suco e casca da melancia elucidando efeitos benéficos como à melhora do perfil lipídico e diminuição do avanço do processo aterosclerótico (WU et al., 2007; PARMAR; KAR, 2008; ALTAS et al., 2011; PODURI et al., 2012).

Embora estes dados sejam promissores, não se encontrou até o momento, na literatura científica, informações se esta resposta se reproduzirá em modelo humano avaliando a influência de aspectos genéticos na resposta a suplementação dietética. Assim, justifica-se a necessidade do desenvolvimento desta pesquisa para gerar conhecimento acerca deste benefício, através de estudo mais aprofundado para avaliar possível efeito relacionado à diminuição dos níveis séricos de lipídios e valores da pressão arterial sistêmica; uma vez que estas alterações contribuem para a elevação da taxa de mortalidade e morbidade da população mundial.

Neste âmbito, o presente projeto de pesquisa tem como objetivo geral avaliar o efeito do extrato de melancia (*Citrullus lanatus*) no perfil lipídico e na pressão arterial de pacientes

com dislipidemias e analisar a influência do polimorfismo da MTHFR C677T e da apolipoproteína E na resposta a suplementação dietética. E como objetivos específicos: avaliar o estado nutricional; o consumo dietético; analisar exames bioquímicos; avaliar pressão arterial sistêmica e atividade nervosa autonômica cardíaca. Analisar influência exercida pela presença do alelo T e C do polimorfismo da MTHFR C677T assim como os genótipos da apolipoproteína E (E2, E3 e E4) na resposta ao tratamento da suplementação com extrato de melancia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DISLIPIDIMIA

Dislipidemia é um quadro clínico caracterizado por concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue e é determinada por fatores genéticos e ambientais (FRANCA; ALVES, 2006; REINER et al., 2011). As dislipidemias primárias ou sem causa aparente podem ser classificadas genotipicamente ou fenotipicamente através de análises bioquímicas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

Na classificação genotípica, as dislipidemias se dividem em monogênicas, causadas por mutações em um só gene, e poligênicas, causadas por associações de múltiplas mutações. A classificação fenotípica ou bioquímica considera os valores do colesterol total, LDL colesterol, triglicerídeos e de HDL colesterol. Compreende quatro tipos principais bem definidos:

Quadro 1 – Classificação das Dislipidemias:

DISLIPIDEMIA	ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS
Hipercolesterolemia isolada	Elevação isolada do LDL-c
Hipertrigliceridemia isolada	Elevação isolada dos TG, que reflete o aumento do volume de partículas ricas em TG como VLDL, IDL e quilomícrons
Hiperlipidemia mista	Valores aumentados de ambos LDL-c (≥ 160 mg/dL) e TG (≥ 150 mg/dL)
HDL-c baixo	Redução do HDL-c isolada ou em associação com aumento de LDL-C ou de TG.

Fonte: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007.

As dislipidemias acarretam alterações dos níveis séricos dos lipídios, neste contexto, evidências demonstram que níveis elevados de CT, LDL-c e TG, assim como níveis reduzidos de HDL-c, estão relacionados com maior incidência de hipertensão arterial e doença aterosclerótica (FRANCA; ALVES, 2006).

A aterosclerose é caracterizada como uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial. O seu desenvolvimento têm início já na infância por meio da elevação do colesterol plasmático, que pode ser potencializado no decorrer da vida pela obesidade e por

outros fatores, como história familiar, inatividade física, dieta inadequada e hipertensão arterial (CORONELLI; MOURA, 2003).

A aterogênese tem início com a formação de estrias gordurosas precursoras das placas de ateroma. Essas começam a surgir na aorta a partir dos três anos de idade, na adolescência passam a atingir as coronárias, progredindo, subsequentemente, nas outras fases do ciclo vital (CARVALHO et al., 2007). Têm evolução lenta e silenciosa, e as manifestações clínicas na vida adulta repercutem sob diversas condições mórbidas do aparelho circulatório que culminam nas elevadas taxas de mortalidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

Neste contexto, de acordo com as projeções da Organização Mundial de Saúde (OMS) a tendência de elevação da doença cardiovascular tende a persistir, agravando ainda mais o quadro de morbidade e mortalidade nos países em desenvolvimento, que com o aumento da prosperidade da economia global adquiriram diversos hábitos de vida característicos de países desenvolvidos (STOCKER; KEANEY, 2004; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

As análises epidemiológicas com estimativas de projeção de taxas de mortalidade, revelam que, independente da região geográfica e nível socioeconômico, a doença arterial coronária e cerebrovascular irão persistir como as principais causas de mortalidade global até 2030 (MATHERS; LONCAR, 2006).

As elevadas concentrações plasmáticas de CT, TG e LDL-c e baixa concentração plasmática de HDL-c são consideradas importantes fatores de risco para desenvolvimento de doenças coronarianas, uma vez que a deposição de lipoproteínas no espaço subendotelial é um dos passos fundamentais para o início e progressão da aterogênese (STOCKER; KEANEY, 2004). Os baixos níveis de HDL-c têm demonstrado ser um fator preditivo de risco independente para o desenvolvimento de doença arterial coronariana (ASSMANN; CULLEN; SCHULTE, 2002) assim como a elevada concentração de homocisteína (SADEGHIAN et al., 2006).

Outros fatores também estão relacionados ao aumento do risco da doença, como: o fumo, a obesidade, o diabetes mellitus, a hipertensão, os níveis elevados de colesterol, história familiar de DAC, falta de exercícios físicos (STOCKER; KEANEY, 2004), assim como polimorfismos genéticos, o polimorfismo da C677T do gene 5,10 metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) é considerado um fator de risco para DAC (PAYNE et al., 2001; SZCZEKLIK et al., 2001; DEDOISSIS et al., 2005).

O controle e a prevenção dos fatores de risco revelam suma importância na diminuição

das taxas de mortalidade por doença coronariana. Na pesquisa realizada Ford et al. (2007), pesquisadores descrevem que diminuiu nos Estados Unidos a mortalidade por doença coronariana, entre os anos de 1980 e 2000, em aproximadamente 50%, sendo 44% desta diminuição devido ao controle de alguns fatores de risco. Isto representou uma redução de 150 mil mortes, sendo que a diminuição de apenas 6,1 mg/dL de colesterol total sérico foi a ação mais importante, responsável por 82.830 mortes prevenidas ou postergadas. Neste âmbito, tentativas para reduzir esta doença são de extrema importância e a redução da sua ocorrência e da sua progressão continuam sendo importantes metas na medicina preventiva.

Assim, estudos para avaliar fatores de risco são desenvolvidos com objetivos de revelar a prevalência destes na população. De acordo com Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007) os níveis séricos de CT foram avaliados no Brasil em regiões específicas, o estudo foi conduzido em nove capitais, envolvendo 8.045 indivíduos com idade mediana de 35±10 anos, no ano de 1998, revelou que 38% dos homens e 42% das mulheres possuem CT > 200 mg/dL. Neste estudo, os valores do CT foram mais altos no sexo feminino e nas faixas etárias mais elevadas.

Com a identificação dos fatores de risco para desenvolvimento de dislipidemias e DAC ou expressão da patologia, se faz necessário o tratamento. No tratamento da dislipidemia, as mudanças terapêuticas no estilo de vida são o primeiro passo do cuidado recomendado pelo National Cholesterol Education Program (NCEP), Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III), podendo ser suficiente para 90% dos pacientes tratados. Portanto, o aconselhamento alimentar deve ser individualizado e precedido de uma avaliação do estado nutricional do paciente. Com isso você pode alcançar uma redução de 5-10% do colesterol e 50% de triglicerídeos (SÁNCHEZ; RODRÍGUEZ PORTO; MARTÍNEZ VALDÉS, 2003).

Deste modo, a terapia nutricional deve ser adotada na prevenção e no tratamento das dislipidemias, onde o plano alimentar deverá contemplar questões culturais, regionais, sociais e econômicas, devendo ser agradável ao paladar e visualmente atraente. O paciente deverá receber também orientações relacionadas à seleção, quantidade, técnicas de preparo e substituições dos alimentos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

Na década de 80 foi realizado o Estudo dos Sete Países (KEYS, 1986), envolvendo homens com idade entre 40 e 59 anos, acompanhados durante 15 anos. Esta pesquisa foi a primeira a demonstrar que o consumo de ácidos graxos saturados apresentava forte correlação com os níveis plasmáticos de colesterol. Países com maior consumo de gordura saturada (superior a 15% da energia diária) apresentaram maiores concentrações de colesterol e maior mortalidade por doença arterial coronária. A partir destes estudos iniciais, foram identificados

outros componentes alimentares e alimentos específicos que têm uma ligação positiva ou negativa com o risco de doenças cardiovasculares.

A alimentação exerce forte influência no desenvolvimento das dislipidemias, os ácidos graxos saturados é o fator dietético que exerce maior impacto sobre os níveis de LDL-c (MENSINK et al., 2003) e os ácidos graxos insaturados podem ser encontrados em quantidades limitadas (geralmente 5% da gordura total) em produtos lácteos e em carnes de ruminantes. Quantitativamente, os ácidos graxos trans têm um efeito similar no aumento dos níveis plasmáticos de LDL-c comparando com os ácidos graxos saturados (MOZAFFARIAN; ARO; WILLETT, 2009).

Na conjuntura da terapia nutricional a Associação Americana do Coração já indicou o uso de alimentos funcionais como parte da dieta para dislipidemias (BRICARELLO; ROSANA, 2001). Santos et al. (2001) descreve que a principal ação contra as dislipidemias é a dietoterapia, sendo esta uma conduta terapêutica indicada isoladamente ou em conjunto com outros tipos de tratamento; mas não existe qualquer outro tipo de tratamento das dislipidemias sem estar associado à conduta dietoterápica.

Estudo realizado por Grundy et al. (2004) demonstram que estratégias que combinem na dieta alimentos e outros componentes alimentares para diminuir o colesterol, tais como fibras viscosas e esteróis de plantas têm sido recomendados para aumentar a eficácia das dietas terapêuticas com baixo teor em gordura saturada e colesterol. Tais combinações alimentares resultaram em substanciais reduções de lipoproteína de baixa densidade e do colesterol (JENKINS et al., 2003).

O aumento da ingestão de gordura monoinsaturada, através de aumento do consumo de nozes e óleos vegetais, têm sido associada com uma redução da incidência de doença cardiovascular em estudos de coorte (HALTON et al., 2006). De acordo com Pimentel, Francki e Gollucke (2005) é recomendado adaptar gradualmente uma dieta rica em fibras solúveis e insolúveis (20 – 30g/dia), concomitantemente com o aumento do volume de água ingerido durante o dia; pois a ingestão de elevado teor de fibras em cada refeição regula a função gastrointestinal, além de regular o perfil lipídico. A cocção reduz o teor de fibras e os alimentos fontes de fibras solúveis são: aveia, farinha de aveia, feijões, ervilha, frutas cítricas, maçãs, morango, framboesa e alimentos fontes de fibras insolúveis são: pães integrais, cereais, cenouras, couve, farelo e casca de maçã.

O consumo de lipídios na dieta deve ser adequado às necessidades de cada indivíduo, uma vez que, tem sido demonstrado que o aumento do consumo de gordura associa-se à elevação da concentração plasmática de colesterol e à maior incidência de aterosclerose

coronária e aórtica. Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007), as recomendações nutricionais para tratamento da hipercolesterolemia para pacientes (grau de recomendação I, nível de evidência B) são:

Quadro 2 - Recomendações dietéticas para o tratamento das hipercolesterolemias

Nutrientes	Ingestão recomendada
Gordura total	25 a 35% das calorias totais
Ácidos graxos saturados	≤ 7% das calorias totais
Ácidos graxos polinsaturados	≤ 10% das calorias totais
Ácidos graxos monoinsaturados	≤ 20% das calorias totais
Carboidratos	50 a 60% das calorias totais
Proteínas	Cerca de 15% das calorias totais
Colesterol	<200 mg/dia
Fibras	20 a 30 g/d
Calorias	Ajustado ao peso desejável

Fonte: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007.

Ante o exposto, se faz primordial definir os fatores de risco cardiovascular em âmbito global, validados para indivíduos do sexo masculino e feminino, independente da região geográfica ou etnia, para assim definir estratégias de prevenção primária, contribuindo para a diminuição das taxas de mortalidade por DCV (GRAVINA et al., 2010). Corroborando com esta estratégia, pesquisas no âmbito das ciências da nutrição são essenciais para identificar propriedades funcionais nos alimentos, contribuindo para a prevenção/tratamento das dislipidemias e desenvolvimento de DAC.

2.2 *CITRULLUS LANATUS* (Melancia)

2.2.1 Origem, caracterização botânica e morfológica

A melancia é originária das regiões secas da África tropical, tendo um centro de diversificação secundário no Sul da Ásia. A melancia cultivada (*C. lanatus* var. *lanatus*)

deriva provavelmente da variedade *C. lanatus* var. *citroides* existente na África Central. A domesticação ocorreu na África Central onde a melancia é cultivada há mais de 5.000 anos e foi introduzida no Brasil por volta de 1551 a 1557 durante o tráfico de escravos, sendo a principal cucurbitácea cultivada no mundo (GUNER; WEHNER, 2008).

Segundo citação de Romão (1995), as espécies do gênero *Citrullus* chegaram ao Nordeste introduzidas pelos escravos africanos no período de tráfico negreiro. Mais tarde, com a ocupação do espaço interior do Nordeste brasileiro por várias rotas, as melancias foram dispersas em praticamente todos os municípios da região, inclusive no semiárido nordestino.

A melancia, *Citrullus lanatus*, pertence à família *Cucurbitaceae*, é cultivada em todo o mundo, sendo considerada cosmopolita e apresenta expressiva importância no agronegócio brasileiro. O gênero *Citrullus* é classificado como parte da divisão *Magnoliophyta*, da classe *Magnoliopsida*, da subclasse *Dilleniidae*, da ordem *Violales* e da família *Cucurbitaceae*. No gênero *Citrullus* estão incluídas quatro espécies: *Citrullus lanatus*, *C. colocynthis*, *C. ecirrhosus* e *C. Rehmii*. A espécie *Citrullus lanatus*, inclui a melancia cultivada para consumo humano sendo de ampla distribuição mundial (EMBRAPA, 2011).

As principais características da família *Cucurbitaceae* foram descritas por Barroso (1978), caracterizando-as como ervas anuais ou perenes, subarbustos escandentes ou prostrados, com ou sem gavinhas. As gavinhas são simples ou ramificadas sendo originadas de modificações dos ramos, ao passo que as folhas são alternas, simples ou lobadas. As flores são perfeitas ou unissexuadas, com plantas monóicas, dióicas ou ainda andromonóicas, isoladas ou ordenadas em racemos, espigas, fascículos ou panículas. A flor feminina apresenta hipânquio geralmente alongado, ovário ínfero, tricarpelar, unilocular ou dividido em falsos lóculos pela intrusão de placentas parietais. As flores masculinas contêm cinco estames livres entre si com ou sem estaminódios. O número de estames e a sua disposição constituem caráter de valor na sistemática das cucurbitáceas.

Filgueira (2003) descreve a melancia como uma planta herbácea, com ciclo anual que varia de 70 a 120 dias, dependendo das condições ambientais e da cultivar utilizada. Seu hábito de crescimento é rasteiro, com várias ramificações que alcançam até cinco metros de comprimento com gavinhas ramificadas. São plantas alógamas ou de reprodução cruzada, mais que não perdem o vigor com a autofecundação. O sistema radicular é extenso, mas superficial, com um predomínio de raízes nos primeiros 60 centímetros do solo. As folhas da melancia são profundamente lobadas.

Do ponto de vista botânico, os frutos constituem-se de uma baga, de paredes externas duras e internas carnosas, típica das cucurbitáceas e conhecida como pepônio. O tamanho pode variar de menos de 1 kg a mais de 30 kg. As cultivares disponíveis no mercado brasileiro apresentam peso médio variando de 4 a 12 kg. Recentemente, estão sendo introduzidas as cultivares de frutos do tipo “personal”, que pesam em torno de 1kg (EMBRAPA – RONDÔNIA, 2008). Alvarenga e Resende (2002) classificam os frutos de melancia, conforme o peso, em grandes (>9 kg), médios (6-9 kg) e pequenos (<6 kg), sendo que frutos maiores de 7 kg obtêm os melhores preços.



Figura 1 - *Citrullus lanatus*

Fonte:http://www.noticiasdocampo.com.br/site/index.php?option=com_content&task=view&id=9350

A polpa é formada de tecido placentar, que é a principal parte comestível do fruto. Este tecido tem a coloração vermelha por causa da presença de licopeno ou amarelada em consequência da presença de carotenos e xantofilas. Frutos de materiais silvestres possuem amargor acentuado da polpa - “flesh bitterness” - que é atribuído à presença de cucurbitacina, um triterpenoide tetracíclico oxigenado, que é raro nas atuais variedades cultivadas. A polpa da melancia quanto à textura é classificada em macia, firme ou crocante. As cultivares de polpa macia são muito apreciadas no mercado nacional. Entretanto, para o mercado de exportação, a preferência é por cultivares de polpa firme, muito observado nas cultivares triploide ou sem sementes (EMBRAPA, 2011). Internamente, a polpa pode ser branca, amarela, laranja, rósea ou vermelha, sendo esta última a mais comum entre as variedades comercializadas no Brasil (EMBRAPA-RONDÔNIA,2008).

As sementes são variadas na cor do tegumento: branca, creme, verde, vermelha, marrom-avermelhada, marrom e preta, com presença ou ausência de manchas, cor secundária do tegumento, tamanho variando de muito pequeno a muito grande. A melancia, de forma geral, apresenta cerca de 200 a 800 sementes por fruto, as quais ficam embebidas na polpa. As

cultivares triploide não apresentam sementes perfeitas ou apresentam um número reduzido, variando de 1 a 10, mas apenas rudimentos de sementes - “sementes brancas” -, que são comestíveis (EMBRAPA, 2011).

Entre as cucurbitáceas, a melancia é uma espécie tipicamente de clima quente, intolerante ao frio e à geada. Villa (2001) descreve que esta olerícola desenvolve-se melhor sob condições de clima quente e umidade baixa, com temperaturas variando de 18° a 25°C e extremos de 10° a 32°C. A planta tem melhor crescimento quando ocorrem temperaturas de 20° a 30°C, com pouca variação entre as temperaturas diurnas e noturnas. Quando ocorrem temperaturas abaixo de 12°C, o crescimento é praticamente paralisado, sendo que abaixo de 18°C pode não ocorrer formação de flores.

No Brasil, as principais regiões produtoras de melancia são o Sul e o Nordeste, contribuindo, respectivamente com 34,34% e 30,10% do total da produção nacional. O Rio Grande do Sul foi o estado de maior produção, com aproximadamente 27% da produção brasileira no ano de 2008 (IBGE, 2010).

2.2.2 Composição Nutricional

A melancia de polpa vermelha é uma hortaliça muito apreciada em todo o mundo por suas agradáveis características sensoriais de aroma, cor, doçura, suculência e refrescância, prova disso é que sua polpa é amplamente utilizada na preparação de sucos, néctares, coquetéis, etc. Aliado a isso, nos últimos anos, têm sido apontada como importante fonte de licopeno, um carotenóide com elevada atividade antioxidante cujo consumo é associado à prevenção de doenças degenerativas, mais especificamente, câncer de próstata, estômago e pulmão (CLINTON, 1998; AGARWAL; RAO, 2000).

