



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Priscila Alves Maranhão

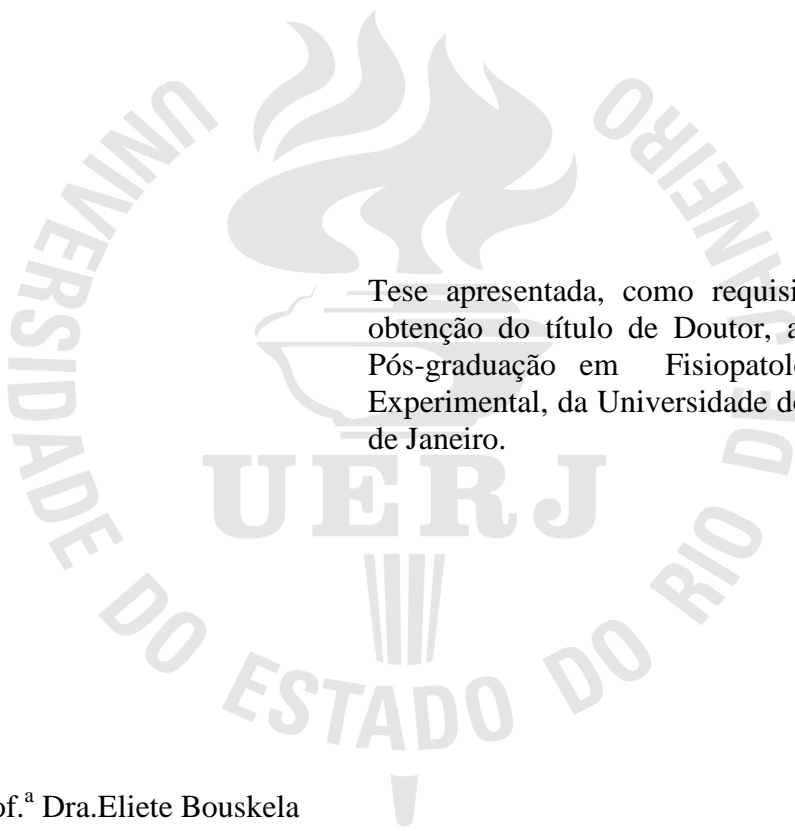
**Avaliação do efeito da sobrecarga lipídica na reatividade microvascular em
mulheres obesas**

Rio de Janeiro

2013

Priscila Alves Maranhão

**Avaliação do efeito da sobrecarga lipídica na reatividade microvascular
em mulheres obesas**



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Eliete Bouskela

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar

Rio de Janeiro

2013

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

M311 Maranhão, Priscila Alves.

Avaliação do efeito da sobrecarga lipídica na reatividade microvascular em mulheres obesas / Priscila Alves Maranhão. - 2013.
91 f.

Orientadora: Eliete Bouskela.

Coorientador: Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar.

Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Faculdade de Ciências Médicas, Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Obesidade - Teses. 2. Obesidade nas mulheres - Teses. 3. Doenças cardiovasculares - Fatores de risco. 4. Lipídios - Distúrbios do metabolismo - Teses. 5. Hiperlipidemia - Teses. 6. Mulheres - Hábitos alimentares - Teses. 7. Período pós-prandial. I. Bouskela, Eliete. II. Aguiar, Luiz Guilherme Kraemer de. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.153.915:616.056.5-055.2

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Priscila Alves Maranhão

**Avaliação do efeito da sobrecarga lipídica na reatividade microvascular
em mulheres obesas**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 24 de abril de 2013.

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Eliete Bouskela (Orientadora)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Eduardo Vera Tibiriçá
Fundação Oswaldo Cruz

Prof.^a Dra. Denise Pires de Carvalho
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Felipe Sanjuliani
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof. Dr. Egberto Gaspar de Moura
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes- UERJ

Rio de Janeiro

2013

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por serem tudo: meu caminho de luz e porto seguro.

AGRADECIMENTOS

Meu eterno agradecimento aos meus orientadores, Profa. Eliete Bouskela e Prof. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar. Profa. Eliete, minha imensa gratidão por seus ensinamentos, pelo respeito aos meus escritos, pela paciência e generosidade ao me acolher em seu laboratório. Prof. Guilherme, obrigada pela orientação científica, por todo auxílio e força ao longo desses anos.

Aos meus queridos companheiros de pesquisa, que se tornaram grandes amigos, alegrando o meu dia-a-dia: Maria das Graças Coelho de Souza, Ingrid Bárbara Dias, Diogo Panazzolo, Lucia Henriques e Maria Aparecida Faria de Oliveira.

Aos meus companheiros do BioVasc, principalmente à Flavia Veiga e Eliza Cândida, por todo o suporte para a realização desse trabalho.

Aos meus pais, Demóstenes e Rosane e ao meu irmão, Pedrinho – pelas manifestações de amor constante, e por entenderem minhas ausências durante a escrita da tese.

Ao meu marido Raul, grande companheiro, meu agradecimento por tudo, principalmente por me fazer muito feliz.

Aos meus Dindos Etiene e Júlio, por serem excelentes anjos da guarda e me ajudarem desde sempre.

À minha estrelinha guia, Dona Lilita. Tenho você comigo, todos os dias, todas as horas e para sempre.

À minha tia Nilza, por me incentivar (muitas vezes sem saber) nessa caminhada da vida.

Aos meus grandes amigos: Carlos Eduardo Mascarenhas, Pilar Raphael, Vivi Marinho, Raquel Mezzavilla e Mariana Gonçalves: agradeço à vocês pelo companheirismo, palavras de conforto e abraços apertados.

À equipe do Laboratório de Lípidos (Lablip/UERJ), principalmente ao Prof. Dr. José Firmino Nogueira Neto e a Vânia Penha, por toda atenção e disponibilidade.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental pela oportunidade de aprendizado acadêmico.

À FAPERJ pelo suporte financeiro, e às participantes do projeto, por terem contribuído para a realização desse sonho.

O navio está seguro no porto. Mas não foi para isso que foi construído, senão para ir ao mar alto e enfrentar as ondas. Isso vale para a vida.

Leonardo Boff

RESUMO

MARANHÃO, Priscila Alves. *Avaliação do efeito da sobrecarga lipídica na reatividade microvascular em mulheres obesas*. 2013. 91 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

As mudanças nos hábitos alimentares têm causado efeitos impressionantes na saúde pública, diretamente relacionados ao aumento da ingestão de refeições ricas em gorduras, principalmente gorduras saturadas. A principal consequência desse consumo é o estado prolongado e excessivo da lipemia pós-prandial (LPP), considerada um dos fatores relacionados às anormalidades metabólicas e aos danos vasculares. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da sobrecarga lipídica na reatividade microvascular em mulheres obesas. Das 41 participantes deste estudo, 21 apresentavam o diagnóstico de obesidade, com IMC de $32,4 \pm 1,6$ kg/m² (média \pm SD) e idade $31,6 \pm 5$ anos e 20 mulheres saudáveis, com IMC de $21,9 \pm 1,7$ kg/m² e idade $27,2 \pm 5,5$ anos. Após a avaliação clínica e laboratorial, as participantes tiveram a microcirculação examinada por dois métodos: a dinâmica do leito periungueal, para avaliação da densidade capilar funcional (DCF), velocidade de deslocamento das hemácias no basal (VDH) e após uma isquemia de 1 min (VDH_{max}) e tempo de reperfusão (TVDH_{max}). A segunda técnica foi a do dorso do dedo para avaliação da DCF no repouso, durante a hiperemia reativa e após oclusão venosa. Foi feita a coleta de sangue para avaliação do colesterol total (CT), triglicérides (TG), HDL-c e ácidos graxos livres (AGL), glicose, insulina e viscosidade plasmática em 30 e 50 rotações por minuto (rpm). Também foram medidas a pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC). Após essas análises no repouso, todas as participantes receberam uma refeição rica em lipídios, e após 30, 60, 120 e 180 minutos da ingestão da refeição, os exames de videocapilaroscopia e a coleta de sangue foram novamente realizados. As participantes com obesidade apresentaram, após a sobrecarga lipídica, valores significativamente menores do que no jejum para: DCF basal do dorso do dedo ($p=0,02$); DCF durante hiperemia reativa ($p=0,02$), DCF pós-occlusão venosa ($p=0,02$), HDL-c ($p<0,0001$), LDL-C ($p<0,0001$) e AGL ($p<0,0001$) e valores elevados para: VDH ($p<0,0001$), VDH_{max} ($p=0,003$), TVDH_{max} ($p=0,004$), glicose ($p<0,0001$), insulina ($p<0,001$), CT ($p=0,03$), TG ($p<0,0001$) e FC ($p=0,03$). Alterações na viscosidade não foram observadas no grupo OB após a refeição quando comparado aos seus valores basais em 30 e 50 rpm ($p=0,87$ e $p=0,42$, respectivamente). A PAS foi elevada nas participantes OB após a sobrecarga quando comparada às saudáveis em todo tempo de estudo. Concluímos que alimentos ricos em lipídios podem aumentar ainda mais a disfunção microcirculatória e as alterações metabólicas já presentes em mulheres obesas.

Palavra-chaves: Obesidade. Disfunção microcirculatória. Lipemia pós-prandial. Videocapilaroscopia.

ABSTRACT

Changes in eating habits have caused striking effects on public health, directly related to increased intake of food rich in fat, mainly saturated fat. The main consequence of this consumption is the excessive and prolonged state of postprandial lipemia (PPL), considered one an important factor related to metabolic abnormalities and vascular damage. The aim of this study was to assess effects of fat overload on microvascular reactivity in obese women. Of the 41 study participants, 21 had the diagnosis of obesity, with BMI of 32.4 ± 1.6 kg/m² (mean \pm SD) and age of 31.6 ± 5 years and 20 healthy women with BMI of 21.9 ± 1.7 kg/m² and age 27.2 ± 5.5 years. After clinical and laboratorial assessment, participants had the microcirculation examined by two methods: dynamic, using the nailfold bed to assess functional capillary density (FCD), red blood cell velocity in control conditions (RBCV) and peak (RBCV_{max}) and time (TRBCV_{max}) to reach it after 1 min arterial occlusion. The second technique was the finger dorsum to assess FCD at rest and during the reactive hyperemia response and after venous occlusion. Blood sampling was performed to determine total cholesterol (TC), triglycerides (TG), HDL-C and free fatty acids (FFA), glucose, insulin and plasma viscosity at 30 and 50 rotations per minute (rpm). Systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressures and heart rate (HR) were also measured. After these measurements at rest, all participants received a meal rich in lipids, and after 30, 60, 120 and 180 min after ingestion, videocapillaroscopy exams and blood samples were taken again. *Results* - Obese participants, after fat overload, presented significantly lower values than at rest at finger dorsum of FCD ($p = 0.02$), FCD during reactive hyperemia ($p = 0.02$) and post-venous occlusion ($p = 0.02$), HDL-C ($p < 0.0001$), LDL-C ($p < 0.0001$) and FFA ($p < 0.0001$) and high values for: RBCV at rest ($p < 0.0001$), RBCV_{max} ($p = 0.003$), TRBCV_{max} ($p = 0.004$), glucose ($p < 0.0001$), insulin ($p < 0.0001$), CT ($P = 0.03$), TG ($P < 0.0001$) and HR ($P = 0.03$). Changes in viscosity were not observed in obese group after a meal, when compared to baseline values at 30 and 50 rpm ($p = 0.87$ and $p = 0.42$, respectively). SBP was higher in obese participants after overload compared to healthy ones throughout the study period. We conclude that high fat food can further increase microcirculation dysfunction and metabolic abnormalities already present in obese women.

Keywords: Obesity. Microcirculation dysfunction. Postprandial lipemia. Videocapillaroscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Desenho experimental do estudo	36
Figura 2 –	Descrição das etapas do estudo	36
Figura 3 –	Localização de análise da videocapilaroscopia dinâmica do leito periungueal e do dorso do dedo.....	39
Figura 4 –	Esquema de metodologia da técnica de videocapilaroscopia no dorso do dedo.....	39
Figura 5 –	Representação esquemática das camadas imaginárias de um líquido durante o fluxo laminar e os efeitos da viscosidade.....	41
Figura 6 –	Recrutamento de pacientes para o estudo	43
Figura 7 -	Caracterização das obesas em relação à síndrome metabólica.....	45
Figura 8 –	Comparação da DCF usando o método de videocapilaroscopia dinâmica do leito periungueal em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	46
Figura 9–	Comparação da DCF basal usando o método do dorso do dedo em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	47
Figura 10 –	Comparação da DCF durante a hiperemia reativa usando o método do dorso do dedo em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	48
Figura 11 –	Comparação da DCF pós oclusão venosa usando o método do dorso do dedo em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	49
Figura 12 –	Comparação do recrutamento capilar em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	49
Figura 13-	Comparação da VDH em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	50
Figura 14-	Comparação da VDH_{max} em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	51
Figura 15 –	Comparação do percentual do incremento na VDH_{Max} entre mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	52

