

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Graduação em Nutrição**

Adriana Conzatti

**Evidências Clínicas e Moleculares do Consumo de Brócolis,  
Glicorafanina e Sulforafano em Humanos**

Porto Alegre, 2013

Adriana Conzatti

**Evidências Clínicas e Moleculares do Consumo de Brócolis,  
Glicorafanina e Sulforafano em Humanos**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carolina Guerini de Souza

Porto Alegre, 2013

Adriana Conzatti

**Evidências Clínicas e Moleculares do Consumo de Brócolis, Glicorafanina e Sulforafano em Humanos**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

**Porto Alegre, \_\_\_\_ de dezembro de 2013**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “**Evidências Clínicas e Moleculares do Consumo de Brócolis, Glicorafanina e Sulforafano em Humanos**” elaborado por Adriana Conzatti, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Comissão Examinadora

---

Prof<sup>a</sup> Dra<sup>a</sup> Martine Elisabeth Kienzle Hagen - UFRGS

---

Prof<sup>a</sup> Dra<sup>a</sup> Zilda Elisabeth de Albuquerque Santos - UFRGS

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carolina Guerini de Souza – UFRGS – Orientadora

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Dra. Carolina Guerini de Souza, pela orientação e aprendizado proporcionado, pela paciência e principalmente pela confiança depositada em mim.

À Fernanda Carolina Fróes, pela imprescindível contribuição na realização deste trabalho e pela amizade incondicional.

Aos meus pais, Nilson Conzatti e Lourdes Agostini Conzatti, pela dedicação incansável para minha formação e pelo exemplo de vida, trabalho e honestidade.

Aos meus padrinhos, Maristela Agostini e Pedro Magagnin, pela generosidade e por terem tornado possível a minha graduação.

Ao meu irmão, André Conzatti, por ser minha referência desde que me conheço por gente.

Ao Bruno da Rocha Berger, pelo incentivo, paciência e suporte fundamentais neste período.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Espécies Ativas de Oxigênio, em especial ao Prof. Dr. Alex Sander da Rosa Araujo, pela oportunidade de aprendizado e bons momentos de trabalho compartilhados nos últimos 3 anos.

As amigas da faculdade e as de longa data, pelos bons e principalmente pelos maus momentos divididos.

A Leo Henryk Sternbach, Daniel Peter, Rodolphe Lindt e Joseph Storrs Fry pelas suas relevantes contribuições para o mundo.

## RESUMO

Estudos epidemiológicos recentes demonstram uma correlação inversa entre o consumo de vegetais crucíferos, principalmente de brócolis, e o risco de muitas doenças crônicas, como as cardiovasculares e diferentes tipos de câncer. Este efeito protetor é atribuído aos glicosinolatos e isotiocianatos, fitoquímicos presentes nesses vegetais, sendo atualmente os mais estudados e com maiores evidências de efeito a glicorafanina (GRR) e o sulforafano (SFN).

Devido ao grande número de estudos epidemiológicos, *in vitro*, em animais e estudos de coorte que apontaram benefícios do consumo de brócolis, GRR ou SFN para saúde, e a inexistência de estudos sintetizando as evidências em humanos, o objetivo deste trabalho foi revisar de forma sistemática estudos de intervenção, com foco em parâmetros clínicos e moleculares. Foram incluídos estudos do tipo ensaio clínico randomizado (ECR), publicados em inglês ou português, de 2003 a 2013, sobre os efeitos do consumo de brócolis, GRR ou SFN em humanos, sendo a pesquisa realizada nas bases eletrônicas de dados Pubmed e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). Após o processo de seleção e análise, realizados de acordo com as recomendações do Manual Cochrane, foram incluídos neste trabalho 17 estudos, com amostras, intervenções, tempo de seguimento e desfechos muito heterogêneos. Os principais e mais consistentes achados referem-se à melhora da glicemia, do perfil lipídico e do estado redox celular. Evidências menos sólidas indicam a diminuição da inflamação crônica de baixa intensidade, diminuição na colonização por *Helicobacter pylori* e maior proteção contra o câncer, por inibição de vias de tumorigênese ou por excreção de metabólitos potencialmente cancerígenos. Nem todos os estudos determinaram a quantidade de GRR ou SFN presente na intervenção realizada, não havendo consenso sobre dose ou concentração recomendada. Dessa forma, concluiu-se que há evidências de potenciais benefícios do consumo de brócolis, GRR e SFN sobre parâmetros clínicos e moleculares em humanos, especialmente glicemia de jejum, perfil lipídico e estresse oxidativo, porém estas evidências ainda são limitadas.

**Palavras chave: brócolis, glicorafanina, sulforafano**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da hidrólise da glicorafanina mediada pela enzima mirosinase .....	10
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

g – Gramas

GLS – Glicosinolatos

GRR – Glicorafanina

GST – Glutathiona-S transferase

HO-1 – Heme-oxigenase-1

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

mg – Miligramas

NQO1 – NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1

Nrf2 – Fator nuclear eritróide tipo 2

SFN – Sulforafano

μmol – Micromol

γGCL – γ-glutamilcisteina ligase

## SUMÁRIO

<b>1 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>8</b>
1.1 VEGETAIS CRUCÍFEROS.....	8
1.2 GLICOSINOLATOS .....	9
1.3 EFEITOS CONTRA O CÂNCER.....	11
1.4 MECANISMOS DE AÇÃO E OUTROS EFEITOS NA SAÚDE .....	12
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>15</b>
<b>3 OBJETIVO .....</b>	<b>16</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>17</b>
<b>4 ARTIGO DE REVISÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>ANEXO – Normas de Publicação da Revista Arquivos Brasileiros de Endocrinologia &amp; Metabologia.....</b>	<b>51</b>



## 1 REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1 VEGETAIS CRUCÍFEROS

Estudos epidemiológicos recentes demonstram uma correlação inversa entre o consumo de vegetais crucíferos e o risco de incidência de muitas doenças crônicas, como as cardiovasculares e diferentes tipos de câncer (CORNELIS; EL-SOHEMY; CAMPOS, 2007; FIMOIGNARI; HRELIA, 2007; WU et al, 2013; LIU et al, 2013; LIU; LV, 2013).

Existem cerca de 300 gêneros e 3000 espécies de vegetais crucíferos distribuídos pelo mundo todo, principalmente em regiões temperadas. Destes, o gênero *Brassica* (famílias *Brassicaceae* e *Cruciferae*) inclui um número importante de vegetais, destacando-se o brócolis, repolho, couve-flor, couve de Bruxelas, couve, couve-rábano, nabo e mostarda, que são cultivados para uso de suas folhas, sua inflorescência comestível, seus caules carnudos, suas raízes, ou pelos óleos que são extraídos das sementes (BUCK, 1956).

Dentre estes vegetais, um dos mais populares e mais consumidos no mundo é o brócolis. Acredita-se que ele tenha tido origem na área leste do Mediterrâneo e tenha sido introduzido na Europa, especialmente na Itália, durante o século 18 (GRAY, 1982). Atualmente, o brócolis e demais variedades de vegetais crucíferos são cultivados e consumidos em todo o mundo como parte da dieta habitual. (MANCHALI; MURTHY; PATIL, 2012).

Tanto o brócolis, quanto os demais vegetais crucíferos, são uma boa fonte compostos fitoquímicos potencialmente protetores, incluindo compostos fenólicos, carotenóides, selênio e vitaminas. No entanto, seus potenciais benefícios como anticarcinogênicos e antioxidantes vem sendo atribuído ao seu conteúdo relativamente alto de glicosinolatos (VERHOEVEN et al., 1997; LATTE; APPEL; LAMPEN, 2011).

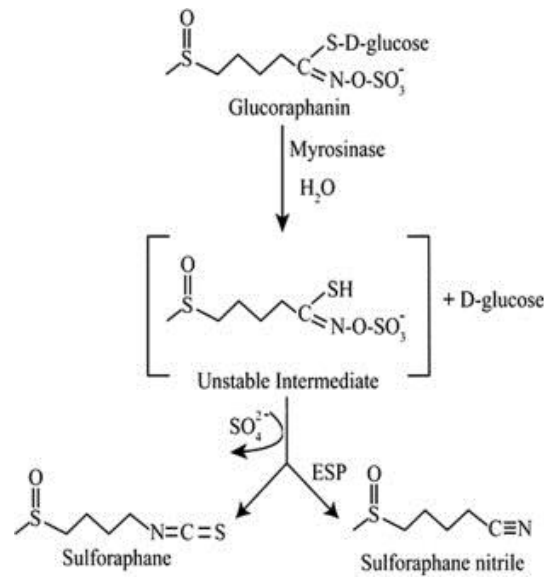
## 1.2 GLICOSINOLATOS

Os glicosinolatos (GLS) são tioglicosídeos que contêm um grupamento ciano e um grupamento sulfato, compreendendo um grupo de cerca de 120 compostos quimicamente estáveis que podem ser encontrados em pelo menos 16 famílias de vegetais (FAHEY; ZALCMANN; TALALAY, 2001).

Nas plantas, a função dos GLS está relacionada com a defesa contra agentes patogênicos e aclimatação a altas temperaturas (MARTINÉZ-BALLESTA; MORENO; CARVAJAL, 2013). Há uma grande variedade de GLS presentes nos vegetais crucíferos, sendo que os níveis e os perfis de compostos dependem da espécie, idade, órgão da planta, clima, tipo de solo, cultivo e práticas agrônômicas (BJÖRKMAN et al., 2011).

Quando os tecidos das plantas são processados pelo corte, cozimento, congelamento ou pela própria mastigação, os GLS são expostos à ação da enzima mirosinase, presente na própria planta, que os hidrolisa a isotiocianatos, os quais são os compostos realmente bioativos (BONES; ROSSITER, 2006). Além disso, a flora intestinal humana também tem capacidade de converter GLS em isotiocianatos com atividade biológica, pois possui uma isoforma da enzima mirosinase (FAHEY et al, 2012). Os isotiocianatos mais estudados e com maiores evidências de efeito na atualidade são, respectivamente, a glicorafanina (GRR) e o sulforafano (SFN) (ARES; NOZAL; BERNAL, 2013).

A GRR é o GLS mais abundante no brócolis, correspondendo a 90% do conteúdo de GLS em algumas espécies (CIESLIK et al, 2007; KUSHAD et al, 1999). Quando hidrolisada pela enzima mirosinase, provoca a liberação de glicose e de um intermediário instável que se reorganiza para formar o SFN e/ou SFN nitrilo, como ilustrado na figura 1 (PÉREZ et al., 2014).



**Figura 1 – Representação esquemática da hidrólise da glicorafanina mediada pela enzima mirosinase.**

Fonte: PÉREZ et al., 2014

Fatores como pH básico e temperaturas altas favorecem a formação de SFN a partir da GRR, enquanto que pH ácido, a presença de íons ferrosos e de proteínas *epithiospecifier* (cofatores não catalíticos da mirosinase) aumentam a formação nitrílica de SFN, que não tem potencial ativo (FENWICK; HEANEY, 1983; WILLIAMS et al, 2008). Porém, o principal determinante da produção de isotiocianatos a partir dos seus GLS precursores é a maneira como o vegetal é cozido. Neste sentido, o consumo de vegetais levemente cozidos em relação aos extensivamente cozidos ou crus é preferível. Ainda, a composição da refeição como um todo não parece alterar a biodisponibilidade do SFN (RUNGAPAMESTRY et al, 2007).

O brócolis é reconhecido como a melhor fonte de SFN até agora. Uma porção pode conter, dependendo da estação e tipo, até 60 mg do precursor GRR. Em média, 500 g de brócolis padrão oferece 55 mg de GRR (HERR; BÜCHLER, 2010). Muito mais eficiente pode ser a ingestão deste precursor por brotos de brócolis de 3 dias de idade, que contêm uma concentração cerca de 10-100 vezes maior do que uma cabeça de brócolis madura. Assim, uma colher de chá de brotos de brócolis pode conter tanta GRR quanto uma cabeça de brócolis (FAHEY; ZHANG; TALALAY, 1997).

Ao calcular a quantidade de SFN obtida pela alimentação, deve-se considerar que apenas cerca de 20% da GRR é convertida em SFN biodisponível no corpo. Esta conversão pode ser aumentada pela adequada mastigação, a qual assegura a liberação da mirosinase, e evitando-se o cozimento através da ebulição, o que inativa esta enzima (HERR; BÜCHLER, 2010; PÉREZ et al, 2014). A condição ideal de cozimento que maximize o conteúdo de SFN no brócolis foi determinada por Perez e colaboradores (2014) e corresponde à imersão em água a 57 °C por 13 min. Nesta condição, o teor mínimo de GLS e GRR foram observados e a mirosinase mostrou a sua máxima atividade. O teor máximo de SFN alcançado foi de 3,98 µmol/g de massa seca, representando um aumento de 237% no teor de SFN em comparação com o vegetal fresco (PÉREZ et al, 2014).

Uma vez formado, o SFN está disponível para absorção no intestino humano e é então metabolizado pela via do ácido mercaptúrico, na produção de vários metabólitos (WATSON et al, 2013).