A melancia possui o conteúdo de licopeno mais alto entre frutas frescas e legumes. Possui cerca de 60% a mais de licopeno que o fruto do tomate. Essa substância na dieta humana é associada com prevenção de ataques de coração e certos cânceres como o de próstata (GUNER; WEHNER, 2008). O licopeno aparece atualmente como um dos mais potentes antioxidantes, sendo sugerido na prevenção da carcinogênese e aterogênese por proteger moléculas como lipídios, lipoproteínas de baixa densidade, proteínas e DNA (AGARWAL; RAO, 2000). Um possível mecanismo para o efeito protetor do licopeno contra doenças cardíacas é a inibição de uma enzima (HMGCoA redutase) que é importante na síntese do colesterol (AUGUSTI, 2007) e seu consumo está sendo inversamente associado com risco de infarto do miocárdio (KRIS-ETHERTON et al., 2002).

A pigmentação vermelha da polpa é dada pelo licopeno, um carotenóide com atividade antioxidante. Nos cultivares de polpa amarela, a cor é em função dos carotenóides, do β -caroteno (pró-vitamina A) e das xantofilas (EMBRAPA, 2010). Em 2005, o Ministério da Saúde reconheceu a ação benéfica do licopeno e aprovou a alegação de propriedade funcional para este composto, associando ao combate de radicais livres. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1999), alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não-nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, na manutenção e em outras funções normais do organismo humano.

Como descrito, a melancia é rica em fitonutrientes como o licopeno (PERKINS-VEAZIE; COLLINS, 2004) um precursor do β -caroteno e um carotenóide de grande interesse devido à sua capacidade antioxidante. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que um elevado consumo de frutas e legumes que contém licopeno está associado com menor incidência de doenças coronárias e alguns tipos de câncer de próstata e renal (FRASER; BRAMLEY, 2004).

Apesar de seus benefícios, a avaliação da biodisponibilidade do licopeno de alimentos têm sido limitado a produtos de tomate, em que o tratamento térmico promove a biodisponibilidade do licopeno. Assim Edwards et al. (2003) avaliaram a biodisponibilidade do licopeno do suco fresco de melancia. O estudo foi realizado com indivíduos saudáveis, não fumantes, adultos (36-69 anos), cada um com uma dieta de manutenção e de peso controlada. Após três (03) semanas de tratamento, as concentrações de licopeno no plasma e de β -caroteno foram significativamente maiores. Este estudo define que o licopeno foi biodisponível em ambos os sucos, no de melancia fresco e de tomate em lata. Um efeito dose-resposta não foi aparente no plasma quando a dose foi dobrada do suco de melancia (EDWARDS et al., 2003).

A fruta apresenta ampla variedade em minerais e vitaminas, seus constituintes físico-químicos foram pesquisados por diferentes autores (Quadro 3). A fruta possui elevado percentual de umidade, caracterizando-a como alimento altamente perecível, favorecendo a degradação da mesma por agentes externos ou fatores intrínsecos, assim, necessitando de um planejado manejo nutricional para garantir ao consumidor, a fruta com suas características físico-químicas e organolépticas preservadas (PORTELA, 2009).

Quadro 3 - Composição química (100 g ou ml de polpa) de melancia.

Componente	Mori 1996*	PUC (2001)	NEPA (2006)	FAO (2010)
Água (%)	91,14	92,00	90,7	91,51
Carboidratos (g)	-	7,20	8,1	7,18
Proteína (g)	0,64	0,60	0,9	0,50
Lipídios (g)	0,04	0,40	TR	0,43
Cálcio (mg)	6,46	8,10	8	8,00
Fósforo (mg)	7,77	8,90	12	9
Potássio (mg)	90,03	116,00	104	116,00
Magnésio (mg)	10,81	-	10	11,00
Manganês (mg)	0,062	-	0,14	-
Zinco (mg)	0,083	-	0,1	-
Cobre	0,065	-	0,04	-
Ferro (mg)	0,28	0,20	0,2	0,17
Sódio (mg)	1,40	2,00	TR	-
Vitamina A (UI)	-	365,10	NA	315,0
Tiamina(mg) (B 1)	-	0,08	TR	0,04
Riboflavina (mg) (B 2)	-	0,04	Tr	0,05
Niacina (mg) (B 5)	-	0,20	*	0,20
Ácido ascórbico (mg) (C)	-	9,50	6,1	9,60
Valor energético (cal)	30,00	32,10	33	22

Legenda: *Cultivar Crimson Sweet; tr = traços; NA = não analisado.

Fonte: Citado por EMBRAPA, 2011.

Esta fruta é caracterizada como uma das frutas mais ricas em vitaminas vendidas no Brasil, com elevados teores de pró-vitamina A e de vitaminas C, B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B6 (piridoxina), B12 (cianocobalamina), B3 (niacina), B7 (biotina), ácido fólico. A fruta é fonte de sais minerais como cálcio, fósforo e ferro (EMBRAPA, 2011). Enfatizando este teor vitamínico, Almeida (2003) cita que a fruta fornece vitaminas C e do complexo B.

Nas melancias de polpa vermelha, alguns minerais assumem importância, dentre eles: o potássio, o magnésio, o fósforo e o cálcio, estando os demais elementos como sódio, manganês, zinco, cobre e ferro presentes em menor quantidade. Vale ressaltar que, por ter baixo valor calórico, a melancia pode ser especialmente recomendada para dietas de baixo valor energético (EMBRAPA, 2011).

Segundo Miranda (2005), os principais açúcares presentes na melancia são glicose, frutose, sacarose e maltose, sendo os teores de glicose e frutose mais altos que os teores de sacarose e maltose. O acúmulo de açúcar ocorre de 20 a 36 dias após a abertura das flores (antese). O conteúdo de frutose e glicose tende a reduzir após 28 dias a partir da antese, enquanto o conteúdo de sacarose e açúcares totais pode aumentar no período de 20 a 60 dias após a antese, dependendo da cultivar (ELMOSTROM; DAVIS, 1981; BROWN; SUMMERS, 1985; ARAÚJO NETO et al., 2000).

Pesquisa realizada por Rimando e Perkins-Veazie (2005) define que além do licopeno o suco de melancia também é uma rica fonte de citrulina, um aminoácido essencial a humanos jovens, incluindo crianças, e adultos não saudáveis; porém pode ser sintetizada pela maioria dos mamíferos, neste âmbito, em 1984, Tedesco et al. já relatavam que a melancia é rica em citrulina e também arginina.

Citrulina é um aminoácido cujo nome é derivado da *Citrullus vulgaris*, vulgarmente conhecida como melancia, fruta da qual foi isolado pela primeira vez a mais de 70 anos atrás (WADA, 1930). No plasma a concentração de citrulina reflete o equilíbrio entre sua síntese no intestino e sua conversão em arginina no rim (RABIER; KAMOUN, 2002).

A citrulina é usada no sistema de óxido nítrico em humanos e tem potencial antioxidante, desempenha atividade na vasodilatação. Melancias foram analisadas para determinar o conteúdo de citrulina entre as diferentes variedades, tipos, coloração da polpa e tecidos. O conteúdo de citrulina variou entre 3,9 e 28,5 mg/g de peso seco e foi similar entre os tipos com sementes e sem sementes (16,6 e 20,3 mg/dwt g, respectivamente). Melancias de polpa vermelha tiveram citrulina ligeiramente inferior comparativamente com as de polpa amarela ou laranja (7,4, 28,5 e 14,2 mg/dwt g, respectivamente). A partir das análises, pode-se definir que a casca da melancia é um resíduo agrícola subutilizado, o qual oferece uma fonte de citrulina natural (RIMANDO; PERKINS-VEAZIE, 2005).

Corroborando com o estudo descrito, Tarazona-D'íaz et al. (2011) descrevem que a casca da melancia apresenta teor de fenólicos totais e citrulina (o qual possui propriedades potencialmente bioativas) em superior concentração à encontrada na polpa. Neste contexto afirmam que mais pesquisa são necessárias para a extração eficiente de citrulina da casca da

melancia e sua adequação como um aditivo às bebidas, sucos ou outros produtos para produzir novos alimentos funcionais, com alegações na melhora da saúde da população.

A citrulina é o maior precursor da arginina, um aminoácido nitrogenado ao qual vem se atribuindo um papel essencial nas funções cardiovasculares e imunológicas (RIMANDO; PERKINS-VEAZIE, 2005; COLLINS et al., 2007; MARTINS; NEGRÃO, 2007).

Como já descrito, uma das causas do desenvolvimento de DAC é a dislipidemia. Neste âmbito, estudos que relacionam efeitos benéficos da L-arginina sobre o sistema vascular na hipercolesterolemia parecem estar relacionados com a sua conversão endotelial em óxido nítrico (COOKE, 1997; MAXWELL, COOKE, 1998). Há evidências de que a hipercolesterolemia está associada com uma disponibilidade diminuída de óxido nítrico no endotélio (CREAGER et al., 1990) e plaquetas (WOLF et al., 1997). O conhecimento da farmacocinética de L-arginina pode ser útil na elaboração de ensaios clínicos envolvendo esse agente, bem como na interpretação da farmacodinâmica deste importante precursor do óxido nítrico.

A vasodilatação dependente do endotélio está prejudicada em seres humanos hipercolesterolêmicos. Esta anomalia pode ser melhorada pela administração de L-arginina, possivelmente devido ao aumento da síntese de fatores relaxantes derivados do endotélio (CREAGER et al., 1990).

Relacionando os benefícios da suplementação dietética com arginina, Lucotti et al. (2006) relataram que esta reduz a massa gorda e melhora a sensibilidade à insulina em seres humanos obesos com tipo II diabetes; Kohli et al. (2004) afirmam que suplementação dietética diminui os níveis plasmáticos de glicose em ratos com diabetes induzida e ratos gordos Zucker diabéticos, agindo também na diminuição da massa em excesso de gordura em ratos (FU et al., 2005), hamsters obesos (POPOV et al., 2002) e em seres humanos hipercolesterolêmicos (CREAGER et al., 1992).

Considerando as concentrações de alguns aminoácidos na melancia, estudos têm sido realizados para determinar qual comportamento/benefícios destes após ingestão da fruta. Assim, Mandel et al. (2005) avaliaram se existia elevação dos níveis plasmáticos de citrulina e arginina após a ingestão da melancia vermelha madura. Durante a pesquisa diagnosticaram que a citrulina plasmática aumentou de um valor inicial de 22 mmol/L para uma máxima média de 593 mmol/L com 1 h após a ingestão, seguido de declínio, sendo ainda elevado em 8 h, mas dentro da normalidade em 24 horas. A média de arginina no plasma aumentou de um valor inicial de 65 mmol/L para uma máxima média de 199 mmol/L em 2 horas e após 4

horas ainda era elevado, mas normal às 8 h. A partir destes dados, concluíram que estes aminoácidos estavam em maiores concentrações após a ingestão da fruta.

O estudo realizado por Collins et al. (2007) difere em partes com os resultados da pesquisa apresentada anteriormente. Neste estudo foi avaliado se o consumo do suco de melancia em jejum eleva as concentrações no plasma de arginina, ornitina e citrulina em humanos adultos saudáveis. Os resultados demonstram elevação da concentração plasmática em jejum de arginina e ornitina e valores estáveis de citrulina em resposta ao consumo de suco de melancia, indicando que a citrulina a partir desta origem vegetal foi efetivamente convertida em arginina. Esses resultados demonstram que a concentração plasmática de arginina pode ser aumentada com a ingestão de citrulina a partir do consumo do suco da melancia.

A elevação da citrulina plasmática documentada em voluntários após a ingestão de melancia está na extremidade inferior da gama de citrulinemia observada em pacientes com deficiência da argininosuccinato sintetase (1000-5000 mmol/L) e acima do intervalo observado em argininosuccinate liase (100-300 mmol/L). A determinação do atraso no desenvolvimento em alguns pacientes permanece indeterminada, mas é improvável que esteja relacionado com o consumo da melancia - citrulinemia-induzida. Uma vez que a citrulina não é conhecida por ser neurotóxica e as complicações neurológicas graves em citrulinemia clássica são geralmente atribuídas à hiperamonemia. De fato, as concentrações de citrulina muito superior têm sido observadas em longo prazo em pacientes com variantes leves de citrulinemia clássica, apresentando função neurológica normal (HABERLE et al., 2002).

Relacionando com o consumo de melancia Palacin et al. (2004) descrevem que o consumo de melancia pode ser benéfico para pacientes com doenças que exijam citrulina e/ou suplementação de arginina, como no caso de intolerância à proteína lisínica.

Em relação ao teor de água a fruta é considerada muito hidratante - 90% de seu volume é água - é diurética, elimina resíduos do aparelho digestivo e funciona como laxante. O fruto favorece a diurese, sendo recomendado em regimes de emagrecimento e no tratamento de doenças que se beneficiam com aumento do fluxo urinário (afecções urinárias, gota, hipertensão arterial) (PROENÇA DA CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003).

Suas sementes descascadas são utilizadas como emoliente e vermífugo (PROENÇA DA CUNHA, SILVA; ROQUE, 2003) apresentando níveis elevados de proteínas (EL-ADAWY; TAHA, 2001; WANI et al., 2008) e lipídios (MABALEHA; MITEI; YEBOAH, 2007).

2.2.3 Atividade Biológica da *Citrullus lanatus* (Melancia)

2.2.3.1 Síndrome Metabólica e peroxidação lipídica

Pesquisas vêm sendo realizadas para comprovar efeito benéfico do uso da melancia nas diferentes patologias que se concentram no diagnóstico da síndrome metabólica, avaliando neste contexto possível efeito da fruta na melhora do perfil lipídico. Wu et al. (2007) pesquisaram a melhora das patologias relacionadas na síndrome metabólica com a suplementação do suco de melancia, em ratos Zucker diabéticos gordo (modelo animal de diabetes mellitus insulino-dependente) durante 4 semanas. A suplementação dietética reduziu o acréscimo de gordura, diminuiu as concentrações séricas de glicose, ácidos graxos livres, homocisteína e dimetilargininas, aumentou a atividade de GTP ciclohidrolase-I e concentrações de tetrahydrobiopterina no coração e melhorou o relaxamento vascular induzido pela acetilcolina, comparado ao grupo controle.

Estes resultados fornecem evidência sobre o efeito benéfico do suco da polpa da melancia como um alimento funcional para reduzir fatores de risco cardiovascular, melhorar o controle glicêmico e a disfunção vascular, a partir de estudo em animais (WU et al., 2007).

Parmar e Kar (2008) desenvolveram um estudo para avaliar a eficácia de extratos da casca de frutos da *Mangifera indica*, *Cucumis melo* e *Citrullus vulgaris* na melhora da dieta em ratos com alterações induzidas de dislipidemia, disfunção da tireóide e diabetes mellitus. Os pesquisadores descrevem o potencial destes extratos para melhorar a dieta com alterações nos níveis de lipídios, disfunções da tireóide e diabetes/hiperglicemia. A análise fitoquímica indicou a presença de uma quantidade elevada de polifenóis e ácido ascórbico na casca destes extratos, sugerindo que os efeitos benéficos podem ser o resultado do rico conteúdo de polifenóis e ácido ascórbico nas cascas estudadas (PARMAR; KAR, 2008).

O efeito do suco da melancia foi analisado por Altas et al. (2011) em relação ao estado da peroxidação lipídica no fígado, rim e cérebro de ratos. Foi administrado tetracloreto de carbono uma vez por semana durante 28 dias, resultando em uma elevação significativa dos marcadores séricos de lesão hepática, como o aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), bilirrubina total (BT) e diminuição da albumina quando comparado ao grupo controle. No entanto, a ingestão do suco de melancia impediu o aumento da peroxidação lipídica. O efeito protetor do suco de melancia pode ser devido à sua atividade antioxidante e inibição da formação de peróxidos de lípidos.

A partir desta pesquisa os resultados indicam que o suco de melancia protege os tecidos do fígado, rins e cérebro de toxicidade por tetracloreto de carbono em estudo experimental em ratos. Em conclusão, os pesquisadores revelam evidências biológicas que suporta o uso do suco de melancia no tratamento da hepatotoxicidade química induzida (ALTAS et al., 2011).

2.2.3.2 *Diabetes Mellitus e agente hipoglicemiante*

Os primeiros estudos realizados com a *Citrullus lanatus* como agente hipoglicemiante no tratamento da diabetes mellitus foi realizado por Duke e Ayensu (1985) e Murakami et al. (1995) ao estudarem o efeito da fruta na forma de decocção em adultos para avaliar o efeito como agente antidiabético; estudo semelhante foi realizado por Yamasaki (1996) fazendo uso da fruta para avaliar este efeito. No Japão dentre as principais plantas usadas no tratamento da diabetes a *Citrullus vulgaris* é referenciada (MURAKAMI et al., 1995).

Em estudo desenvolvido na região nordeste do Brasil, no ano de 1999, foi avaliado o efeito hipoglicemiante do concentrado de melancia, obtido a partir do processamento da entrecasca, polpa e semente da *Citrullus vulgaris Schrad*, na glicose plasmática de indivíduos diabéticos tipo II e indivíduos saudáveis. Este estudo revelou a existência da atividade hipoglicemiante do concentrado da melancia quando utilizado a curto prazo (ARAÚJO, 1999).

Com a base científica das pesquisas analisando o efeito hipoglicemiante a partir do uso da melancia, AHN et al. (2011) introduzem a análise imunohistoquímica para avaliar o potencial anti-diabético da melancia (*Citrullus vulgaris Schrad*) em camundongos, com uso da suplementação do extrato da casca. Os resultados demonstram significativa diminuição do nível de glicose no sangue e níveis aumentados de insulina no soro. A análise imunohistoquímica denotou que a melancia protege de forma eficaz as células do pâncreas, assim, estes resultados sugerem que a melancia tem um efeito benéfico para promoção da saúde de pacientes diabéticos (AHN et al., 2011).

2.2.3.3 *Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS)*

Assim como a dislipidemia e a diabetes melitus a HAS proporciona um mal prognóstico na saúde dos seres humanos; na busca por tratamento coadjuvante e de fácil acesso a

população para realização do tratamento desta patologia alguns estudos foram desenvolvidos com este enfoque.

A pesquisa realizada Figueroa et al. (2011) teve objetivo de avaliar o efeito da suplementação de melancia nos valores da pressão arterial aórtica em indivíduos com pré-hipertensão uma vez que, a suplementação oral com L-arginina tem mostrado diminuição da pressão arterial braquial devido maior produção de óxido nítrico endotelial em adultos com pré-hipertensão e hipertensão (PALLOSHI et al., 2004; MARTINA et al., 2008). A melancia foi suplementada na forma de pó durante seis semanas, com ingestão duas vezes ao dia (FIGUEROA et al., 2011). Os referidos pesquisadores concluem que a suplementação com a melancia melhora a hemodinâmica da aorta através de uma diminuição da amplitude da onda refletida em indivíduos com pré-hipertensão, no entanto, não houve efeito significativo dos tratamentos sobre os valores da pressão arterial sistólica e diastólica braquial, pressão diastólica aórtica, tempo de reflexão, amplitude do primeiro pico da sistólica, frequência cardíaca e velocidade da onda de pulso femoral (FIGUEROA et al., 2011). Estes resultados corroboram com a pesquisa de Wu et al. (2007), os quais inferem que a suplementação com o suco da melancia melhora o relaxamento vascular induzido pela acetilcolina e melhora a disfunção vascular.