Figura 16 –	Comparação do comportamento do $TVDH_{max}$ em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	53
Figura 17-	Comparação da viscosidade plasmática em 30 e 50 rpm das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	54
Figura 18-	Comparação da pressão arterial sistólica, da pressão diastólica e da frequência cardíaca das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	55
Figura 19-	Comparação e AUC 3h dos níveis de glicose em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	56
Figura 20-	Comparação e AUC 3h dos níveis de insulina em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	57
Figura 21-	Comparação e AUC 3h dos níveis de CT em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	57
Figura 22-	Comparação e AUC 3h dos níveis de LDL-c em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	58
Figura 23-	Comparação e AUC 3h dos níveis de HDL-c em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	59
Figura 24-	Comparação e AUC 3h dos níveis de TG das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	60
Figura 25-	Comparação e AUC de 3h dos níveis de AGL em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Comparação dos principais estudos avaliando o estado pós-prandial em indivíduos saudáveis.....	27
Tabela 2 -	Comparação dos principais estudos avaliando o estado pós-prandial em indivíduos com alterações metabólicas.....	29
Tabela 3 –	Características antropométricas, de composição corporal, e da pressão arterial da amostra estudada no recrutamento média±DP e mediana [1 ^a e 3 ^a quartis].....	44
Tabela 4 –	Características bioquímicas da amostra estudada no recrutamento média±DP e mediana [1 ^a e 3 ^a quartis].....	45
Tabela 5 -	Resumo dos achados.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA-	American Diabetes Association
ADP –	Adiponectina
AGL -	Ácidos graxos livres
AGS -	Ácidos graxos saturados
APO -	Apolipoproteínas
AUC –	Area under curve
AVC -	Acidente vascular cerebral
BH ₄ –	Tetrahidrobiopterina
BioVasc –	Laboratório de Pesquisas Clínicas e Experimentais em Biologia Vascular
C –	Controles
CAT –	Capacidade antioxidante total
CEU –	Contraste de ultrassom
CT –	Colesterol total
DCF –	Densidade Capilar Funcional
DCV -	Doença cardiovascular
DM2 –	Diabetes Mellitus do tipo 2
EDD –	Dilatação dependente do endotélio
eNOS –	NO-sintase endotelial
FBF –	Fluxo de sangue do antebraço
FC –	Frequência cardíaca
FL –	Fosfolípidos
FMD –	Vasodilatação mediada pelo fluxo
Gpx –	Glutathione peroxidase
HDL –	High density lipoprotein
IACV -	Coefficiente de variação inter-ensaio
IAM -	Infarto agudo do miocárdio
IDL -	Intermediate density lipoprotein
IL-6 –	Interleucina-6
IMC –	Índice de massa corporal
Lablip –	Laboratório de Lípidos

LDF -	Laser Doppler fluxometria
LDL -	Low density lipoprotein
LP -	Lipoproteína
LPL -	Lipoproteína lipase
LPP -	Lipemia pós-prandial
MMP-2 -	Metaloproteinase-2
MMP-9 -	Metaloproteinase-9
NFkB -	NF kappa beta
NO -	Óxido Nítrico
O ₂ ⁻ -	Superóxido
OB -	Obesos
OMS -	Organização mundial de saúde
ONOO ⁻ -	Peroxinitrito
PAD -	Pressão arterial diastólica
PAI-1 -	Plasminogênio-1
PAS -	Pressão arterial sistólica
PCR -	Proteína Creativa
PPC -	Policlínica Piquet Carneiro
PWVc-f -	Velocidade da onda de pulso da carótida
QM -	Quilomicrons
RBC -	Red blood cell
RCQ -	Relação cintura-quadril
RH-PAT -	Tonometria arterial
RI -	Resistência à insulina
RME -	Ressonância magnética espectroscópica
RPM -	Rotações por minuto
SM -	Síndrome metabólica
TG -	Triglicerídeos
TNF α -	Fator de necrose tumoral
TOTG -	Teste oral de tolerância à glicose
TVDH _{max} -	Tempo de reperfusão
VDH -	Velocidade de deslocamento das hemácias
VDH _{max} -	Velocidade de deslocamento das hemácias na hiperemia reativa

VLDL – Very low density lipoprotein

vWf – Factor Willebrand

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	16
1	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
1.1	Metabolismo de lipídios e lipemia pós-prandial.....	17
1.2	Lipemia pós-prandial em indivíduos saudáveis.....	20
1.3	Lipemia pós-prandial e alterações fisiopatológicas da obesidade.....	21
1.4	Lipemia pós-prandial e prejuízos endoteliais.....	22
1.5	Estado pós-prandial e prejuízos microcirculatórios.....	23
1.6	O Papel da insulina	25
2	HIPÓTESE.....	31
3	OBJETIVOS.....	32
3.1	Objetivo primário.....	32
3.2	Objetivos secundários.....	32
3.2.1	<u>Objetivo secundário 1.....</u>	32
3.2.2	<u>Objetivo secundário 2.....</u>	32
3.2.3	<u>Objetivo secundário 3.....</u>	32
3.2.4	<u>Objetivo secundário 4.....</u>	32
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1	Participantes.....	33
4.2	Critérios de inclusão e exclusão.....	33
4.3	Seleção da amostra.....	34
4.3.1	<u>Visita de recrutamento (triagem).....</u>	34
4.3.2	<u>Visita do exame (Sobrecarga Lipídica).....</u>	35
4.4	Desenho Experimental.....	36
4.5	Coleta de sangue durante a sobrecarga lipídica.....	37
4.6	Análises laboratoriais da sobrecarga lipídica.....	37
4.7	Análises dos ácidos graxos livres e insulina.....	37
4.8	Avaliação da microcirculação cutânea.....	37
4.8.1	<u>Videocapilaroscopia dinâmica do leito peringueal.....</u>	38
4.8.2	<u>Videocapilaroscopia do dorso do dedo.....</u>	38
4.9	Caracterização da sobrecarga lipídica.....	40
4.10	Viscosidade do plasma.....	40

4.11	Estatística e análise	41
5	RESULTADOS	43
5.1	Características antropométricas e de composição corporal	44
5.2	Características metabólicas	44
5.3	Características microcirculatórias	46
5.3.1	<u>Densidade capilar funcional (DCF)</u>	46
5.3.2	<u>Recrutamento Capilar</u>	49
5.3.3	<u>Velocidade de deslocamento das hemácias</u>	50
5.3.4	<u>Percentual de incremento na VDH_{max}</u>	51
5.3.5	<u>Tempo de reperfusão ($TVDH_{max}$)</u>	52
5.4	Viscosidade plasmática	53
5.5	Pressão arterial	54
5.6	Variáveis metabólicas	55
5.7	Ácidos graxos livres (AGL)	60
6	DISCUSSÃO	62
7	RESUMO DOS ACHADOS	71
8	CONCLUSÃO	72
9	PERSPECTIVAS FUTURAS	73
	REFERÊNCIAS	74
	APÊNDICE – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	88
	ANEXO – Carta de aprovação do estudo no comitê de ética e pesquisa.....	91

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica definida pelo excesso de gordura corporal, como resultado de um desequilíbrio energético influenciado por fatores comportamentais, ambientais e genéticos (Grundy, 1998). Atualmente, vem sendo considerada um problema de saúde pública em todo mundo por aumentar a prevalência de infarto agudo do miocárdio (IAM), resistência à insulina (RI) (Maron et al., 1991) e diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) (Skoczynska et al., 2009). Nos EUA, nos últimos 15 anos, houve um aumento considerável no número de indivíduos com a doença, de forma que cerca de um terço da população do país é acometida pelo problema. O mesmo fenômeno ocorre na Europa (especialmente em sua parte oriental) e na América Latina (Aucott et al., 2005).

No Brasil, os dados mais recentes demonstram que houve um aumento importante nas últimas décadas de indivíduos com excesso de peso. Comparando-se as pesquisas realizadas em 1974-75 e 2008-09 foi possível observar que houve, nesses 34 anos, um aumento de quase quatro vezes na prevalência da obesidade em homens e de duas vezes nas mulheres (IBGE, 2010). A explicação para essa mudança estaria nos níveis crescentes de sedentarismo, mas, principalmente na alteração dos hábitos alimentares da população, que diminuiu o consumo das fibras em 68% enquanto aumentou em 82% o consumo de alimentos ricos em gorduras, principalmente as gorduras saturadas (IBGE, 2010).

Nos dias atuais, o consumo excessivo de gorduras e a diminuição do intervalo entre as refeições resultam em um aumento exagerado e prolongado dos níveis de triglicerídeos, sendo considerado um fator de risco cardiovascular (IBGE, 2010; Plotnick et al., 1997). Assim, a lipemia pós-prandial (LPP) tem sido reconhecida como um dos principais preditores de aterosclerose e, conseqüentemente, um fator de risco cardiovascular (Grundy e Denke, 1990). Além disso, alguns estudos vem demonstrando que outros processos são causados no estado pós-prandial, como a disfunção endotelial (Jonk et al., 2011) e o aumento de citocinas inflamatórias (Couillard et al., 1998). A literatura enfatiza a importância do desenvolvimento de estudos com novos métodos capazes de diagnosticar, para prevenir o surgimento de comorbidades e redução de risco de mortalidade.

Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da sobrecarga lipídica na reatividade microvascular de mulheres obesas através de métodos indolores e não invasivos. Nossa hipótese era de que a obesidade *per se* provocaria respostas mais amplificadas na função microcirculatória e na resposta metabólica.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Metabolismo de lipídios e lipemia pós-prandial

Os principais lipídios existentes no organismo são os triglicerídeos (TG), fosfolipídeos (FL) e colesterol (CT). Para serem transportados, uma vez que são hidrofóbicos, se acoplam a proteínas formando complexos solúveis chamados lipoproteínas (LP). Elas são classificadas de acordo com sua densidade (que varia de acordo com a quantidade de TG, ou seja, quanto maior a quantidade deste, menor a densidade) e englobam: os quilomícrons (QM), caracterizados por maior conteúdo de TG, decorrente da dieta; a lipoproteína de muito baixa densidade, do inglês *very low density lipoprotein* (VLDL), com partículas um pouco menores que os QM; a seguir encontram-se as lipoproteínas de densidade intermediária ou IDL (*intermediate density lipoprotein*) e a lipoproteína de baixa densidade ou LDL (*low density lipoprotein*), que são as principais carreadoras do colesterol na circulação, e por fim, a lipoproteína de alta densidade ou HDL (*high density lipoprotein*), que apresenta conteúdo lipídico reduzido e é formada principalmente por FL (Mero et al., 2000).

As LP apresentam em sua composição proteínas importantes para a sua solubilização no meio aquoso e para seu metabolismo conhecidas como apolipoproteínas (APO) A, B, C e E. A apo A, por exemplo, constitui o HDL e modula a retirada de CT das células; a apo B está presente no QM (apo B-48), VLDL e LDL (apo B-100) mantendo-se fixas em suas LP e modulando a atividade de enzimas, direcionando as LP aos locais de catabolismo e interagindo com receptores específicos. Já a apo C regula a atividade da lipoproteína lipase (LPL), enzima localizada na superfície endotelial dos capilares (Goldberg, 1996), cuja função é hidrolisar TG em ácidos graxos (AG), monoglicerídeos e diacilgliceróis, que permite o fornecimento de ácidos graxos livres (AGL) aos tecidos periféricos. Por último, tem-se a APO E, que estimula a captação de QM, VLDL e LDL. Além da LPL, a enzima lipase hepática é importante para o metabolismo lipídico e tem como função, remover TG e FL dos QM e dos remanescentes de VLDL, também conhecidos por IDL (Ginsberg, 1998).

Os remanescentes de VLDL ou IDL seguem dois caminhos na circulação, 2/3 podem ser captados pelo fígado por receptores de apo B e apo E e degradados em seus componentes, enquanto o terço restante sofre ação da lipase hepática, formando a proteína de baixa densidade (LDL). Nessa transformação de VLDL para LDL há a eliminação de todas as apo C e E, restando unicamente para o LDL a apo B-100, assim, ele consegue ligar-se ao fígado de maneira monovalente. Ao contrário do IDL que contém cópias de apo E e apo B-100, o LDL

só tem a apo B-100, o que gera uma competição na ligação com receptores hepáticos para sua remoção. Com isso, o IDL tem a taxa de remoção mais rápida do que a do LDL (Ginsberg, 1998).

Após a ingestão de uma refeição rica em gordura, os lipídios dietéticos são hidrolisados no intestino pela enzima lipase pancreática a AGL e monoglicerídeos. Esses são absorvidos pelo enterócito e transportados para o retículo endoplasmático, onde são “re-sintetizados” em TG. Os TG são “agregados” com a apo B-48 em um grande QM, que por fim é secretado nos vasos linfáticos e, após alcançar o ducto torácico, atinge a circulação sistêmica (Chan et al., 2013). Este QM sofre a ação da LPL, diminuindo conseqüentemente o seu tamanho, podendo ser denominado de QM remanescente. Outro caminho na absorção dos lipídios é o de ser estocado na forma de TG dentro do enterócito ou ainda ser hidrolisado em outras formas como éster de colesterol ou FL e por último, serem oxidados (Hughes et al., 1996).

O estado de absorção durante o qual a capacidade de metabolizar triglicerídeos é desafiada denomina-se lipemia pós-prandial (LPP) (Plotnick et al., 1997). A LPP é um fenômeno fisiológico; contudo a LPP patológica, resulta do aumento exagerado e prolongado dos TG, que ocorre em conseqüência da diminuição da atividade do receptor hepático, através de um defeito na ligação desses receptores e pela lipólise prejudica pelo LPL. A APOC-III também regula esse processo, tendo grande importância na patogênese da hipertrigliceridemia, agindo como um inibidor da LPL e da captação de TG remanescentes pelos receptores de lipoproteínas hepáticas (Chan et al., 2008). Além disso, a superprodução de VLDL, que compete com os QM remanescentes por “clearance” pode exacerbar a resposta pós-prandial (Adiels et al., 2008).

Por esse motivo a LPP tem sido considerada como fator de risco para as DCVs, relacionado ao aumento das concentrações de LP ricas em TG e IDL e VLDL após a ingestão da gordura (Burdge e Calder, 2005).