### 1.3 EFEITOS CONTRA O CÂNCER

Nos últimos 5 anos, o crescente interesse na extração, isolamento, caracterização e determinação da atividade biológica de compostos do brócolis foi demonstrado pelo grande número de trabalhos publicados, sendo a maioria dos estudos dedicados a análise de GLS e compostos relacionados, especialmente o SFN, sendo o foco inicial seu efeito anticarcinogênico. (ARES; NOZAL; BERNAL, 2013).

Em estudos animais e de cultura de células, o SFN demonstrou ser capaz de prevenir, retardar ou reverter lesões pré-neoplásicas, melhorar a sobrevivência, bem como de atuar sobre as células cancerosas como agente terapêutico (TANG et al, 2010; FIMOIGNARI; HRELIA, 2007). Entretanto, os estudos epidemiológicos fornecem evidências modestas da proteção contra alguns tipos de câncer pelo consumo de vegetais crucíferos.

Em relação ao câncer de pulmão, em uma revisão sistemática de Lam e colaboradores (2009) que incluiu trinta estudos publicados até dezembro de 2007, é sugerido que o consumo de vegetais crucíferos pode estar modestamente associado

com menor risco de câncer de pulmão. Outra revisão sistemática, publicada pelo *World Cancer Research Fund* em 2006, mostrou uma associação inversa entre vegetais crucíferos e câncer de cólon, e mais recentemente uma meta-análise publicada por Wu e colaboradores, 2012 corroborou com esses achados (BAKKER et al, 2006). Já em relação ao câncer de mama, outra revisão publicada pelo *World Cancer Research Fund* em 2005, não encontrou qualquer associação entre o consumo de vegetais crucíferos e uma diminuição de risco para este de câncer (AGNOLI et al, 2005). Contudo, em um trabalho mais recente, Liu e Lv (2013) demonstraram que o consumo de vegetais crucíferos foi associado com um risco reduzido de câncer de mama na pós-menopausa, porém sem redução significativa do risco em mulheres na pré-menopausa.

Sobre o câncer de próstata, a revisão sistemática da literatura publicada pelo *World Cancer Research Fund* (2006) encontrou pouca evidência de associação a partir dos estudos de coorte; no entanto, os resultados obtidos a partir de estudos de caso-controle mostraram um efeito protetor (BEKKERING et al, 2006) e em uma revisão mais atual, Liu e colaboradores (2012) encontraram resultados semelhantes.

Esses resultados ainda pouco claros reforçam a necessidade de mais estudos, com maior tamanho da amostra e vieses bem controlados, a fim de confirmar os efeitos do consumo destes vegetais em relação ao risco de câncer e em outras doenças.

#### 1.4 MECANISMOS DE AÇÃO E OUTROS EFEITOS NA SAÚDE

O SFN pode interagir com muitos alvos moleculares, no entanto, seu mecanismo de ação mais bem descrito é pela via do Nrf2 (KENSLETER et al, 2013). O Nrf2 é um fator de transcrição central na regulação do estado redox celular. Em células não estimuladas, é reprimido pela proteína Keap1, que provoca a ubiquitinação e posterior degradação do Nrf2. O SFN pode interagir com a proteína Keap1, perturbando a interação Nrf2-Keap1 e rompendo-a, permitindo a ativação e translocação nuclear do Nrf2. No núcleo, o Nrf2 se liga ao elemento de resposta antioxidante (ARE), região do DNA promotora de genes que codificam enzimas antioxidantes, incluindo NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1 (NQO1), heme-

oxigenase-1 (HO-1),  $\gamma$ -glutamylcisteína ligase ( $\gamma$ GCL) e tioredoxina (VOMHOF-DEKREY; PICKLO, 2012).

A transcrição aumentada de genes-alvo do Nrf2 provoca uma forte resposta citoprotetora, aumentando a resistência à carcinogênese e a outras doenças que tenham o estresse oxidativo envolvido na patogênese (KENSLER et al, 2013). Além disso, o SFN por meio da ativação do Nrf2 aumenta a atividade de enzimas de fase II como a glutathione-S transferase (GST), envolvidas na eliminação de compostos xenobióticos (GUERRERO-BELTRÁN et al, 2012). Sugere-se que a indução de enzimas de fase II pode ser um dos principais mecanismos pelo quais os vegetais crucíferos resultam em benefícios à saúde (MANCHALI; MURTHY; PATIL, 2012).

A utilização de compostos extraídos de vegetais crucíferos vem sendo estudada em numerosos estudos *in vitro*, *in vivo*, pré-clínicos e de investigação clínica, apresentando resultados relevantes em doenças como o diabetes, aterosclerose e doenças neurodegenerativas (BAHADORAN; MIRMIRAN, AZIZI, 2013; EVANS, 2011; TARROZZI et al, 2013)

O diabetes tipo 2 é caracterizado por um conjunto de distúrbios metabólicos acompanhados pela inflamação subclínica e estresse oxidativo, que conduzem a resistência insulínica e complicações oculares, vasculares e renais a longo prazo (SCHAFFER; JONG; MOZAFFARI, 2012). Com base em estudos *in vitro*, em modelos animais e alguns ensaios clínicos, tem sido proposto que, pela sua capacidade antioxidante pela ativação do Nrf2, modulação de vias inflamatórias pela atenuação do fator nuclear Kappa-B e indução de alguns receptores ativados por proliferadores de peroxissomo, que contribuem para o metabolismo lipídico e homeostase da glicose, o SFN poderia prevenir a nefropatia e complicações vasculares decorrentes do diabetes. Assim, este fitoquímico tem sido considerado como um possível tratamento complementar para o controle do diabetes e prevenção de suas complicações em longo prazo, embora ainda não estejam completamente elucidados os mecanismos envolvidos nesta regulação (BAHADORAN; MIRMIRAN, AZIZI, 2013).

Neste mesmo sentido, sabe-se que a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) promove a aterosclerose, aumentando a inflamação vascular e formação de células espumosas, e desta forma, dietas que estimulam antioxidantes endógenos podem proteger contra a aterosclerose. A utilização do SFN, por meio da ingestão de crucíferos, pode ser uma alternativa, visto o potencial deste na indução

de enzimas antioxidantes pela ativação do Nrf2. Embora estudos de células em cultura e em animais experimentais demonstraram que o SFN pode suprimir a inflamação em células vasculares, os potenciais efeitos benéficos do SFN em humanos ainda não estão claros (EVANS, 2011).

A indução de enzimas antioxidantes por meio da ativação da via Nrf2 pelo SFN também pode ser benéfica nas doenças neurodegenerativas e, recentemente, o Nrf2 passou a ser considerado como alvo terapêutico neste tipo de doença. Pelo seu potencial de penetrar na barreira hemato encefálica, o SFN parece ser um composto promissor na prevenção da neurodegeneração (TARROZZI et al, 2013).

Visto as diversas atividades biológicas do SFN, há um grande campo para sua aplicação, porém seus efeitos precisam ser mais explorados principalmente em humanos. Espera-se que estudos futuros concentrem-se também na avaliação dos efeitos adversos da ingestão de altas doses desses compostos, do consumo de produtos fortificados, suplementos em cápsulas ou formas não convencionais de consumo, como por exemplo, do vegetal cru.

## 2 JUSTIFICATIVA

Estudos epidemiológicos, in vitro, em animais, ensaios clínicos e estudos de coorte apontam os benefícios do consumo de vegetais crucíferos, brócolis ou do uso de GRR ou SFN isolados em diversas doenças, no entanto, as evidências em humanos ainda são escassas e não há estudos sintetizando estes dados de intervenção até o momento.



### **3 OBJETIVO**

Revisar de forma sistemática os resultados atuais existentes na literatura sobre os efeitos do consumo de brócolis, GRR ou SFN em estudos de intervenção em humanos, com foco em parâmetros clínicos e moleculares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNOLI, C. et al. The associations between food, nutrition and physical activity and the risk of breast cancer and underlying mechanisms. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective: World Cancer Research Fund; 2005, disponível em <http://www.dietandcancerreport.org/>, acesso realizado em 05 de novembro de 2013, às 20:00 horas.

ARES, A. M.; NOZAL, M. J.; BERNAL, J. Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. **J Chromatogr A**. v. 1313, p. 78-95, 2013

BAHADORAN, Z.; MIRMIRAN, P.; AZIZI, F. Potential Efficacy of Broccoli Sprouts as a Unique Supplement for Management of Type 2 Diabetes and Its Complications. **J Med Food**. v. 16, n. 5, p. 375–382, 2013

BAKKER, E-J. et al. The associations between food, nutrition and physical activity and the risk of colorectal cancer and underlying mechanisms. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective: World Cancer Research Fund; 2006, disponível em <http://www.dietandcancerreport.org/>, acesso realizado em 05 de novembro de 2013, às 20:00 horas.

BEKKERING, T. et al. The associations between food, nutrition and physical activity and the risk of prostate cancer and underlying mechanisms. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective: World Cancer Research Fund; 2006, disponível em <http://www.dietandcancerreport.org/>, acesso realizado em 05 de novembro de 2013, às 20:00 horas.

BJÖRKMAN, M. et al. Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health – Influences of climate, environment and agronomic practice. **Phytochemistry**. v. 72, n.7, p. 538–556, 2011

BONES, A. M.; ROSSITER, J. T. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. **Phytochemistry**. v. 67, n. 11, p. 1053–1067, 2006

BUCK, P. A. Origin and taxonomy of broccoli. **Economic Botany**. v. 10, n. 3, p. 250–253, 1956

CIESLIK, E. et al. Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables. **Food Chem**. v. 105, n. 3, p. 976–981, 2007

CORNELIS, M. C.; EL-SOHEMY, A.; CAMPOS, H. GSTT1 genotype modifies the association between cruciferous vegetable intake and the risk of myocardial infarction. **Am J Clin Nutr.** v. 86, n. 3, p. 752–758, 2007

EVANS, P. C. The influence of sulforaphane on vascular health and its relevance to nutritional approaches to prevent cardiovascular disease. **EPMA J.** v. 2, n. 1, p. 9–14, 2011

FAHEY, J. W. et al. Protection of humans by plant glucosinolates: efficiency of conversion of glucosinolates to isothiocyanates by the gastrointestinal microflora. **Cancer Prev. Res.** v. 5, n. 4, p. 603-611, 2012

FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T.; TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. **Phytochemistry.** v. 56, n. 1, p. 5-51, 2001

FAHEY, J. W.; ZHANG, Y.; TALALAY, P. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. **Proc Natl Acad Sci USA.** v. 94, n. 19, p. 10367–10372, 1997

FENWICK, G. R.; HEANEY, R. K. Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, food, and feeding stuffs. **Food Chem.** v. 11, n. 4, p. 249-271, 1983

FIMOGNARI, C.; HRELIA, P. Sulforaphane as a promising molecule for fighting cancer. **Mutat Res.** v. 635, n. 2-3, p. 90–104, 2007

GRAY, A. R. Taxonomy and evolution of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). **Economic Botany.** vol. 36, n. 4, p. 397-410, 1982

GUERRERO-BELTRÁN, C. E. et al. Protective effect of sulforaphane against oxidative stress: Recent advances. **Exp Toxicol Pathol.** v. 64, n. 5, p. 503– 508, 2012

HERR, I.; BÜCHLER, M. W. Dietary constituents of broccoli and other cruciferous vegetables: Implications for prevention and therapy of cancer. **Cancer Treat Rev.** v. 36, n. 5, p. 377–383, 2010

KENSLER, T. W. et al. Keap1–Nrf2 Signaling: A Target for Cancer Prevention by

Sulforaphane. **Top Curr Chem.** v. 329, p. 163–177, 2013

KUSHAD, M. M. et al. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica oleracea*. **J Agric Food Chem.** v. 47, n. 4, p. 1541-1548, 1999

LAM, T. K. et al. Cruciferous Vegetable Consumption and Lung Cancer Risk: A Systematic Review. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v. 18, n. 1, p. 184-195, 2009

LATTÉ, K. P.; APPEL, K-E.; LAMPEN, A. Health benefits and possible risks of broccoli – An overview. **Food Chem Toxicol.** v. 49, n. 12, p. 3287–3309, 2011

LIU, B. et al. Cruciferous vegetables intake and risk of prostate cancer: A meta-analysis. **Int J Urol.** v. 19, n. 2, p. 134–141, 2012

LIU, X.; LV, K. Cruciferous vegetables intake is inversely associated with risk of breast cancer: A meta-analysis. **Breast.** v. 22, n. 3, p. 309-313, 2013

MANCHALI, S.; MURTHY, K. N. C.; PATIL, B. S. Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. **J Funct Foods.** v. 4, n. 1, p. 94-106, 2012

MARTÍNEZ-BALLESTA, M. D. C.; MORENO, D. A.; CARVAJAL, M. The Physiological Importance of Glucosinolates on Plant Response to Abiotic Stress in Brassica. **Int. J. Mol. Sci.** v. 14, n. 6, p. 11607-11625, 2013

PÉREZ, C. et al. Optimization of a blanching step to maximize sulforaphane synthesis in broccoli florets. **Food Chem.** v. 145, p. 264–271, 2014