No quadro 4 estão relatadas as atividades biológicas de extratos e frações de *Citrullus lanatus*

Quadro 4 - Atividades Biológicas de extratos e frações de *Citrullus lanatus*

AÇÃO/ ATIVIDADE	PARTE UTILIZADA	FORMA DE UTILIZA- ÇÃO	TIPO DE ENSAIO	REFERÊNCIAS
Antioxidante	Fruto	Extrato liofilizado	-	VINSON et al., 2001
Antifúngica	Fruta seca Semente seca	Ext. H ₂ O Ext. EtOH (95%) Ext. acetona Ext. H ₂ O quente Gasolina Ext. ETOAC Fração insolúvel EtOH	- - - - - -	KUBAS, 1972 NIDIRY, 1998
Urticariante	Fruto	Não informado	Humanos adultos	TEMESVARI; BECKER, 1993
Inibição alanino- aminotranferase	Fruto fresco	Não informado	Ratos	KAWAGISHI et al., 2001
Inibição aspartato- aminotranferase	Fruto fresco	Não informado	Ratos	KAWAGISHI et al., 2001
Antitumoral	Fruto Semente	Ext. MEOH Ext. EtOH (95%)	In vitro Ratos	MURAKAMI et al., 1995 BELKIN; FITZGERALD; FELIX, 1952
Biodisponibilida de de beta- caroteno e licopeno	Suco da fruta	Oral	Humano adulto	EDWARDS et al., 2003
Antibactericida	Semente	Não informado	-	KUMAR et al., 1997
Atividade Captadora do radical superóxido dismutase	Semente seca	Ext. MEOH	-	ORHAN et al., 2003
Atividade antilevedura	Partes aéreas	Ext. EtOH (80%)	-	AL-SHAMMA; MITSCHER, 1979

Fonte: NAPRALET, gênero *Citrullus* (2011).

2.3 POLIMORFISMOS GENÉTICOS

2.3.1 Polimorfismo da MTHFR C677T

A metilenetetrahidrofolato redutase (MTHFR) é uma enzima envolvida no metabolismo da homocisteína, mais precisamente na remetilação da homocisteína em metionina, cuja implicação como fator de risco para complicações vasculares tem sido amplamente discutida na literatura (SELHUB, MILLER, 1992; HEIJER; LEWINGTON; CLARKE, 2005; KUMAR et al., 2008; HUH et al., 2006). A MTHFR catalisa a reação de redução da 5,10-metilenetetrahidrofolato para 5-metilenetetrahidrofolato. Sendo o 5-metilenetetrahidrofolato a forma predominante do folato, doadora de carbono para a remetilação da homocisteína para metionina alterações nesta enzima irão gerar impacto nas reações envolvendo doação de grupamento metil. Quando há ocorrência do polimorfismo C677T, a ação da enzima MTHFR é reduzida, provocando um aumento de homocisteína no plasma (FROSST et al., 1995).

O polimorfismo C677T no gene 5,10 metilenetetrahidrofolato redutase (MTHFR) têm sido associado com a hipertensão e a doença arterial coronariana em diversas populações em todo o mundo, mas os resultados ainda são controversos (ISORDIA-SALAS et al., 2010).

Indivíduos homozigotos TT para o gene C677T da MTHFR possuem um nível de homocisteína aumentado além de possuírem um risco aumentado para doença arterial coronária (HUH et al., 2006). Em população chinesa, ficou constatada a correlação existente entre a presença do alelo T do polimorfismo em questão e níveis aumentados de colesterol total e LDL colesterol, assim como de ApoB (ZHANG et al., 2010).

Estudos in vivo realizados em camundongos demonstraram que existe uma correlação entre hiperhomocisteinemia e hipertrigliceridemia. Além disso, deficiência de MTHFR nestes animais desencadeia hipertrigliceridemia, hiperhomocisteinemia e aumento do processo aterosclerótico nos mutantes deficientes na produção da ApoE (MIKAEL et al., 2009).

2.3.2 Polimorfismo da apolipoproteína E (Apo E)

A apolipoproteína E é uma glicoproteína do plasma com 299 aminoácidos (SINGH et al., 2006) e peso molecular de 34 kD (MAHLEY et al., 2000). É sintetizada pelo fígado, no tecido cerebral e por macrófagos residentes nas placas ateroscleróticas (WATANABE;

EGUSA; OKUBO, 1999), cerca de 20-40% da ApoE provem da formação de tecidos extra-hepático (NEWMAN et al., 1985).

Em humanos está localizada no cromossomo na posição 19q13.2 e têm sido conhecido por ser polimórfico (SINGH, P; SINGH, M; MASTANA, 2006), encontrando-se no citoplasma de neurônios corticais (HAN et al., 1994). No cérebro, a ApoE participa da reparação neuronal (POIRIER et al., 1994).

O gene ApoE tem três alelos comuns, E2 (arginina substituída por cisteína na posição 158), E3 e E4 (cisteína substituída por arginina na posição 112), que determinam as isoformas da proteína, com frequências alélicas relativas de 10%, 75% e 15%, respectivamente (DAVIGNON; GREGG; SING, 1988). A ApoE3 contém cisteína e arginina, o ApoE2 tem duas cisteínas e ApoE4 duas argininas. Modificações estruturais nos aminoácidos da proteína têm impacto sobre sua funcionalidade (INNERARITYS et al., 1984).

Polimorfismo do gene ApoE no cromossomo 19 gera três alelos codominantes: E2, E3 e E4 os quais produzem seis possíveis genótipos, três homozigóticos E2/E2, E3/E3, E4/E4, e três heterozigóticos E2/E3, E2/E4 e E3/E4 (SINGH, P; SINGH, M; MASTANA, 2006). O alelo E3 parece ser a isoforma adequada em todas as funções conhecidas, enquanto E4 e E2 se associam com disfunções (MAHLEY, 2000).

As isoformas apresentam diferentes propriedades fisiopatológicas e fenotípicas. Na população em geral a ApoE2 está associada com menor concentração de CT e de LDL-c, enquanto que a ApoE4 produz ação oposta, elevando os níveis de CT, LDL-c e VLDL-colesterol (VLDL-c), relacionando-se com elevado risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (TOMS et al., 2012) e infarto do miocárdio (KUMAR et al., 2003).

Resultados de estudos atuais e anteriores indicaram que o polimorfismo da ApoE no local 2491 é funcionalmente significativo na modificação da transcrição do gene da ApoE, se relacionado com o desenvolvimento de patologia (VLIET et al., 2007) como a doença de Alzheimer, aterosclerose e doença cardíaca coronária (MAHLEY, 2000).

Portadores do genótipo ApoE4 apresentam um risco mais elevado (40-50%) de desenvolver DCV, esta correlação é atribuída a elevação dos níveis de colesterol e triglicerídeos na circulação (JOFRE-MONSENY; MINIHANE; RIMBACH, 2008).

2.3.2.1 APOE e dislipidemia

Dentre os fatores genéticos, a ApoE relaciona-se com o desenvolvimento das dislipidemias, pois o gene que codifica a ApoE está associado com uma variação significativa

nos níveis lipídicos em nosso corpo (EICHNER et al., 2002). A ausência do gene da apolipoproteína E foi demonstrado como uma das principais causas de hiperlipidemia grave, relacionando-se com o desenvolvimento da aterosclerose em mamífero (PLUMP et al., 1992).

A dislipidemia poderá ser desenvolvida a partir do polimorfismo da ApoE, como a hipertrigliceridemia, o qual é um distúrbio multifatorial envolvendo diferentes fatores genéticos, tais como polimorfismos em genes da ApoE (ARIZA et al., 2010). A depender do genótipo expresso pelo indivíduo em relação a ApoE, o indivíduo estará mais susceptível ao desenvolvimento da dislipidemia. Indivíduos apoE homozigotos E2 em combinação com certos distúrbios adicionais podem desenvolver hiperlipidemia familiar tipo III e aterosclerose prematura (MAHLEY, 2000).

A disbetalipoproteinemia (hiperlipoproteinemia tipo III) relaciona-se com o aumento do risco de doença vascular periférica, apresentando uma prevalência na população de 1:10.000 em genótipos da ApoE homozigotos E2/E2, sendo causado por uma depuração reduzida das remanescentes de quilomícrons. Estes pacientes apresentam elevados níveis de triglicérides e colesterol total (GOLDBERG, 2009).

Indivíduos com genótipo E4 têm níveis significativamente elevados de VLDL-c e TG, enquanto que apresentam diminuição nas concentrações de HDL-c em comparação com genótipos respectivamente E3/E3 (CHAUDHARY et al., 2012). Estando o alelo E4 da apolipoproteína E relacionado com uma disfunção negativa da composição lipídica no plasma (STIEFEL et al., 2009). Os resultados da pesquisa sugerem fortemente que o alelo E2 tem um papel protetor contra a aterosclerose e o alelo E4 é um fator de risco independente para o desenvolvimento de diabetes melitus tipo II e Doenças Cardiovasculares (CHAUDHARY et al., 2012).

Alguns estudos também mostraram uma relação significativa para o genótipo E3/E4, apresentando menor concentração de HDL-c e superior concentração de LDL-c em pacientes com Doença Arterial Coronariana, em comparação com os controles saudáveis (SINGH et al., 2008). Os genótipos da apoE E3/E4 e E4/E4 estão relacionados com valores plasmáticos de colesterol total e triglicérides elevados (STIEFEL et al., 2009).

Pesquisa realizada por Stiefel et al. (2009), associam o genótipo da ApoE com mudanças no perfil lipídico e de lipoproteínas em mulheres grávidas. Ferreira et al. (2010) não encontraram diferenças em genótipos ApoE E2/E3/E4 entre indivíduos brasileiros normolipidêmicos e dislipidêmicos. Já um estudo anterior realizado com a população brasileira relatou que em comparação com o alelo E2, a presença do alelo E3 aumenta mais de duas vezes o risco para dislipidemia (MENDES-LANA et al., 2007).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo experimental, clínico de fase II, randomizado, duplo cego com placebo controlado. A pesquisa foi realizada na Universidade Federal da Paraíba, campus I, localizada no município de João Pessoa – Paraíba, durante o período de fevereiro a dezembro de 2012. O órgão de apoio financeiro para realização do estudo foi o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

3.2 CASUÍSTICA

3.2.1 Seleção da amostra e população do estudo

A seleção da amostra ocorreu através de amostragem aleatória, entre estudantes residentes da Universidade Federal da Paraíba - João Pessoa/PB, funcionários do Restaurante Universitário da UFPB e funcionários da divisão de Nutrição do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW). Para a identificação dos pacientes com dislipidemia, inicialmente foram realizados exames bioquímicos para avaliação do perfil lipídico (colesterol total, triglicérideo e LDL colesterol) em 92 indivíduos. O sangue foi coletado por uma enfermeira e um técnico em enfermagem no local de trabalho dos indivíduos, logo após, as amostras sanguíneas foram encaminhadas para o Laboratório de Estudos do Treinamento Físico Aplicado ao Desempenho e Saúde – LETFADS. As amostras foram analisadas com uso de kit da marca Labtest, sob a orientação do coordenador do laboratório o professor doutor Alexandre Sérgio Silva. O grupo amostral foi composto por indivíduos adultos, sem distinção de raça, de ambos os sexos com diagnóstico de dislipidemia.

3.2.2 Critérios de elegibilidade da amostra

Critérios de Inclusão:

- Idade igual ou acima de 18 anos até 60 anos;
- Portador de dislipidemia, diagnosticada após triagem bioquímica inicial;
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Critérios de Exclusão:

- Portador de Diabetes Mellitus, Síndrome Nefrótica, Insuficiência Renal aguda ou crônica, Hepatopatias, Hipotireoidismo ou Hipertireoidismo ou outra patologia capaz de alterar o perfil lipídico;
- Uso de medicamentos hipolipemiantes;
- Consumo regular de melancia ou suplemento da fruta.

3.3 QUESTÕES ÉTICAS

Previamente ao estudo, foi solicitada permissão da instituição mediante assinatura da folha de rosto do projeto para então ser submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley- CEP/HULW da Universidade Federal da Paraíba de acordo com a Resolução nº196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, sendo aprovada segundo Protocolo nº472/11 (Anexo A) e desta forma, todos os sujeitos envolvidos na seleção da amostra, foram esclarecidos quanto aos propósitos do estudo e solicitados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

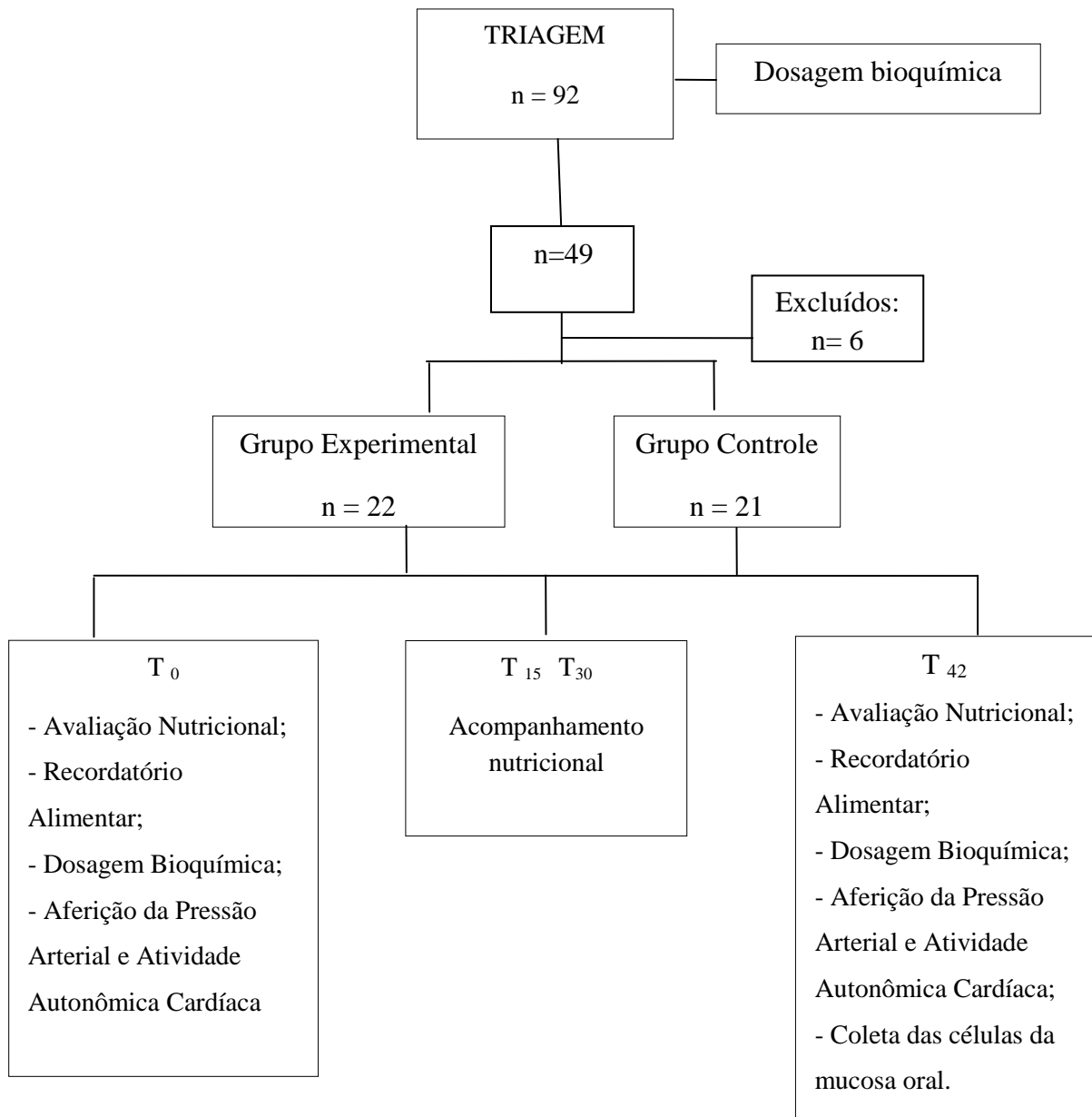
3.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Após a realização da triagem bioquímica a dislipidemia foi diagnosticada em 49 pacientes. Os sujeitos foram orientados a não modificar o consumo alimentar e a prática de atividade física durante o estudo.

Ao longo do estudo houve perda amostral de seis sujeitos por se enquadrarem nos critérios de exclusão. Sendo assim, o grupo amostral foi composto por 43 indivíduos adultos (47,22 ± 6,5 anos) com diagnóstico de dislipidemia. Os sujeitos do estudo foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (Diagrama 1), o experimental (GE, n=22, 47,1 ± 7,5 anos, sendo 11 homens) e controle (GC, n=21, 47,33 ± 5,5 anos, sendo 11 homens), conforme Resolução 251/97 do Conselho Nacional de Saúde, da seguinte forma:

- Grupo Experimental = suplementação com extrato de *Citrullus lanatus* (Melancia).
- Grupo Controle = suplementação com placebo com idêntico aspecto, cor, textura e aroma ao do extrato de melancia.

Diagrama 1 – Protocolo Experimental



3.4.1 Suplementação com extrato de melancia

Os voluntários foram suplementados diariamente durante o período de seis (06) semanas - 42 dias. O extrato ou placebo foram distribuídos em embalagens individuais, contendo 6g. O grupo experimental foi suplementado com o extrato de melancia, produzido pela empresa Frutas Milne (Prosser, WA), o qual é produzido a partir de melancias recém-colhidas, sendo 100% natural. O produto consiste dos sólidos secos da melancia. O consumo

diário da melancia em pó é equivalente a aproximadamente 1,04 kg da polpa da melancia (FIGUEROA et al., 2012).

O placebo distribuído aos participantes da pesquisa era composto por: glicose, sacarose, e frutose em uma proporção de 2:2:1, objetivando coincidir com a composição do açúcar do extrato de melancia. Os voluntários consumiram diariamente a porção do extrato de melancia. A última suplementação do extrato de melancia e do produto placebo foi ingerida aproximadamente 24 horas antes das medições antropométricas, cardiovasculares e bioquímicas.

3.5 COLETA DE DADOS

A coleta de dados da pesquisa foi realizada por uma equipe de pesquisadores devidamente treinados previamente ao início da coleta de dados, composta por: uma mestrande, três graduandos do Departamento de Nutrição da UFPB, uma enfermeira e um técnico de enfermagem. Os dados foram coletados nos locais de trabalho de cada indivíduo participante da pesquisa com auxílio de questionário estruturado, compondo um Inquérito de Consumo Alimentar (APÊNDICE B).

3.6 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

3.6.1 Peso

Uma balança digital eletrônica da marca filizola, modelo Lumina mea 02550, com capacidade de até 150 kg e precisão de 100g, foi utilizada para a mensuração do peso dos indivíduos. O procedimento foi realizado em triplicata e utilizou-se a média dos valores obtidos, com os indivíduos descalços, sem objetos nas mãos ou bolsos e sem adornos na cabeça, posicionados no centro da balança, com roupas leves, ereto, com os pés juntos e os braços estendidos ao longo do corpo (KAC; SICHIERI; GIGANTE, 2007).

3.6.2 Altura

Para a determinação da altura, utilizou-se uma fita métrica (2,00 metros) com precisão de 1 mm e exatidão de 0,5 cm (Sanny). A fita foi afixada na parede e os indivíduos colocados em posição ereta no centro do equipamento, descalços, com a cabeça livre de adereços, com

os membros superiores pendentes ao longo do corpo, os calcanhares, o dorso e a cabeça tocando a parede, em apnéia respiratória e com olhar frontal, sendo a aferição realizada em triplicata e a média entre os valores utilizados (KAC; SICHERI; GIGANTE, 2007).

3.6.3 Índice de Massa Corporal

O Índice de Massa Corporal (IMC) ou Índice de Quetelet foi obtido considerando-se a razão do peso atual (kg) e o quadrado da altura (m²), de acordo com a classificação da World Health Organization (1998), apresentada no quadro 5.

Quadro 5 – Classificação dos valores de IMC

IMC (kg/m ²)	Classificação
< 18,5	Baixo Peso
18,5 – 24,9	Eutrofia
25,0 – 29,9	Sobrepeso
≥ 30,0	Obesidade

Fonte: World Health Organization, 1998

3.6.4 Circunferência da Cintura

Para avaliação da circunferência da cintura, foram utilizados valores recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), com ponto de corte de 94 cm para homens e 80 cm para mulheres, como medida de risco metabólico aumentado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998).