Nos dias de hoje, tem-se conhecimento que o aumento inicial dos níveis de TG ocorre na fase cefálica, quando a refeição pode induzir um aumento dos níveis de QM mesmo antes de ser consumida (Mattes, 2009). Isto ocorre somente pela observação do alimento, em conseqüência dos enterócitos armazenarem TG por até 16h (Robertson et al., 2002). Sabe-se que 10-12% dos TG consumidos na refeição anterior serão na próxima refeição novos QM nos primeiros 15-20 minutos (Chavez-Jauregui et al., 2010). Esse resultado seria menos preocupante se os indivíduos consumissem uma refeição por dia, mas ao contrário disso, há o consumo subsequente, onde na refeição seguinte haverá maior liberação de QM das refeições

anteriores pelo enterócitos, tornando-se um ciclo vicioso (Evans et al., 1998). O consumo exagerado de lipídios normalmente é encontrado em indivíduos obesos e com desordens metabólicas associadas, sendo as populações de maiores riscos para DCV (Miller et al., 1990). Isto porque o obeso ou diabético do tipo 2 apresentam a resistência à insulina, que vem tendo um papel central no desenvolvimento da dislipidemia e na piora do metabolismo de lipídios no estado pós-prandial (Adiels et al., 2008). Sabe-se que na obesidade, o aumento da adiposidade aumenta o fluxo de AGL no fígado, este não apenas estimula a gliconeogênese hepática e a síntese de TG, mas também prejudica a extração de insulina hepática. A resistência à insulina presente no obeso pode aumentar ainda mais a lipogênese hepática e a entrega de AGL e TG ao fígado, conseqüentemente levando ao acúmulo de gordura hepática e a secreção de VLDL. Além disso, a resistência à insulina hepática pode prejudicar a expressão e a atividade do receptor de LDL no fígado, o qual aumenta o catabolismo de LDL apoB-100 (Duez et al., 2006). Por esses motivos, há evidências do dano no metabolismo de lipídios em indivíduos com obesidade (Blackburn et al., 2003).

Entretanto, no indivíduo saudável, o metabolismo dos lipídios ingeridos na dieta ocorre adequadamente desde que haja uma sensibilidade à insulina normal. Atualmente sabe-se que o aumento dos níveis da insulina no estado pós-prandial em indivíduos hígidos, resulta na redução da produção do VLDL e na diminuição da lipólise do tecido adiposo, atenuando a resposta amplificada da refeição, que causaria danos endoteliais, inflamatórios e de estresse oxidativo (Pastromas et al., 2008)

O estresse oxidativo, definido como desequilíbrio entre a quantidade de antioxidantes e de radicais livres (Higdon e Frei, 2003) é apontado como um fator importante na alteração do perfil lipídico (Yu, 1994). Principalmente pela oxidação de partículas de LDL-c, que ao serem oxidadas, tornam-se importantes fatores para o início do processo inflamatório e o surgimento da aterosclerose (Dandona et al., 2001).

Paralelamente, a viscosidade do plasma e do sangue total também aparece aumentada em indivíduos com hipertrigliceridemia familiar (Otto et al., 2001; Rosenson e Lowe, 1998). A viscosidade do sangue é determinada principalmente pelas propriedades mecânicas (deformabilidade e agregação) das células vermelhas (RBCs) e pelo plasma (Cicha et al., 2001). Estudos observam que os distúrbios do metabolismo de TG são acompanhados do aumento da viscosidade no sangue total, plasma e soro, além do aumento da atividade trombótica e da fibrinólise. Entretanto não foram encontrados estudos avaliando a viscosidade sanguínea/plasmática em obesos após uma sobrecarga lipídica.

1.2 Lipemia pós-prandial em indivíduos saudáveis

Os humanos em função dos seus hábitos alimentares vivem a maior parte do dia em um estado pós-prandial (Anderson et al., 2001). O estresse agudo repetido, induzido pela ingestão de uma refeição rica em gordura, principalmente saturada, pode contribuir para eventos cardíacos estimulando o desenvolvimento da aterosclerose (O'Keefe e Bell, 2007). O fator de risco principal para o início desse processo é o aumento dos níveis dos TG plasmáticos. Atualmente questiona-se a quantificação dos TG em jejum como fator de risco cardiovascular e sugere-se que essa verificação deveria ser realizada no estado pós-prandial (Hyson et al., 2003). Com isso, seria possível avaliar a capacidade do indivíduo para metabolizar os TG, o que permitiria intervenções mais eficazes para a redução do risco de DCV. Infelizmente não há um consenso, mas na prática clínica sugere-se que o ideal seria uma única mensuração de TG plasmático 4h após uma sobrecarga lipídica (Kolovou et al., 2011).

Evidências sugerem que indivíduos saudáveis já apresentam alterações fisiológicas e metabólicas quando consomem refeições ricas em lipídios (Derosa et al., 2010). Apesar de serem alterações modestas (Raz et al., 2013), observa-se que o aumento dos níveis de TG ocorre de maneira gradual com pico entre 3 a 4 horas após a refeição, alcançando a normalização após 6h. Em relação ao perfil lipídico, nota-se que os níveis de LDL-c e CT não se apresentam alterados após a refeição, porém, há o aumento significativo dos níveis de insulina, mas não dos níveis de glicose (Aucott et al., 2005; Kris-Etherton e Yu, 1997; Raitakari et al., 2000).

A resposta metabólica, inflamatória e trombótica dos indivíduos hígidos apresenta resultados controversos. Alguns estudos notam que marcadores como a proteína C reativa (PCR), fibrinogênio, inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) e adiponectina não se alteram, enquanto os níveis de resistina aumentam significativamente, paralelamente ao aumento dos níveis de TG e insulina, indicando um perfil pró-aterogênico da LPP (Signori et al., 2008). Contudo, há estudos que observaram o aumento da PCR nas primeiras 2h após a refeição (Raz et al., 2013), e o decréscimo dos níveis do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) (Peairs et al., 2011).

Além disso, o estresse oxidativo, aparece aumentado nos indivíduos saudáveis no estado pós-prandial (Bae et al., 2003). Há evidências da redução dos níveis da enzima antioxidante glutationa peroxidase (GPx) e da capacidade antioxidante total (CAT), enquanto

há o aumento dos níveis de isoprostano (Tsai et al., 2004) e conseqüentemente dos radicais livres induzidos pela refeição rica em gordura (Bae et al., 2001).

As discrepâncias encontradas na literatura podem ser o resultado das diferentes composições de lipídios e da energia contida nas refeições e principalmente da adiposidade dos indivíduos estudados (Gregersen et al., 2012), além do tempo de seguimento das variáveis. Poucos estudos avaliam o indivíduo por 12h, o que seria o ideal para verificar com mais clareza as mudanças fisiológicas e metabólicas; porém é quase impraticável 12h de seguimento para um estudo clínico, ainda mais se tratando de indivíduos saudáveis. Estudos com seguimento da LPP entre 3-6h já demonstram resultados bastante significativos (Anderson et al., 2001; Signori et al., 2008), como pode ser observado na Tabela 1.

1.3 Lipemia pós-prandial e alterações fisiopatológicas na obesidade

Desde que em 1979 Zilversmit trabalhou com a hipótese que o desenvolvimento da aterosclerose seria um fenômeno pós-prandial (Zilversmit, 1979), estudos vem sugerindo que a LPP é um fator de risco para DCV principalmente em indivíduos com distúrbios metabólicos como a obesidade (Blackburn et al., 2003).

Sabe-se que os indivíduos com excesso de gordura apresentam uma elevação significativa dos níveis de TG, dos marcadores inflamatórios e dos níveis de insulina após uma sobrecarga lipídica (Couillard et al., 1998; Klauser et al., 1991). Entretanto, há ainda questionamentos por existirem achados que não observam diferenças significativas entre indivíduos obesos e saudáveis no estado pós-prandial. É o caso da pesquisa desenvolvida por Ayer e colaboradores que demonstraram não haver diferenças nos níveis de TG, CT e glicose, entre indivíduos hígidos (n=11) e obesos (n=11), após 3h do consumo de uma refeição contendo 60g de gordura (86,7% de ácidos graxos saturados – AGS) (Ayer et al., 2010).

Contudo, um estudo recente, observou que obesos, com síndrome metabólica após uma refeição rica em AGS, apresentam o metabolismo de TG prejudicado quando comparado aos indivíduos saudáveis, e que esses níveis não retornavam aos valores basais no final do estudo, após 4 h, demonstrando como a LPP pode ser patogênica em indivíduos com síndrome metabólica (Khoury et al., 2010).

1.4 Lipemia pós-prandial e alterações endoteliais

A disfunção endotelial é considerada o componente principal para o início da aterosclerose (Libby, 2002) e refere-se à alteração na vasodilatação endotélio-dependente, quando os vasoconstrictores, se sobrepõem aos vasodilatadores principalmente pela diminuição dos níveis de óxido nítrico (NO) (Behrendt e Ganz, 2002).

Para a manutenção da integridade do endotélio, o NO é, sem dúvida, o mais importante mediador das funções endoteliais atuando como agente anti-agregante plaquetário, anti-coagulante e vasodilatador (Wheatcroft et al., 2003), sendo sintetizado a partir da L-arginina, pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOSs).

A disfunção endotelial na obesidade, associa-se ao acúmulo do radical superóxido (O_2^-) secundário ao excesso da oxidação lipídica mitocondrial (Beckman e Koppenol, 1996). O NO apresenta-se como o principal protetor na “neutralização” do O_2^- , por conta da sua alta afinidade com esse radical. (Cai e Harrison, 2000). Esse processo, leva à produção do peroxinitrito ($ONOO^-$) que em conjunto com O_2^- oxida um importante co-fator para a produção de NO, a tetrahydrobiopterina (BH_4). A oxidação de BH_4 leva ao desacoplamento da eNOS, que passa a produzir O_2^- ao invés de NO (Forstermann e Munzel, 2006).

Assim, o consumo excessivo e consecutivo de refeições ricas em gordura surge como fator principal para o início do estresse oxidativo, fator este que vem sendo considerado a chave para o início da disfunção endotelial (Sydow e Munzel, 2003) principalmente tratando-se de indivíduos obesos que apresentam uma maior ingestão alimentar (Miller et al., 1990).

Indivíduos saudáveis apresentam danos metabólicos, mesmo que em pequenas proporções no estado pós-prandial. Mas há evidências que eles também apresentam uma disfunção endotelial após uma sobrecarga lipídica (Gaenger et al., 2001; Ramirez-Velez, 2011). Signori e colaboradores corroboraram essa afirmativa ao observarem o dano endotelial (diminuição da vasodilatação dependente do endotélio) em 18 indivíduos hígidos após uma sobrecarga lipídica. Os autores justificaram esse dano pelo aumento significativo dos níveis de TG, insulina e/ou resistina (Signori et al., 2008).

O estudo da vasodilatação mediada pelo fluxo (FMD), determinada pela habilidade das células endoteliais de produzir NO (Beever et al., 2001), fortaleceu estudos anteriores, demonstrando que os danos vasculares na artéria braquial em indivíduos saudáveis associam-se diretamente ao aumento dos níveis de TG e do estresse oxidativo (Marchesi et al., 2000; Raitakari et al., 2000).

Os indivíduos com hipertrigliceridemia também apresentaram piora da função endotelial, com diminuição significativa da FMD mesmo 8 h após a ingestão de uma sobrecarga lipídica. Em indivíduos saudáveis, esse valor retorna aos níveis basais, mais rapidamente, por volta de 4h após a ingestão, evidenciando que a hipertrigliceridemia é um fator de risco independente para a DCV (Norata et al., 2007).

Os indivíduos obesos apresentam alteração nos marcadores metabólicos e de estresse oxidativo na LPP e indica-se que a reatividade vascular também parece estar prejudicada (Perticone et al., 2001; Steinberg et al., 1996), entretanto, ainda há controvérsias, pois há autores que relatam não haver alterações significativas na reatividade vascular entre obesos e indivíduos saudáveis no estado pós-prandial (Ayer et al., 2010).

Poucos são os estudos que avaliam a função endotelial no estado pós-prandial na população obesa. O mais recente deles foi realizado por Jonk e colaboradores (Jonk et al., 2011) que observaram que indivíduos obesos (n=19) quando comparados com saudáveis (n=20) apresentavam a redução da vasodilatação dependente do endotélio (avaliada através da fluxometria por laser Doppler em combinação com a iontoforese de acetilcolina e nitroprussiato de sódio). Os autores sugeriram que uma explicação para esse resultado, seria a hiperglicemia encontrada em obesos após a refeição, que seria o principal estímulo para a produção de espécies reativas de oxigênio. Além disso, a hipertrigliceridemia causada pela ingestão da refeição poderia acentuar a resistência à insulina, prejudicando a função endotelial dos obesos, porém essa análise não foi realizada pelos autores.

Apesar de grande parte dos estudos demonstrarem os mesmos resultados, eles diferem em suas discussões. Alguns autores acham que a LPP afeta a disfunção endotelial *per se*, enquanto outros estudos correlacionam esse dano à magnitude da lipemia, ou seja, à quantidade de gordura ingerida e alguns ainda questionam as diferentes técnicas utilizadas para a avaliação da função endotelial, assim como as diferentes características das populações estudadas.

1.5 Estado pós-prandial e alterações microcirculatórias

Os vasos que respondem ao aumento da pressão interna pela redução miogênica do diâmetro do lúmen podem ser considerados parte da microcirculação e possuem diâmetros inferiores a 100 μm , incluindo arteríolas, capilares e vênulas (Levy et al., 2001).

A microcirculação tem duas funções principais: a primeira delas é a regulação da perfusão tecidual, otimizando a entrega de nutrientes e a remoção de resíduos das células do

corpo (Verdant e De, 2005); outra função de grande importância é a manutenção da pressão hidrostática dos capilares, evitando flutuações que possam prejudicar as trocas de líquidos/nutrientes/resíduos e, conseqüentemente, regulando a resistência vascular periférica (Levy et al., 2001).