RUNGAPAMESTRY, V. et al. Effect of meal composition and cooking duration on the fate of sulforaphane following consumption of broccoli by healthy human subjects. **Br J Nutr.** v. 97, n. 4, p. 644–652, 2007

SCHAFFER, S. W.; JONG, C. J.; MOZAFFARI, M. Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: Unifying hypothesis of diabetes revisited. **Vascul Pharmacol.** v. 57, n. 5-6, p. 139–149, 2012

TANG, L. et al. Intake of Cruciferous Vegetables Modifies Bladder Cancer Survival. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v. 19, n. 7, p. 1806-1811, 2010

TARROZZI, A. et al. Sulforaphane as a Potential Protective Phytochemical against Neurodegenerative Diseases. **Oxid Med Cell Longev.** v. 2013, p. 1-10, 2013

VERHOEVEN, D. T. et al. A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. **Chem Biol Interact.** v. 103, n. 2, p. 79-129, 1997

VOMHOF-DEKREY, E. E.; PICKLO, M. J. SR. The Nrf2-antioxidant response element pathway: a target for regulating energy metabolism. **J Nutr Biochem.** v. 23, n. 10, p. 1201–1206, 2012

WATSON, G. W. et al. Phytochemicals from Cruciferous Vegetables, Epigenetics, and Prostate Cancer Prevention. **AAPS J.** v. 15, n. 4, p. 951-961, 2013

WILLIAMS, D. J. et al. Epithiospecifier protein activity in broccoli: the link between terminal alkenyl glucosinolates and sulphoraphane nitrile. **Phytochemistry.** v. 69, n. 16, p. 2765–2773, 2008

WU, Q. J. et al. Cruciferous vegetables intake and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of observational studies. **Ann Oncol.** v. 24, n. 4, p. 1079–1087, 2013

## 4 ARTIGO DE REVISÃO

### 1. Página de Título

*Evidências Clínicas e Moleculares do Consumo de Brócolis, Glicorafanina e Sulforafano em Humanos.*

Autores: Adriana Conzatti<sup>1</sup>, Fernanda Carolina Telles da Silva Fróes<sup>2</sup>, Carolina Guerini de Souza<sup>1,3\*</sup>

1. Curso de Graduação em Nutrição, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
2. Bacharel em Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
3. Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

\*Endereço para correspondência:

Faculdade de Medicina – Departamento de Medicina Interna  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Rua Ramiro Barcelos 2400 - 4º andar, Santa Cecília  
CEP: 90035-003  
Porto Alegre - Rio Grande do Sul  
Fone: 51 3308-5122  
E-mail: [carolquerini@hotmail.com](mailto:carolquerini@hotmail.com)

Título abreviado: Brócolis, Glicorafanina e Sulforafano

Palavras-chave: *Brassica; Sulforafan; Glucosinolates.*

Número de palavras: 4120

Tipo do manuscrito: Revisão Sistemática

## 2. Resumo

**Introdução:** O sulforafano (SFN) é um isotiocianato derivado da glicorafanina (GRR), encontrada em grande quantidade nos vegetais do gênero Brassica, especialmente no brócolis. Durante o processamento mecânico ou durante a digestão, a GRR é hidrolisada pela enzima mirosinase, presente no próprio vegetal e na flora intestinal. Muitos estudos em culturas de células e modelos animais indicam benefícios do SFN em diversas doenças. Esta revisão buscou investigar quais as evidências do uso de brócolis, GRR e SFN em humanos.

**Metodologia:** Foi realizada uma busca nas bases de dados PubMed e Biblioteca Virtual em Saúde, por dois pesquisadores independentes, utilizando os descritores “broccoli” ou “glucoraphanin” ou “sulforaphane” que deviam constar no título ou resumo dos trabalhos. Foram incluídos ensaios clínicos randomizados realizados em humanos, publicados em inglês e português entre 2003 e 2013, e considerados desfechos de interesse parâmetros clínicos e moleculares de dano celular.

**Resultados:** 17 estudos obedeceram aos critérios de inclusão. O tipo de intervenção predominante foram brotos de brócolis, utilizados em 11 estudos. Os outros 6 estudos utilizaram o brócolis. Os resultados mais consistentes encontrados são em relação aos parâmetros clínicos glicemia e perfil lipídico e aos parâmetros moleculares de estresse oxidativo, apontando melhora destes após intervenção. Evidências menos sólidas puderam ser encontradas em relação à diminuição da inflamação, da colonização por *Helicobacter pylori* e proteção contra o câncer.

**Conclusão:** As evidências do uso de brócolis, GRR e SFN em humanos são limitadas, sendo necessários mais estudos de intervenção para avaliar os desfechos de forma mais consistente e produzir conclusões com maior embasamento.

### 3. Texto Principal

#### Introdução

Evidências epidemiológicas sugerem que o consumo de vegetais crucíferos está relacionado a vários efeitos benéficos na saúde, como menor risco de infarto do miocárdio e desenvolvimento de diferentes tipos de câncer (1-5). Além disso, vem sendo estudada a utilização de compostos extraídos destes vegetais em doenças neurodegenerativas, diabetes e aterosclerose, apresentando resultados promissores (6-8).

As espécies de crucíferos pertencem ao gênero *Brassica* (famílias *Brassicaceae* e *Cruciferae*), destacando-se dentre elas vegetais como brócolis, couve-flor, couve verde, couve-de-bruxelas, agrião, rabanete, repolho e mostarda (9). São vegetais cultivados e consumidos em todo o mundo, representando uma boa fonte de fitoquímicos, incluindo compostos fenólicos, glicosídeos sulfurados e carotenoides, além de selênio e vitaminas (10). No entanto, seus potenciais benefícios como anticarcinogênicos e antioxidantes vem sendo atribuídos principalmente ao seu alto conteúdo de glicosinolatos (11,12).

Os glicosinolatos (GSL) são tioglicosídeos que contém um grupamento ciano e um grupamento sulfato, compreendendo em torno de 120 compostos quimicamente estáveis (13). Quando os tecidos das plantas são processados pelo corte, cozimento, congelamento ou pela própria mastigação, os GSL são expostos à enzima mirosinase, presente no próprio vegetal, que os hidrolisa a isotiocianatos, que são os compostos realmente bioativos (14). Além disso, a microflora intestinal humana também possui uma isoforma da mirosinase (15) e, embora existam diferentes tipos de GLS e isotiocianatos na natureza, os mais estudados e com maiores evidências de efeito na atualidade são, respectivamente, a glicorafanina (GRR) e o sulforafano (SFN) (16).



26 O brócolis, mais particularmente os seus brotos, são reconhecidos como a melhor fonte de  
27 SFN e seu isotiocianato precursor, a GRR, corresponde a 90% do conteúdo de GLS em algumas  
28 espécies de brócolis (17). O SFN é considerado um composto bastante promissor por ter  
29 demonstrado ser capaz de prevenir, retardar ou reverter lesões pré-neoplásicas e melhorar a  
30 sobrevivência, atuando sobre as células cancerosas como agente terapêutico (18,19).

31 Muitos são os alvos moleculares com os quais o SFN pode interagir, no entanto, seu  
32 mecanismo de ação mais bem descrito é pela via do fator nuclear E2 relacionado ao fator 2  
33 (Nrf2). O Nrf2 é um fator de transcrição central na regulação do estado redox celular que, em  
34 células não estimuladas, mantém-se ligado à proteína 1 associada ao ECH- tipo Kelch (Keap1),  
35 formando um complexo inativo (20). Ao entrar na célula, o SFN pode interagir com a Keap1,  
36 rompendo a ligação Nrf2-Keap1, permitindo a ativação e translocação nuclear do Nrf2 (21). No  
37 núcleo, o Nrf2 se liga ao elemento de resposta antioxidante (ARE), região do DNA promotora de  
38 genes que codificam enzimas antioxidantes, incluindo NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1  
39 (NQO1), heme-oxigenase-1 (HO-1), tioredoxina e superóxido dismutase (22,8). A transcrição  
40 aumentada de genes-alvo do Nrf2 provoca uma forte resposta citoprotetora, aumentando a  
41 resistência à carcinogênese e a outras doenças que tenham o estresse oxidativo envolvido na sua  
42 fisiopatologia (20,6). Além disso, pela ativação do Nrf2, o SFN aumenta a atividade de enzimas de  
43 fase II, como a glutatona-S transferase (GST) e quinona redutase, envolvidas na eliminação de  
44 compostos xenobióticos (23).

45 Inúmeros trabalhos tem demonstrado o efeito protetor do SFN contra insultos e doenças,  
46 na maioria das vezes em modelos animais e cultura de células. Neste sentido, esta revisão  
47 buscou investigar quais as evidências de intervenção com SFN já estão documentadas em seres  
48 humanos.

49

## 50 **Métodos**

51

52 A revisão sistemática foi realizada por meio de um protocolo pré-determinado estabelecido  
53 de acordo com as recomendações do Manual Cochrane (24), sendo os resultados apresentados  
54 de acordo com os critérios do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-*  
55 *Analyses* (PRISMA Statement) (25).

56 Foram incluídos estudos do tipo ensaio clínico randomizado (ECR), publicados em inglês  
57 ou português, a partir do ano 2003, sobre os possíveis efeitos do consumo de brócolis, GRR ou  
58 SFN em humanos. A pesquisa foi realizada nas bases de dados eletrônicas PubMed e Biblioteca  
59 Virtual em Saúde (BVS), consultando pelos seguintes descritores no título ou resumo dos  
60 trabalhos: “broccoli” (brócolis) ou “glucoraphanin” (glicorafanina) ou “sulforaphane” (sulforafano),  
61 durante os meses de setembro a novembro de 2013. Ademais, um trabalho foi incluído de forma  
62 independente por ter sido considerado relevante. Foram considerados como desfechos de  
63 interesse parâmetros clínicos e moleculares de dano celular, avaliados nos participantes dos  
64 estudos. Não foram considerados como desfechos de interesse a determinação de conteúdo,  
65 absorção, metabolismo e excreção de metabólitos do SFN. Da mesma forma não foram incluídos  
66 estudos realizados e não publicados, resumos de eventos científicos (publicados ou não),  
67 dissertações e teses. Foi determinado que a intervenção, em pelo menos um grupo, deveria  
68 utilizar exclusivamente brócolis, GRR ou SFN a fim de que seus efeitos isolados fossem  
69 avaliados. Os artigos identificados foram avaliados de forma independente e cegada, por dois  
70 autores do presente manuscrito (AC e FF). Discordâncias quanto a inclusão no estudo foram  
71 resolvidas por um terceiro investigador (CGS).

72

## 73 **Resultados**

74

75 Na combinação dos descritores e filtros supracitados foram selecionados 17 artigos e o  
76 fluxograma de seleção dos trabalhos é demonstrado na Figura 1. O fator de impacto das

77 publicações selecionadas variou de 1,257 a 6,504, sendo a maioria (65%) acima de 3,0. O ano de  
78 publicação variou de 2004 a 2013, sendo a maior parte de 2012.

79 A média amostral foi de 48 indivíduos e o tempo médio de intervenção de 44 dias. O tipo  
80 de intervenção predominante foram os brotos de brócolis, utilizados em pó (29%), frescos (18%),  
81 homogeneizados (0,6%) ou em infusão ou bebidas (12%), englobando 11 estudos. Os outros 6  
82 trabalhos utilizaram brócolis de cultivares comerciais ou desenvolvidos tecnologicamente para  
83 apresentarem teores elevados de GLS, cozidos, crus ou em sopas. As amostras estudadas  
84 constituíram de indivíduos saudáveis, fumantes ou não, com risco de desenvolvimento de  
85 doenças cardiovasculares ou câncer, em acompanhamento oncológico, diabéticos tipo 2 ou  
86 infectados por *Helicobacter pylori*.

87 Os resultados encontrados estão sintetizados na tabela 1. Para melhor compreensão, os  
88 mesmos foram agrupados nas 3 categorias a seguir, conforme seus desfechos principais.

89

### 90 **Diabetes do tipo 2 (DM2) e doenças cardiovasculares (Parâmetros Clínicos)**

91

92 Quatro estudos analisaram a ingestão de brócolis em pacientes com DM2, sobre  
93 parâmetros relacionados à doença (27,28,29,31). A intervenção utilizada em todos foi mesma -  
94 consumo de 5 ou 10g de brotos de brócolis em pó x amido de milho colorido com clorofila  
95 (placebo) - durante 4 semanas. O número de participantes variou de 63 a 72 (média de idade de  
96 51 anos).