A medida da circunferência da cintura e do quadril foi realizada em duplicata, obedecendo à padronização de Callaway et al. (1998). A aferição foi realizada estando o indivíduo em pé, em posição ereta, utilizando-se uma fita métrica flexível e inextensível de 200 cm de comprimento, com precisão de uma casa decimal. Para garantir a validade e fidedignidade das medidas foi observada rigorosamente a posição da fita no momento da medição, mantendo-a no plano horizontal. Para obtenção dos valores das circunferências, circundou-se com a fita o local do corpo que se desejava medir, sendo a mesma colocada com firmeza, sem esticar excessivamente, evitando-se assim a compressão do tecido subcutâneo. A leitura foi realizada no centímetro mais próximo, no ponto de cruzamento da fita.

As circunferências foram aferidas com o indivíduo usando o mínimo de roupa, em posição ortostática, abdômen relaxado, braços ao lado do corpo e os pés juntos. A medida da circunferência da cintura foi tomada na altura da cintura natural do indivíduo, que é a parte mais estreita do tronco, e a circunferência do quadril foi medida na extensão máxima das nádegas.

3.6.5 Relação Cintura Quadril

Na avaliação da relação cintura/quadril (RCQ) foram considerados os pontos de corte de 0,95 para homens e 0,80 para mulheres, estabelecidos com base em dados canadenses (KEENAN et al., 1992).

3.7 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR

O consumo alimentar foi avaliado pelo método recordatório de 24 horas (APÊNDICE C), que consiste em definir e quantificar todos os alimentos e bebidas ingeridos no período anterior ao da entrevista, que pode ser de 24 horas precedentes ou, mais comumente o dia anterior. Optou-se por este método por ser considerado o instrumento mais empregado para avaliação da ingestão de alimentos e nutrientes no Brasil e no mundo (FISBERG et al., 2005). Aplicou-se durante uma semana o questionário, três vezes para cada sujeito, sendo que, dois dias foram representativos do consumo alimentar referente a dias da semana e um dia referente ao consumo do final de semana e, para caracterizar a dieta habitual dos sujeitos, tomou-se uma média dos três valores. Para a análise do recordatório foi utilizado o software Avanutri Revolution.

3.8 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

A mensuração da pressão arterial sistólica e diastólica foi realizada de acordo com as recomendações Sociedade Brasileira de Cardiologia (2010). A classificação da pressão arterial foi de acordo com a mesma diretriz, segue no quadro 6.

Quadro 6 - Classificação da pressão arterial de acordo com a medida casual no consultório (> 18 anos):

Classificação	Pressão sistólica (mmHg)	Pressão diastólica (mmHg)
Ótima	< 120	< 80
Normal	< 130	< 85
Limítrofe	130–139	85–89
Hipertensão estágio 1	140-159	90–99
Hipertensão estágio 2	160–179	100–109
Hipertensão estágio 3	≥ 180	≥ 110
Hipertensão sistólica isolada	≥ 140	< 90

Fonte: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (2010).

Foram feitas três medidas de PA em repouso com intervalo de 5 minutos entre as mesmas. Caso as pressões sistólicas e/ou diastólicas obtidas apresentassem diferença maior que 4 mmHg entre elas, eram realizadas novas medidas até que se obtivessem medidas com diferença inferior ou igual a 4 mmHg, utilizando-se a média das duas últimas medidas como a pressão arterial do indivíduo (SBC; SBH; SBN, 2010). Foi utilizada a técnica oscilométrica, fazendo uso de aparelho semiautomático digital de braço validado estando também calibrado.

Segundo a referida Diretriz a linha demarcatória que define Hipertensão Arterial Sistêmica considera valores de PA sistólica ≥ 140 mmHg e/ou de PA diastólica ≥ 90 mmHg.

3.9 REGISTRO DA ATIVIDADE AUTONÔMICA CARDÍACA (AAC):

A atividade autonômica cardíaca foi determinada por meio do registro da variabilidade do intervalo R-R de frequência cardíaca, através de um monitor de frequência cardíaca Polar RS800CX (Polar Electro Oy, Kempele, Finland). Os registros foram realizados em condições de repouso, após os participantes permanecerem sentados durante dez minutos. Cada registro teve duração de cinco minutos. Os dados foram apresentados segundo os critérios de média de dois intervalos RR consecutivos normais (MRR), desvio padrão da diferença entre os intervalos (SDNN) e balanço autonômico (LF/HF).

Os dados registrados no cardiófrenquencímetro foram transferidos para o computador

por meio de interface com dispositivo infra-vermelho, utilizando o software Polar Precision Performance SW (Polar Filand). Os dados foram processados e avaliados pelo Software Kubios HRV versão 2.0, com a utilização do filtro 21 de correção médio, pelo método de interpolação e análise visual dos dados para detecção de erros.

3.10 COLETA E AVALIAÇÃO DE MATERIAL BIOQUÍMICO

As amostras de sangue foram coletadas no Hospital Universitário Lauro Wanderley e no local de trabalho dos participantes da pesquisa. Todos os participantes foram informados da necessidade do jejum de 12h para a coleta de sangue por punção venosa, que foi realizada por um profissional devidamente habilitado.

As coletas foram realizadas em tubo a vácuo de uso único, com anticoagulante EDTA/K2. Foram coletados 5 mL de sangue venoso a partir da veia antecubital utilizando-se seringas a vácuo descartáveis.

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises do HULW e no LETFADS, sob a coordenação do professor doutor Alexandre Sérgio Silva.

Foram dosados para diagnóstico e avaliação da dislipidemia o colesterol total, lipoproteína de baixa densidade, lipoproteína de alta densidade, VLDL-colesterol e triglicerídeos (Quadro 7).

Quadro 7 - Valores de referência para o diagnóstico das dislipidemias em adultos > 20 anos:

Lipídeos	Desejáveis (ml/dL)	Limítrofe (ml/dL)	Aumentados (ml/dL)
Colesterol total	< 200	200-239	≥ 240
LDL-colesterol	100-129	130-159	≥ 160
HDL-colesterol	≥ 40	-	> 60
Triglicerídeos	< 200	-	200 – 499

Fonte: JAMA, 2001, citada por Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2007.

Objetivando uma avaliação da função de diferentes órgãos foram também dosados: hemograma, glicemia, transaminase AST, transaminase ALT, ácido úrico, uréia, creatinina e bilirrubina total e frações. Os valores de referência para cada exame estão relacionados no quadro 8.

Quadro 8 - Relação dos métodos, material e valores de referência utilizados para cada exame

Exames	Métodos	Material	Referência
Glicose	Hex oquinase	Soro	Normal: 70 a 99 mg/dL
Transaminase AST	Cinética UV	Soro	Adulto: 5 a 34 U/l
Transaminase ALT	Cinética UV	Soro	Adulto: 6 a 55 U/l
Gama Glutamil Transferase	Carboxi-anilina	Soro	H: 12 a 64 U/L M: 9 a 35 U/L
Ácido úrico	Uricase Colorimétrico	Soro	M: 2,5 a 6,2 mg/dL H: 3,5 a 7,0 mg/dL
Uréia	Urease Gludh – UV	Soro	H > 50 anos: 19 a 44 mg/dL H < 50 anos: 17,9 a 54,9 mg/dL M > 50 anos: 14,9 a 40,0 mg/dL M < 50 anos: 20,9 a 43,0 mg/dL
Creatinina	Jaffé- Ficatro Alcalino	Soro	H: 0,9 a 1,3 mg/dL M: 0,6 a 1,1 mg/dL
Bilirrubunina total	Sulfanilico diazotado	Soro	A: 0,2 a 1,2 mg/dL
Bilirrubunina direta	Sulfanilico diazotado	Soro	A: 0,0 a 0,5 mg/dL
Bilirrubunina Indireta	Sulfanilico diazotado	Soro	A: 0,0 a 0,5 mg/dL

Fonte: Laboratório do HULW. Legenda: A = adulto, H = Homem, M = Mulher

3.11 COLETA E AVALIAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO

3.11.1 Coleta das células da mucosa oral

Foi realizada a coleta das células da mucosa oral vinte e quatro horas após o consumo da última dose do suplemento a partir do bochecho com solução de 5 mL de sacarose (3%) durante 60 segundos. Os indivíduos foram orientados a esfregar a sua língua na mucosa oral e dentes. O bochecho de cada indivíduo foi recolhido e depositado em um tubo de centrífuga de 15 mL. Foi adicionado ao tubo três mL de solução de TNE [17 mM Tris / HCl (pH 8,0), NaCl 50 mM e 7 mM de EDTA] diluído em 66% etanol.

O material coletado foi mantido à temperatura de refrigeração, seguido por isolamento de DNA.

3.11.2 Extração do DNA genômico de leucócitos

Os tubos contendo as células epiteliais foram centrifugadas durante 10 min a 3000 rpm à temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e adicionado ao tubo 1 mL de TNE. Os tubos foram centrifugados a 2000 rpm por 5 minutos, sendo o sobrenadante novamente descartado.

O sedimento de células foi agitada em vórtex vigorosamente durante 5 segundos e um volume de 1,3 mL de solução de lise [Tris 10 mM (pH8,0), SDS a 0,5%, EDTA a 5 mM] e 10 ul de proteinase K (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) (20 mg /ml) foi adicionado. A mistura foi agitada em vórtex durante 5 segundos à uma velocidade média, seguido por uma incubação durante a noite a 55 °C em banho maria.

Após a incubação, 1,4 mL da mistura foi transferido para um tubo de 2 mL de micro centrífuga. Proteínas e outros contaminantes foram removidos por adição de 500uL de uma solução contendo 8 M de acetato de amônio e 1 mM de EDTA, seguido por agitação em vórtex em alta velocidade durante 5 segundos, seguido de centrifugação a 5000 rpm durante 10 minutos.

O sobrenadante foi cuidadosamente colocado em dois tubos micro centrífuga de 1,75 mL, contendo 540 mL de isopropanol (2-propanol). Após, as soluções foram misturada invertendo suavemente o tubo 20 vezes e centrifugado a 5000 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante foi derramado, e cada tubo foi invertido e deixando secar rapidamente em papel limpo e absorvente.

Um volume de 2 mL de etanol a 70% foi adicionado, e cada tubo foi invertido várias vezes para lavar o sedimento de DNA. Após centrifugação a 5000 rpm durante 5 minutos o etanol foi decantado cuidadosamente. Seguido da inversão dos tubos em papel limpo e absorvente, em seguida, deixando secar ao ar durante 45 a 60 minutos.

O DNA foi hidratado em tampão TE [1 mM de tampão TE [10 Tris (pH 7,8) e 1 mM de EDTA] e armazenado sob refrigeração (4°C) para posterior diagnóstico da mutação gênica (AIDAR; LINE, 2007).

3.11.3 Identificação do polimorfismo C677T do gene MTHFR

A presença da mutação C677T MTHFR foi determinada através da amplificação de um fragmento do gene MTHFR através da reação em cadeia da polimerase (PCR – Polymerase Chain Reaction) na mistura de 54 mM Tris-HCl, pH 8.8, 5,4 mM MgCl₂, 5,4 M EDTA, 13,3 mM (NH₄)₂SO₄, 8% DMSO, 8mM-marcptoetanol, 0,4 mg BSA/ml, 0,8 mM de cada nucleosídeo trifosfato, 400 ng de cada primer: sense (5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3' e anti-sense 5'AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3', DNA genômico e 2 U de Taq-polimerase).

A reação envolveu 30 ciclos de incubação a 94 °C (um minuto), 55 °C (um minuto) e 72 °C (dois minutos). Um fragmento de 198 pares de base será obtido e, 10 a 15 mL do produto de PCR será digerido usando 0,5 U de endonuclease *Hinf I*. Após a digestão do gene mutado MTHFR (alelo 677T), dois fragmentos de 175 e 23 pares de base foram observados em 2% de gel de agarose. Na presença do alelo normal, somente a banda de 198 pares de base será observada (ARRUDA et al., 1997).

Os resultados foram visualizados em eletroforese em gel de poliacrilamida corada com nitrato de prata e os registros realizados através de *scanner* digital.

3.11.4 Identificação do polimorfismo da apolipoproteína E

O DNA genômico foi amplificado por PCR com os primers F5' TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA e R5'-GCCCCGGCCTGGTACACTGCCA para produzir um fragmento de DNA de 218 pares de base. Na análise de PCR, 100-200 ng de DNA foi adicionada a 25 mL uma mistura de reação contendo 75 mmol / L Tris-HCl, pH 9,0, sulfato de amônio 20 mmol / L, 0,1 mL / L de Tween, 1,5 mmol / L de MgCl₂, 500 nmol / L de cada iniciador, 0,2 mmol / L de dNTPs, 100 sulfóxido mL / L de dimetilo, e 0,6 unidades de polimerase Taq (Biotechnology Advance).

As reações de PCR foram submetidas a 40 ciclos num termociclador (Primus), durante 30 segundos de desnaturação a 94 °C, 30 segundos a temperatura de 55 °C, e 90 segundos de prolongamento a 70 °C. O DNA amplificado (15 uL) foi digerido simultaneamente com 2,5 unidades de AflIII e 5 unidades de HaeII (New England Biologicals), durante 24 horas, a 37 °C, analisados em gel de agarose a 24% (metáfora, FMC) e visualizado por coloração com brometo de etídio (ZIVELIN et al., 1997).

3.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Técnicas de estatística descritiva foram utilizadas através de distribuições absolutas, percentuais, médias e desvio padrão (DP). A normalidade e homogeneidade dos dados foram previamente avaliadas por meio do teste de Shapiro-Wilks e Levene. A comparação entre médias de duas variáveis contínuas foi realizada por meio do Teste T-Student para dados não pareados. Quando necessário os testes T independente e pareado foram substituídos pelos seus equivalentes não paramétricos Mann–Whitney e Wilcoxon, respectivamente.

A força de associação de dados foi investigada e para tanto foi utilizado à técnica de regressão e/ou correlação. Para análise da tendência de variação conjunta que duas variáveis apresentam, ou seja, sua correlação foi calculada o Coeficiente Linear de Person.

A frequência alélica foi determinada para todos os grupos e comparada com outras populações estudadas na literatura. A análise estatística foi realizada através do teste da diferença entre as proporções (teste qui-quadrado). Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O programa estatístico utilizado para as análises foi o InStat versão 3.0 (Graph Pad San Diego, CA, USA).

REFERÊNCIAS

AGARWAL, S.; RAO, A.V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal**, v. 19, n. 6, p. 739-744, 2000.

AHN, J. et al. Anti-diabetic effect of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad) on Streptozotocin-induced diabetic mice. **Food Science and Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 251-254, 2011.

AIDAR, M.; LINE, S.R.P. A Simple and Cost-Effective Protocol for DNA Isolation from Buccal Epithelial Cells. **Braz Dent J**, v.18, n.2, p. 148-152, 2007.

ALMEIDA, D.P.F. Cultura da Melancia. Faculdade de Ciências. Universidade do Porto. Disponível em: < <http://dalmeida.com/hortnet/Melancia.pdf>> Acesso em: 10 de junho 2010, 20:30:20.

AL-SHAMMA, A.; MITSCHER, L.A. Comprehensive survey of indigenous iraqi plants for potential economic value. I. Screening results of 327 species for alkaloids and antimicrobial agents. **J nat prod**, v. 42, n. 6, p. 633-642, 1979.

ALTAS, S. et al. Protective effect of Diyarbakır watermelon juice on carbon tetrachloride-induced toxicity in rats. **Food and Chemical**. v. 49, n.9, p. 2433-2438, set. 2011.

ALVARENGA, M. A. R.; RESENDE, G. M. **Cultura da melancia**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 132 p.

ARAÚJO NETO, S. E. et al. Qualidade e vida útil pós-colheita de melancia Crimson Sweet, comercializada em Mossoró. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**: Campina Grande-PB, v.4, n.2, p. 235-239, 2000.

ARAÚJO, I. M. L. **Avaliação do Efeito Hipoglicemiante da *Citrullus Vulgaris* Schrad (Melancia) em Indivíduos Diabéticos Tipo 2 e Normais**. 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Paraíba, 1999.

ARIZA, M. et al. Additive effects of LPL, APOA5 and APOE variant combinations on triglyceride levels and hypertriglyceridemia : results of the ICARIA genetic sub-study. **BMC Medical Genetics**, v. 11, n. 66, p. 1471-2350, 2010.

ARRUDA, V.R. et al. The mutation Ala 677ÆVal in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. **Thromb Haemost**, v.77, p. 818-21, 1997.

ASSMANN, G.; CULLEN, P.; SCHULTE, H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. **Circulation**, v. 105, p. 310–315, 2002.

AUGUSTI, P. R. **Efeito dos carotenóides licopeno e astaxantina sobre danos renais induzidos por cloreto de mercúrio**. 2007. 97f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Toxicologia) - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), Rio Grande do Sul, 2007.

BAGAVANT, H. et al. Deficiency of a transcriptional regulator, inhibitor of differentiation 3, induces glomerulonephritis in apolipoprotein E-deficient mice: a model linking hyperlipidemia and renal disease. **Am J Pathol**, v.179, n.2, p. 651–660, 2011.

BALBACH, A.; BOARIM, D.S.F. **As hortaliças na medicina natural**. 2. ed. Itaquaquecetuba: Ed. Vida Plena, 1992.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil. Livro Técnico e Científico**. EDUSP, São Paulo, 1978. 255 p.

BELKIN, M.; FITZGERALD, D. B.; FELIX, M. D. Tumor-damaging capacity of plant materials. Ii. Plants used as diuretics. **J nat cancer inst**, v. 13, p. 741-744, 1952.

BERTASSO, B. A. **O consumo alimentar em regiões metropolitanas brasileiras análise da pesquisa de orçamentos familiares**. 2000. 109p. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. **Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos**. Brasília, 1999c.

BRASIL. Resolução 251/97 de 07 de ago. de 1997. **Dispõe sobre o uso de novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos em seres humanos**. Conselho Nacional de Saúde, Brasília, DF, 07 de ago. de 1997.

BRICARELLO, L. P. C.; ROSANA, P. Nutrição nas Dislipidemias – Atualização. **Revista Nutrição Saúde e Performance: Anuário de Nutrição Clínica**. Trimestral, p.14-17, 2001.

BROWN, J. A. C.; SUMMERS, W. L. Carbohydrate accumulation and color development in watermelon. **Journal of the American Society for Horticultural Science**: Mount Vernon, v. 110, n. 5, p. 683-687, 1985.

CALLAWAY, C.W. et al. Circumferences. in: lohman tg, roche af, martorell r, editors. Anthropometric standardization reference manual. **Champaign: Human Kinetics Books**, p. 39-54, 1988.

CARVALHO, D. F. et al. Perfil lipídico e estado nutricional de adolescentes. **Rev Bras Epidemiol**, v. 10, n. 4, p. 491-8, 2007.

CHAUDHARY, R. et al. Apolipoprotein E gene polymorphism : effects on plasma lipids and risk of type 2 diabetes and coronary artery disease. **Cardiovascular Diabetology**, v. 11, n. 1, p. 36, 2012.

CLINTON, S.K. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. **Nutr Ver**, v. 56, p. 35–51, 1998.

COLLINS, J.K. et al. Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. **Nutrition**, v. 23, p. 261–266, 2007.

COOKE, J. P. Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases **Circulation**, v. 96, p. 379-382, 1997.

CORONELLI, C. L. S.; MOURA, E. C. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. **Rev Saúde Pública**, v. 37, n. 1, p. 24-31, 2003.

CREAGER, M. A. et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. **J. Clin. Invest**, v. 86, p. 228-234, 1990.

DAVIGNON, J.; GREGG, R. E.; SING, C. F. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 8, n. 1, p. 1-21, jan. 1988.

DEDOUSSIS, G. V. Z. et al. An association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation and inflammation markers related to cardiovascular disease. **Int J Cardiol**, v. 100, p. 409-14, 2005.

DUBE, J.B.; HEGELE, R.A. The application of gene therapy in lipid disorders: where are we now? **Clinical Lipidology**, v. 7, n.4, p. 419, agosto. 2012.