Estudos evidenciam que a obesidade prejudica a reatividade vascular em adolescentes e mulheres jovens (De et al., 2006; Jonk et al., 2007; Kraemer-Aguiar et al., 2010a; Maranhao et al., 2011). Porém, o estudo da disfunção microcirculatória na obesidade envolve inúmeros mecanismos, um deles é através da sinalização endócrina. Sabe-se que o tecido adiposo não é apenas um órgão de estoque energético, mas é também capaz de produzir uma série de substâncias, as adipocitocinas. A liberação dessas substâncias é realizada tanto por macrófagos como pelo tecido adiposo visceral, e no caso dos indivíduos obesos, que apresentam maior quantidade de adipócitos, ocorre uma liberação mais intensa de substâncias como AGL, angiotensinogênio, leptina, resistina, TNF- α , interleucina-6 (IL-6), enquanto a produção da adiponectina, uma adipocitocina protetora está diminuída (Arita et al., 1999). A elevação dos níveis de AGL e TNF- α prejudica ainda mais a sensibilidade à insulina, aumenta a pressão sanguínea e causa danos à microcirculação. Sabe-se que diversas destas adipocitocinas têm efeito direto no endotélio, ativando o fator de transcrição NF- κ B, que promove a formação de moléculas de adesão perpetuando o processo inflamatório. Além disso, algumas delas têm a capacidade de estimular diretamente a formação de espécies reativas de oxigênio.

O ponto deflagrador da disfunção microcirculatória ainda não está suficientemente esclarecido, mas sabe-se que o resultado é o prejuízo no recrutamento capilar e na hiperemia funcional (Kraemer-Aguiar et al., 2010a; Rattigan et al., 2007). Há evidências que indivíduos obesos com síndrome metabólica apresentam rarefação capilar no repouso (Kraemer-Aguiar et al., 2008), e sugere-se que na obesidade há uma disfunção microcirculatória, caracterizada pela incapacidade do aumento do número de capilares após um estímulo, como a hiperemia reativa e a congestão venosa. A hipótese que vem sendo trabalhada é a de que indivíduos obesos não apresentam mais reserva de capilares funcionais e/ou a perda da capacidade de autoregulação (Francischetti et al., 2011).

Com o passar do tempo, ficou mais evidente que além das ações metabólicas da insulina ela exercia importantes ações vasculares que envolviam dilatação das arteríolas e esfíncteres pré-capilares, levando ao aumento do número de capilares perfundidos (Clark, 2008) e melhor acesso da glicose às células musculares (Vincent et al., 2002).

Assim, um estudo em indivíduos saudáveis demonstrou que a hiperinsulinemia sistêmica induzida pela técnica do clamp euglicêmico hiperinsulinêmico, considerada padrão ouro para avaliação da resistência à insulina, de fato aumentava o número de capilares perfundidos na pele (de Jongh et al., 2004c) (de Jongh et al., 2004b), entretanto isto não era observado em obesos, que apresentavam danos à microcirculação (de Jongh et al., 2004c). A principal questão era se esse dano microcirculatório, ocorreria em uma situação mais fisiológica como após a ingestão alimentar e se haveria diferenças entre indivíduos saudáveis e obesos.

Assim, um estudo demonstrou que após a ingestão de uma refeição mista havia o recrutamento da microcirculação muscular, avaliada através da técnica do laser Doppler e contraste de ultrassom (CEU) em indivíduos saudáveis, ao contrário do que foi observado nos obesos. A provável explicação para esse resultados, seria pela hiperinsulinemia presente no grupo com obesidade (Keske et al., 2009a). Um estudo mais recente corroborou esse achado, ao observar o recrutamento capilar através da videocapilaroscopia em pacientes com diabetes (n=12), com síndrome metabólica (n=13) e saudáveis (n=13) após a ingestão de uma refeição mista rica em gordura. Os indivíduos hígidos apresentaram melhora da microcirculação após a ingestão da refeição, ao contrário dos indivíduos com síndrome metabólica e diabéticos que tiveram a piora da função microcirculatória relacionada com a sensibilidade à insulina prejudicada e hiperglicemia pós-prandial (van Genugten et al., 2013).

1.6 O papel da insulina

A insulina é um hormônio sintetizado nas células β do pâncreas e secretado rapidamente após a refeição. Este hormônio aumenta o estoque de energia através da síntese de glicogênio no fígado e no músculo, de triglicérides no tecido adiposo e de proteína.

Receptores de insulina são largamente expressos no cérebro, particularmente no núcleo hipotalâmico, que está envolvido no controle da ingestão alimentar (Corp et al., 1986).

Em indivíduos obesos e com doenças metabólicas como a diabetes do tipo 2, a resistência à insulina prejudica o processo de LPP. Isto porque a resistência à insulina leva a uma lipólise exagerada com elevação subsequente dos AGL. O transporte aumentado de AGL no fígado, músculo e células β pancreáticas torna a ação da insulina mais prejudicada, reforçando a resistência à insulina (Reaven e Chen, 1988).

Há evidências que uma dieta rica em lipídios aumenta a função das células β , mas também leva à diminuição da sensibilidade à insulina em indivíduos com hipertrigliceridemia (Lopez et al., 2011) e também em indivíduos saudáveis (Ramirez-Velez, 2011).

Além disso, a insulina tem um papel importante na promoção do recrutamento capilar, causando vasodilatação periférica e aumentando o fluxo sanguíneo (Baron, 1994; Vincent et al., 2004). A ação da insulina no recrutamento capilar se dá por relaxamento de arteríolas terminais e de resistência. Em estudos experimentais demonstrou-se que a insulina recruta rapidamente capilares de músculo por ação dependente do NO (Vincent et al., 2004).

Por fim, justifica-se o estudo da LPP, como forma de avaliar um dos principais fatores de risco para as DCV. Como foi visto nesta revisão, o estudo da LPP em diferentes populações ainda é escasso, deixando muitos questionamentos de como se comportariam indivíduos obesos no estado pós-prandial. Além disso, poucos estudos avaliam a microcirculação de indivíduos obesos no estado pós-prandial.

Tabela 1 - Comparação dos principais estudos avaliando o estado pós-prandial em indivíduos saudáveis.

<i>Autores</i>	<i>População (n)</i>	<i>Quantidade de gordura total</i>	<i>Duração</i>	<i>Métodos</i>	<i>Conclusão</i>
Derosa et al; 2010	Indivíduos saudáveis (n=286) (ambos os sexos)	87g	0,3,6,9,12h	Nitratos; nitritos; ADP; MMP-2 e MMP-9	Nitratos, nitritos e ADP foram significativamente diminuídos enquanto MMP-2 e MMP-9 aumentaram significativamente na LPP.
Signori et al. 2008	Indivíduos saudáveis (n=18) (ambos os sexos)	58g	0,3,4,5h	Técnica da veia do dorso da mão	Há o dano na vasoconstricção na LPP.
Berry et al. 2008	Homens saudáveis (n=17)	AGS (50g) vs. AGM(50g)	0,3h	PWV _{c-f} , FMD e 8- isoprostano	O ácido esteárico atenua o dano na função endotelial quando comparado com o ácido oléico.
Lin et al. 2008	Homens saudáveis (n=40) randomizados em grupo L-arginina (15g) e controle	50g	0,2h	FMD; GSH-px, vWF, p-Selectina	A suplementação de L-arginina melhora a disfunção endotelial e o estresse oxidativo induzido pela LPP.
Gaenger et al. 2001	Homens saudáveis (n=17)	65g	0,4 e 8h	EDD	A LPP esta associada com o prejuízo da função endotelial.
Raitakari et al. 2000	Indivíduos saudáveis (n=20) (ambos os sexos)	AGS (61g) vs. AGM (97,2g)	0,3,6h	FMD, FBF	As refeições AGS ou AGM induziram a vasodilatação e aumentou a FBF no basal e na LPP.

LPP – Lipemia pós-prandial; LDF – laser Doppler fluxometria; FMD – dilatação fluxo mediada; FBF – fluxo de sangue do antebraço; PWV_{c-f} – velocidade de onda de pulso da carótida; RH-PAT – tonometria arterial; GSH-px – Glutathiona peroxidase; vWF – Fator Willebrand; EDD – dilatação dependente do endotélio; RI – Resistência á insulina, ADP – adiponectina; MMP-2 metaloproteinase 2; MMP-9 – metaloproteinase ;RME – ressonância magnética espectroscopia, SM – síndrome metabólica; AGM – ácidos graxos monoinsaturados; AGS – ácidos graxos saturados

Tabela 2 - Comparação dos principais estudos avaliando o estado pós-prandial em indivíduos com alterações metabólicas.

<i>Autores</i>	<i>População</i>	<i>Quantidade de gordura</i>	<i>Duração</i>	<i>Métodos</i>	<i>Conclusão</i>
Van Genugten et al. 2012	Homens com DM2 (n=12) vs.SM (n=13) vs.Controles (n=12)	50g	0,1,2,3,4h	Videocapilaroscopia	O recrutamento capilar apresentou-se prejudicado em indivíduos com síndrome metabólica e diabéticos ao contrário dos controles.
Jonk et al. 2011	Obesos (n=19) vs. Controles (n=20) (ambos os sexos)	8,3g	0,1:15,1:45h	Videocapilaroscopia LDF	Comparando com os controles, os obesos apresentam a função endotelial prejudicada no estado pós prandial.
Ayer et al. 2010	Obesos (n=11) vs. Controle (n=11) (ambos os sexos)	60g	0,1, 3h	RH-PAT; PWV; FBF; FMD	A resposta vascular a uma refeição rica em lipídios é similar em obesos e controles.
Tushuizen et al. 2010	Homens com DM2 (n=14); SM (n=14) vs. Controles (n=14)	50g	0,2,4,6,8,12,16,20,24h	RME	A gordura presente no fígado determina a quantidade e a qualidade das alterações das lipoproteínas na LPP.
Keske et al., 2009	Controles (n=8) vs. Obesos (n=8) (ambos os sexos)	8g*	0,1,2h	CEU e Doppler	Após a refeição mista, o recrutamento microvascular ocorre nos controles mas aparece prejudicado em obesos.
Norata et al. 2007	Homens com hiperlipidemia (n=30)	82%*	0,2,4,6,8h	VCAM-1 e ICAM-	Há danos na função endotelial

	VS. Controle			1	observados na LPP em indivíduos com hipertrigliceridemia.
Ugarte et al. 2005	Indivíduos com DM2 (n=20); IG (n=20) vs Controles (n=37) (ambos os sexos)	64g	0,4,6h	Lipoproteínas	Indivíduos com DM2 e IG têm menor redução dos TG do plasma na LPP.
Skilton et al. 2004	Indivíduos com DM2 (n=15) vs. Controles idosos (n=15) (ambos os sexos)	61g	0,3,6h	FMD e FBF	A ingestão de uma refeição rica em lipídios resulta em um dano na resposta vasodilatadora em idosos e diabéticos, sendo mais relacionada à idade do que a RI.
Gill et al. 2004	Homens obesos (n=10) vs. Controles (n=10)	80g	0,2,4,6,8h	Iontoforese e exercício	O exercício físico melhora a função vascular em jejum e na LPP em homens de meia idade.
Anderson et al. 2001	DM2 (n=12) vs. Controle (n=12) (ambos os sexos)	80g	0,2,8h	FMD e biomarcadores do estresse oxidativo	LPP está associado com a redução do HDL-c podendo ser importante na patogênese da doença vascular em indivíduos com DM2.

*LPP – Lipemia pós-prandial; LDF – laser Doppler fluxometria; FMD – dilatação fluxo mediada; FBF – fluxo de sangue do antebraço; PWV_{c-f} – velocidade de onda de pulso da carótida; RH-PAT – tonometria arterial; RI – Resistência á insulina, metaloproteinase 2; MMP-9 – metaloproteinase ;RME – ressonância magnética espectroscopia, CEU – contraste de ultrassom; SM – síndrome metabólica; DM2 – Diabetes Mellitus do tipo 2; * o estudo de Norata et al. 2007 não descreve a quantidade de gordura em gramas nem a caloria total da refeição.*

2 HIPÓTESE

Estudos avaliando o efeito de uma sobrecarga lipídica na reatividade microcirculatória de indivíduos obesos têm sido contraditórios, fazendo com que persista a dúvida se há alterações nos biomarcadores metabólicos e microcirculatórios frente ao insulto lipêmico nesta população, assim como em indivíduos saudáveis. Além disso, nenhum estudo avaliou a velocidade de deslocamento das hemácias em indivíduos obesos e saudáveis após uma sobrecarga lipídica. Dessa maneira, a hipótese deste estudo era que após a ingestão de uma refeição rica em lipídios a resposta pós-prandial fosse diferente entre mulheres obesas e saudáveis, com danos metabólicos e microcirculatórios mais significativos nas obesas, principalmente pelo aumento exagerado dos níveis de insulina e triglicérides.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

Demonstrar os efeitos da sobrecarga lipídica no recrutamento capilar de obesos.

3.2 Objetivos secundários

3.2.1 Objetivo secundário 1

Avaliar a microcirculação nutricional do tecido cutâneo, de mulheres eutróficas (C) e obesas (OB) no jejum e após a sobrecarga lipídica;

3.2.2 Objetivo secundário 2

Demonstrar o recrutamento capilar através de dois métodos de videocapilaroscopia;

3.2.3 Objetivo secundário 3

Avaliar a viscosidade plasmática das mulheres eutróficas (C) e obesas (OB) no jejum e após a sobrecarga lipídica;

3.2.4 Objetivo secundário 4

Avaliar os biomarcadores metabólicos das mulheres eutróficas (C) e obesas (OB) no jejum e após a sobrecarga lipídica;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Participantes

Para o presente estudo foram recrutadas 21 mulheres com idade entre 19 a 40 anos, apresentando diagnóstico de obesidade grau I ($IMC \geq 30$ a $34,9\text{kg/m}^2$) atendidas no Ambulatório de Obesidade, da Unidade Docente-Assistencial de Endocrinologia, na Policlínica Piquet Carneiro (PPC), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e 20 participantes eutróficas ($IMC=18,5$ a $24,9\text{kg/m}^2$). Após a leitura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (apêndice) e da elucidação de todas as dúvidas, estas pacientes foram submetidas ao exame clínico e laboratorial. Tanto os exames clínicos quanto as etapas de avaliação da microcirculação foram realizados no Laboratório de Pesquisas Clínicas e Experimentais em Biologia Vascular (BioVasc) do Centro Biomédico da UERJ

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto (CAAE: 0190.0.228.000-10) (anexo).