97 Em 3 dos estudos que mensuraram a glicemia de jejum, houve uma diminuição média  
98 significativa de 30,34 mg/dl após as intervenções, em comparação aos valores basais (27, 28, 29),  
99 sendo que em 1 dos estudos (31) houve uma diminuição significativa de 62 mg/dl apenas no  
100 grupo que consumiu 10g em relação aos valores basais. Apenas 1 estudo mensurou a  
101 concentração de insulina e o índice de resistência insulínica (HOMA IR), os quais diminuíram 5,2  
102 para 4,35 mU/l e de 2,21 para 1,55 em relação aos valores basais ( $p < 0,05$ ), respectivamente,

103 apenas com a ingestão de 10g de brotos de brócolis (27). Um estudo avaliou o perfil lipídico  
104 completo (colesterol total - CT, lipoproteína de baixa densidade - LDL, lipoproteína de alta  
105 densidade - HDL e triglicerídeos - TG) e encontrou diminuição do CT e LDL em ambas  
106 intervenções, comparado aos valores basais. Porém só houve aumento no HDL e diminuição dos  
107 TG no grupo que ingeriu 10g de brotos (29). Apenas 1 dos estudos avaliou os parâmetros de  
108 inflamação interleucina-6 (IL-6), proteína C reativa (PCR) e fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), e  
109 embora encontrasse diminuição destes em ambos os grupos intervenção comparados ao basal  
110 (2,81 x 2,74 pg/ml; 3,33 x 2,38 ng/ml; 13,53 para 11,8 pg/ml no grupo 10g e 3,99 x 3,59 pg/ml;  
111 4,37 x 3,24 ng/ml; 13,08 x 10,38 pg/ml no grupo 5g, respectivamente), apenas a PCR foi  
112 estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), sendo também em relação ao grupo placebo após a  
113 ingestão de 10g de brotos (28). Da mesma forma, apenas 1 estudo avaliou parâmetros de  
114 estresse oxidativo, encontrando diminuição de 18% da peroxidação lipídica e aumento de 14% da  
115 capacidade antioxidante total em ambos os grupos de intervenção, comparados com o placebo  
116 ( $p < 0,01$ ); houve também diminuição do índice de estresse oxidativo de 14% no grupo que  
117 consumiu 10g de brotos de brócolis, e de 8% no grupo que consumiu 5g em relação aos seus  
118 valores basais ( $p < 0,01$ ) (31).

119 Cinco estudos analisaram a intervenção com brócolis em parâmetros de doença  
120 cardiovascular (DCV) (26,29,31,32,41), sendo dois deles realizados com diabéticos, 1 com  
121 indivíduos com moderado risco de desenvolvimento de DCV, 1 com indivíduos hipertensos e 1  
122 com indivíduos saudáveis. As intervenções utilizadas foram 400g de brócolis com alto teor de GLS  
123 x 400g de brócolis padrão x 400g de ervilha (controle) (26), 5 ou 10g de brotos de brócolis em pó x  
124 amido de milho colorido com clorofila (placebo) (29,31), 10g de brotos de brócolis em pó+ dieta  
125 habitual x dieta habitual (32), ou 100g de brotos de brócolis frescos/dia (41). O tempo de  
126 seguimento englobou de 7 dias a 12 semanas, e o número de participantes variou de 12 a 72.

127 Dos estudos com diabéticos, um deles avaliou perfil lipídico completo, conforme descrito  
128 anteriormente, além de LDL oxidada, razão LDL oxidada/LDL, índice aterogênico do plasma,

129 razão CT/HDL e razão LDL/HDL (29), enquanto o outro estudo com diabéticos avaliou apenas  
130 LDL oxidada (31), sendo que este parâmetro diminuiu apenas no grupo que recebeu 10g de  
131 brotos, quando comparado aos seus valores basais (5%) ( $p < 0,05$ ). Da mesma forma, somente  
132 esta intervenção foi capaz de diminuir a razão LDL oxidada/LDL (3,16 para 2,63) e o índice  
133 aterogênico do plasma (0,049 para 0,041) comparado aos valores iniciais ( $p < 0,05$ ) (29).

134 Os outros 2 estudos, com indivíduos com moderado risco de desenvolvimento de DCV e  
135 com hipertensos (26,32), mediram pressão arterial e perfil lipídico, não encontrando nenhuma  
136 alteração nestes parâmetros após as intervenções. Um destes estudos mensurou também LDL  
137 oxidada, PCR, velocidade de onda de pulso e rigidez arterial avaliada pelo *Augmentation index*  
138 (26) enquanto o outro mediu também a dilatação mediada por fluxo (32), da mesma forma, não  
139 foram encontradas mudanças nestas variáveis.

140 Um estudo com indivíduos saudáveis avaliou perfil lipídico completo e encontrou redução  
141 de CT e LDL (de 178 para 160 mg/dl e 94 para 75 mg/dl, respectivamente), entre homens, e  
142 aumento do HDL (7%) entre mulheres, em comparação aos valores basais de ambos os sexos  
143 ( $p < 0,05$ ) (41).

144 Nesta categoria, a maioria dos resultados refere-se à melhora dos parâmetros nos grupos  
145 de intervenção em relação a eles mesmos no período basal, sendo encontradas poucas  
146 diferenças em relação aos grupos controle ou placebo.

147

#### 148 **Toxicidade, resposta oxidante/antioxidante e câncer**

149

150 Foram encontrados 9 trabalhos que analisaram a ingestão de brócolis, nas mais diferentes  
151 formas, em parâmetros relacionados à toxicidade, à resposta oxidante/antioxidante, ao câncer ou  
152 ao desenvolvimento do mesmo (30,33,35-41). O tipo de participante incluiu comunidades com alta  
153 incidência de carcinoma hepatocelular, fumantes, não-fumantes, pacientes em acompanhamento  
154 urológico e indivíduos saudáveis. As intervenções utilizadas foram: bebida com brotos de brócolis

155 liofilizados contendo GRR ou SFN + suco de manga x suco de manga (placebo), brócolis cozido  
156 (250 ou 200g) x dieta habitual com exclusão de vegetais crucíferos, brotos de brócolis  
157 homogeneizados x brotos de alfafa (controle), brócolis cozido (400g) x ervilha cozida (controle),  
158 sopa de brócolis padrão x sopa de brócolis com alto teor de GLS x água (controle), brócolis cru ou  
159 brócolis cozido, infusão de brotos de brócolis x infusão placebo ou apenas brotos de brócolis  
160 frescos. O tempo de seguimento variou de 6 horas a 12 meses, o tamanho da amostra de 10 a  
161 200 indivíduos, e a idade dos participantes de 18 a 70 anos, sendo a maioria dos avaliados do  
162 sexo feminino (55%).

163 Um dos estudos encontrados mensurou a excreção urinária de metabólitos de poluentes  
164 atmosféricos derivados de acroleína, crotonaldeído e benzeno e demonstrou um aumento de 36%,  
165 17% e 62% respectivamente, comparados aos valores pré-tratamento dos grupos que receberam  
166 a intervenção com GRR e com SFN, sem diferenças no potencial de aumento de excreção entre  
167 GRR e SFN (30).

168 Dois estudos avaliaram biomarcadores do risco de câncer e de dano e reparo ao DNA,  
169 sendo que ambos encontraram diminuição da oxidação do DNA (média de 42%) e aumento da  
170 resistência à ruptura do mesmo (22%) comparado aos valores basais, embora não tenham  
171 observado alterações na atividade das enzimas de dano ou de reparo (33,35).

172 Dois estudos verificaram o estado redox celular por meio da expressão ou atividade de  
173 enzimas antioxidantes (36) e por meio de marcadores de estresse oxidativo (41). O primeiro  
174 encontrou aumento da defesa antioxidante pelo aumento na expressão das enzimas glutathione-S-  
175 transferase M1 (GSTM1), glutathione-s-transferase P1 (GSTP1), NADPH:quinona oxidoreductase  
176 (NQO1), e heme-oxigenase-1 (HO-1), de maneira dose-dependente, com indução enzimática  
177 máxima observada na dose de 200g de brotos de brócolis em comparação aos valores basais  
178 (aumento de 119%, 101%,199% e 121% respectivamente), estando aumentada também em  
179 relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ) (36). O outro estudo avaliou os marcadores de estresse  
180 oxidativo hidróxido de fosfatilcolina, 8-isoprostano e 8-hidroxideoxiguanosina e constatou uma

181 diminuição de 17%, 39% 25% dos mesmos, respectivamente, e aumento da razão coenzima Q  
182 reduzida/oxidada em 50% em relação aos valores pré-intervenção ( $p < 0,05$ ). Este trabalho também  
183 avaliou parâmetros relacionados à toxicidade dos compostos bioativos do brócolis, por meio da  
184 avaliação das provas de função hepática (transaminases), níveis de ácido úrico, de ureia e  
185 atividade das células Natural Killers, não encontrando nenhuma diferença nos valores após o  
186 tratamento (41).

187 Um dos estudos avaliou a expressão gênica na mucosa gástrica 6 horas após a ingestão  
188 de sopa de brócolis observou aumento na expressão de genes envolvidos no metabolismo de  
189 xenobióticos e com atividade antioxidante, como a tioredoxina redutase (38). Outro estudo  
190 encontrou aumento na atividade das enzimas de fase II (Citocromo P450) após o consumo de  
191 500g de brócolis, sendo que a atividade da enzima CYP2A6 aumentou 48% em mulheres e 216%  
192 em homens, e a enzima CYP1A2 aumentou 32% em mulheres e 148% em homens, em  
193 comparação aos valores basais ( $p < 0,05$ ) (39).

194 Dois outros trabalhos mensuraram variáveis de crescimento celular (antígeno prostático  
195 específico – PSA, e fator de crescimento semelhante à insulina- 1 – IGF-1) e vias de proliferação  
196 celular, não encontrando nenhuma alteração nos níveis de PSA e IGF-1, porém observaram uma  
197 modulação nas vias de proliferação de forma a promover menor chance de tumorigênese (35,37).

198 Por fim, um estudo avaliou a excreção urinária de biomarcadores carcinógenos presentes  
199 em alimentos e no ar e, embora os níveis de excreção não diferissem entre os grupos intervenção  
200 e placebo no final do tratamento, houve uma correlação inversa entre o marcador de excreção do  
201 SFN e os biomarcadores carcinógenos aflatoxina-N7-guanina ( $R=0,31$  e  $P= 0,002$ ) e trans, anti-  
202 PheT ( $R= 0,39$  e  $P = 0,001$ ) no grupo intervenção (40).

203 Nesta categoria, somente 1 estudo encontrou diferenças nos resultados do grupo  
204 intervenção em relação ao controle e apenas em 1 dos parâmetros avaliados (36). Os demais  
205 estudos apresentaram melhorias nos resultados dos grupos intervenção somente em relação aos  
206 seus próprios valores pré-tratamento.

207

**208 Helicobacter pylori (H. pylori)**

209

210 Nesta revisão, foram identificados 2 estudos que utilizaram brotos de brócolis no  
211 tratamento de adultos infectados por H.pylori, nas seguintes intervenções: 14, 28 ou 56 g 2x/dia  
212 (42) ou 70g/dia x brotos de alface (controle) (34), com duração de 7 dias ou 8 semanas, tendo  
213 analisado 9 e 48 participantes, respectivamente.

214 Ambos estudos avaliaram os seguintes marcadores de colonização por H. pylori: antígeno  
215 fecal de H. pylori (HpSA) e o teste respiratório de ureia (UBT). Um dos estudos (34) encontrou  
216 diminuição destes parâmetros em relação aos valores basais após a 8ª semana de intervenção  
217 ( $p<0,05$ ), mas sem diferença em relação ao grupo controle. Este estudo avaliou também a razão  
218 Pepsinogênio I (PGI)/Pepsinogênio II (PGII), tendo esta aumentado durante a intervenção,  
219 indicando inflamação reduzida. Nenhum dos indivíduos foi negativo no UBT em nenhum dos  
220 períodos do estudo, no entanto, 32% do grupo intervenção teve HpSA abaixo do ponto de corte no  
221 final da 8ª semana de tratamento. Contudo, 8 semanas após a interrupção do consumo de brotos  
222 de brócolis estes valores voltaram a aumentar em 75% dos indivíduos.

223 Já o outro estudo (42) encontrou negatificação do HpSA em 7 dos 9 pacientes (78%) após  
224 os 7 dias de intervenção e 6 permaneceram negativos no dia 35. Destes 6 pacientes, 2 deles  
225 tiveram o UBT negativos no dia 35. Em 1 dos pacientes que o UBT foi indeterminado, foi realizada  
226 biópsia gástrica e o resultado foi negativo para H. pylori. O consumo de brotos de brócolis foi  
227 associado com a erradicação do H. pylori em 33% dos pacientes, sendo um paciente da cada  
228 grupo de dosagem.

229

**230 Discussão**

231



232 A revisão sistemática dos estudos encontrados nos permitiu analisar os dados disponíveis  
233 a respeito do consumo de brócolis, em diferentes formas e quantidades, indicando que os  
234 resultados mais consistentes em humanos são em relação aos parâmetros clínicos glicemia e  
235 perfil lipídico (27,28,29,31,41) e aos parâmetros moleculares de estresse oxidativo  
236 (31,33,35,36,38,41), seja por aumentar as defesas antioxidantes ou por diminuir marcadores de  
237 insulto. Outras evidências menos sólidas puderam ser encontradas em relação à diminuição da  
238 inflamação crônica de baixa intensidade (28), diminuição na colonização por *H. pylori* (34,42), e  
239 maior proteção contra o câncer, por inibição de vias de tumorigênese (37) ou por excreção de  
240 metabólitos potencialmente cancerígenos (30,40). Ainda, 2 dos estudos não encontraram nenhum  
241 efeito em seu protocolo de tratamento (26,32) e o único estudo que avaliou parâmetros de  
242 toxicidade pelo consumo do brócolis não evidenciou nenhuma alteração a este respeito (41).