DUKE, J.A.; AYENSU, E.S. **Medicinal plants of china**. Algonac, Michigan: livro, 1985. v. 1, n.4, p. 52-361.

EDWARDS, A. J. et al. Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and β -carotene in humans. **J Nutr**, v. 133, n. 14, p. 1043-1050, 2003.

EICHNER, J. E. et al. Apolipoprotein E Polymorphism and Cardiovascular Disease : A HuGE Review. **Am. J. Epidemiol**, v. 155, n. 6, p. 487-495, 2002.

EL-ADAWY, T. A.; TAHA, K. M. Characteristics and composition of different seed oils and flours. **Food Chem**, v. 74, p. 47-54, 2001.

ELMOSTROM, G. W.; DAVIS, P. L. Sugar in developing and mature fruits of several watermelon cultivars. **Journal of the American Society of Horticultural Science, Mount Vernon**, v. 106, n.3, p.330-333, 1981.

EMBRAPA – **Cultivo da Melancia em Rondônia**. Editor Técnico. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2008. Disponível em: <http://74.125.155.132/scholar?q=cache:DEX39Ht1E-oJ:scholar.google.com/+taxonomia+da+melancia&hl=pt-BR&as_sdt=0,5> Acesso em: 19 de abril, 2011.

EMBRAPA SEMIÁRIDO – **Sistema de Produção de Melancia**. Disponível em:<[HTTP://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/cultivares.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/cultivares.htm)>. Acesso em: 20 de abril, 2011.

FERREIRA, C. N. et al. Comparative study of apolipoprotein-E polymorphism and plasma lipid levels in dyslipidemic and asymptomatic subjects, and their implication in cardio/cerebro-vascular disorders. **Neurochemistry international**, v. 56, n. 1, p. 177-82, jan. 2010.

FIGUEROA, A. et al. Effects of Watermelon Supplementation on Aortic Blood Pressure and Wave Reflection in Individuals With Prehypertension: A Pilot Study. **American Journal of Hypertension**, v.24, n. 1, p. 40-44, jan. 2011.

FIGUEROA, A. et al. Watermelon Extract Supplementation Reduces Ankle Blood Pressure and Carotid Augmentation Index in Obese. **Am J Hypertens**, v.25, n. 6, p. 640-3, jun. 2012.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003, 412 p.

FISBERG, R.M. et al. **Inquéritos Alimentares: métodos e bases científicos**. Barueri, SP: Manole, 2005.

FORD, E. S. et al. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. **N Engl J Med**, v. 356, n.23, p. 2388-9, 2007.

FRANCA, E.F.; ALVES, J.G.B. Dislipidemia entre crianças e adolescentes de Pernambuco. **Arq Bras Cardiol**: São Paulo, v. 87, n.6, dez. 2006.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Prog Lipid Res**, v. 43, p. 228–265, 2004.

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

FU, W. et al. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. **J Nutr**, v. 135, p.714–21, 2005.

GIANETTI, J. et al. Inverse association between carotid intima-media thickness and the antioxidant lycopene in atherosclerosis. **Am Heart J**, v.143, p. 467-474, 2002.

GOLDBERG, I. J. Hypertriglyceridemia: impact and treatment. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 38, n. 1, p. 137-49, mar. 2009.

GONÇALVES, M. C. R. et al. Modesto efeito hipolipemiante do extrato seco de Berinjela (*Solanum melongena* L.) em mulheres com dislipidemias, sob controle nutricional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 16, p. 656-663, dez. 2006.

GRAVINA, C. F. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. II Diretrizes Brasileiras em Cardiogeriatría. **Arq Bras Cardiol**, v. 95, n.3, p. 1-112, 2010.

GRUNDY, S. M. et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines [erratum published in: *Circulation* 2004;110:763]. **Circulation**, v. 110, p. 227–39, 2004.

GUNER, N.; WEHNER, T. C. Overview of Potyvirus resistance in watermelon. **In: Cucurbitaceae - Proceedings** of the IX the EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae. 2008.

HABERLE, J. et al. Structure of the human argininosuccinate synthetase gene and an improved system for molecular diagnostics in patients with classical and mild citrullinemia. **Hum Genet**, v. 110, p. 327-333, 2002.

HALTON, T. L. et al. Low-carbohydrate-diet score and the risk of coronary heart disease in women. **N Engl J Med**, v. 355, p. 1991–2002, 2006.

HAN, S. H. et al. Apolipoprotein E is localized to the cytoplasm of human cortical neurons: a light and electron microscopic study. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 53, n. 5, p. 535-544, 1994.

HEIJER, M. D.; LEWINGTON, S.; CLARKE, R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 3, n. 2, p. 415-422, fev. 2005.

HUH, H. J. et al. Gene–nutrition interactions in coronary artery disease: Correlation between the MTHFR C677T polymorphism and folate and homocysteine status in a Korean population. **Thrombosis Research**, v. 117, n. 5, p. 501-506, 2006.

IBGE, **Produção Agrícola Municipal 2009**. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

INNERARITYS, T. L. et al. Normalization of Receptor Binding of Apolipoprotein E2. **J. Biol. Chem**, v. 259, n. 11, p. 7261-7267, 1984.

ISORDIA-SALAS, I. et al. C677T polymorphism of 5, 10 MTHFR gene in young Mexican subjects with ST-elevation myocardial infarction. **Arch Med Res**, v.41, n. 4, p. 246-250, maio, 2010.

JENKINS, D. J. et al. Effects of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods vs lovastatin on serum lipids and C-reactive protein. **JAMA**, v. 290, p. 502–10, 2003.

JOFRE-MONSENY, L.; MINIHANE, A.; RIMBACH, G. Review Impact of apoE genotype on oxidative stress, inflammation and disease risk. **Mol. Nutr. Food Res**, v. 52, p. 131-145, 2008.

KAC, G.; SICHERI, R.; GIGANTE, D.P. **Epidemiologia nutricional**. Rio de Janeiro: Fiocruz-Atheneu, 2007. 580 p.

KAWAGISHI, H. et al. Liver injury suppressing compounds from avocado (*Persea Americana*). **J Agr Food Chem**, v. 49, n. 5, p. 2215-2221, 2001.

KEENAN, N. L. et al. Distribution and correlates of waist-to-hip ratio in black adults: The Pitt County Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 135, p. 678-684, 1992.

KEYS, A. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. **Am J Epidemiol**, v. 124, p. 903-15, 1986.

KOHLI, R. et al. Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats. **J Nutr**, v. 134, p. 600–608, 2004.

KRIS-ETHERTON, P.M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71- 88, 2002.

KUBAS, J. Investigations on known or potential antitumoral plants by means of microbiological tests. Part III. Biological activity of Some cultivated plant species in *Neurospora crassa* test. **Acta biol cracov ser bot**, v. 15, p. 87-100, 1972.

KUMAR, P. et al. Apolipoprotein E gene polymorphisms in patients with premature myocardial infarction: a case-controlled study in Asian Indians in North India. **Ann Clin Biochem**, v. 40, n. 4, p. 382—387, 2003.

KUMAR, S.; BAGCHI, G. D.; DAROKAR, M. P. Antibacterial activity observed in the seeds of some coprophilous plants. **Int J Pharmacog**, v. 35, n.3, p. 179-184, 1997.

KUMAR, V. et al. **Bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

LIMA, L.C. et al. Mononuclear cell therapy reverts cuff-induced thrombosis in apolipoprotein E-deficient mice. **Lipids Health Dis**, v. 11, n.1, p. 96, julho. 2012.

LUCOTTI, P. et al. Beneficial effect of a long-term oral L-arginine treatment added to a hypocaloric diet and exercise training program in obese insulin-resistant type 2 diabetic patients. **Am J Physiol**, v. 291, p. 906–912, 2006.

MABALEHA, M. B.; MITEI, Y. C.; YEBOAH, S. O. A comparative study of the properties of selected melon seed oils as potential candidates for development into commercial edible vegetable oils. **J AmOilChem So**, v. 84, p. 31–36, 2007.

MAHLEY RW, R. S. J. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. **Annu Rev Genomics Hum Genet**, v. 1, p. 507-537, 2000.

MANDEL, H. et al. Elevated plasma citrulline and arginine due to consumption of *Citrullus vulgaris* (watermelon). **J. Inherit. Metab. Dis**, v. 28, p. 467-472, 2005.

MARTINA, V. et al. Long-term N-acetylcysteine and L-arginine administration reduces endothelial activation and systolic blood pressure in hypertensive patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 31, p. 940–944, 2008.

MARTINEZ, T.L.R. **Manual de Condutas Clínicas em Dislipidemias**. p. 163-181, Rio de Janeiro, 2003.

MARTINS, M. J.; NEGRÃO, M. R. Watermelon: the value of higher plasma arginine concentrations. **Nutrition**, v. 23, p. 517, 2007.

MATHERS, C. D.; LONCAR, D. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030. **PLoS Med**, v. 3, n.11, p. 442, 2006.

MAXWELL, A. J.; COOKE, J. P. **Cardiovascular effects of**. 1998

MENDES-LANA, A. et al. Apolipoprotein E polymorphism in Brazilian dyslipidemic individuals: Ouro Preto study. **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica ... [et al.]**, v. 40, n. 1, p. 49-56, jan. 2007.

MENSINK, R.P. et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **Am J Clin Nutr**, v. 77, p.1146–1155, 2003.

MIKAEL, L.G. et al. Hyperhomocysteinemia is associated with hypertriglyceridemia in mice with methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 98, p. 187–194, 2009.

MIRANDA, K. F. **Estudo da concentração de licopeno por ultrafiltração a partir de suco de melancia**. 2005. 149 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas. 2005.

MOZAFFARIAN, D.; ARO, A.; WILLETT, W.C. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. **Eur J Clin Nutr**, v. 63, p.S5–S21, 2009.

MURAKAMI, A. et al. Screening for in vitro anti-tumor promoting activities of edible plants from thailand. **Cancer let**, v. 95, n. 1/2, p. 137-146, 1995.

NEWMAN, T. C. et al. Quantitation of apolipoprotein E mRNA in the liver and peripheral tissues of nonhuman primates. **J. Biol. Chem**, v. 260, n. 4, p. 2452-2457, 1985.

NIDIRY, ESJ. Antifungal Activity of Watermelon Seed Extracts. **Fitoterapia**, v. 69, n.5, p. 466-468, 1998.

OHSHIRO, T. et al. Pyripyropene A, an acyl-coenzyme A:cholesterolacyltransferase 2-selective inhibitor, attenuates hypercholesterolemia and atherosclerosis in murinemodels of hyperlipidemia. **ArteriosclerThrombVascBiol**, v. 31, n.5, p. 1108–1115, 2011.

ORHAN, I. et al. Free radical scavenging activities of some edible fruit seeds. **Pharmaceutical Biol**, v. 41, n.3, p. 163-165, 2003.

PALACIN, M. et al. Lysinuric protein intolerance: mechanisms of pathophysiology. **Mol Genet Metab**, v. 81 (suplemento), p. 27-37, 2004.

PALLOSHI, A. et al. Effect of oral L-arginine on blood pressure and symptoms and endothelial function in patients with systemic hypertension, positive exercise tests, and normal coronary arteries. **Am J Cardiol**, v.93, p. 933–935, 2004.

PARMAR, H. S.; KAR, A. Possible amelioration of atherogenic diet induced dyslipidemia, hypothyroidism and hyperglycemia by the peel extracts of *Mangifera indica*, *Cucumis melo* and *Citrullus vulgaris* fruits in rats. **Journal BioFactors**, v. 33, n. 1 , p. 13-24, 2008.

PAYNE, D. A. et al. MTHFR677C >T mutation: a predictor of early-onset coronary artery disease. **Thromb Res**, v. 103, p. 275-9, 2001.

PEREZ, C.; ANESINI, C. Inhibition of *pseudomonas aeruginosa* by argentinean medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 65, n. 2, p. 169-172, 1994.

PEREZ, C.; ANESINI, C. In Vitro Antibacterial Activity of Argentine Folk Medicinal Plants Against Salmonella Typhi. **J Ethnopharmacol**, v. 44, n.1, p. 41-46, 1994.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J. K. Flesh quality and lycopene stability of fresh-cut watermelon. **Postharv Biol Technol**, v. 31, p. 159–166, 2004.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais: introdução as principais substancias bioativas em alimentos**. São Paulo: Varela, 2005.

PLUMP, A.S. et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. **Cell**, v. 71, n. 2, p. 343-353, 1992.

PODURI, A. et al. Citrullus lanatus 'sentinel' (watermelon) extract reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.16, agost. 2012.

POIRIER, J. Apolipoprotein E in animal models of CNS injury and in Alzheimer's disease. **Trends Neurosci**, v. 17, n. 12, p. 525-530, 1994.

POPOV, D. et al. Beneficial effects of L-arginine supplementation in experimental hyperlipemia-hyperglycemia in the hamster. **Cell Tissue Res**, v. 308, p. 109–20, 2002.

PORTELA, J. V. F. **Estudo dos aspectos tecnológicos e de qualidade envolvidos no aproveitamento da casca e da polpa da melancia (Citrullus lanatus schrad)**. 2009. 130f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

PROENÇA DA CUNHA, A.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa. 2003.

RABIER, D.; KAMOUN, P. Metabolism of citrulline in man. **Amino Acids**, v.9, p. 299-316, 2002.

REINER, Ž. et al. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society for Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias. **Eur Heart J**, v. 32, p.1769-1818, 2011.

RIMANDO, A. M.; PERKINS-VEAZIE, P. M. Detemination of citrulline in watermelon rind. **J Chromatogr A**, v. 1078, p. 196–200, 2005.

RISSANEN, T.H. et al. Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. **Am J Clin Nutr**, v.77, p.133-138, 2003.

ROMÃO, R. L. **Dinâmica evolutiva e variabilidade de populações de melancia (*Citrullus lunatus*) em três regiões do Nordeste Brasileiro**. 1995. 71p. Dissertação (Mestrado) - Esalq, USP, Piracicaba, 1995.

SADEGHIAN, S. et al. Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in premature coronary artery disease. **BMC Cardiovasc Disord**, v. 6, p. 38, 2006.

SÁNCHEZ LEÓN, M.; RODRÍGUEZ PORTO, A.L.Y.; MARTÍNEZ VALDÉS, L.L. Revisión bibliográfica Desórdenes lipídicos: una puesta al día. **Rev. Cubana Endocrinol**, v. 4, n.1, p. 1-8, 2003.

SANTOS, R. D. et al. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção de Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 77, 2001.

SELHUB, J.; MILLER, J.W. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, p. 131-138, 1992.

SINGH, P.P. et al. Apolipoprotein E polymorphism and its relation to plasma lipids in coronary heart disease. **Indian J Med Sci**, v. 62, n. 3, p. 105-112, 2008.

SINGH, P. P.; SINGH, M.; MASTANA, S. S. APOE distribution in world populations with new data from India and the UK. **Annals of human biology**, v. 33, n. 3, p. 279-308, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol**, v. 88 (supl 1), p. 2-19, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA/SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO/SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileira de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol**, v.17, n.1, 2010.

STIEFEL, P. et al. Genotype of the CYBA promoter À930A / G , polymorphism C677T of the MTHFR and APOE genotype in patients with hypertensive disorders of pregnancy : An observational study. **Med Clin**, v. 133, n. 17, p. 657-661, 2009.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F. Role of oxidative modifications in Atherosclerosis. **Physiological Reviews**, n.84, p.1381-1478, 2004.

SZCZEKLIK, A. et al. Musial J, et al. Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase: risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia. **Am J Med Genet**, v. 101, p. 36-9, 2001.

TARAZONA-D'IAZ, M. P. et al. Bioactive compounds from flesh and by-product of fresh-cut watermelon cultivars. **J Sci Food Agric**, v. 91, p. 805–812, 2011.

TEDESCO, T. A. et al. Free amino acids in *Citrullus vulgaris* (watermelon). **Pediatric**, v. 73, p. 879, 1984.

TEMESVARI, E.; BECKER, K. Contact urticaria from watermelon in a patient with pollen allergy. **Contact dermatitis**, v. 28, n. 3, p. 185-186, 1993.

TOMS, T. E. et al. Apolipoprotein E Gene Polymorphisms Are Strong Predictors of Inflammation and Dyslipidemia in Rheumatoid Arthritis Apolipoprotein E Gene Polymorphisms Are Strong Predictors of Inflammation and Dyslipidemia in Rheumatoid Arthritis. **J Rheumatol**, v. 39, n. 2, p. 218-225, 2012.

TAVRIDOU, A.; RAGIA, G.; MANOLOPOULOS, V.G. Emerging Targets for the Treatment of Dyslipidemia. **Current Medicinal Chemistry**, v.18, p. 909-922, 2011.

VILLA, W. **Cultura da Melancia**. Campinas: CATI, 2001. 52 p. (Boletim Técnico, 243).

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Jafc**, v. 49, n.11, p. 5315-5321, 2001.

VLIET, P. V. et al. Plasma Levels of Apolipoprotein E and Risk of Stroke in Old Age. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1100, p. 140-147, 2007.

WADA, M. Iber Citrullin eine neue Aminosäure im PreKsaft der Wassermelone, *Citrullus vulgaris* Schrad. **Biochem**, v. 24, p. 420-429, 1930.

WANI, A. A. et al. Optimisation of watermelon seed protein using response surface methodology. **LWT – Food Sci Technol**, v. 41, p. 1514–1520, 2008.

WATANABE, T.; EGUSA, G.; OKUBO, M. Y. M. The relationship between apolipoprotein E polymorphism, lipid metabolism and ischaemic heart disease. **Atherosclerosis**, v. 144, p. 19, 1999.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva: WHO, 1998. (WHO Technical Report Series, 894).

WOLF, A. et al. Dietary L-arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterolemic humans. **J. Am. Coll. Cardiol**, v.29, p. 479-485, 1997.

WU, G. et al. Dietary supplementation with watermelonpomace juice enhances arginine availability and ameliorates the metabolic syndrome in zucker diabetic fatty rats. **J Nutr**, v. 137, p. 2680-2685, 2007.

YAMASAKI, K. Effect on some saponins on glucose transport system. **Adv exp med boil**, v. 404, p. 195-206, 1996.

YANG, H.J. et al. An effective assessment of simvastatin-induced toxicity with NMR-based Metabonomics approach. **PLoS One**, v.6, n.2, p.166-41, 2011.

ZHANG, L. et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and serum lipid levels in the Guangxi Bai Ku Yao and Han populations. **Lipids in Health and Disease**, v. 9, p. 123, 2010.

ZIVELIN, A. et al. Improved Method for Genotyping Apolipoprotein E Polymorphisms by a PCR-Based Assay Simultaneously Utilizing Two Distinct Restriction Enzymes. **Clinical Chemistry**, v. 43, n.9, p. 1657-1659, set.1997.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

Título da pesquisa: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO CONCENTRADO DE *Citrullus vulgaris Schrad* (Melancia) NO PERFIL LIPÍDICO DE PACIENTES COM DISLIPIDEMIA.

TERMO DE COMPROMISSO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezada Senhora (o),

Esta pesquisa tem como objetivo estudar o efeito do concentrado de melancia sobre os níveis sanguíneos de lipídios e estresse oxidativo de indivíduos adultos com dislipidemia (colesterol alto e ou triglicérido alto), avaliar o estado nutricional, consumo alimentar, pressão arterial e exames bioquímicos dos pacientes, segundo princípios da resolução 196/96. Está sendo desenvolvida por Nayara Moreira Massa, nutricionista e mestrande do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição – Nutrição Clínica – da UFPB, sob a orientação da Prof. Dra. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves.