4.2 Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:

1. No grupo OB todas as pacientes devem apresentar o diagnóstico de obesidade grau I (IMC entre 30 a $34,9\text{kg/m}^2$);
2. Apresentar a idade entre 19 a 40 anos;
3. Circunferência abdominal > 80 cm (IDF).

Critérios de exclusão:

1. Doença renal, vascular coronariana ou periférica, hematológica ou hepática;
2. Presença de dislipidemia;
3. Intolerância à glicose;
4. Diabetes *mellitus*;
5. Fumantes;
6. Intolerantes à lactose;
7. Hipertensão;
8. Uso de β bloqueadores;
9. Hipotireoidismo;
10. Perda de massa corporal significativa (5%), seis meses anteriores ao estudo.

4.3 Seleção da amostra

4.3.1 Visita de recrutamento (triagem)

Na visita de recrutamento foi realizada uma avaliação antropométrica, com a mensuração da massa corporal, altura (Lohman, 1988), a circunferência abdominal segundo o critério da Organização Mundial de Saúde (OMS) e circunferência do quadril, medida pela maior circunferência. Uma entrevista clínica, foi realizada com o objetivo de avaliar o histórico clínico, uso de medicamentos e avaliação dos critérios de exclusão. A pressão arterial foi aferida em dois momentos com um minuto de intervalo entre as medições, com o aparelho automático com braçadeira G-Tech®.

A determinação da gordura corporal e massa muscular foi realizada através do aparelho de bioimpedância tetrapolar (*Bio dynamic 450 Body Composition AnalyzerTM*, Bio Dynamic Corporation®, SE, EUA). Para este último, as pacientes deveriam permanecer 8h em jejum, não ingerirem bebidas alcoólicas e nem realizarem atividade física 24h antes do exame. No final dessas avaliações, foi entregue um pedido de exame laboratorial, que deveria ser realizado em um laboratório conveniado, para preenchimento dos critérios de inclusão, de onde foram avaliados:

- Sangue total: o hemograma completo;
- Soro: perfil lipídico (CT, TG e HDL-c), o TSH, a insulina de jejum e o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) de acordo com os critérios da *American Diabetes Association* (ADA, 2013), que descreve como parâmetros de TOTG uma glicemia de jejum ≤ 99 mg/dl e de 2 horas após 75 g de carga oral de glicose anidro < 140 mg/dl. Em relação à glicose, insulina, TSH, CT, TG e HDL-c o coeficiente de variação (CV) inter-ensaio foi de 1,1%; 2,5%, 3,3%, 2,9%, 1,3% e 3,2% respectivamente.
- O LDL-c foi calculado pela fórmula de Friedewald (Friedewald et al., 1972). O índice HOMA foi obtido através da fórmula: insulina em $\mu\text{UI/ml}$ X glicemia em mmol/l dividido por uma constante de 22,5 (Matthews et al., 1985) e o valor de referência foi o padronizado em população brasileira por Geloneze e colaboradores (Geloneze et al., 2006). Para este exame as pacientes foram aconselhadas a estarem de 10-12 horas de jejum e evitar bebidas alcoólicas por 48 horas prévias ao exame e, por fim, evitar uso de medicamentos eventuais.

A paciente que necessitava do uso eventual de algum medicamento foi orientada a obrigatoriamente a informar o seu uso.

4.3.2 Visita do exame (Sobrecarga Lipídica)

Após a análise dos resultados laboratoriais e a inclusão da paciente no estudo, foi agendado o exame da sobrecarga lipídica (figura 1). As pacientes deveriam chegar ao BioVasc/UERJ em jejum noturno de 10 horas, e eram acomodadas em uma sala climatizada com temperatura controlada a $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (media \pm DP) por 30 minutos antes do início do procedimento, onde foi confortavelmente sentada em uma cadeira com o braço esquerdo colocado ao nível do coração. A partir daí, foram coletadas amostras de sangue, além da realização dos exames de videocapilaroscopia dinâmica do leito periungueal e do dorso do dedo. Após as medidas basais, uma refeição rica em lipídios foi oferecida e após 30, 60, 120 e 180 minutos desta refeição, foram novamente realizados os exames microcirculatórios, além da coleta de sangue e aferição da pressão arterial (figura 2). Após estes exames os pacientes continuavam o atendimento na PPC/UERJ.

4.4 Desenho Experimental

Este é um estudo transversal, onde o desenho experimental pode ser observado na figura 1.

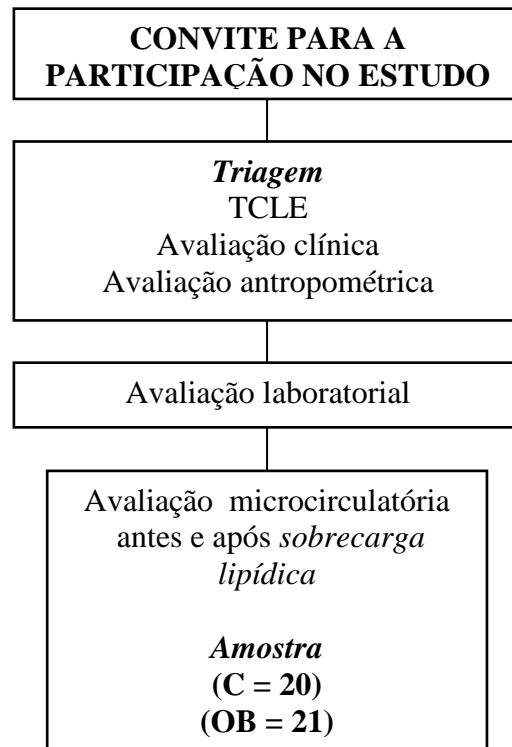


Figura 1 – Desenho Experimental do estudo.

TCLE – termo de consentimento livre e esclarecido, C – controles; OB – obesos.

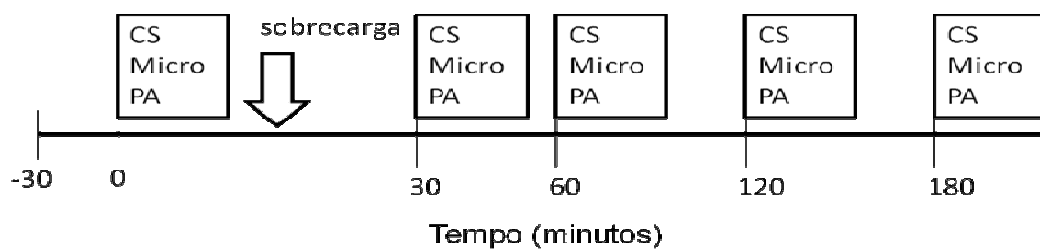


Figura 2 – Descrição das etapas do estudo.

CS = Coleta de sangue/ Micro= microcirculação (videocapilaroscopia dinâmica do leito periungueal e do dorso do dedo)/ PA = pressão arterial

4.5 Coletas de sangue durante a sobrecarga lipídica

Para a realização da coleta de sangue, um cateter venoso foi inserido no braço contralateral ao exame com infusão de solução salina, com a única intenção de manter um acesso venoso para a coleta de amostras sanguíneas. Em cada tempo do estudo (basal, 30, 60, 120 e 180 min) eram coletados 17 ml de sangue para análises posteriores.

4.6 Análises Laboratoriais da sobrecarga lipídica

Amostras de cada tempo, em um total de 45ml, foram enviadas ao Laboratório de Lípidos na Policlínica Piquet Carneiro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (Lablip/UERJ) para análise da glicose, CT, TG e o HDL-c. Esses foram medidos respectivamente, por ensaio enzimático colorimétrico (CV inter-ensaio=5%), enzimático GPO-PAP (CV inter-ensaio=5%), enzimático GPO-PAP (CV inter-ensaio=5%) e enzimático colorimétrico (CV inter-ensaio=8%) e o LDL-c calculado pela equação Friedewald (1972).

4.7 Análises do AGL e Insulina

As amostras de sangue coletadas no BioVasc, foram centrifugadas e o soro e o plasma foram alíquotados e armazenadas a -80°C. A análise de AGL foi realizada no soro por ensaio enzimático colorimétrico (*Wako Chemicals, Richmond, VA, EUA*) com sensibilidade de 0,0014 mmols/l; CV intra-ensaio inferiores a 8,84% e CV inter-ensaio = 1,82%.

A análise da insulina foi realizada no plasma, por kits de Elisa (*DRG Instruments GmbH, Marburg, Alemanha*) com sensibilidade de 1,76mU/l, CV intra-ensaio= 2,6% e CV inter-ensaio=2,9%. Todos os ensaios foram realizados conforme instruções fornecidas pelo fabricante.

4.8 Avaliação da Microcirculação cutânea

Após a coleta de sangue basal, as mulheres foram submetidas à videocapilaroscopia em tecido cutâneo. Para este exame o antebraço e a mão esquerdos (porção dorsal para cima) foram dispostos em repouso sobre uma almofada e o 3^o e o 4^o dedos foram colocados sobre um pedestal montado em estado X-Y de um microscópio Leica DM/LM. O topo do dedo, distal ao leito periungueal, foi gentilmente imobilizado por um grampo, para impedir mínimos

movimentos. Os experimentos foram realizados com gravação contínua da temperatura da pele do dedo, onde um sensor de medição de temperatura foi posicionado sobre a pele cerca de 1 cm proximal ao leito periungueal e poucas gotas de óleo de imersão foram aspergidas sobre este sítio.

4.8.1 Videocapilaroscopia dinâmica do leito periungueal

Para o nosso estudo, foram utilizados dois métodos, o tradicional, que consiste em avaliar os parâmetros da microcirculação pela técnica de videocapilaroscopia dinâmica do leito periungueal, realizado na prega ungueal do quarto quirodáctilo da mão esquerda. Neste método verifica-se a densidade capilar funcional (DCF) que consiste no número de capilares/mm² com fluxo sanguíneo, utilizando um microscópio óptico (DM/LM, *Wetzlar*, Alemanha) com magnificação de 250x. Para obtenção da velocidade de deslocamento das hemácias (VDH) em repouso foi utilizada uma magnificação de 680x. Após as medidas basais, o manguito conectado a um manômetro de mercúrio preso a base do dedo do paciente foi insuflado e realizada oclusão de 1 minuto. Durante a hiperemia reativa foram determinados a velocidade de deslocamento das hemácias máximo (VDH_{max}) e o tempo (T) de reperfusão para alcançar a VDH_{max}. A porcentagem de incremento da VDH_{max} foi calculado através da fórmula $(VDH_{Max}/VDH \times 100) - 100$.

4.8.2 Videocapilaroscopia do Dorso do dedo

A videocapilaroscopia do dorso do dedo foi realizado no terceiro quirodáctilo da mão esquerda, a 3 mm abaixo da cutícula (Figura 3). Através dessa técnica verificou-se a DCF no repouso durante 2 minutos, após essa medida basal, o manguito conectado a um manômetro de mercúrio preso a base do dedo do paciente foi insuflado a 200mmHg e realizada uma isquemia total de 4 minutos (DCF durante hiperemia reativa); após um repouso de 5 minutos, o manguito foi novamente insuflado a 40mmHg e realizada uma oclusão venosa de 2 minutos (DCF pós-occlusão venosa) (Figura 4). Este método é validado como técnica de aferição de recrutamento capilar e relaciona-se com achados metabólicos (Ijzerman et al., 2006; Jonk et al., 2011; van Genugten et al., 2013). Por fim, a porcentagem de incremento no recrutamento capilar durante a hiperemia reativa foi avaliada pela divisão do resultado da DCF durante a hiperemia pela DCF basal do dorso do dedo (Ijzerman et al., 2006).

As imagens obtidas foram transferidas para a TV, gravadas em DVD e analisadas através do programa CAPIMAGE® (Klyszcz et al., 1997)

Para os exames de videocapilaroscopia, as pacientes foram aconselhadas a não removerem a cutícula por no mínimo 15 dias, não ficarem expostas ao sol (sem protetor solar) e não terem contato sem luvas com produtos de limpeza. Todos esses pontos poderiam interferir na visualização das imagens. Por fim, ambas as técnicas de investigação da microcirculação foram realizadas em estado basal, 30, 60, 120 e 180 minutos após a ingestão da refeição.

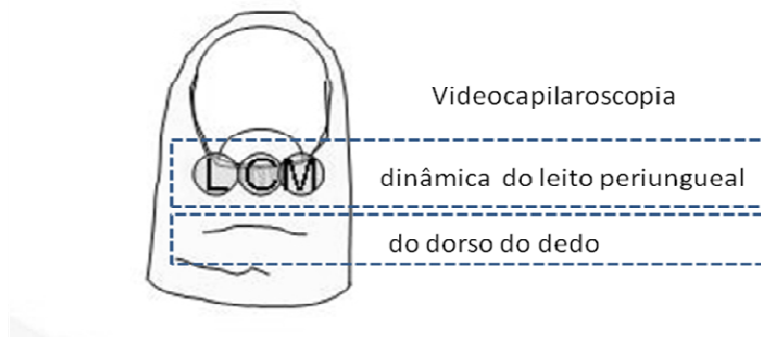


Figura 3 - Localização da análise da videocapilaroscopia dinâmica do leito periungueal e do dorso do dedo.