243 A diminuição da glicemia de jejum em pacientes com DM2, encontrada em 4 dos estudos  
244 avaliados (27,28,29,31), é um dos resultados mais relevantes deste trabalho. Um deles também  
245 mostrou diminuição da concentração de insulina e do índice de resistência à insulina (HOMA-IR),  
246 sendo o único estudo a mensurar estes parâmetros (27). O DM2 é uma doença progressiva, que  
247 requer um número crescente de agentes hipoglicemiantes orais, levando 50% dos indivíduos  
248 diabéticos a necessitarem de insulina exógena dentro de 10 anos (43). A investigação de  
249 compostos que possam auxiliar no controle do diabetes é muito relevante, e os dados  
250 encontrados sugerem o SFN como um possível tratamento complementar para o controle do  
251 diabetes e prevenção de suas complicações em longo prazo, bem como fortalece a  
252 recomendação da ingestão de crucíferos na dieta habitual. Esses resultados corroboram com os  
253 achados em modelos animais que demonstram melhor tolerância à glicose e menor resistência à  
254 insulina após o tratamento com SFN (44).

255 Em relação ao perfil lipídico, os trabalhos analisados mostraram algumas controvérsias.  
256 Três estudos apresentaram diminuição dos níveis de CT, LDL, LDL oxidada, índice aterogênico do  
257 plasma, TG e/ou aumento do HDL (29,31,41) enquanto 2 estudos não constataram nenhuma

258 mudança nestes parâmetros após a intervenção (26,32). Entretanto, devido às diferenças  
259 metodológicas dos estudos e do número de resultados positivos ser maior do que o de resultados  
260 negativos, consideramos relevantes os achados em relação ao perfil lipídico. Dados recentes do  
261 nosso grupo de pesquisa também evidenciaram uma melhora significativa no perfil lipídico de  
262 ratos diabéticos tratados com SFN por 21 dias (Souza e cols, dados não publicados). Sabe-se  
263 também que a alteração dos lipídios plasmáticos pelo SFN é decorrente da sua capacidade de  
264 indução de genes pela via do Nrf2, e que esta indução varia de indivíduo para indivíduo, podendo  
265 variar também de acordo com o tempo de mensuração pós-ingestão de SFN (45). De qualquer  
266 forma, os efeitos demonstrados são de potencial interesse e necessidade de maiores  
267 investigações, uma vez que alterações no metabolismo lipídico são comuns na população em  
268 geral e em especial no diabetes, contribuindo para aumentar o risco de DCV, a qual é responsável  
269 por 60% das mortes nestes pacientes e também a principal causa de mortalidade mundial (46).

270 Embora parâmetros clínicos sejam desfechos de saúde mais palpáveis, em termos de  
271 melhora de prognóstico dos indivíduos, parâmetros moleculares também são de grande  
272 importância, uma vez que operam “silenciosamente”, modulando aquilo que, em longo prazo,  
273 aparecerá como clínico. Neste sentido, os parâmetros moleculares foram foco de 9 estudos  
274 encontrados nesta revisão (30,33,35-41), tanto no aumento da resposta antioxidante (31,36,41)  
275 quanto na minimização de dano oxidativo (31,33,35), embora o dano oxidativo medido tenha  
276 englobado parâmetros distintos (peroxidação lipídica, dano ao DNA, quantificação de espécies  
277 reativas e metabólitos urinários de espécies reativas). É importante ressaltar que a melhora da  
278 resposta antioxidante se restringiu ao aumento das enzimas de fase II (36,38) enquanto nas  
279 enzimas de reparo do DNA estes efeitos não foram observados (33,35). A ação antioxidante do  
280 SFN em humanos é muito relevante, uma vez que cerca de 200 doenças humanas têm sido  
281 associadas com o estresse oxidativo, especialmente as doenças crônicas não-transmissíveis (47),  
282 sendo inegável o papel das espécies reativas na fisiopatogenia nas mesmas. Fazendo uma  
283 associação dos parâmetros moleculares com os clínicos encontrados é importante ressaltar que

284 em indivíduos com hiperglicemia há um aumento na produção de espécies reativas, o que  
285 favorece a aterogênese por meio da oxidação do LDL, da mesma forma que euglicêmicos  
286 expostos ao estresse oxidativo também tem essa resposta (48,49). Dessa maneira podemos  
287 pensar que nos indivíduos que tiveram seus parâmetros clínicos avaliados poderia haver uma  
288 também melhora dos parâmetros moleculares e vice-versa.

289 Comenta-se ainda o efeito anti-inflamatório do SFN por diminuição de IL-6, PCR e TNF- $\alpha$ ,  
290 avaliados apenas por 1 estudo (28); a modulação de vias de proliferação celular promovendo  
291 menor estímulo para tumorigênese avaliado por 1 estudo (37); a excreção aumentada de  
292 poluentes atmosféricos e metabólitos tóxicos provenientes da alimentação (30,40) e a diminuição  
293 na colonização por *H. pylori* (34, 42). Em relação aos mecanismos anti-inflamatórios e de  
294 diminuição de tumorigênese, acredita-se que o SFN esteja inibindo vias de sinalização celular por  
295 meio do Nrf2, como por exemplo, a via inflamatória do fator nuclear Kappa-B (NF-kB), ou pelo  
296 aumento de enzimas de fase II classicamente já descritas como parte deste estímulo. Entretanto,  
297 mesmo o Nrf2 sendo o mais bem descrito mecanismo de ação do SFN, seus efeitos não podem  
298 unicamente atribuídos a esta via. Agyeman e cols (50) compararam a expressão gênica  
299 modulada por SFN e células *knockdown* para Keap1. Apenas 14% dos genes modulados por SFN  
300 foram igualmente modulados por Keap1 *knockdown*, indicando que a maioria dos genes regulados  
301 pelo SFN não parecem ser regulados pela via Keap1/Nrf2. Já o aumento da excreção dos  
302 metabólitos carcinogênicos na urina possivelmente relaciona-se à capacidade de desintoxicação  
303 deste composto, por maior eliminação urinária de ácidos mercaptúricos, via pela qual o SFN  
304 também é eliminado (51).

305 Embora existam evidências epidemiológicas consistentes que associem o consumo de  
306 vegetais crucíferos com menor risco para o desenvolvimento de câncer, são poucos os estudos de  
307 intervenção em humanos relacionados à esta doença, sendo os mais convincentes 2 estudos que  
308 avaliaram a infecção por *Helicobacter pylori* (34,42). Infecções por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)  
309 são comuns e podem causar inflamação gastroduodenal, úlceras pépticas e aumentar o risco de

310 neoplasia gástrica. O tratamento convencional consiste em uma terapia tripla de dois antibióticos  
311 com um inibidor da bomba de prótons. Todavia, as taxas de erradicação não são ideais,  
312 possivelmente pelo aumento do número de cepas de *H. pylori* resistentes a antibióticos, além de  
313 apresentar diversos efeitos adversos, tais como náuseas, diarreia, dispepsia, dor de cabeça e  
314 alteração da microflora gastrointestinal. Estes problemas indicam a necessidade do  
315 desenvolvimento de novas estratégias para a prevenção e erradicação do *H. pylori* (52). Os 2  
316 trabalhos encontrados reforçam o potencial bactericida do SFN contra o *H. pylori*, sugerindo uma  
317 possível terapia dietética (53). Os resultados encontrados indicam também que o consumo de  
318 brotos de brócolis pode reduzir a colonização de *H. pylori*, mas não fornece erradicação completa.  
319 O mecanismo que explica a atividade antibacteriana do SFN está relacionado com a inativação da  
320 urease. A capacidade do *H. pylori* prosperar no ambiente ácido desfavorável do estômago  
321 depende da geração de grandes quantidades da enzima urease. Pela produção de amônia a partir  
322 da ureia do hospedeiro, a urease neutraliza a acidez gástrica, promove a inflamação e favorece a  
323 proliferação do *H. pylori*. Pela capacidade de inativação da urease, o SFN poderia reduzir a  
324 colonização gástrica e inflamação associada (54). Entretanto, estudos com tempos de intervenção  
325 maiores, com grupo controle e maior tamanho amostral podem obter melhores resultados e  
326 solidificar estes dados, visto que 1 dos estudos avaliados apresentou grande limitação a este  
327 respeito (42).

328 Uma limitação importante da consistência dos resultados é a escassez de estudos sobre  
329 os mesmos temas, ou que avaliem desfechos semelhantes, além da variabilidade de parâmetros  
330 mensurados em cada estudo, heterogeneidade de intervenções, tempos de seguimento e  
331 tamanho amostral. Nem todos os estudos determinaram a quantidade de GRR ou SFN presente  
332 na intervenção realizada, dificultando também a conclusão uma sobre dose ou concentração que  
333 possa ser recomendada.

334

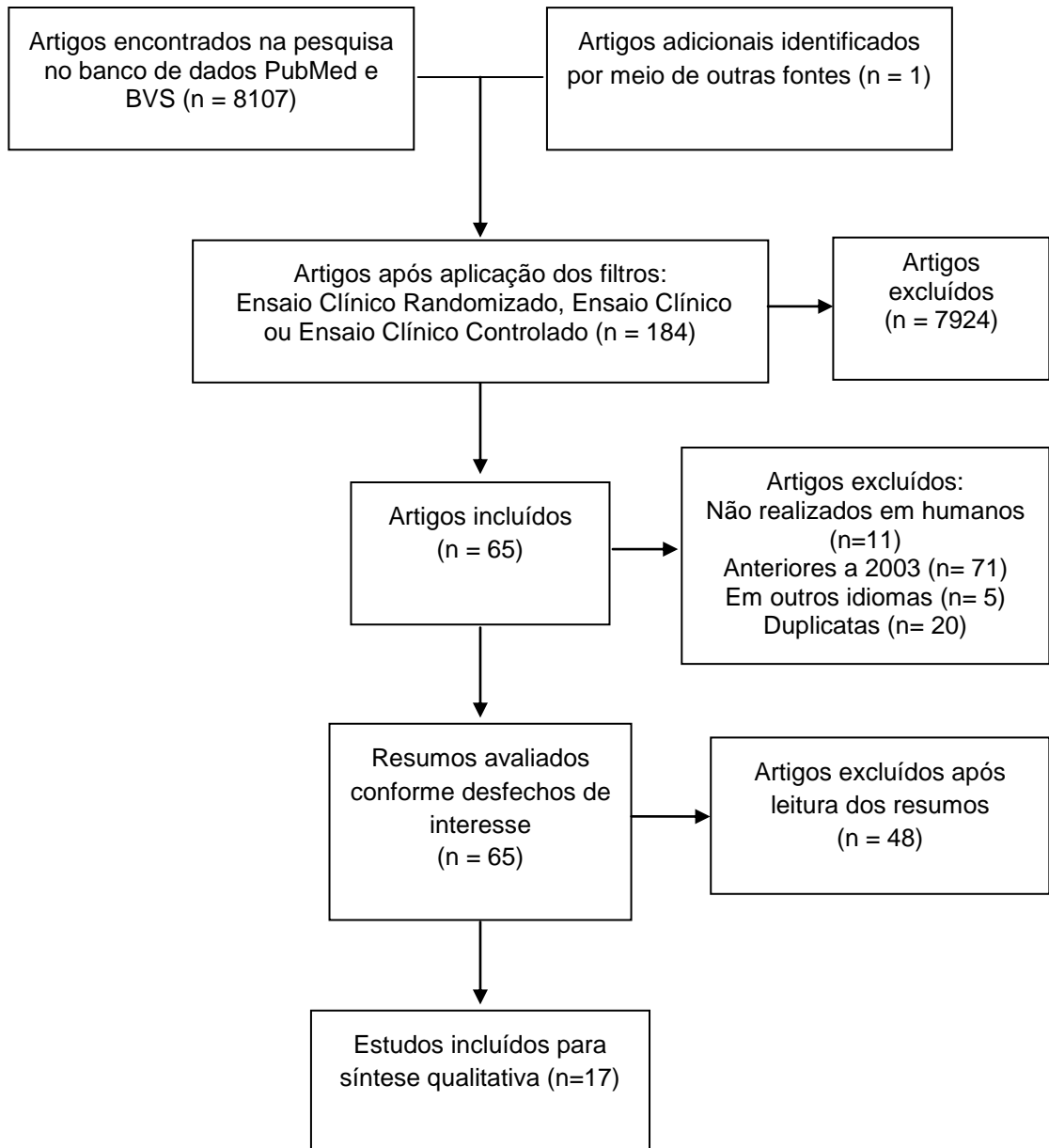
335

## **Conclusão**

336

337 Há evidências de potenciais benefícios do consumo de brócolis sobre parâmetros clínicos  
338 e moleculares em humanos, especialmente glicemia de jejum, perfil lipídico e estresse oxidativo,  
339 permeados pela ingestão de GRR e SFN. Todavia, estas evidências ainda são limitadas.

340 São necessários mais estudos de intervenção bem controlados, menos heterogêneos e  
341 com dosagem destes compostos de interesse, para avaliar os desfechos de forma mais  
342 consistente e produzir conclusões com maior embasamento.