Solicitamos sua colaboração para participar dos procedimentos necessários para realização do estudo, durante a pesquisa será realizada o preenchimento de um questionário de inquérito alimentar e consumo alimentar; realização de avaliação antropométrica (peso, altura e circunferência da cintura), aferição da pressão arterial e análise e realização de exames bioquímicos (glicemia, colesterol total, frações e triglicérido).

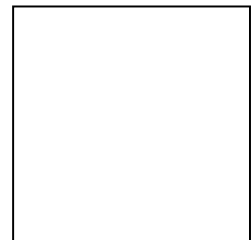
Os sujeitos do estudo serão distribuídos em dois (02) grupos de 30 indivíduos, da seguinte forma: G1 = os pacientes receberão o concentrado de *Citrullus vulgaris Schrad* e G2 = os pacientes receberão placebo de mesmo aspecto, textura e sabor. Essas intervenções ocorrerão por um período de oito semanas, havendo encontro diário para distribuição do concentrado de melancia e uma vez ao mês uma reavaliação do participante da pesquisa, com realização do inquérito alimentar e questionário de consumo alimentar para verificação do seguimento ao procedimento dietoterápico e demais hábitos alimentares e avaliação da composição corporal. Ao final das oito semanas será feita reavaliação de todas as variáveis bioquímicas.

Esclarecemos que esta pesquisa não trará riscos para a Senhor (a). Sua participação é voluntária e você pode se recusar a participar desta pesquisa. Para isto, basta que não assine o termo de consentimento, devolvendo ao pesquisador. Se você aceitar participar e durante o experimento sentir que não quer prosseguir, basta informar ao pesquisador o seu desejo.

Sua participação é de fundamental importância, pois contribuirá muito para a realização do nosso trabalho. Os resultados desta pesquisa podem ser publicados em artigos, congressos e em outros eventos científicos, onde sua identidade permanecerá anônima.

Tendo sido esclarecido (a) sobre os objetivos do estudo e do segredo em relação a minha participação, onde inclusive ressalta o meu direito de dispensa a qualquer momento sem qualquer prejuízo ou ônus, aceito participar desta pesquisa.

Assinatura do Participante da Pesquisa



Assinatura de Testemunha

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Participante

Contato da Pesquisadora Responsável: Nayara Moreira Massa
Telefones: (83) 8841-1246/96091409
Comitê de Ética e Pesquisa Hospital Universitário Lauro Wanderley: (83) 3216 - 7302

APÊNDICE B - Formulário de Inquérito Alimentar



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

1. IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE:

Nº DE ORDEM: _____

Nome: _____

Endereço: _____

Sexo () Masculino

Data de Nascimento: ____/____/____.

() Feminino

Idade: ____ anos.

Telefone: (____) _____.

2- HISTÓRICO CLÍNICO

a) Apresenta alguma patologia? () Sim () Não

Especifique: _____
_____.

b) Já fez alguma cirurgia? () Sim () Não

Especifique: _____.

c) Faz uso de medicamentos? () Sim () Não

Especifique: _____
_____.

d) Seu intestino funciona normalmente? () Sim () Não

e) Apresenta dor ao deglutir? () Sim () Não

Se sim: Refere-se a algum alimento específico? Qual?

f) Apresenta após alimentação? () Sim () Não

Se sim: Refere-se a algum alimento específico? Qual?

g) Você é fumante ? () Sim () Não

Se sim, qual a frequência? _____

h) Você consome bebida alcoólica ? () Sim () Não

Se sim, qual a frequência e bebida? _____

i) Você pratica atividade física ? () Sim () Não

Se sim, qual a frequência e modalidade? _____

2. HISTÓRIA DIETÉTICA:

a) Você esta fazendo dieta? () Sim () Não

Se sim, a quanto tempo? _____

b) Local onde habitualmente faz as refeições?

() casa () trabalho () restaurante () outro _____

c) Observa regularidade nos horários das refeições? () Sim () Não () raramente

d) Tem aversão por algum alimento? () Sim () Não

Se sim, qual? _____

e) Algum alimento lhe faz mal? () Sim () Não

Se sim, qual? _____

f) Quais são as preferências alimentares: Cite 03 por ordem de preferência:

g) Consome melancia? () Sim () Não

Se sim, qual a frequência? _____

3. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA:

Peso (Kg): _____ Altura (m): _____ IMC (kg/m²): _____

Diagnóstico Nutricional: _____

Cintura (cm) _____ RCQ: _____

Quadril (cm) _____ Diagnóstico: _____

3. AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA:

Variável	Resultado	Valor Normalidade
Colesterol total (mg/dl):		
LDL-C (mg/dl)		
HDL-C (mg/dl)		
VLDL-C (MG/dl)		
Triglicérides (mg/dl)		
Glicemia		

Data: ____/____/____.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Participante

Contato da Pesquisadora Responsável: Nayara Moreira Massa

Telefones: (83) 8841-1246/96091409

Comitê de Ética e Pesquisa Hospital Universitário Lauro Wanderley: (83) 3216 - 7302

APÊNDICE C – Recordatório alimentar 24 horas.

Paciente: _____.

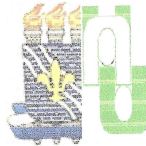
Data da aplicação: ____/____/____. Dia referente: ____/____/____.

Refeição	Preparação	Alimentos	Medida Caseira	Quantidade (g/ml)
Desjejum: Horário: _____				
Lanche: Horário: _____				
Almoço: Horário: _____				
Lanche:				

Horário: _____				
Jantar: Horário: _____				
Colação: Horário: _____				

ANEXO

ANEXO A – Parecer do comitê de ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA - UFPB
 HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY - HULW
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES
 HUMANOS - CEP**

Comitê de Ética em Pesquisa
 Hospital Universitário Lauro Wanderley
 Universidade Federal da Paraíba

CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley – CEP/HULW, da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada no dia 25/10/2011, após análise do parecer do relator, resolveu considerar **APROVADO** o projeto de pesquisa intitulado **AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CITRULLUS VULGARIS SCHRAD (Melancia) NO PERFIL LIPÍDICO E ESTRESSE OXIDATIVO DE PACIENTES COM DISLIPIDEMIA**. Protocolo CEP/HULW nº. 472/11, Folha de Rosto nº 470542, Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - CAAE Nº 0240.0.126.000-11, dos pesquisadores NAYARA MOREIRA MASSA, MARIA DA CONCEIÇÃO RODRIGUES GONÇALVES e ALEXANDRE SÉRGIO DA SILVA.

Ao final da pesquisa, solicitamos enviar ao CEP/HULW, uma cópia desta certidão e da pesquisa, em CD, para emissão da certidão para publicação científica.

João Pessoa, 25 de outubro de 2011.

Iaponira Cortez Costa de Oliveira
 Coordenadora do Comitê de Ética
 em Pesquisa - CEP/HULW

Profª Drª Iaponira Cortez Costa de Oliveira
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley-HULW - 4º andar. Campus I - Cidade Universitária.
 Bairro: Castelo Branco - João Pessoa - PB. CEP: 58051-900 CNPJ: 24098477/007-05
 Fone: (83) 32167302 — Fone/fax: (083)32167522 E-mail:comitedeetica@hulw.ufpb.br

ARTIGO

**SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE MELANCIA DIMINUI NÍVES DE
COLESTEROL TOTAL E LDL COLESTEROL EM ADULTOS COM
DISLIPIDEMIA, SOB INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T DA MTHFR**

TITULO DA REVISTA: The Journal of Nutritional Biochemistry

ÁREA: NUTRIÇÃO

QUALIS: A1

ISSN: 0955-2863

FATOR DE IMPACTO: 3.891

**SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE MELANCIA DIMINUI NÍVEIS DE
COLESTEROL TOTAL E LDL COLESTEROL EM ADULTOS COM
DISLIPIDEMIA, SOB INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T DA MTHFR**

Melancia reduz níveis lipídicos sob influência genética

Nayara M. L. Massa ^a, Carlos V. S. Barbosa ^a, Caio V.C. de Oliveira ^a, Maria J.C. Costa ^b,
Darlene C. Persuhn ^c, Alexandre S. Silva ^d, Maria da C.R. Gonçalves ^b

^a Programa de Pós graduação em Ciências da Nutrição, da Universidade Federal da Paraíba,
João Pessoa, Paraíba, Brasil.

^b Programa de Pós graduação em Ciências da Nutrição, Departamento de Nutrição, da
Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

^c Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Departamento de Biologia
Molecular, da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

^d Programa de Pós graduação em Ciências da Nutrição, Departamento de Educação Física, da
Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

Endereço correspondência do autor: Rua professor Sá e Benevides, número 26, Jardim
Treze de Maio, João Pessoa – Paraíba. Brasil. CEP: 58025-390. E-mail:
nayaramassa@hotmail.com. Telefone: +55(83) 8841 – 1246.

Fontes de Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
(CNPq) e a bolsa de mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior (CAPES).

Resumo

A dislipidemia e polimorfismos genéticos estão relacionados com risco aumentado para desenvolver doenças cardiovasculares e a melancia parece possuir potencial para melhorar hiperlipidemia devido à presença de nutrientes como arginina e citrulina. Investigou-se o efeito hipolipemiante do extrato de melancia (*Citrullus lanatus*) e a influência do genótipo da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T) e da apolipoproteína E na resposta a suplementação. Trata-se de um estudo experimental, clínico, fase II, randomizado e duplo cego. Quarenta e três sujeitos com dislipidemia foram randomicamente divididos em dois grupos, o experimental (n=22) e controle (n=21). Os sujeitos foram suplementados diariamente com 6g durante 42 dias com extrato de melancia ou uma mistura de hidratos de carbono (sacarose/glicose/frutose). O consumo do extrato de melancia reduziu concentrações plasmáticas de colesterol total ($p<0,05$) e lipoproteína de baixa densidade ($p<0,01$), sem modificar valores de triglicérideo, lipoproteína de alta densidade e lipoproteína de muito baixa densidade. Somente os portadores do alelo T (MTHFR C677T) apresentaram redução das concentrações da lipoproteína de baixa densidade ($p<0,01$). Não foram observadas modificações nos parâmetros antropométricos analisados. O presente estudo demonstrou pela primeira vez efeito benéfico do consumo do extrato de melancia na redução dos níveis plasmáticos de lipídios, em seres humanos, onde o polimorfismo MTHFR C677T não influenciou a concentração plasmática lipídica, mas torna indivíduos mais responsivos ao tratamento com a melancia. O consumo deste alimento funcional representa uma alternativa terapêutica no tratamento coadjuvante de pacientes com dislipidemia, acarretando promoção da saúde e minimização do desenvolvimento de fatores de risco para as doenças cardiovasculares.

Palavras-Chave: Melancia, Dislipidemia, Polimorfismo, MTHFR C677T.

1. Introdução

A dislipidemia caracteriza-se por elevadas concentrações plasmáticas de colesterol total (CT), triglicerídeo (TG) e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), assim como baixos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) [1] sendo caracterizada como um dos principais fatores de risco que levam à doença cardiovascular (DCV) [2]. Alteração do perfil lipídico e polimorfismos genéticos estão relacionados com risco aumentado para desenvolver DCV [2,3].

O polimorfismo da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T) está relacionado com hiperhomocisteinemia, hipertrigliceridemia, níveis elevados de colesterol total e LDL-c [4,5] e a depender do genótipo apresentado da apolipoproteína E o sujeito poderá estar mais susceptível ao desenvolvimento de dislipidemia, estando o alelo E4 relacionado com uma disfunção negativa da composição lipídica no plasma [6,7,8].

Para o tratamento das dislipidemias existe atualmente uma necessidade não satisfeita de terapias eficazes [9]. O tratamento farmacológico não protege um percentual significativo de pacientes de eventos cardiovasculares, apesar de eficiente para reduzir o colesterol [10], promovendo também a alimentação um efeito hipolipemiante com o consumo de frutas como a berinjela, maçã, romã, cereais integrais (trigo sarraceno e cevada) e fibras solúveis (pectina e goma guar) [11,12,13]. Efeitos hipolipidemicos podem estar relacionados ao alto teor de fibras e atividade antioxidante presente em diferentes frutas, sendo a melancia fonte de compostos com ação antioxidante [13,14].

A melancia é rica fonte de antioxidantes naturais como o licopeno, citrulina e arginina [15, 16,17]. Após o seu consumo há aumento dos níveis plasmáticos destes nutrientes [14, 16,18], estando o licopeno associado com menor incidência de doenças coronárias [19]. Devido à elevada concentração de polifenóis o consumo da melancia é indicado para ser adicionada à dieta para compensar deficiência alimentar de seres vivos [20].

Pesquisas vêm sendo realizadas para comprovar efeito benéfico do uso da melancia. Relacionado ao perfil lipídico foram realizadas pesquisas em modelo animal com o uso do suco e casca da melancia, elucidando efeitos benéficos como à melhora do perfil lipídico e diminuição do avanço do processo aterosclerótico [21,22,23,24]. Embora estes dados sejam promissores, não se encontrou até o momento, na literatura científica, informações se esta resposta se reproduzirá em modelo humano avaliando a influência de aspectos genéticos na resposta a suplementação dietética.

Estudos da área da nutrigenética demonstram que se faz relevante em estudo de intervenção dietética avaliar a variabilidade da resposta à dieta em relação a fatores genéticos [25] uma vez que, o polimorfismo da apolipoproteína E é certamente um dos fatores que regulam a resposta a uma intervenção dietética e níveis lipídicos plasmáticos [26].

Neste âmbito, o presente estudo apresenta a hipótese de que o consumo do extrato de melancia (*Citrullus lanatus*) atenuaria os níveis lipídicos plasmáticos de pacientes com dislipidemias e que esta resposta hipolipemiante pode diferir de acordo com o perfil genético dos sujeitos.

2. Materiais e Métodos

2.1 Sujeitos

Estudo experimental, clínico de fase II [27], randomizado, duplo cego com placebo controlado. Inicialmente foram realizados exames bioquímicos para avaliação do perfil lipídico (CT, TG e LDL-c) com 92 funcionários de uma instituição pública, selecionados de forma aleatória. Os critérios de elegibilidade da amostra foram: ser adulto, com idade igual ou acima de 20 anos até 60 anos, portador de dislipidemia [28], não apresentar Diabetes Mellitus, Síndrome Nefrótica, Insuficiência Renal, Hepatopatias, Hipotireoidismo ou Hipertireoidismo ou outra patologia capaz de alterar o perfil lipídico e não fazer uso de medicamento hipolipemiante. Os critérios de exclusão foram: consumo regular de melancia ou suplemento da fruta, não realização dos exames bioquímicos e recusa a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Após triagem, 49 sujeitos foram diagnosticados com dislipidemia e se enquadraram nos critérios de inclusão. Os sujeitos foram orientados a não modificar o consumo alimentar e a prática de atividade física durante o estudo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley- CEP/HULW da Universidade Federal da Paraíba (CEP/HULW n°472/11) e todos os voluntários assinaram o TCLE.

Ao longo do estudo houve perda amostral de seis sujeitos por se enquadrarem nos critérios de exclusão. Sendo assim, o grupo amostral foi composto por 43 indivíduos adultos ($47,22 \pm 6,5$ anos) com diagnóstico de dislipidemia. Os sujeitos do estudo foram distribuídos randomicamente em dois grupos, o experimental (GE, n=22, $47,1 \pm 7,5$ anos, sendo 11 homens) suplementado com extrato de melancia (*Citrullus lanatus*) e o controle (GC, n=21, $47,33 \pm 5,5$ anos, sendo 11 homens) suplementado com placebo. A pessoa encarregada pela

randomização, bem como os voluntários permaneceram cegos durante a intervenção.

2.2 Antropometria

O peso foi mensurado com precisão de 0,1 kg utilizando uma balança digital eletrônica (filizola, Luminamea 02550). O procedimento foi realizado em triplicata. A altura foi determinada com precisão de 1 mm e exatidão de 0,5 cm, utilizando fita métrica (Sanny). O Índice de Massa Corporal (IMC) foi obtido considerando-se a razão do peso atual (kg) e o quadrado da altura (m²) [29]. A circunferência da cintura (CC) e do quadril foi realizada em duplicata [30, 31].

2.3 Análise Bioquímica

As amostras de sangue foram coletadas pela manhã, depois de um período de 12 horas de jejum. O perfil lipídico foi determinado pela análise do colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e triglicerídeos. Os valores de colesterol total, HDL-c e TG foram determinados pelo método enzimático colorimétrico. Os parâmetros bioquímicos foram analisados com uso do kit comercial Roche (Roche Diagnostic System Inc.) e as leituras realizadas em analisador bioquímico automatizado (COBAS 6000/ COBAS C 501 -ROCHE HITACHI).

2.4 Suplementação

Os voluntários foram suplementados diariamente durante o período de seis (06) semanas – 42 dias. O extrato ou placebo foram distribuídos em embalagens individuais, contendo 6g cada. Os participantes receberam uma tabela com orientação sobre uso do suplemento e marcação diária da ingestão. Semanalmente eles foram questionados quanto ao consumo da semana anterior pela pesquisadora nutricionista e adicionalmente, mensagens eletrônicas via aparelho celular foram enviadas, estimulando o consumo do produto. O grupo experimental foi suplementado com o extrato de melancia, produzido pela empresa Frutas Milne (Prosser, WA, USA), o qual é produzido a partir de melancias recém-colhidas, sendo 100% natural. O produto consiste dos sólidos secos da melancia. O consumo diário do extrato da fruta foi o equivalente a aproximadamente 1,04 kg da polpa da melancia [32].

O placebo era composto por: glicose, sacarose e frutose (2:2:1), coincidindo com a composição de carboidratos do extrato de melancia. O placebo apresentava idêntico aspecto,

cor, textura e aroma ao do extrato de melancia. Vinte e quatro horas após a ingestão da última dosagem do suplemento ou placebo, todos os sujeitos foram reavaliados perante os aspectos antropométricos e bioquímicos.

2.5 Análise de polimorfismos genéticos

2.5.1 Coleta das células da mucosa oral

Foi realizada a coleta das células da mucosa bucal, a partir do bochecho durante 60 segundos com solução de 5 mL de sacarose (3%). O bochecho de cada indivíduo foi recolhido e depositado em um tubo de centrífuga de 15 mL. Foi adicionado ao tubo três mL de solução de TNE [17 mM Tris / HCl (pH 8,0), NaCl 50 mM e 7 mM de EDTA] diluído em 66% etanol. O material coletado foi mantido à temperatura de refrigeração, seguido por isolamento de DNA [33].

2.5.2 Caracterização quanto ao polimorfismo MTHFR C677T

O polimorfismo C677T MTHFR foi determinado através da reação em cadeia da polimerase (PCR – Polymerase Chain Reaction) utilizando os iniciadores (5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3' e anti-sense 5'-AGGACGGTGCCGGTGAGAGTG-3') em reação que envolveu 30 ciclos de 94 °C (um minuto), 55 °C (um minuto) e 72 °C (dois minutos) precedidos de uma etapa de desnaturação de 5 minutos e finalizado com uma de extensão por 10 minutos.

O fragmento foi digerido usando 1 U de endonuclease *Hinf I*. Na presença do alelo T, foi com dois fragmentos de 175 e 23 pares de base foram observados. Na presença do alelo normal, somente a banda de 198 pares de base foi observada [34]. Os resultados foram visualizados em eletroforese em gel de poliacrilamida 15% corada com gel red e os registros visualizados em transiluminador com luz UV.

2.5.3 Caracterização quanto ao polimorfismo da apolipoproteína E

O DNA genômico foi amplificado com os primers F5' TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA e R5'-GCCCCGGCCTGGTACACTGCCA para produzir um fragmento de DNA de 218 pares de base. As reações de PCR foram submetidas a

40 ciclos de 94 °C (30 segundos), de 55 °C (90 segundos) e 72 °C (1 minuto). A digestão simultânea do produto amplificado com 2,5U de AfIII e % U HaeII, por 24 horas, 37°C produziu fragmentos de 145 pb (apoE3), 168 pb (apoE2) e 195 pb (apoE4) [35].