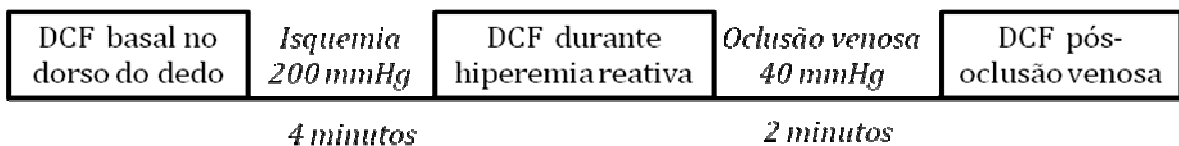


Figura 4 – Esquema da metodologia da técnica da videocapilaroscopia no dorso do dedo.

DCF – densidade capilar funcional

4.9 Caracterização da sobrecarga lipídica

Após a análise da microcirculação e da coleta de sangue no basal, a refeição rica em lipídios era servida aos pacientes de ambos os grupos (C e OB) para ingestão imediata. Essa refeição baseou-se em alimentos ricos em gorduras totais, principalmente em gorduras saturadas, como: leite integral (200ml), achocolatado (10g), margarina (20g), *croissant* (1 unidade), queijo cheddar (60g) e salame (31g). A refeição consistiu em 691,5 kcal, sendo 24,8% provenientes de carboidratos, 59,5% de gorduras totais, sendo, 21,9g de gordura saturada e 15,7% de proteínas. As pacientes foram orientadas a não ingerirem uma dieta rica em gordura e nem realizarem atividade física 24 horas antes deste teste e a fazerem a ingestão da refeição oferecida em no máximo 10 minutos.

4.10 Viscosidade do Plasma

Neste estudo, a viscosidade foi aferida conforme as normas internacionais (Baskurt et al., 2009a) e avaliada no plasma, nos 5 momentos do estudo (basal, 30, 60, 120 e 180 min após a sobrecarga lipídica). Para isso, imediatamente após a coleta do sangue, este foi centrifugado durante 5 minutos em 1500x g; após esse período foi coletado 0,5ml do sobrenadante e utilizado para a medição da viscosidade através do aparelho rotacional *Brookfield Viscometer DV-II + Pro*, Brookfield Engineering Laboratories, INC, EUA. O plasma foi testado em temperatura padrão e constante de 37°C e os resultados foram avaliados em 30 rotações por minuto (rpm) e 50 rpm.

Para a análise, o plasma foi depositado entre duas placas paralelas. A placa superior realiza um movimento rotacional, desempenhando uma força de cisalhamento sobre o plasma, a qual resulta em diferentes camadas de plasma com diferentes velocidades. A diferença na velocidade entre as camadas provoca uma ação de cisalhamento (atrito) entre elas. A taxa de cisalhamento (representada como *shear rate*) pode ser obtida através de uma força (F) que é aplicada à uma camada superior que tem uma área (A) fazendo com que o plasma flua a uma velocidade (V_0). Qualquer fluido tem um atrito interno, uma viscosidade, fazendo com que as camadas movam-se deixando as anteriores para trás (V_1). A diferença entre as velocidades da camada é a taxa de cisalhamento. Assim, viscosidade é definida como a relação entre tensão de cisalhamento (força F) e a taxa de cisalhamento (Figura 5) (Rosencranz e Bogen, 2006).

Os fluidos que exibem uma viscosidade constante independente da taxa de fluxo são chamados de Newtonianos. Ou seja, o plasma é um fluido newtoniano, pois sua viscosidade independe deste estar fluindo lentamente ou rapidamente.

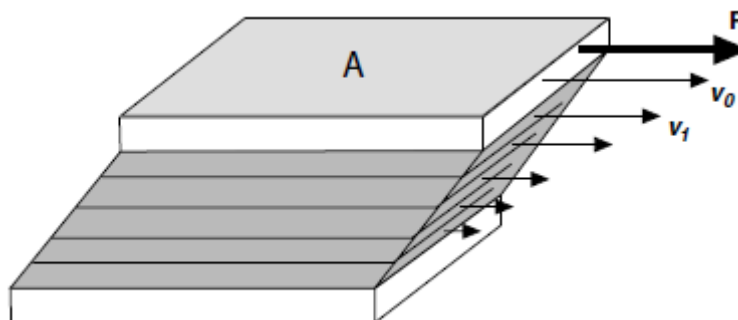


Figura 5 - Representação esquemática das camadas imaginárias de um líquido durante o fluxo laminar e os efeitos de viscosidade.

A = área; F = força aplicada; v_0 e v_1 = velocidades.

4.11 Estatística e Análise

O tamanho amostral do estudo foi calculado no programa Gpower®, estimando-se um cálculo amostral de 17 pacientes/grupo, com as seguintes informações adicionais: Efeito do tamanho: 1,288924; α erro prob; 0,05; poder ($1-\beta$ erro prob): 0,95; Critical t|: 2,0369333; Df: 32; grupo amostral 1: 17; grupo amostral 2: 17; tamanho da amostra total: 34; poder real: 0,9538013.

Para as análises estatísticas utilizamos o programa de estatística GraphPad®. Primeiramente foi realizado os testes de normalidade (*Kolmogorov-smirnov*, *D'Agostino & Pearson e Shapiro-Wilk*) para verificar se havia distribuição gaussiana das variáveis. Os dados que apresentaram distribuições normais foram descritos como média \pm DP e os sem esta distribuição, como mediana [1°-3°quartis]. As comparações intra-grupo foram realizadas através do *Friedman test* e *Repeated Measures ANOVA* para variáveis sem e com distribuições normais, respectivamente. Para as comparações inter-grupos, nas variáveis sem distribuição normal, foram utilizados os testes de *Mann Whitney* e para as variáveis com distribuição normal, o teste t não pareado. A AUC (*area under the curve*) total foi calculada para as 3h de estudo (AUC 3h) para variáveis metabólicas; as diferenças inter-grupo foram calculadas pelo teste t *Mann-Whitney*. Este estudo foi analisado estimando-se a verdadeira diferença entre os grupos a serem comparados: C e OB e então, testando a significância. Se

esta for significativa ao nível de $\alpha = 5\%$, pode-se concluir que há diferenças entre a função microcirculatória entre esses grupos no estado basal e após a sobrecarga lipídica.

5 RESULTADOS

Foram recrutadas 96 mulheres para o estudo (Figura 6) sendo que 21 (7 C e 14 OB) foram excluídas por não terem feito o exame laboratorial inicial; 12 participantes não puderam dar continuidade aos exames por apresentarem intolerância à glicose (1 C e 11 OB) e hipotireoidismo subclínico (1 OB). Além disso, 21 mulheres (6 C e 15OB) desistiram de continuar participando do projeto. Por fim, foram incluídas no estudo, 41 participantes (20 C e 21OB).

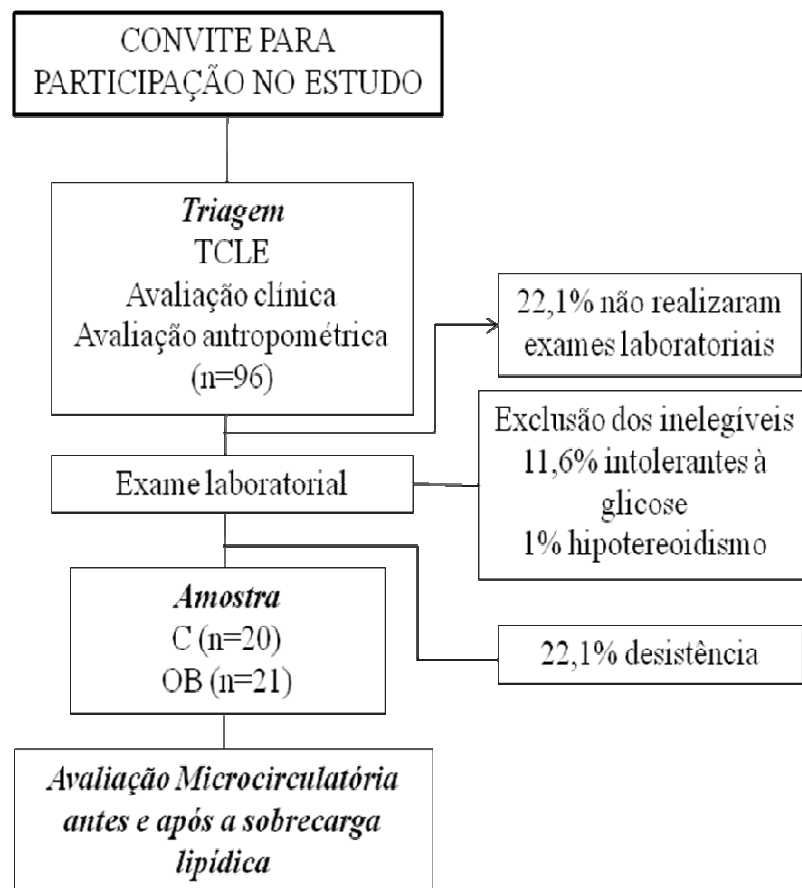


Figura 6 – Recrutamento de pacientes para o estudo.

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido; C – controles; OB - obesos

5.1 Características antropométricas e de composição corporal

Quarenta e uma mulheres participaram voluntariamente do estudo, sendo divididas em dois grupos (21 OB e 20 C). A tabela 2 apresenta as características antropométricas, de composição corporal e pressão arterial da amostra estudada. Como esperado, as mulheres obesas apresentaram valores significativamente maiores quando comparadas ao grupo C para massa corporal, IMC, circunferência abdominal, circunferência do quadril, RCQ e massa gorda. Além disso, a idade do grupo OB foi significativamente mais avançada do que o grupo C. A pressão arterial foi considerada normal para ambos os grupos.

Tabela 3 – Características antropométricas, de composição corporal e da pressão arterial da amostra estudada no recrutamento (média±DP) e mediana[1^a.-3^a quartis].

Variáveis	Controles (n=20)	Obesos (n=21)
Idade (anos)	27,50[22,00-29,75]	30,00[28,00-37,00]*
Massa Corporal (Kg)	58,51±6,80	86,51±7,69***
Estatura (m)	1,63±0,07	1,63±0,05
IMC (kg/m ²)	21,91±1,75	32,39±1,56***
Circunferência abdominal (cm)	78,39±6,62	104,00±10,63***
Circunferência quadril (cm)	100,5±4,3	117,4±6,17***
RCQ	0,77[0,75-0,81]	0,89[0,79-0,95]**
Massa Gorda (%)	27,65[26,35-31,50]	38,20[36,70-39,90]***
Massa Magra (%)	72,35[68,63-73,65]	61,80[60,70-63,30]***
PAS (mmHg)	108,5[100,3-123,0]	113[107,5-123,0]
PAD (mmHg)	69,00[65,0-76,2]	74,00[69,50-78,50]
FC (bpm)	73,58±9,98	74,00±7,42

IMC – índice de massa corporal por kg/m²; RCQ – Relação cintura/quadril; PAS – pressão arterial sistólica ; PAD – Pressão arterial diastólica ; FC – Frequência cardíaca. * p<0,05; ** p<0,01; ***p<0,001.

5.2 Características metabólicas

Em relação aos marcadores metabólicos, o grupo OB apresentou concentrações significativamente maiores do que o grupo C para: insulina, glicose e índice HOMA-IR. Apesar de ambos os grupos apresentarem perfil lipídico dentro do limite superior tolerável, as mulheres OB apresentaram concentrações aumentadas de CT, LDL-c e TG, porém os níveis

de HDL-c foram significativamente menores quando comparado ao grupo C, como pode ser observado na tabela 3.

Tabela 4 – Características bioquímicas da amostra estudada no recrutamento (média±DP) e mediana[1^a-3^a quartis]

Variáveis	Controles (n=20)	Obesos (n=21)
Insulina mU/l	6,59[5,66-8,28]	12,61[7,40-15,87]**
Glicose mg/dl	87,25±5,38	92,70±8,08*
HOMA-IR	1,77±0,81	2,69±0,97**
CT mg/dl	159,00[143,00-176,80]	179,50[166,30-211,80]**
HDL-c mg/dl	59,50[55,25-68,25]	48[45,25-55,75]**
LDL-c mg/dl	82,50[66,50-93,50]	105,5[98,25-126,80]**
TG mg/dl	74,50[58,00-100,50]	112,00[83,50-167,50]**

CT – colesterol total; TG – triglicerídeos.

* p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Aliás, podemos descrever, que das 21 participantes obesas do estudo, nove delas apresentavam o diagnóstico de síndrome metabólica (SM) de acordo com a definição da *Joint Interim Statement - JIS* (2009) que define SM com a presença de três ou mais dos seguintes critérios: circunferência abdominal ≥ 80 cm e/ou TG > 150 mg/dl e/ou HDL-c < 50 mg/dl e/ou pressão sistólica ≥ 130 e/ou diastólica ≥ 85 mmHg e glicose ≥ 100 (Alberti et al., 2009). Assim, 9 participantes do estudo tinham diagnóstico de SM sendo que 3 delas apresentavam 3 critérios para SM; 5 apresentavam 4 critérios e 1 delas apresentava 6 critérios. Nenhuma participante apresentava diagnóstico de intolerância à glicose, hipertensão e DM2 (Figura 7).

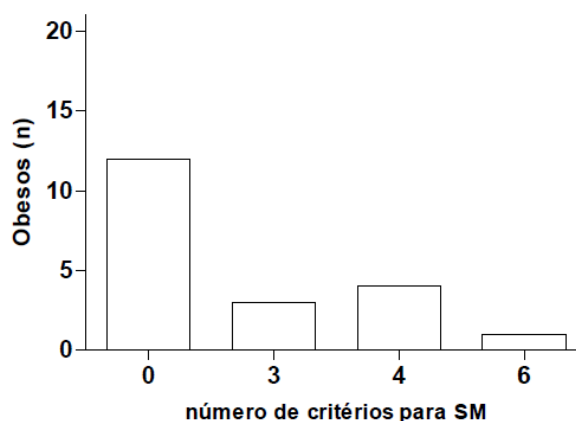


Figura 7 – Caracterização das obesas em relação a síndrome metabólica.