**Figura 1. Fluxograma de seleção dos estudos**

**Quadro 1: Artigos incluídos na revisão e principais resultados**

<b>Autores e ano</b>	<b>Tipo de estudo e amostra</b>	<b>Intervenção</b>	<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>Resultados</b>
Armah e cols., 2013 (26)	ECR com indivíduos com moderado risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (n=48)	400 g de brócolis com alto teor de GLS (21,6 $\mu\text{mol/g}$ de GRR) ou 400 g de brócolis padrão (6,9 $\mu\text{mol/g}$ de GRR) ou 400 g de ervilha/semana cozidos no vapor durante 12 semanas	CT, pressão arterial sistólica e diastólica, HDL, LDL, TG, LDL oxidada, PCR, velocidade de onda de pulso e rigidez arterial avaliada pelo o <i>Augmentation index</i>	Sem alteração em nenhum dos parâmetros avaliados.
Bahadoran e cols., 2012 (27)	ECR duplo-cego com pacientes diabéticos tipo 2 (n=63)	5 ou 10 g/dia de brotos de brócolis em pó contendo aproximadamente 22,5 $\mu\text{mol/g}$ de SFN ou placebo (amido de milho colorido com clorofila) durante 4 semanas	Glicemia de jejum, concentração de insulina no plasma, sensibilidade insulínica (glicemia de jejum/insulina), resistência insulínica (HOMA-IR)	Diminuição da glicemia de jejum em ambos os grupos intervenção comparados aos valores basais. A concentração de insulina e o HOMA-IR diminuíram apenas no grupo que recebeu 10 g em relação ao placebo. Não houve diferença no índice de sensibilidade insulínica em ambas as intervenções.
Mirmiran e cols., 2012 (28)	ECR duplo-cego com pacientes diabéticos tipo 2 (n=63)	5 ou 10 g/dia de brotos de brócolis em pó contendo aproximadamente 22,5 $\mu\text{mol/g}$ de SFN ou placebo (amido de milho colorido com clorofila) durante 4 semanas	Glicemia de jejum, concentração sérica de proteína C reativa, IL-6, TNF- $\alpha$	Diminuição da glicemia de jejum e da proteína C reativa em ambos os grupos intervenção comparados aos valores basais. Diminuição não significativa de IL-6 e TNF- $\alpha$ em ambos os grupos intervenção comparados aos valores basais. Diminuição da proteína C reativa e IL-6 no grupo que recebeu 10g/dia em comparação ao placebo após a intervenção.
Bahadoran e cols., 2012 (29)	ECR duplo-cego com pacientes diabéticos tipo 2 (n=72)	5 ou 10 g/dia de brotos de brócolis em pó contendo aproximadamente 22,5 $\mu\text{mol/g}$ de SFN ou placebo (amido de milho)	Glicemia de jejum, CT, TG, LDL, HDL e LDL oxidada, razão LDL oxidada/LDL, índice aterogênico do plasma (log TG/HDL), razão CT/HDL e LDL/HDL	Diminuição na glicemia de jejum, CT e LDL em ambas intervenções comparados aos valores basais. Diminuição nos TG, na razão LDL oxidada/LDL e no índice aterogênico do plasma com o consumo de 10 g de brotos comparados

		colorido com clorofila) durante 4 semanas		aos valores basais. Diminuição no HDL em relação aos valores basais apenas nos grupos placebo e intervenção 5 g de brotos; no grupo que consumiu 10 g a concentração de HDL se manteve; sem alterações nos demais parâmetros.
Kensler e cols., 2012 (30)	ECR cruzado com indivíduos de uma comunidade com alta incidência de carcinoma hepatocelular (n=50)	Bebidas com brotos de brócolis liofilizados diluídos em suco de manga contendo 800 µmol de GRR ou 150 µmol de SFN/dia ou suco de manga durante 7 dias	Excreção urinária de metabólitos de poluentes atmosféricos (ácidos mercaptúricos de acroleína, crotonaldeído, óxido de etileno e benzeno)	Aumento nos níveis de excreção de conjugados de glutathione derivados de acroleína, crotonaldeído e benzeno comparados com os valores pré-tratamento nos indivíduos que receberam bebidas contendo SFN ou GRR. Não foram observadas diferenças entre os efeitos do SFN e GRR.
Bahadoran e cols., 2011 (31)	ECR duplo-cego com pacientes diabéticos tipo 2 (n=63)	5 ou 10 g/dia de brotos de brócolis em pó contendo aproximadamente 22,5 µmol/g de SFN ou placebo (amido de milho colorido com clorofila) durante 4 semanas	Parâmetros de estresse oxidativo (capacidade antioxidante sérica total, estado oxidativo total, índice de estresse oxidativo, concentração sérica de malondialdeído e LDL oxidada)	Diminuição na concentração de malondialdeído e aumento da capacidade antioxidante total em relação ao placebo em ambos os tratamentos. Diminuição da LDL oxidada e no índice de estresse oxidativo comparados aos valores basais em ambos os tratamentos. Nenhum efeito foi encontrado no estado oxidativo total.
Christiansen e cols., 2010 (32)	ECR com pacientes hipertensos (n=40)	10 g/dia de brotos de brócolis em pó contendo aproximadamente 30,3 µmol/g de GRR ou dieta habitual durante 4 semanas	Pressão sanguínea, função endotelial (dilatação mediada por fluxo), CT, HDL, LDL.	Não foram observadas alterações significativas nos parâmetros avaliados.
Riso e cols., 2010 (33)	ECR cruzado com adultos fumantes (n=27)	250 g/dia de brócolis cozido no vapor ou dieta habitual com exclusão de vegetais crucíferos durante 10 dias	Biomarcadores de danos e reparo do DNA	Diminuição de oxidação no DNA de células mononucleares do sangue comparado com o pré-tratamento. Aumento da resistência à ruptura da cadeia de DNA induzida por H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ex-vivo comparado com o pré-tratamento. Sem alteração na atividade da enzima de



				reparo 8-oxoguanina DNA glicosilase (OGG1), bem como nos níveis de expressão das enzimas OGG1, nucleoside diphosphate linked moiety X-type motif 1 (NUDT1) e heme-oxigenase 1 (HO-1).
Yanaka e cols., 2009 (34)	ECR com adultos infectados com <i>Helicobacter pylori</i> (n=48)	70 g/dia de brotos brócolis contendo aproximadamente 6 µmol/g de GRR (420 µmol GRR/porção) ou brotos de alfafa (controle) durante 8 semanas	Biomarcadores de colonização pelo <i>H. pylori</i> (antígeno fecal de <i>H. pylori</i> - HpSA, teste respiratório de ureia - UBT) e biomarcadores de inflamação gástrica (concentração sérica de pepsinogênio I e II- PGI e PGII, razão PGI/PGII)	Redução na concentração sérica de PGI e PGII, aumento da razão PGI/PGII, diminuição do HpSA e nos valores do UBT em relação aos valores basais. Sem diferenças em relação ao controle. Os níveis retornaram aos valores basais após 2 meses.
Riso e cols., 2009 (35)	ECR cruzado com adultos fumantes e não fumantes (n=20)	200 g/dia de brócolis cozidos no vapor ou dieta habitual com exclusão de vegetais crucíferos durante 10 dias	Biomarcadores de danos oxidativo endógenos no DNA, biomarcadores de risco de câncer (atividade da Histona Deacetilase - HDAC) em linfócitos, níveis séricos do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I).	Diminuição das bases oxidadas no DNA em fumantes em comparação aos valores basais. Aumento da resistência à ruptura da cadeia de DNA induzidas por H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ex-vivo em fumantes e não fumantes comparado ao basal. Sem alteração na atividade da HDAC e nos níveis séricos de IGF-I.
Riedl e cols., 2009 (36)	Ensaio clínico de escalonamento de dose com indivíduos saudáveis (n=57)	25, 100, 125, 150, 175 ou 200 g de brotos de brócolis homogeneizados contendo aproximadamente 0,283 µmol/ml de SFN ou 200 g de brotos de alfafa durante 3 dias	Expressão de enzimas antioxidantes de Fase II (glutathiona-S-transferase M1- GSTM1, glutathiona-s-transferase P1 - GSTP1, NADPH:quinona oxidoreductase -NQO1 e heme-oxigenase-1- HO-1) em células de lavado nasal	Aumento na expressão das enzimas de maneira dose-dependente, com a indução enzimática máxima observada na ingestão de 200 g de brotos de brócolis comparado ao basal. Aumento na expressão enzimática com a ingestão de 200 g de brotos de brócolis em comparação ao controle.
Traka e cols., 2008 (37)	ECR com homens adultos e idosos em acompanhamento urológico (n=22)	400 g de brócolis cozido ou ervilha/ semana seguindo dieta habitual durante 12 meses	Marcadores de crescimento da próstata (PSA) e vias de sinalização de proliferação celular para carcinoma prostático	Sem diferenças nos níveis de PSA entre os grupos antes e depois do tratamento. Modulação das vias de proliferação celular promovendo menor chance de tumorigênese
Gasper e cols., 2007 (38)	ECR cruzado com indivíduos saudáveis (n=16)	Dose única de 150 ml sopa de brócolis padrão ou de brócolis com alto teor de GLS contendo	Expressão de genes relacionados ao metabolismo de xenobióticos e controle do ciclo celular na mucosa gástrica	Aumento da regulação de genes que metabolizam xenobióticos, incluindo tioredoxina redutase, aldo ceto redutases e modificador de subunidade

		respectivamente 682,6 µmol/L e 2295,9 µmol/L de SFN ou água		glutamato cisteína ligase no grupo alto teor de GLS comparado aos valores basais. Supressão da expressão de 4 genes (receptor nuclear da subfamília 1 grupo D2, proteína de dimerização MAX 1, fator embrionário tireotrófico e domínio básico hélice-alça-hélice classe B2) em ambos os grupos que consumiram sopa de brócolis.
Hakooz; Hamdan, 2007 (39)	Estudo piloto com indivíduos saudáveis (n=10)	500 g de brócolis cru ou cozido durante 6 dias	Atividade das enzimas do citocromo P450 (CYP2A6 e CYP1A2) relacionadas com o metabolismo de xenobióticos	Aumento na atividade das enzimas CYP2A6 e CYP1A2 em comparação aos valores basais.
Kensler e cols., 2005 (40)	ECR com indivíduos de uma comunidade com alta incidência de carcinoma hepatocelular (n=200)	125 ml de infusão de brotos de brócolis contendo 400 µmol de GRR ou placebo durante 2 semanas	Excreção de biomarcadores carcinógenos (aflatoxina urinária e metabólitos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos-trans, anti-PheT)	Embora os níveis urinários não diferissem entre os grupos no final do tratamento, houve uma correlação inversa entre as concentrações de ditiocarbamato (marcador de excreção do SFN) e aflatoxina-N7-guanina e trans, anti-PheT no grupo intervenção.
Murashima e cols., 2004 (41)	Estudo piloto com indivíduos saudáveis (n=12)	100 g/dia de brotos de brócolis frescos durante 7 dias	CT, HDL, LDL, TG, ácido úrico, ureia, AST, ALT, γ-GTP, atividade das células Natural Killers, concentração de aminoácidos plasmáticos (totais, essenciais, de cadeia ramificada, glicina, cistina e glutamato) e marcadores de estresse oxidativo (concentração plasmática de hidroperóxido de fosfatidilcolina- PCOOH, razão CoQ10H2/CoQ10, excreção urinária de 8-isoprostano e 8-hidroxi-deoxiguanosina-OHdG)	Redução do CT e LDL entre os homens, aumento do HDL entre as mulheres em comparação aos valores basais. Aumento na concentração plasmática do aminoácido cistina, sem alteração nos demais. Diminuição na concentração plasmática de PCOOH, aumento na razão CoQ10H2/CoQ10, diminuição na excreção urinária de 8-isoprostano e 8-OHdG comparados aos valores basais. Sem alterações nos demais parâmetros avaliados.
Galan e cols., 2004 (42)	Estudo piloto com adultos infectados por Helicobacter	Brotos de brócolis (14, 28 ou 56 g)	Biomarcadores de colonização pelo H. pylori (antígeno fecal de	7 dos 9 pacientes foram negativos para o HpSA após os 7 dias (os 3 do

	pylori (n=9)	2 vezes ao dia durante 7 dias	H. pylori -HpSA, teste respiratório de ureia - UBT)	grupo 14 g, 2 do grupo 28 g e 2 do grupo 56 g) e 6 continuaram negativos após 35 dias(os 3 do grupo 14 g, 1 do grupo 28 g e 2 do grupo 56 g). O UBT foi realizado em 6 pacientes, com resultado negativo em 2 deles. A erradicação do H. pylori foi observada em um paciente de cada um dos três grupos (14, 28 e 56 g brotos / dia).
--	--------------	-------------------------------	---	---

ECR: ensaio clínico randomizado; SFN: sulforafano; GRR: glicorafanina; GLS: glicosinolatos; CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; IL-6: Interleucina-6; TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral-  $\alpha$ ;

#### 4. Agradecimentos

Os autores optaram por não incluir agradecimentos.