2.6 Análise estatística

Os dados estão apresentados como média e desvio padrão da média. As análises de normalidade e homogeneidade de variância foram realizadas por meio dos testes de Shapiro-Wilks e Levene. Os testes T student independente foi utilizado para comparação entre os valores basais e finais no grupo experimental e controle e o teste T pareado para avaliar possíveis diferenças entre os momentos pré e pós-intervenção. Quando necessário os testes T independente e pareado foram substituídos pelos seus equivalentes não paramétricos Mann-Whitney e Wilcoxon, respectivamente. A significância estatística foi definida como $p < 0,05$. O programa estatístico utilizado para as análises foi o InStat versão 3.0 (Graph Pad San Diego, CA, USA).

3. Resultados

3.1 Caracterização da amostra

O grupo amostral foi composto por uma população de 43 sujeitos ($47,22 \pm 6,5$ anos). Os dados do perfil lipídico mostram que o grupo foi composto de sujeitos com dislipidemia, apresentando níveis aumentados de TG ($221,86 \pm 149,83$ mg/dL), valores limítrofes de CT ($230,14 \pm 45,54$ mg/dL) e LDL-c ($155,48 \pm 40,32$ mg/dL) e valores de $41,86 \pm 10,45$ mg/dL de HDL-c e $33,91 \pm 11,68$ mg/dL para VLDL-c. Relativo aos parâmetros antropométricos a população é classificada com sobrepeso (IMC: $29,69 \pm 4,51$ kg/m²), peso médio de $78,31 \pm 12,66$ kg; a CC e RCQ foram $98,16 \pm 11,22$ cm e $0,92 \pm 0,06$ cm/cm. Os voluntários tinham valores de pressão arterial sistólica média de $134,88 \pm 14,50$ mmHg; pressão arterial diastólica média de $76,49 \pm 12,23$ mmHg e glicemia próxima ao limite superior de normalidade ($99,71 \pm 23,06$ mg/dL). Estes sujeitos hiperlipidêmicos foram distribuídos randomicamente em dois grupos, o experimental e controle. Todos os sujeitos terminaram o estudo sem que intercorrências adversas tenham sido relatadas.

3.2 Genótipos da MTHFR C677

O grupo experimental e controle foram classificados do ponto de vista genotípico. No grupo experimental 54,6% (n=12) sujeitos foram caracterizados como homozigotos normais (677CC), 22,7% (n=5) homozigoto alterado (677TT) e 22,7% (n=5) heterozigotos (677CT), apresentando frequências alélicas de 66% e 34% para os alelos C e T, respectivamente. O grupo controle foi formado por 38,1% (n=8) homozigotos normais, 33,3% (n=7) homozigoto alterado e 28,6% (n=6) heterozigotos, com uma frequência alélica de C= 55% e T=45%.

No período pré-intervenção, os genótipos MTHFR 677CT e TT apresentaram valores mais elevados de CT, LDL-c, VLDL-c e TG em uma proporção de 1,3%, 6,9%, 8,6%, e 12,8% comparados aos com o genótipo CC (Tabela 1). No entanto, diferenças estatísticas não foram encontradas para nenhuma das variáveis do perfil lipídico.

3.3 Genótipo da apolipoproteína E

O genótipo da apolipoproteína E (ApoE) mais frequente no grupo experimental foi o E3/E3 com 68,2% (n=15), seguido do genótipo E2/E2 com 13,6 % (n=3), E2/E3 com 9,1% (n=2) e E2/E4 apresentando 9,1% (n=2). Assim como no GE, no grupo controle foi encontrada maior frequência do genótipo E3/E3 com 66,6% (n=14), logo após E2/E3 com 23,8% (n=5), E2/E2 com 4,8% (n=1) e o genótipo E3/E4 com 4,8 % (n=1). Não foi detectado o genótipo E4/E4 em nenhum dos grupos. Em relação à frequência de alelo da ApoE da população estudada, observou-se que o alelo E3 é o mais comum, seguido de E2 e E4.

3.4 Avaliação Antropométrica após o consumo do extrato de melancia

O consumo de extrato de melancia por seis semanas não promoveu qualquer alteração nos parâmetros antropométricos pré e pós-intervenção no grupo experimental para as variáveis, peso (p= 0,08), IMC (p=0,08), CC (p= 0,10) e relação cintura quadril (RCQ) com p= 0,415. Semelhante ao GE o grupo controle não apresentou modificação para estas variáveis (p=0,11; p=0,14; p=0,12 e p=0,21), respectivamente.

3.5 Perfil Lipídico após consumo do extrato de melancia

As seis semanas de consumo de extrato de melancia resultaram em uma redução significativa nos valores de CT e LDL-c no grupo experimental (Figura 1). As concentrações de TG plasmático reduziram em 38,05 mg/dL no grupo experimental e uma elevação de

2,6mg/dL no grupo controle, considerando neste resultado uma melhora clínica destes pacientes que foram suplementados com a melancia. Relativo às concentrações séricas de HDL-c e VLDL-c não foram encontradas mudanças em suas concentrações nos períodos pré e pós-intervenção. No grupo controle não foram encontradas modificações antes e após consumo do extrato de melancia.

3.6 Influência do genótipo da MTHFR C677T após intervenção dietética

A variável bioquímica LDL-c foi significativamente reduzida após tratamento com melancia no grupo experimental ($p=0,0003$), apresentado na Figura 1. Quando se analisou os diferentes genótipos do GE (portadores e não portadores do alelo T) verificou-se uma redução significativa do LDL-c no grupo 677CT + 677TT (Figura 2). O grupo 677CC não obteve os níveis de LDL colesterol significativamente reduzidos pelo tratamento experimental ($p=0,10$). Portanto, uma melhor resposta ao tratamento está relacionada com a presença do alelo T do polimorfismo C677T da MTHFR. Apesar da consistência destes dados relativos ao LDL-c, em nenhuma das outras variáveis do perfil lipídico este comportamento foi elucidado.

4. Discussão

Os dados deste estudo evidenciaram que o consumo diário de 6 gramas do extrato de melancia por um período de seis semanas é capaz de diminuir as concentrações plasmáticas de CT e LDL-c, sem modificar valores de TG, HDL-c e VLDL-c em humanos adultos com dislipidemia, pré hipertensos, com sobrepeso e níveis de glicemia próximo ao limite superior. Portadores do alelo 677T ou 677C do gene MTHFR apresentaram valores no tempo pré-intervenção estatisticamente semelhantes para os componentes do perfil lipídico, mas os sujeitos com alelo T apresentaram valores descritivamente mais elevados para CT, LDL-c, VLDL-c e TG. Ressalta-se que os sujeitos com alelo 677T responderam positivamente ao tratamento com melancia para avaliação do parâmetro bioquímico do LDL-c.

Ausência de alterações no peso corporal e IMC observados neste estudo promove consistência para o fato de que a melhoria do perfil lipídico foi resposta ao tratamento com a melancia, e não a perda de peso gerada por modificação dietética ou ação do suplemento. Em estudos com modelo animal [21,24] observou-se que a suplementação de melancia atenuou o ganho de peso em ratos Zucker diabéticos e hipercolesterolêmicos em relação aos seus grupos controle. Já outro estudo relatou mais que uma inibição do ganho de peso, sendo observada efetiva redução do peso corporal em ratos diabéticos [36]. Pesquisa realizada em 2012 relata

que o ganho de peso foi atenuado com manutenção da massa magra e redução significativa da massa gorda [24]. Embora estes dados direcionem para um potencial efeito emagrecedor da melancia, nosso estudo não elucida qualquer possibilidade de que a suplementação com este alimento proteja contra ganho de peso corporal em humanos. Nossos dados corroboram com o estudo realizado em sujeitos com pré-hipertensão [37], de modo que não existem evidências para extrapolar para humanos estes dados prévios realizados em modelo animal.

Concernente ao perfil lipídico, em um estudo prévio observou-se que a suplementação com o mesmo extrato de melancia promoveu redução dos valores de CT e LDL-c em ratos hipercolesterolêmicos, não sendo verificada diferença nas concentrações plasmáticas de VLDL-c e HDL-c [24]. Ressalta-se que CT e LDL-c foram as variáveis bioquímicas atenuadas em nosso estudo com seres humanos. Portanto, nossos dados compõem a primeira evidência científica a demonstrar que o efeito da suplementação com melancia no perfil lipídico de modelo animal pode ser extrapolado para humanos. Em outro estudo, mas com modelo animal (ratos diabéticos), os resultados foram mais promissores, com reduções também nos valores de TG, VLDL-c e aumento dos níveis de HDL-c [38]. Possível explicação para este resultado é a utilização de duas concentrações de sumo de melancia (63% e 94%), com melhor resultado para o consumo do sumo mais concentrado.

Apesar dos dados destes estudos apresentados serem promissores em relação ao potencial da melancia para melhorar o perfil lipídico de humanos, importante avaliar que discordando destes resultados benéficos, a intervenção com sumo de melancia (20mg de licopeno) não alterou o níveis de CT, HDL-c ou TG [39].

Nas pesquisas com a melancia, não só o consumo da polpa têm sido estudado, mas também o extrato da casca, o qual apresentou potencial para melhorar alterações induzidas por dieta nas concentrações lipídicas plasmáticas de ratos com dislipidemia, disfunção da tireóide e diabetes mellitus [22]. Portanto, considerando que nosso trabalho foi o primeiro a avaliar a ação da melancia no perfil lipídico em humanos com dislipidemia, nós sugerimos a continuação desta linha de pesquisa com protocolos de suplementação que adotem maiores concentrações do extrato de melancia e uso da casca da fruta, pois esta possui quantidade elevada de polifenóis e ácido ascórbico [22].

O estudo da nutrição associado com a genética têm se mostrado importante e essencial uma vez que a variabilidade genética pode influenciar a resposta à dieta [40]. Relativo ao polimorfismo C677T da MTHFR, estudos prévios relacionam maiores concentrações de CT, LDL-c e TG a portadores do alelo T [5,41,42]. Sugere-se que os portadores do alelo T possuem alteração do metabolismo lipídico devido a uma atividade da MTHFR reduzida [42].

Em nosso estudo, portadores do alelo T apresentaram valores descritivos de CT, LDL-c, VLDL-c e TG maiores em relação ao grupo CC. Mas, para nenhuma destas variáveis as concentrações de lipídios foram estatisticamente significativas. Para determinar associação entre polimorfismo e suas implicações biológicas, os estudos genéticos devem ter amostras epidemiologicamente representativas, o que não foi o caso do presente estudo, que teve caráter experimental.

Relevante que o grupo portador do alelo T foi o responsável pela redução dos níveis de LDL-c demonstrado neste estudo. Embora existam dados sugerindo maior concentração dos valores de perfil lipídico em sujeitos com alelo T, até o momento não existe nenhum trabalho que analisou sua influência no tratamento dietético com ação hipolipemiante de indivíduos com dislipidemia. O tratamento com extrato de melancia apresentou efeito significativo na redução do LDL-c apenas entre os sujeitos homocigoto alterado (677TT) ou heterocigotos (677CT), portanto, esta é a primeira vez que se demonstrou que indivíduos com dislipidemia são mais responsivos ao tratamento dietético com melancia na presença do alelo T do polimorfismo MTHFR C677T.

Em consonância com nossos dados a suplementação com óleo de pequi em corredores não foram observadas modificações nos valores do perfil lipídico entre os homocigotos normais e portadores do alelo T. Resultados controversos para avaliação deste polimorfismo podem ser entendidos devido a variações étnicas e geográficas da frequência do alelo deste polimorfismo [43].

Um questionamento que surge a partir do nosso estudo é se os sujeitos portadores do alelo T foram mais responsivos por causa do polimorfismo apresentado ou devido à presença de maior concentração plasmática inicial de LDL-c, mas sem diferença estatística. Considerando que os dois grupos partiram de valores semelhantes no início do estudo, têm-se argumentos para defender que o polimorfismo foi o fator causal da melhor resposta ao tratamento com melancia no grupo com portadores do alelo T. Sendo assim, nossos dados sugerem que a presença do polimorfismo ou seu efeito sobre o maior nível de LDL-c tornam sujeitos portadores do alelo T mais responsivos ao tratamento dietético com melancia para melhoria do perfil lipídico.

O polimorfismo C677T já foi alvo de estudo farmacogenômico, que avaliou a eficácia dos inibidores da HMGCoA redutase (estatinas). Indivíduos homocigotos apresentaram proteção significativa frente às doenças artério coronarianas, ausente nos portadores do alelo T [44]. É importante ressaltar que o trabalho citado não analisou efeito sobre redução de LDL-c e sim a ocorrência de eventos cardiovasculares em pacientes que faziam uso do

medicamento prevastatina. As estatinas reduzem a síntese endógena de colesterol e são agentes de prevenção de doença aterosclerótica, no entanto, alguns pacientes, os portadores do alelo 677T tem menor chance de responder de forma eficiente ao tratamento [44]. A suplementação com extrato de melancia exibiu um efeito redutor do LDL-c por um mecanismo que se espera, seja diferente dos inibidores enzimáticos da síntese de colesterol, e que até o momento não está esclarecido, mas que pode estar relacionado à ação dos compostos antioxidantes presentes na fruta como licopeno, citrulina e arginina.

Assim como a MTHFR C677T o polimorfismos no gene da ApoE estão associados com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e distúrbios do metabolismo lipídico, conduzindo a hipercolesterolemia grave e aterosclerose [45]. Não foi possível realizar análises estatísticas dos dados relativo à ApoE devido ao pequeno número amostral dos portadores do alelo E4, constituindo numa limitação deste estudo. Mas, consideramos relevante ressaltar a possível associação benéfica para redução de LDL-c em indivíduos apresentando simultaneamente o genótipo ApoE E3/E3 e 677CT/677TT. Analisamos descritivamente que a redução deste parâmetro ficou concentrada nos indivíduos com genótipo E3/E3 (100% responderam com redução do LDL-c), ressalta-se que este grupo era composto prioritariamente por indivíduos com este genótipo (68,2%). Importante que dentre sete indivíduos com outros genótipos (E2/E2, E2/E3 e E2/E4), apenas um apresentou redução dos níveis de LDL-c.

Os dados apresentados em nosso estudo estimulam profissionais da saúde a indicar o consumo da fruta pela população, especialmente portadores de dislipidemia. Além destes benefícios elucidados, o consumo da melancia esta relacionado com a redução de fatores de risco cardiovascular, incluindo redução da glicose, ácidos graxos livres, homocisteína [21], redução de pressão arterial [32], inibição da formação de peróxidos lipídicos [23] e limitação do avanço do processo aterosclerótico [24].

Estes benefícios podem ser entendidos pela elevação das concentrações plasmáticas de arginina e citrulina após o consumo da fruta [14,46]. A arginina aumenta a oxidação de gorduras e glicose, atenuando a hiperglicemia, melhorando dislipidemia e reduzindo a massa gorda em animais obesos diabéticos [47]. Já a citrulina é convertida em arginina, oferecendo um papel potencial para explorar os efeitos do consumo da melancia na regulação do metabolismo de substratos de energia do corpo, melhora das funções cardiovasculares, imunológicas e evitar o aumento do estresse oxidativo [14].

Em resumo, os dados do presente estudo demonstraram pela primeira vez o efeito benéfico do consumo do extrato de melancia sobre redução dos níveis plasmáticos de CT e

LDL-c, em seres humanos. O polimorfismo no gene MTHFR C677T não influenciou os valores do perfil lipídico, mas torna estes indivíduos mais responsivos ao tratamento com extrato de melancia. O consumo deste alimento funcional pode representar uma alternativa terapêutica no tratamento coadjuvante de pacientes com dislipidemia, acarretando promoção da saúde e minimização do desenvolvimento de fatores de risco para as doenças cardiovasculares. Mediante resultados benéficos encontrados com a suplementação do extrato de melancia, propomos a realização de estudos com seres humanos com um maior n amostral para oferecer melhor evidência da interação genética entre o perfil lipídico e influência a resposta ao tratamento hipolipemiante, particularmente relacionado à apolipoproteína E.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa. A empresa Milne Fruit Products Inc. (Prosser, WA, EUA) a qual nos presenteou com o extrato de melancia e a NeoNutri (MG, BRASIL) que nos concedeu o produto placebo. Ao Hospital Universitário Lauro Wanderley (UFPB) o qual nos concedeu a realização dos exames bioquímicos e a todos os voluntários que participaram do estudo.

Referências

- [1] Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in Atherosclerosis. *Physiological Reviews*. 2004; 18:1381-1478.
- [2] Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HBJr, Clark LT, Hunninghake DB, Pasternak RC, Smith SCJr, Stone NJ. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2004; 44:720-732.
- [3] Dedoussis GVZ, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas J, Choumerianou D, Stefanadis C, Attica SG. An association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation and inflammation markers related to cardiovascular disease. *Int J Cardiol*. 2005;100: 409-14, 2005.
- [4] Mikael LG, Wang X, Wu Q, Jiang H, Maclean KN, Rozen, R. Hyperhomocysteinemia is associated with hypertriglyceridemia in mice with methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2009;98:187–194.
- [5] Zhang L, Yin R, Liu W, Miao L, Wu D, Aung LHH, Hu X, Cao X, Wu J, Pan S. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and serum lipid levels in the Guangxi Bai Ku Yao and Han populations. *Lipids in Health and Disease*. 2010; 9:123.
- [6] Stiefel P, Miranda ML, Bellido LM, Luna J, Jiménez L, Pamies E, Frutos PG, Villar J. Genotype of the CYBA promoter À930A / G , polymorphism C677T of the MTHFR and APOE genotype in patients with hypertensive disorders of pregnancy : An observational study. *Med Clin*, 2009;133 (17):657-661.
- [7] Ohshiro T, Matsuda D, Sakai K, Degirolamo C, Yagyu H, Rudel LL, Omura S, Ishibashi S, Tomoda H. Pyripyropene A, an acyl-coenzymeA:cholesterolacyltransferase 2-selective inhibitor, attenuates hypercholesterolemia and atherosclerosis in murinemodels of hyperlipidemia. *ArteriosclerThrombVascBiol*. 2011; 31 (5):1108–1115.

- [8] Lima LC, Porto ML, Campagnaro BP, Tonini CL, Nogueira BV, Pereira TM, Vasquez EC, Meyrelles SS. Mononuclear celltherapyrevertscuff-inducedthrombosis inapolipoprotein E-deficientmice. *Lipids Health Dis.* 2012;11 (1): 96.
- [9] Dube JB, Hegele RA. The application of gene therapy in lipid disorders: where are we now? *Clinical Lipidology.* 2012; 7 (4): 419.
- [10] Libby P. The Forgotten Majority: Unfinished Business in Cardiovascular Risk Reduction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 46:1225-1228.
- [11] Gonçalves MCR, Diniz MFFM, Dantas AHG, Borba JDC. Modesto efeito hipolipemiante do extrato seco de Berinjela (*Solanum melongena* L.) em mulheres com dislipidemias, sob controle nutricional. *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* 2006;16:656-663.
- [12] Kim JY, Shin JH, Lee SS. Cardioprotective effects of diet with different grains on lipid profiles and antioxidative system in obesity-induced rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 2012;82(2):85-93
- [13] Esmael OA, Sonbul SN, Moselhy SS, Kumosani TA. Hypolipidemic effect of fruit fibers in rats fed with high dietary fat. *Toxicol Ind Health.* 2013;11.
- [14] Collins JK, Wu G, Perkins-Veazie P, Spears K, Claypool PL, Baker RA, Clevidence BA. Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutrition.* 2007;23: 261–266.
- [15] Perkins-Veazie P, Collins JK. Flesh quality and lycopene stability of fresh-cut watermelon. *Postharv Biol Technol.* 2004; 31:159–166.
- [16] Rimando AM, Perkins-Veazie PM. Detemination of citrulline in watermelon rind. *J Chromatogr A.* 2005;1078:196–200.
- [17] Tlili I, Hdider C, Lenucci MS, Riadh I, Jebari H, Dalessandro G. Bioactive compounds and antioxidant activities of different watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld)

cultivars as affected by fruit sampling area. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011; 24:307-314.