SM – síndrome metabólica

5.3 Características microcirculatórias

5.3.1 Densidade capilar funcional (DCF)

A função microcirculatória foi avaliada através de duas técnicas de videocapilaroscopia. A figura 8 apresenta os resultados obtidos pela técnica dinâmica do leito periungueal antes e após a sobrecarga lipídica. Através dessa técnica, foi possível observar que no estado pré-prandial, os grupos OB e C não apresentaram diferenças significativas entre si (16,02[12,80-22,77] vs. 19,96[16,64-24,71] n/mm²; p=0,09), porém após a ingestão da refeição proposta no estudo, foi possível notar um aumento no número de capilares perfundidos no grupo C, ao contrário do observado no grupo OB, levando a uma diferença estatística inter-grupo após 30 minutos da sobrecarga (14,21[11,02-20,67] vs. 21,86[17,11-27,56] n/mm²; p=0,0012), 60 minutos, (13,68[10,10-18,67] vs. 20,91[16,16-23,76] n/mm²; p=0,003) e aos 180 minutos (14,83[10,65-18,67] vs. 18,06[16,16-24,71] n/mm²; p=0,01)

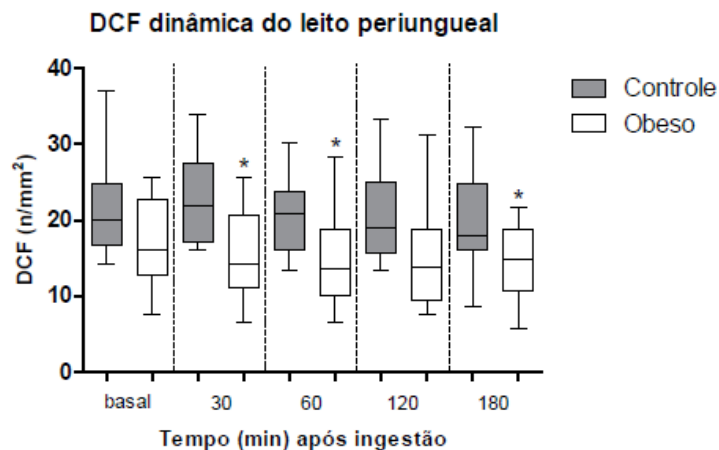


Figura 8 – Comparação da DCF usando o método dinâmico de videocapilaroscopia do leito periungueal em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

DCF – densidade capilar funcional.

* Diferenças significativas em relação ao grupo controle.

O segundo método para a avaliação da microcirculação foi o do dorso do dedo. Nesta técnica foi possível observar a DCF em repouso, durante a hiperemia reativa e após a oclusão venosa. Primeiramente, a DCF basal no dorso do dedo apresentou comportamento similar ao obtido pela DCF dinâmica do leito periungueal. O grupo C e OB não apresentaram diferenças significativas no repouso (39,62[28,51-46,57] vs. 41,82[36,80-50,85] n/mm²; p=0,39), porém,

após a sobrecarga lipídica, o grupo OB apresentou uma redução do número de capilares perfundidos, e resultados significativamente menores ao longo do estudo quando comparado ao grupo C após 30 minutos (36,79[25,66-43,72] vs.47,52[38,49-53,70] n/mm²; p=0,01); 60 minutos (33,96 [22,64-41,82] vs. 42,77[33,26-51,32] n/mm²; p=0,03); 120 minutos (30,19[25,66-45,62] vs. 41,82[32,31-50,19] n/mm²; p=0,02) e 180 minutos da refeição (31,13[19,96-42,77] vs. 42,77[34,69-46,70] n/mm²; p=0,005). Porém o dado mais interessante, não mostrado pela técnica anterior, foi a observação da DCF significativamente menor no grupo OB após 180 minutos da sobrecarga, quando comparado aos seus valores basais (39,62[28-51-46,57] vs. 31,13[19,96-42,77] n/mm²; p=0,02) (figura 9).

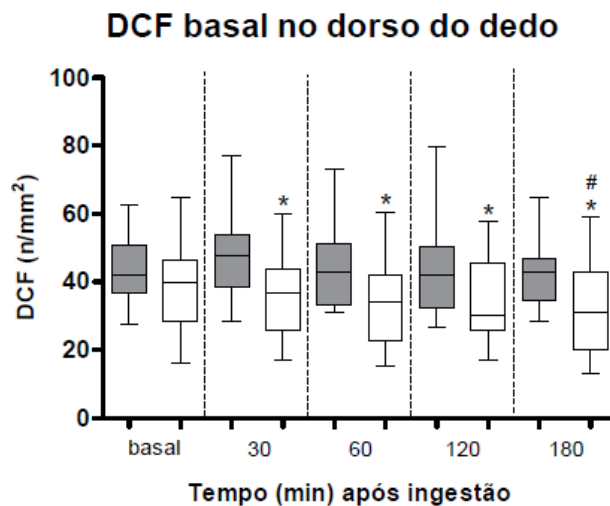


Figura 9 – Comparação da DCF basal usando o método do dorso do dedo em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

DCF – densidade capilar funcional;

* Diferenças significativas em relação ao grupo controle;

Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

A Figura 10 mostra o comportamento da DCF durante hiperemia reativa, resultados significativamente menores no grupo OB comparados ao grupo C após 60 minutos da ingestão da refeição (36,63±12,82 vs. 46,37±14,65 n/mm²; p=0,04), aos 120 minutos (35,92±12,70 vs. 47,76±13,24 n/mm²; p=0,009) e aos 180 minutos (24,77±11,57 vs. 45,81±13,04 n/mm²; p=0,01). Paralelamente, aos 180 minutos, o grupo OB apresentou a DCF durante hiperemia reativa significativamente reduzida, quando comparada aos seus níveis basais (41,54±15,53 vs. 24,77±11,57 n/mm²; p=0,02).

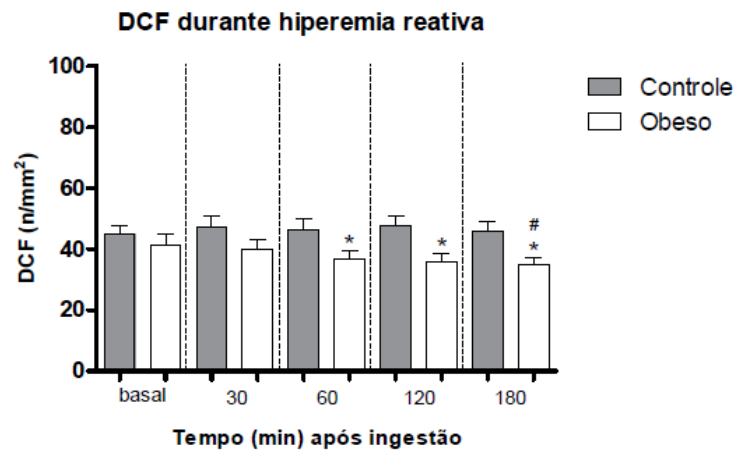


Figura 10 – Comparação da DCF durante hiperemia reativa usando o método do dorso do dedo em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

DCF – densidade capilar funcional; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle;

- Diferenças significativas intra-grupo em relação ao basal.

Após a oclusão venosa, foi possível observar que o grupo OB apresentou número significativamente menor de capilares perfundidos comparado ao grupo C, após 30 minutos ($35,38 \pm 11,38$ vs. $45,06 \pm 12,72$ n/mm^2 ; $p=0,03$), 120 minutos ($32,54 \pm 13,49$ vs. $43,90 \pm 14,23$ n/mm^2 ; $p=0,02$) e 180 minutos da refeição ($31,3 \pm 11,24$ vs. $42,61 \pm 12,82$ n/mm^2 ; $p=0,01$). Porém, mais uma vez, o resultado da DCF pós-oclusão venosa foi similar ao encontrado anteriormente no grupo OB, com redução significativa da densidade capilar aos 180 minutos, comparada aos seus valores basais ($38,63 \pm 14,93$ vs. $31,3 \pm 11,24$ n/mm^2 ; $p=0,02$) (Figura 11).

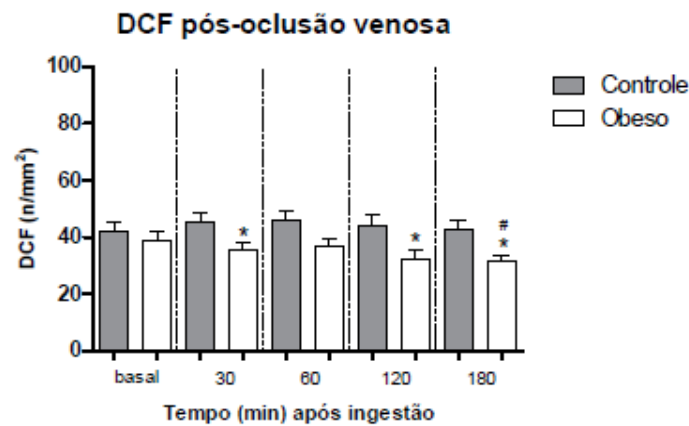


Figura 11 – Comparação do comportamento da DCF pós-occlusão venosa usando o método do dorso do dedo em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

DCF – densidade capilar funcional; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

5.3.2 Recrutamento capilar

O recrutamento capilar no dorso do dedo é apresentado na figura 12. Não foram observadas diferenças significativas entre o recrutamento capilar antes e após a sobrecarga nos grupos estudados. O recrutamento capilar dos grupos OB e C foi respectivamente: no basal (8 vs. 6%; $p=0,82$); 30 minutos (7 vs. 4%; $p=0,4$); 60 minutos (4 vs. 5%; $p=0,90$); 120 minutos (3 vs. 8%; $p=0,39$) e 180 minutos (6 vs. 6%; $p=0,6$).

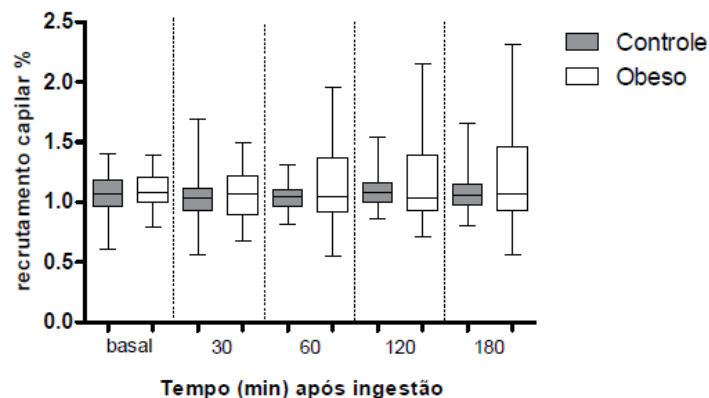


Figura 12 – Comparação do recrutamento capilar entre mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

DCF – densidade capilar funcional

5.3.3 Velocidade de deslocamento das hemácias

A avaliação funcional da microcirculação foi feita através da análise da velocidade de deslocamento das hemácias. Como esperado, a VDH apresentou-se significativamente reduzida no grupo OB comparada ao grupo C em todos os tempos de estudo: basal (0,30[0,28-0,31] vs. 0,32[0,32-0,33] mm/s; $p < 0,0001$); 30 minutos (0,28[0,27-0,30] vs. 0,32[0,31-0,33] mm/s; $p < 0,0001$); 60 minutos (0,29[0,28-0,30] vs. 0,32[0,31-0,33] mm/s; $p = 0,0002$); 120 minutos (0,30[0,29-0,32] vs. 0,32[0,31-0,33] mm/s; $p = 0,003$) e aos 180 minutos (0,31[0,29-0,32] vs. 0,32[0,32-0,33] mm/s; $p = 0,0001$).

Além disso, após a sobrecarga lipídica, o grupo C não apresentou alterações na VDH, ao contrário do grupo OB que teve a VDH significativamente reduzida 30 min após a refeição quando comparada aos seus níveis basais (0,28[0,27-0,30] vs. 0,30[0,28-0,31] mm/s; $p < 0,0001$) (Figura 13).

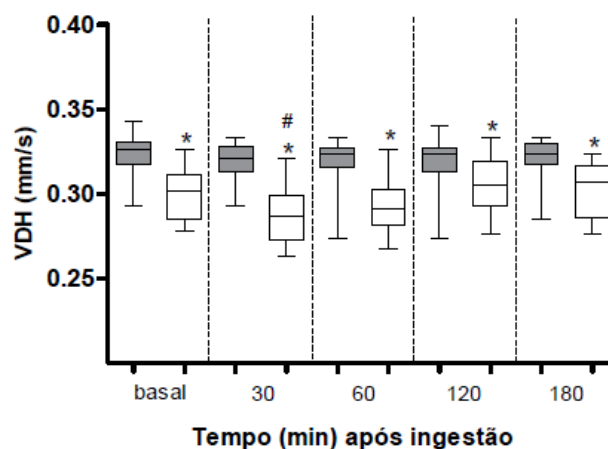


Figura 13– Comparação da VDH em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

VDH – velocidade do deslocamento das hemácias

* Diferenças significativas em relação ao grupo controle;

Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

A VDH_{max} analisada durante a hiperemia reativa apresentou-se significativamente diminuída no grupo OB quando comparada ao grupo C em todos os tempos de estudo: basal (0,33[0,32-0,33] vs. 0,36[0,35-0,36] mm/s; $p = 0,008$); 30 min. (0,31[0,30-0,32] vs. 0,35[0,34-0,36] mm/s; $p < 0,0001$); 60 min. (0,32[0,31-0,33] vs. 0,35[0,34-0,36] mm/s; $p = 0,0001$); 120

min. (0,32[0,31-0,34] vs. 0,36[0,34-0,36] mm/s; $p=0,001$) e aos 180 min. (0,33[0,32-0,33] vs. 0,36[0,35-0,37] mm/s; $p=0,0002$). Contudo, ambos os grupos apresentaram resultados similares após 30 minutos da sobrecarga lipídica, com valores significativamente menores quando comparada às suas velocidades basais (OB - 0,33[0,32-0,33] vs. 0,31[0,30-0,32] mm/s; $p=0,003$ e C- 0,36[0,35-0,36] vs.0,35[0,34-0,36] mm/s; $p=0,0001$) (Figura 14).