#### 5. Declaração de Financiamento e Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

#### 6. Referências

- 1 Cornelis MC, El-Sohehy A, Campos H. GSTT1 genotype modifies the association between cruciferous vegetable intake and the risk of myocardial infarction. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(3):752-8.
- 2 Wu QJ, Yang Y, Vogtammann E, Wang J, Han LH, Li HL, Xiang YB. Cruciferous vegetables intake and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of observational studies. *Ann Oncol.* 2013;24(4):1079–1087.
- 3 Liu B, Mao Q, Cao M, Xie L. Cruciferous vegetables intake and risk of prostate cancer: A meta-analysis. *Int J of Urol.* 2012;19(2):134–141.

4 Liu X, Lv K. Cruciferous vegetables intake is inversely associated with risk of breast cancer: A meta-analysis. *Breast*. 2013;22(3):309-313.

5 Lam TK, Lam TK, Gallicchio L, Lindsley K, Shiels M, Hammond E, Tao XG, et al. Cruciferous Vegetable Consumption and Lung Cancer Risk: A Systematic Review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(1):184–195.

6 Tarozzi A, Angeloni C, Malaguti M, Morroni F, Hrelia S, Hrelia P. Sulforaphane as a Potential Protective Phytochemical against Neurodegenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:1-10.

7 Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Potential Efficacy of Broccoli Sprouts as a Unique Supplement for Management of Type 2 Diabetes and Its Complications. *J Med Food*. 2013;16(5):375–382.

8 Evans PC. The influence of sulforaphane on vascular health and its relevance to nutritional approaches to prevent cardiovascular disease. *EPMA J*. 2011;2(1):9–14.

9 Buck PA. Origin and taxonomy of broccoli. *Econ. Bot*. 1956;10:250–253.

10 Manchali S, Murthy KNC, Patil BS. Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. *J. of Functional Foods*. 2012;4(1):94-106.

11 Verhoeven DTH, Verhagen H, Goldbohm RA, Van Den Bramdt PA, Van Poppel G. A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chem Biol Interact*. 1997;103:79-129.

12 Latté KP, Appel K-E, Lampen A. Health benefits and possible risks of broccoli – An overview. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(12):3287–3309.

13 Fahey JF, Zalcmann AT, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry.* 2001;56(1):5-51.

14 Bones AM, Rossiter JT. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry.* 2006;67(11):1053–1067.

15 Fahey JW, Wehage SL, Holtzclaw WD, Kensler TW, Egnor PA, Shapiro TA, Talalay P. Protection of humans by plant glucosinolates: efficiency of conversion of glucosinolates to isothiocyanates by the gastrointestinal microflora. *Cancer Prev Res.* 2012;5(4):603-611.

16 Ares AM, Nozal MJ, Bernal J. Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. *J Chromatogr A.* 2013;1313:78-95.

17 Kushad MM, Brown AF, Kurilich AC, Juvik JA, Klein BP, Wallig MA, Jeffery EH. Variation of Glucosinolates in Vegetable Crops of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem.* 1999;47(4):1541-1548.

18 Fimognari C, Hrelia P. Sulforaphane as a promising molecule for fighting cancer. *Mutat Res.* 2007;635(2-3):90–104.

19 Tang L, Zirpoli GR, Guru K, Moysich KB, Zhang Y, Ambrosone CB, McCann SE. Intake of Cruciferous Vegetables Modifies Bladder Cancer Survival. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19:1806-1811.

20 Kensler TW, Egner PA, Agyeman SA, Visvanathan K, Groopman JD, Chen JG, Chen TY, Fahey JW, Talalay P. Keap1–Nrf2 Signaling: A Target for Cancer Prevention by Sulforaphane. *Top Curr Chem*. 2013;329:163–178.

21 Vomhof-Dekrey EE, Picklo SR MJ. The Nrf2-antioxidant response element pathway: a target for regulating energy metabolism. *J Nutr Biochem*. 2012;23(10):1201–1206.

22 Turpaev KT. Keap1-Nrf2 Signaling Pathway: Mechanisms of Regulation and Role in Protection of Cells against Toxicity Caused by Xenobiotics and Electrophiles. *Biochemistry*. 2013;78(2):111-126.

23 Guerrero-Beltrán CE, Calderón-Oliver M, Pedraza-Chaverri J, Chirinho YI. Protective effect of sulforaphane against oxidative stress: Recent advances. *Exp Toxicol Pathol*. 2013;64(5): 503–508.

24 Collaboration C. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. 2009

25 Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gotzsche C, Gotzsche PC, Ionañidis JP, Clarke M, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol*. 2009;62(10):e1-34.

26 Armah CN, Traka MH, Dainty JR, Defernez M, Janssens A, Leung W, Doleman JF, et al. A diet rich in high-glucoraphanin broccoli interacts with genotype to reduce discordance in plasma metabolite profiles by modulating mitochondrial function. *Am J Clin Nutr*. 2013;98(3):712-722.

- 27 Bahadoran Z, Tohidi M, Nazeri P, Mehran M, Azizi F, Mirmiran P. Effect of broccoli sprouts on insulin resistance in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind clinical trial. *Int J Food Sci N*. 2012;63(7):767–771.
- 28 Mirmiran P, Bahadoran Z, Hosseinpanah F, Keyzad A, Azizi F. Effects of broccoli sprout with high sulforaphane concentration on inflammatory markers in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *J of Functional Foods*. 2012;4(4):837-841.
- 29 Bahadoran Z, Mirmiran P, Hosseinpanah F, Rajab A, Asghari G, Azizi, F. Broccoli sprouts powder could improve serum triglyceride and oxidized LDL/LDL-cholesterol ratio in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Res and Clin Pract*. 2012;96(3):348-354.
- 30 Kensler TW, Ng D, Carmella SG, Chen M, Jacobson LP, Muñoz, A. Modulation of the metabolism of airborne pollutants by glucoraphanin-rich and sulforaphane-rich broccoli sprout beverages in Qidong, China. *Carcinogenesis*. 2012;33(1):101–107.
- 31 Bahadoran Z, Mirmiran, P, Hosseinpanah F, Hedayati M, Hosseinpour-Niazi S, Azizi, F. Broccoli sprouts reduce oxidative stress in type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(8):972-977.
- 32 Christiansen B, Bellostas Muguerza N, Petersen AM, Kveiborg B, Madsen CR, Thomas H, et al. Ingestion of Broccoli Sprouts Does Not Improve Endothelial Function in Humans with Hypertension. *PLoS One*. 2010;5(8):e12461.

- 33 Riso P, Martini D, Moller P, Loft S, Bonacina G, Moro G, Porrini M. DNA damage and repair activity after broccoli intake in young healthy smokers. *Mutagenesis*. 2010;25(6):595–602.
- 34 Yanaka A, Fahey JW, Fukumoto A, Nakayama M, Inoue M, Zhang S, et al. Dietary Sulforaphane-Rich Broccoli Sprouts Reduce Colonization and Attenuate Gastritis in *Helicobacter pylori*- Infected Mice and Humans. *Cancer Prev Res*. 2009;2(4):353-360.
- 35 Riso P, Martini D, Visioli F, Martinetti A, Porrini M. Effect of Broccoli Intake on Markers Related to Oxidative Stress and Cancer Risk in Healthy Smokers and Nonsmokers. *Nutr Cancer*. 2009;61(2):232–237.
- 36 Riedl MA, Saxon, A Diaz-Sanchez D. Oral sulforaphane increases Phase II antioxidant enzymes in the human upper airway. *Clin Immunol*. 2009;130(3):244–251.
- 37 Traka M, Gasper AV, Melchini A, Bacon JR, Needs PW, Frost V, et al. Broccoli Consumption Interacts with GSTM1 to Perturb Oncogenic Signalling Pathways in the Prostate. *PLoS ONE*. 2008;3(7):e2568.
- 38 Gasper AV, Traka M, Bacon JR, Smith JA, Taylor MA, Hawkey CJ, Barret DA, Mithen RF. Consuming Broccoli Does Not Induce Genes Associated with Xenobiotic Metabolism and Cell Cycle Control in Human Gastric Mucosa. *J Nutr*. 2007;137(7):1718–1724.
- 39 Hakooz N, Hamban I. Effects of Dietary Broccoli on Human in Vivo Caffeine Metabolism: A Pilot Study on a Group of Jordanian Volunteers. *Curr Drug Metab*. 2007;8(1):9-15.



40 Kensler TW, Chen JG, Egnor PA, Fahey JW, Jacobson, LP, Stephenson KK, et al. Effects of Glucosinolate-Rich Broccoli Sprouts on Urinary Levels of Aflatoxin-DNA Adducts and Phenanthrene Tetraols in a Randomized Clinical Trial in He Zuo Township, Qidong, People's Republic of China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(11 Pt 1):2605-2613.

41 Murashima M, Watanabe S, Zhuo XG, Uehara M, Kurasshige A. Phase 1 study of multiple biomarkers for metabolism and oxidative stress after one-week intake of broccoli sprouts. *BioFactors.* 2004;22(1-4):271-5.

42 Galan MV, Kishan AA, Silverman AL. Oral Broccoli Sprouts for the Treatment of Helicobacter pylori Infection: A Preliminary Report. *Dig Dis Sci.* 2004;49(7-8):1088-90.

43 Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *JAMA.* 1999;281(21):2005-2012.

44 Souza CG, Sattler JA, de Assis AM, Rech A, Perry ML, Souza DO. Metabolic Effects of Sulforaphane Oral Treatment in Streptozotocin-Diabetic Rats. *J Med Food.* 2012;15(9):795–801.

45 Hu R, Xu C, Shen G, Jain MR, Khor TO, Gopalkrishnan A, et al. Gene expression profiles induced by cancer chemopreventive isothiocyanate sulforaphane in the liver of C57BL/6J mice and C57BL/6J/Nrf2 (K/K) mice. *Cancer Lett.* 2006;243(2):170-92.

46 Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva, World Health Organization, 2011. Disponível em:

[http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/publications/atlas\\_cvd/en/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/atlas_cvd/en/), acesso realizado em 15 de novembro de 2013.

47 Hybertson BM, Gao B, Bose SK, Mccord MJ. Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol Aspects Med.* 2011;32(4-6):234–246.

48 Choi SW, Benzie IF, Ma SW, Strain JJ, Hanningan BM. Acute hyperglycemia and oxidative stress: Direct cause and effect? *Free Radic Biol Med* 2008;44(7):1217-31.

49 Peluso I, Morabito G, Urban L, Ioannone F, Serafini M. Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2012;12(4):351-60.

50 Agyeman AS, Chaerkady R, Shaw PG, Davidson, NE, Visvanathan K, Pandey A, Kensler TW. Transcriptomic and proteomic profiling of KEAP1 disrupted and sulforaphane-treated human breast epithelial cells reveals common expression profiles. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;132(1):175-187.

51 Watson GW, Beaver ML, Williams ED, Dashwood R, Ho E. Phytochemicals from Cruciferous Vegetables, Epigenetics, and Prostate Cancer Prevention. *AAPS J.* 2013;15(4):951-61.

52 Gatta L, Nimish V, Vaira D, Scarpignato C. Global eradication rates for *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis of sequential therapy *BMJ.* 2013;347:f4587.

53 Moon JK, Kim JR, Ahn YJ, Shibamoto T. Analysis and Anti-Helicobacter Activity of Sulforaphane and Related Compounds Present in Broccoli (*Brassica oleracea* L.) Sprouts. *J Agric Food Chem.* 2010;58(11):6672-7.

54 Fahey JW, Stephenson KK, Wade KL, Talalay P. Urease from *Helicobacter pylori* is inactivated by sulforaphane and other isothiocyanates. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;435(1):1-7.

## **ANEXO – Normas de Publicação das Revista Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**

### INSTRUÇÕES PARA AUTORES

#### **Informações Gerais**

Ressaltamos a importância de seguir estas instruções com atenção. O não respeito às normas acarretará atrasos ao processo de revisão do manuscrito (MS).

MS deve ser apresentado exclusivamente para os ABE&M, nunca ter sido publicado ou estar sob consideração para publicação, em forma substancial, em outro periódico, profissional ou leigo. O MS deve ser redigido em Inglês ou Português, em conformidade com as especificações descritas abaixo. Os autores que não são fluentes na forma escrita do idioma inglês recomenda-se que o seu MS seja revisado e editado por um expert nesse sentido antes da apresentação. Esta iniciativa deve facilitar e acelerar todo o processo de revisão e potencial publicação do seu MS.

Trabalhos que não cumpram estes requisitos serão devolvidos ao autor para adequação necessária antes da revisão pelo corpo editorial.

Todas as submissões são à princípio cuidadosamente avaliadas pelos editores científicos. Os MS que não estejam em conformidade com os critérios gerais para publicação serão devolvidos aos autores dentro de três a cinco dias. Os MS em conformidade são enviados habitualmente para dois revisores.

#### **Categorias de Manuscritos**

Contribuições originais de pesquisa podem ser submetidas aos ABE&M como artigo original ou comunicação resumida. Outras categorias especiais de MS são descritas abaixo. Todos os MS devem seguir as limitações de número de palavras para o texto principal, conforme especificado abaixo. O número total de palavras não inclui o resumo, as referências ou legendas de tabelas e figuras. O número de palavras deve ser anotado na página de rosto, juntamente com o número de figuras e tabelas. O formato é semelhante para todas as categorias de MS e é descrito em detalhes na seção "Preparação do Manuscrito".