[18] Edwards AJ, Vinyard BT, Wiley ER, Brown ED, Collins JK, Perkins-Veazie P, Baker RA, Clevidence BA. Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and β -carotene in humans. *J Nutr*. 2003; 133 (14):1043-1050.

[19] Fraser PD, Bramley PM. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Prog Lipid Res*. 2004;43: 228–265.

[20] Asghar MN, Shahzad MT, Nadeem I, Ashraf CM. Phytochemical and in vitro total antioxidant capacity analyses of peel extracts of different cultivars of *Cucumis melo* and *Citrullus lanatus*. *Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)*. 2013; 51(2):226-232.

[21] Wu G, Collins JK, Perkins-Veazie P, Siddiq M, Dolan KD, Kelly KA, Heaps CL, Meininger CJ. Dietary supplementation with watermelon pomace juice enhances arginine availability and ameliorates the metabolic syndrome in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr*. 2007;137:2680–5.

[22] Parmar HS, Kar A. Possible amelioration of atherogenic diet induced dyslipidemia, hypothyroidism and hyperglycemia by the peel extracts of *Mangifera indica*, *Cucumis melo* and *Citrullus vulgaris* fruits in rats. *Biofactors* 2008;33 (1):13–24.

[23] Altas S, Kizil G, Kizil M, Ketani A, Haris PI. Protective effect of Diyarbakir watermelon juice on carbon tetrachloride-induced toxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2011;49 (9):2433–8.

[24] Poduri A, Rateri DL, Saha SK, Saha S, Daugherty A. *Citrullus lanatus* 'sentinel' (watermelon) extract reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2012;16: 2012.

- [25] Petkeviciene, J, Smalinskiene A, Luksiene DI, Jureniene K, Ramazauskiene V, Klumbiene J, Lesauskaite V. Associations between apolipoprotein E genotype, diet, body mass index, and serum lipids in Lithuanian adult population. *PloS one*. 2012;7(7):415-25
- [26] Andrade FM, Bulhões AC, Maluf SW, Schuch JB, Voigt F, Lucatelli, JF, Barros AC, Hutz MH .The influence of nutrigenetics on the lipid profile: interaction between genes and dietary habits. *Biochemical genetics*. 2010;48(3-4):342-55.
- [27] Brasil. Resolução 251/97 de 07 de ago. de 1997. Dispõe sobre o uso de novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos em seres humanos. Conselho Nacional de Saúde, Brasília, DF, 1997, 07 de ago.
- [28] Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2007; 88: 2-19.
- [29] World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1998;894:i-xii, 1-253.
- [30] Callaway CW, Chumlea WC, Bouchard C, Himes JH, Lohman TG, Martin AD. Circumferences. in: lohman tg, roche af, martorell r, editors. *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign: Human Kinetics Books. 1988: 39-54.
- [31] Keenan NL, Strogatz DS, James AS, Ammerman AS, Rice BL. Distribution and correlates of waist-to-hip ratio in black adults: The Pitt County Study. *American Journal of Epidemiology*. 1992;135:678-684.
- [32] Figueroa A, Sanchez-Gonzalez MA, Wong A, Arjmandi BH. Watermelon Extract Supplementation Reduces Ankle Blood Pressure and Carotid Augmentation Index in Obese . *Am J Hypertens*.2012;25,(6): 640-3.
- [33] Aidar M, Line SRP. A Simple and Cost-Effective Protocol for DNA Isolation from Buccal Epithelial Cells. *Braz Dent J*. 2007;18(2):148-152.

- [34] Arruda VR, Zuben PM, Chiaparini LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. The mutation Ala 677→Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 1997;77: 818-21.
- [35] Zivelin A, Rosenberg N, Peretz H, Amit Y, Kornbrot N, Seligsohn U. Improved Method for Genotyping Apolipoprotein E Polymorphisms by a PCR-Based Assay Simultaneously Utilizing Two Distinct Restriction Enzymes. *Clinical Chemistry.* 1997;43(9):1657-1659.
- [36] Ahn J, Choi W, Kim S, Ha T. Anti-diabetic effect of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad) on Streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Science and Biotechnology.* 2011; 20(1):251-254.
- [37] Figueroa A, Sanchez-Gonzalez MA, Perkins-Veazie PM, Arjmandi BH. Effects of watermelon supplementation on aortic blood pressure and wave reflection in individuals with prehypertension: a pilot study. *Am J Hypertens* 2011;24: 40–4.
- [38] El-Razek FHA, Sadeek EA. Dietary Supplementation with Watermelon (*Citrullus lanatus*) Juice Enhances Arginine Availability and Modifies Hyperglycemia, Hyperlipidemia and Oxidative Stress in Diabetic Rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.* 2011;5 (6):1284-1295.
- [39] Collins JK, Arjmandi BH, Claypool PL, Perkins-Veazie P, Baker RA, Clevidence BA. Lycopene from two food sources does not affect antioxidant or cholesterol status of middle-aged adults. *Nutrition Journal.* 2004; 3 (15):1-17.
- [40] Sipahi T, Budak M, Şen S, Ay A, Şener S. Association between ACE gene Insertion (I) /Deletion (D) polymorphism and primary hypertension in Turkish patients of Trakya region. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 2006;20(2):104-108.
- [41] Yilmaz H, Agachan B, Isbir T, Akoglu E. Is there additional effect of MTHFR C677T mutation on lipid abnormalities in renal allograft recipients? *Transplant Proc.* 2003; 5(4):1390-2.

- [42] Chmurzynska A, Malinowska AM, Twardowska-Rajewska J, Gawecki J. Elderly women: Homocysteine reduction by short-term folic acid supplementation resulting in increased glucose concentrations and affecting lipid metabolism (C677T MTHFR polymorphism). *Nutrition*. 2013;5(12):371-1.
- [43] Miranda-Vilela AL, Lordelo GS, Akimoto AK, Alves PC, Pereira LC, Klautau-Guimarães Mde N, Grisolia CK. Genetic polymorphisms influence runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi oil (*Caryocar brasiliense* Camb.): a before-after study. *Genes Nutr*. 2011;6: 369–395.
- [44] Maitland-Van Der Zee A, Lynch A, Boerwinkle E, Arnett DK, Davis BR, Leidencker-Foster C, Ford CE, Eckfeldt JH. Interactions between the SNPs in the homocysteine pathway (MTHFR 677C>T, MTHFR 1298 A>C and CBSins) and the efficacy of HMG-CoA reductase inhibitors in preventing cardiovascular disease in high-risk hypertensives: The GenHAT Study. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18(8):651–656.
- [45] Greenow K, Pearce NJ, Ramji DP. The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis. *Journal of molecular medicine*. 2005;83:329-42.
- [46] Tarazona-d'íaz MP, Viegas J, Moldao-Martinsc M, Aguayoa, E. Bioactive compounds from flesh and by-product of fresh-cut watermelon cultivars. *J Sci Food Agric*. 2011; 91:805–812.
- [47] Fu WJ, Haynes TE, Kohli R, Hu J, Shi W, Spencer TE, Carroll RJ, Meininger CJ, Wu G. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr*. 2005;135: 714 –21.

TABELA DO ARTIGO

Tabela 1 – Caracterização do perfil lipídico dos grupos de genótipos da MTHFR C677T

Perfil Lipídico	Genótipo MTHFR C677T		<i>p</i> valor
	677CC (n=20)	677CT + 677TT (n=23)	
CT (mg/dL)	227,15 ± 45,69	230,52 ± 46,61	0,812
HDL (mg/dL)	41,95 ± 13,09	41,78 ± 7,79	0,609
LDL (mg/dL)	149,73 ± 39,57	160,37 ± 41,32	0,464
VLDL (mg/dL)	32,30 ± 12,61	35,20 ± 11,05	0,467
TG (mg/dL)	205,37 ± 132,13	235,48 ± 164,70	0,397

CT: Colesterol Total, HDL: HDL colesterol, LDL: LDL colesterol, VLDL: VLDL colesterol, TG: Triglicerídeo. Dados são representados como média e desvio padrão da média. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os dois genótipos da MTHFR C677T para o perfil lipídico, para uso do teste T não pareado ou seu equivalente não paramétrico Mann Whitney. $p < 0,05$.

FIGURAS DO ARTIGO

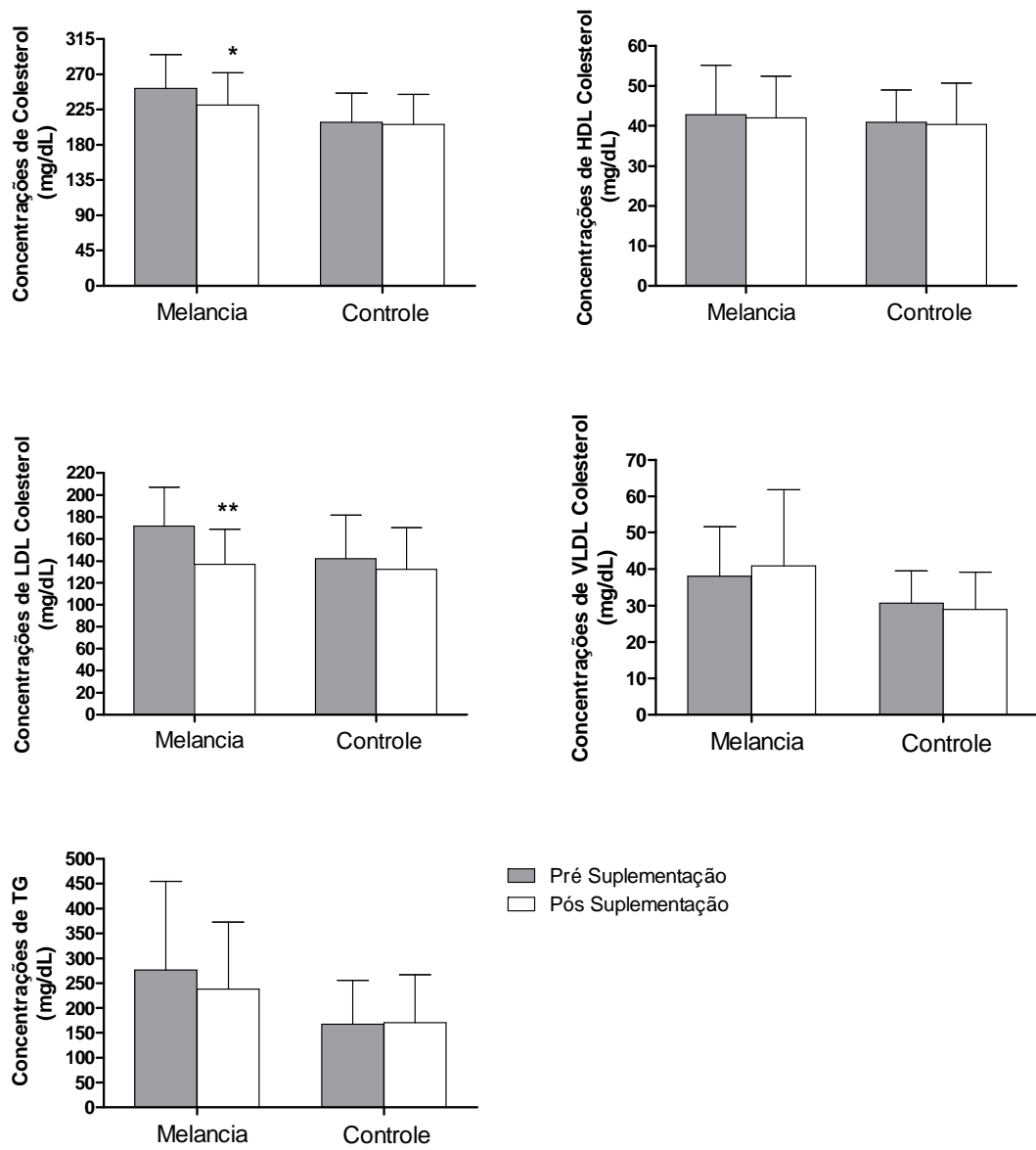


Fig. 1. A suplementação com extrato de melancia reduziu as concentrações de colesterol total e LDL-c. As barras representam média e \pm desvio padrão da média. * diferença estatística intragrupo entre o momento pré e pós-intervenção no teste T pareado. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$.

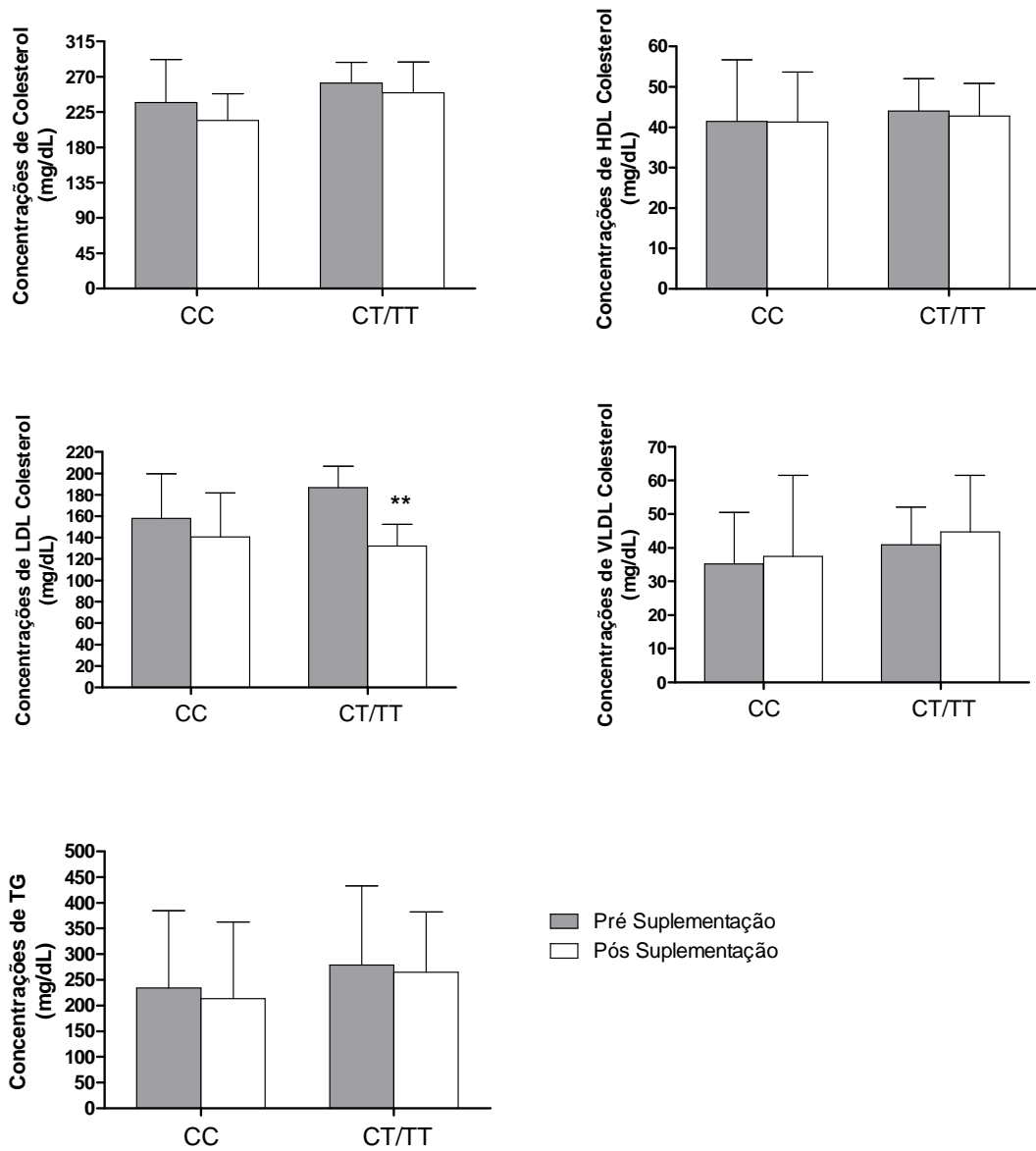


Fig. 2. A presença do alelo T MTHFR C677T influenciou positivamente a redução dos níveis plasmáticos de LDL-c após suplementação com extrato de melancia. As barras representam média e \pm desvio padrão da média. ** diferença estatística intragrupo entre o momento pré e pós-intervenção para $p < 0,01$ no teste T pareado.

OUTROS RESULTADOS

1. ATIVIDADE NERVOSA AUTONÔMICA CARDÍACA

Os grupos eram semelhantes quanto à atividade simpática, parassimpática e balanço da atividade simpática e parassimpática, não havendo diferenças estatísticas no momento basal ou após suplementação no grupo experimental e controle. O grupo experimental e controle no tempo pré e pós-suplementação apresentaram uma atividade simpática estimulada.

Tabela 1 – Atividade Nervosa Autonômica Cardíaca após suplementação com extrato de melancia

ANAC	Melancia		Controle	
	Pré	Pós	Pré	Pós
LF (ms ²)	363,94 ± 372,6	311,30 ± 235,4	396,75 ± 311,47	344,53 ± 287,29
HF (ms ²)	221,82 ± 288,2	293,50 ± 365,1	182,29 ± 163,06	127,05 ± 125,75
LF/HF	3.724 ± 4.996	2.487 ± 2.259	3.813 ± 2.772	4.817 ± 3.966

ANAC: Atividade Nervosa Autonômica Cardíaca, LF: atividade sistema nervoso simpático, HF: atividade sistema nervoso parassimpático, LF/HF: Balanço autonômico simpático parassimpático. Dados são média e desvio padrão da média. Teste T pareado e teste T independente. * p<0,05.

2. PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA E FREQUÊNCIA CARDÍACA

Os sujeitos do grupo experimental e controle apresentaram valores de PAS média compatíveis com estágio de pré-hipertensão (Tabela 2). Após intervenção com o extrato de melancia os níveis de PAS e PAD reduziram significativamente no grupo experimental. No grupo controle não houve alterações da pressão arterial sistêmica e frequência cardíaca após a intervenção dietética.

Tabela 2. Valores da Pressão Arterial Sistêmica no grupo experimental após suplementação com extrato de melancia

Variáveis	Melancia		Controle	
	Pré	Pós	Pré	Pós
PAS (mmHg)	136,5 ± 17,8	124,2 ± 18,7 **	132,2 ± 9,4	127,1 ± 13,0
PAD (mmHg)	77,9 ± 10,8	71,4 ± 10,5 **	75,0 ± 13,7	75,7 ± 8,6
FC	75,81 ± 10,77	73,9 ± 10,9	76,7 ± 6,6	78,5 ± 8,2

PAS: Pressão Arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, FC: Frequência Cardíaca. Dados são média e desvio padrão da média. ** indica diferença estatística intragrupo entre os momento pré e pós intervenção para p<0,01 no teste T pareado

3. CONSUMO ALIMENTAR

Tabela 3. Consumo Alimentar de sujeitos dislipidêmicos no tempo basal

VARIÁVEIS	EXPERIMENTAL	CONTROLE
Carboidrato (g/d)	382,2 ± 110,6	330,7 ± 73,7
Proteína (g/d)	98,2 ± 22,2	91,5 ± 21,5
Lipídio (g/d)	91,38 ± 51,6	63,7 ± 15,1
Colesterol Total (mg/d)	211,8 ± 99,5	291,4 ± 221,6
Fibras (g/d)	18,6 ± 7,7	16,4 ± 4,4
VCT (Kcal/d)	2744,4 ± 946,9	2262,64 ± 385,5

VCT: Valor Calórico Total. Dados são descritos como média e desvio padrão da média.