#### Artigos Originais

O artigo original é um relatório científico dos resultados de pesquisa original, clínica ou laboratorial, que não tenha sido publicado, ou submetido para publicação, em outro periódico, seja em papel ou eletronicamente. O artigo original não deve exceder 3600 palavras no texto principal, não deve incluir mais de seis figuras e tabelas e ter até 35 referências.

#### Comunicação Resumida

A comunicação resumida consiste de dados originais de importância suficiente para justificar a publicação imediata. É uma descrição sucinta dos resultados confirmatórios ou negativos de um estudo focado, simples e objetivo. Objetividade e clareza aumentam a possibilidade de um manuscrito ser aceito para publicação como comunicação rápida. O texto principal deve ter no máximo 1500 palavras, até 20 referências e não mais que duas ilustrações (tabelas ou figuras ou uma de cada).

#### Artigos de Revisão

Os ABE&M publica artigos de revisão que apresentam uma avaliação crítica e abrangente da literatura sobre questões atuais no campo da endocrinologia e da metabologia nas áreas clínica ou básica. Todos os artigos de revisão são submetidos preferencialmente após convite dos ABE&M e estão sujeitos a revisão pelos pares. Artigos nesta categoria são encomendados pelos editores a autores com experiência comprovada na área de conhecimento, ou quando a proposta direcionada pelos autores em contato prévio, receber a aprovação do conselho editorial. Estes MS não devem ter mais de 4000 palavras no texto principal, não podem incluir mais de quatro figuras ou tabelas e até 60 referências. Os autores devem mencionar a fonte e/ou solicitar autorização para o uso de figuras ou tabelas publicadas previamente.

#### Diretrizes ou Consensos

Consensos ou diretrizes propostos por sociedades de profissionais, forças-tarefa e outras associações relacionadas com a Endocrinologia e Metabologia podem ser publicadas pela ABE&M. Todos os MS serão submetidos a revisão por

pares, devem ser modificáveis em resposta às críticas e serão publicados apenas se cumprirem as normas editoriais da revista. Estes MS habitualmente não devem ultrapassar 3600 palavras no texto principal, não devem incluir mais de seis figuras e tabelas e ter até 60 referências.

#### Relato de caso

Comunicação breve utilizada para apresentar relatos de casos, ou de caso isolado, de importância clínica ou científica. Estes relatórios devem ser concisos e objetivos. Devem conter dados de pacientes isolados ou de famílias que adicionem substancialmente conhecimento à etiologia, patogênese e história natural da condição descrita. O relato de caso deve conter até 2000 palavras, não incluir mais de quatro figuras e tabelas e ter até 30 referências.

#### Carta ao Editor

Cartas ao Editor podem ser apresentadas em resposta à artigos publicados no ABE&M nas últimas 3 edições. As cartas devem ser breves comentários relacionados a pontos específicos, de acordo ou desacordo, com o trabalho publicado. Dados originais publicados relacionados ao artigo publicado são estimulados. As cartas podem ter no máximo 500 palavras e cinco referências completas. Figuras e tabelas não podem ser incluídas.

### **Preparação do manuscrito**

#### FORMATO GERAL

Os ABE&M exige que todos os manuscritos (MS) sejam apresentados em formato de coluna única, seguindo as seguintes orientações:

- O manuscrito deve ser apresentado em formato Word.
  - Todo o texto deve ser em espaço duplo, com margens de 2 cm de ambos os lados, usando fonte Times New Roman ou Arial, tamanho 11.
  - Todas as linhas devem ser numeradas, no manuscrito inteiro, e todo o documento deve ser paginado.
  - Todas as tabelas e figuras devem ser colocadas após o texto e devem ser legendadas. Os MS submetidos devem ser completos, incluindo a página de título,

resumo, figuras e tabelas. Documentos apresentados sem todos esses componentes serão colocados em espera até que o manuscrito esteja completo.

Todas as submissões devem incluir:

- Uma carta informando a importância e relevância do artigo e solicitando que o mesmo seja para publicação nos ABE &M. No formulário de inscrição os autores podem sugerir até três revisores específicos e / ou solicitar a exclusão de até outros três.

O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

1. Página de título.
2. Resumo (ou Sumário para os casos clínicos).
3. Texto principal.
4. Tabelas e Figuras. Devem ser citadas no texto principal em ordem numérica.
5. Agradecimentos.
6. Declaração de financiamento, conflitos de interesse e quaisquer subsídios ou bolsas de apoio recebidos para a realização do trabalho.
7. Referências.

Página de Título

A página de rosto deve conter as seguintes informações:

1. Título do artigo.
2. Nomes completos dos autores e co-autores, departamentos, instituições, cidade e país.
3. Nome completo, endereço postal, e-mail, telefone e fax do autor para correspondência.
4. Título abreviado de no máximo 40 caracteres para títulos de página
5. Palavras-chave (recomenda-se usar MeSH terms e até 5).
6. Número de palavras - excluindo a página de rosto, resumo, referências, figuras e tabelas.
7. Tipo do manuscrito.

## RESUMOS

Todos os artigos originais, comunicados rápidos e relatos de casos deverão ser apresentados com resumos de no máximo 250 palavras. O resumo deve conter informações claras e objetivas sobre o estudo de modo que possa ser compreendido, sem consulta ao texto. O resumo deve incluir quatro seções que refletem os títulos das seções do texto principal. Todas as informações relatadas no resumo deve ter origem no MS. Por favor, use frases completas para todas as seções do resumo.

## INTRODUÇÃO

O propósito da introdução é estimular o interesse do leitor para o trabalho em questão com uma perspectiva histórica e justificando os seus objetivos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Devem ser descritos em detalhe como o estudo foi conduzido de forma que outros investigadores possam avaliar e reproduzir o trabalho. A origem dos hormônios, produtos químicos incomuns, reagentes e aparelhos devem ser indicados. Para os métodos modificados, apenas as novas modificações devem ser descritas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seção Resultados deve apresentar brevemente os dados experimentais tanto no texto quanto por tabelas e / ou figuras. Deve-se evitar a repetição no texto dos resultados apresentados nas tabelas. Para mais detalhes sobre a preparação de tabelas e figuras, veja abaixo. A Discussão deve se centrar na interpretação e significado dos resultados, com comentários objetivos, concisos, que descrevem sua relação com outras pesquisas nessa área. Na Discussão devemos evitar a repetição dos dados apresentados em Resultados, pode conter sugestões para explicá-los e deve terminar com as conclusões.

## AUTORIA

Os ABE&M adotam as diretrizes de autoria e de contribuição definidas pelo Comitê Internacional de Editores de Periódicos Médicos ([www.ICMJE.org](http://www.ICMJE.org)). Co-autoria irrestrita é permitido. O crédito de autoria deve ser baseado apenas em contribuições substanciais para:

1. concepção e desenho, análise ou interpretação de dados



2. redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual
3. aprovação final da versão a ser publicada.

Todas essas condições devem ser respeitadas. O primeiro autor é responsável por garantir a inclusão de todos os que contribuíram para a realização do MS e que todos concordaram com seu conteúdo e sua submissão aos ABE&M.

#### CONFLITO DE INTERESSES

Uma declaração de conflito de interesse para todos os autores deve ser incluída no documento principal, seguindo o texto, na seção Agradecimentos. Mesmo que os autores não tenham conflito de interesse relevante a divulgar, devem relatar na seção Agradecimentos.

#### AGRADECIMENTOS

A seção Agradecimentos deve incluir os nomes das pessoas que contribuíram para o estudo, mas não atendem aos requisitos de autoria. Os autores são responsáveis por informar a cada pessoa listada na seção de agradecimentos a sua inclusão e qual sua contribuição. Cada pessoa listada nos agradecimentos deve dar permissão - por escrito, se possível - para o uso de seu nome. É da responsabilidade dos autores coletar essas informações.

#### REFERÊNCIAS

As referências da literatura devem estar em ordem numérica (entre parênteses), de acordo com a citação no texto, e listadas na mesma ordem numérica no final do manuscrito, em uma página separada. Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. O número de referências citadas deve ser limitado, como indicado acima, para cada categoria de apresentação.

#### TABELAS

As tabelas devem ser apresentadas no mesmo formato que o artigo (Word). Atenção: não serão aceitas tabelas como arquivos de Excel. As tabelas devem ser auto-explicativas e os dados não devem ser repetidos no texto ou em figuras e conter as análises estatísticas. As tabelas devem ser construídas de forma simples e serem compreensíveis sem necessidade de referência ao texto. Cada tabela deve ter um título conciso. Uma descrição das condições experimentais pode aparecer em conjunto como nota de rodapé.

## GRÁFICOS E FIGURAS

Todos os gráficos ou Figuras devem ser numerados. Os autores são responsáveis pela formatação digital, fornecendo material adequadamente dimensionado. Todas as figuras coloridas serão reproduzidas igualmente em cores na edição online da revista, sem nenhum custo para os autores. Os autores serão convidados a pagar o custo da reprodução de figuras em cores na revista impressa. Após a aceitação do manuscrito, a editora fornecerá o valor dos custos de impressão.

## FOTOGRAFIAS

Os ABE&M preferem publicar fotos de pacientes sem máscara. Encorajamos os autores a obter junto aos pacientes ou seus familiares, antes da submissão do MS, permissão para eventual publicação de imagens. Se o MS contiver imagens identificáveis do paciente ou informações de saúde protegidas, os autores devem enviar autorização documentada do próprio paciente, ou pais, tutor ou representante legal, antes do material ser distribuído entre os editores, revisores e outros funcionários dos ABE&M. Para identificar indivíduos, utilizar uma designação numérica (por exemplo, Paciente 1); não utilizar as iniciais do nome.

## UNIDADES DE MEDIDA

Os resultados devem ser expressos utilizando o Sistema Métrico. A temperatura deve ser expressa em graus Celsius e tempo do dia usando o relógio de 24 horas (por exemplo, 0800 h, 1500 h).

## ABREVIATURAS PADRÃO

Todas as abreviaturas no texto devem ser definidas imediatamente após a primeira utilização da abreviatura.

## PACIENTES

Para que o MS seja aceito para submissão, todos os procedimentos descritos no estudo devem ter sido realizados em conformidade com as diretrizes da Declaração de Helsinque e devem ter sido formalmente aprovados pelos comitês de revisão institucionais apropriados, ou seu equivalente.

As características das populações envolvidas no estudo devem ser detalhadamente descritas. Os indivíduos participantes devem ser identificados apenas por números ou letras, nunca por iniciais ou nomes. Fotografias de rostos de

pacientes só devem ser incluídos se forem cientificamente relevantes. Os autores devem obter o termo de consentimento por escrito do paciente para o uso de tais fotografias. Para mais detalhes, consulte as Diretrizes Éticas.

Os pesquisadores devem divulgar aos participantes do estudo potenciais conflitos de interesse e devem indicar que houve esta comunicação no MS.

#### ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Deve ser incluída uma declaração confirmando que toda a experimentação descrita no MS foi realizada de acordo com padrões aceitos de cuidado animal, como descrito nas Diretrizes Éticas.

#### DESCRIÇÃO GENÉTICA MOLECULAR

Usar terminologia padrão para as variantes polimórficas, fornecendo os números de rs para todas as variantes relatadas. Detalhes do ensaio, como por exemplo as sequências de iniciadores de PCR, devem ser descritos resumidamente junto aos números rs . Os heredogramas devem ser elaborados de acordo com normas publicadas em Bennett et al .J Genet Counsel (2008) 17:424-433 -. DOI 10.1007/s10897-008-9169-9.

#### NOMENCLATURAS

Para genes, use a notação genética e símbolos aprovados pelo Comité de Nomenclatura HUGO Gene (HGNC) - ( <http://www.genenames.org/~V> ).

Para mutações siga as diretrizes de nomenclatura sugeridos pela Sociedade Human Genome Variation (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>)

- Fornecer e discutir os dados do equilíbrio Hardy-Weinberg dos polimorfismos analisado na população estudada. O cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg pode ajudar na descoberta de erros de genotipagem e do seu impacto nos métodos analíticos.

- Fornecer as frequências originais dos genótipos, dos alelos e dos haplotipos
- Sempre que possível, o nome genérico das drogas devem ser referidos. Quando um nome comercial de propriedade é usado, ele deve começar com letra maiúscula.
- Siglas devem ser usados com moderação e totalmente explicadas quando usadas pela primeira vez.

## TRABALHOS APRESENTADOS EM INGLÊS

O MS deve ser escrito em Inglês claro e conciso. Evite jargões e neologismos. A revista não está preparada para realizar grandes correções de linguagem, o que é de responsabilidade do autor. Se o Inglês não é a primeira língua dos autores, o MS deve ser revisado por um especialista em língua inglesa ou um nativo. Para os não-nativos da língua inglesa e autores internacionais que gostariam de assistência com a sua escrita antes da apresentação, sugerimos o serviço de edição científica do American Journal Experts (<http://www.journalexperts.com/index.php>) ou o PaperCheck (<http://www.papercheck.com/>).