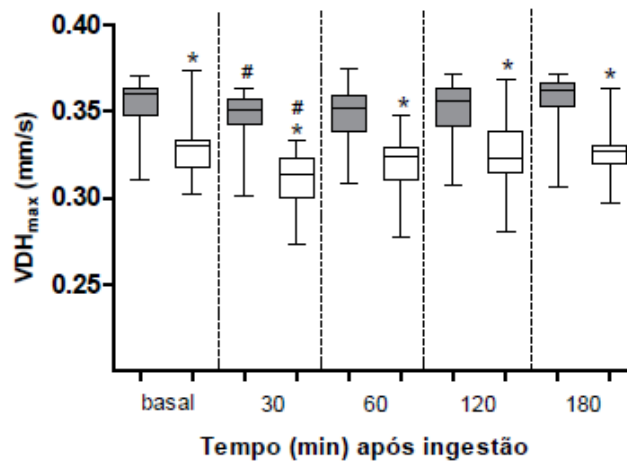


Figura 14– Comparação da VDH_{max} em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

VDH_{Max} – velocidade do deslocamento das hemácias durante hiperemia reativa; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

5.3.4 Percentual de incremento na VDH_{max}

A porcentagem de incremento na VDH_{max} em relação a VDH é apresentada na figura 15. Não foram observadas diferenças significativas entre o incremento na VDH_{max} antes e após a sobrecarga nos grupos estudados, porém é possível observar uma aparente redução biológica no incremento da VDH_{max} do grupo OB no estado pós-prandial a partir dos 60 minutos, sem no entanto haver diferença estatística. O incremento da VDH_{max} nos grupos OB e C foi respectivamente: no basal (10,02[5,93-12,93] vs. 10,48[7,76-12,99]%; $p=0,93$); 30 minutos (9,97[5,85-13,65] vs. 9,81[5,08-11,99]%; $p=0,57$); 60 minutos (11,24[6,30-14,09] vs. 9,88[6,07-12,19]%; $p=0,52$); 120 minutos (7,27[3,52-14,06] vs. 11,05[9,21-11,65]%; $p=0,26$); 180 minutos (8,41[4,0-11,40] vs. 10,79[9,65-13,45]%; $p=0,09$).

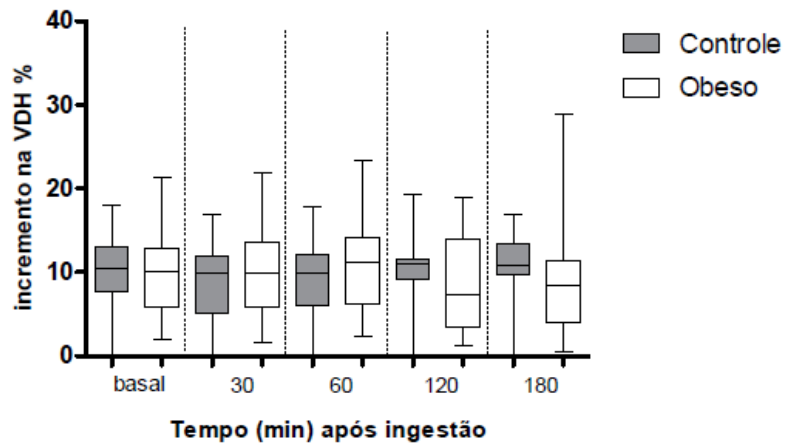


Figura 15– Comparação do percentual do incremento na VDH_{max} entre mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

VDH_{Max} – velocidade do deslocamento das hemácias durante hiperemia reativa

5.3.5 Tempo de Reperusão ($TVDH_{max}$)

A resposta ao tempo de reperusão foi significativamente maior no grupo OB do que no grupo C em todos os tempos de estudo (Figura 16). Além disto, após 30 e 60 minutos da sobrecarga lipídica, ambos os grupos apresentaram uma resposta similar, com aumento significativo do $TVDH_{max}$, quando comparado aos seus valores basais (OB- 5,0[5,0-6,75] vs. 7,0(6,0-8,0) s; $p=0,0004$ e C – 3,0[3,0-4,0] vs. 5,0[4,0-6,0] s; $p<0,0001$) e (OB- 5,0[5,0-6,75] vs. 7,0[5,25-8,75] s; $p=0,0004$ e C - 3,0[3,0-4,0] vs. 4,0[4,0-5,0] s; $p<0,0001$), respectivamente.

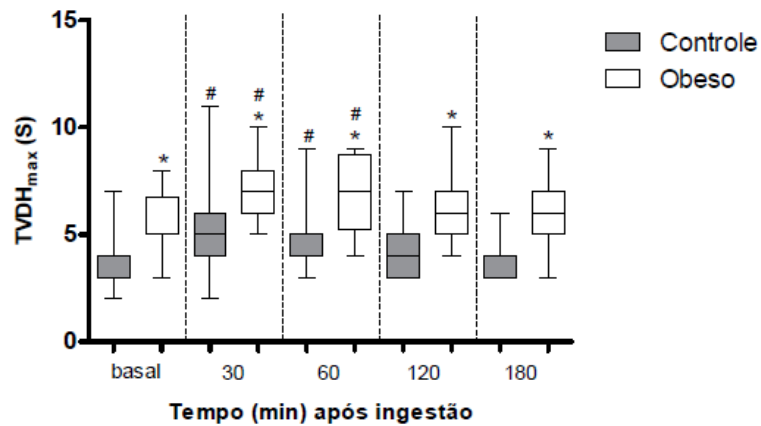


Figura 16–Comparação do comportamento do TVDH_{max} em mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

TVDH – tempo de reperfusão na hiperemia reativa; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle;# Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

5.4 Viscosidade Plasmática

A viscosidade plasmática foi analisada através de duas rotações diferentes: 30 e 50 rpm (rotações por minuto). Em 30 rpm não foram encontradas diferenças intra-grupo e nem inter-grupo durante o estudo. Já em 50 rpm a viscosidade plasmática apresentou uma tendência à queda no grupo C, após 30 minutos da sobrecarga lipídica quando comparado ao valor basal (1,30[1,28-1,33] vs. 1,34[1,30-1,38] cP; p=0,06), enquanto o grupo OB apresentou um aumento significativo no tempo 120 min comparado ao grupo C (OB – 1,35[1,32-1,41] vs. C - 1,32[1,29-1,35] cP; p=0,04) como é possível observar na figura 17.

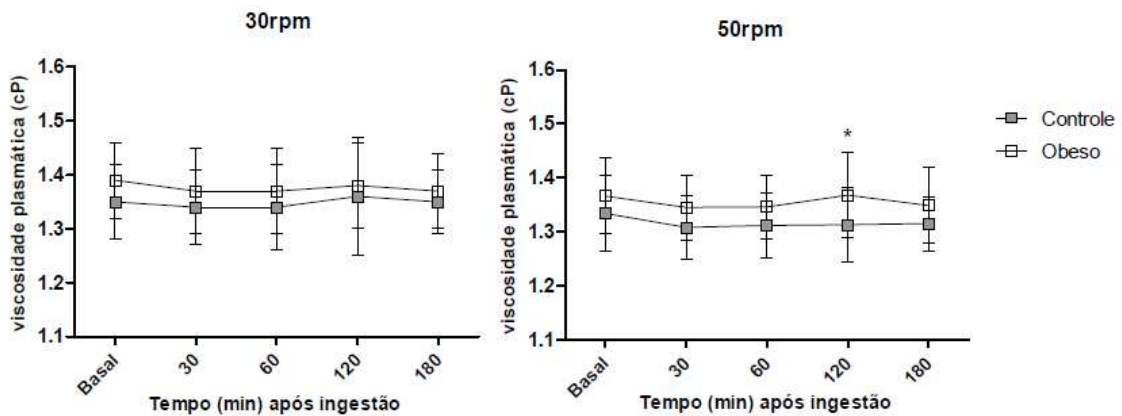


Figura 17 – Curvas de comparação da viscosidade plasmática em 30 e 50 rpm das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

Rpm- rotações por minuto; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle;

5.5 Pressão Arterial

As pacientes de ambos os grupos foram classificadas como normotensas, não apresentando diferenças entre os grupos estudados no basal para a PAS e a PAD, mas a PAS foi significativamente mais elevada no grupo OB após 30 minutos da sobrecarga lipídica quando comparada ao grupo C (116[109-125,00] vs. 105[101,00-116,8] mmHg; $p=0,03$); mantendo-se elevada nos tempos 60 (115[110,00-123,50] vs. 104,00[101,00-111,50] mmHg; $p=0,006$), 120 min (116,00[109,50-123,00] vs. 103,00[100,8-112,50] mmHg; $p=0,01$) e 180 min (115,00[109,00-123,5] vs. 102,5[100,8-117,3] mmHg; $p=0,04$). A PAD apresentou-se significativamente elevada no grupo OB após 120 minutos da sobrecarga lipídica quando comparada ao grupo C (73,00[66,00-79,00] vs. 63,50[62,00-71,75] mmHg; $p=0,04$). Diferenças inter-grupo não foram observadas (figura 18).

A FC não apresentou diferenças inter-grupo, porém, o grupo OB teve um aumento significativo no tempo 60, quando comparado a sua FC basal (68,50[66,00-79,00] vs. 77,00[72,25-85,25] bpm; $p=0,04$). Já o grupo C, apresentou um aumento significativo da FC no tempo 60 (67,00[64,50-81,50]) vs. 77,00[70,50-81,00] bpm; $p=0,002$) e 180 (67,00[64,50-81,50]) vs. 75,00[72,00-86,50] bpm; $p=0,002$) quando comparado com sua FC basal.

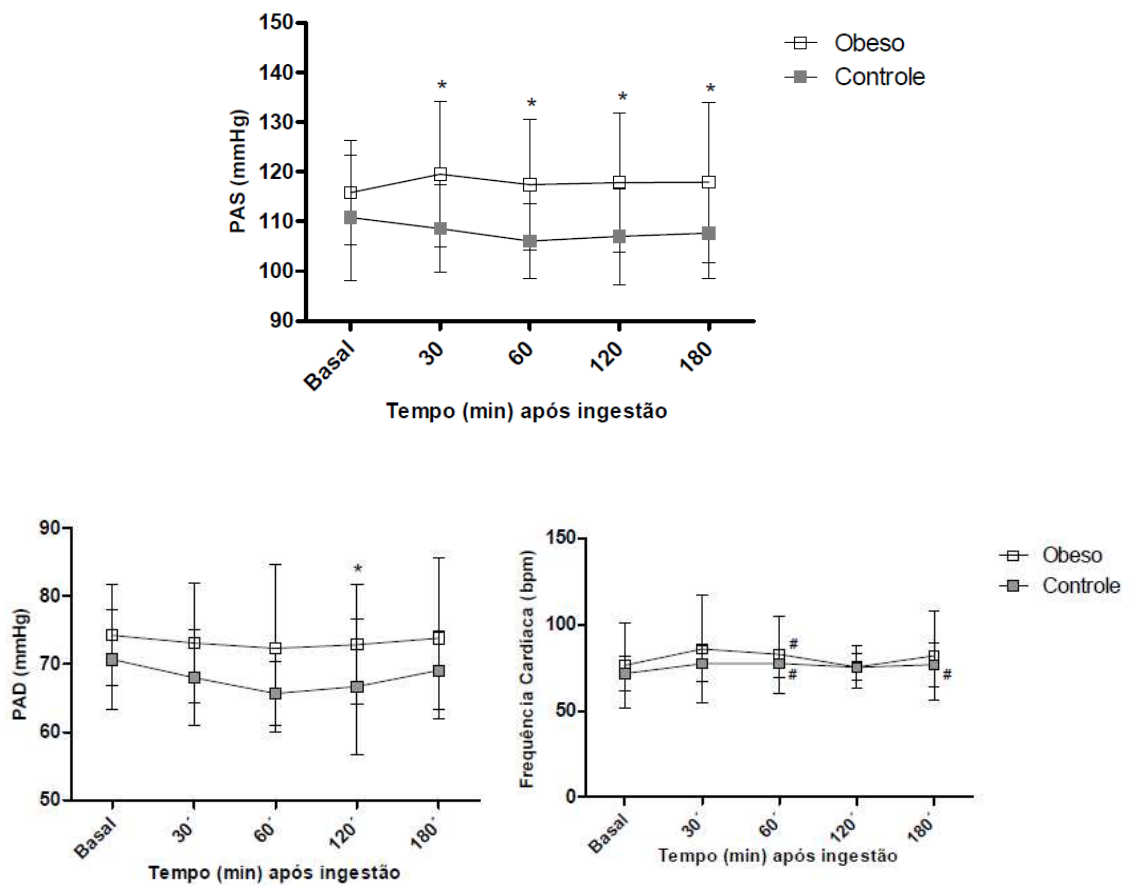


Figura 18 – Comparação da pressão arterial sistólica, da pressão diastólica e frequência cardíaca das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

PAS – Pressão arterial sistólica; PAD – Pressão arterial diastólica; FC – Frequência cardíaca

*Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

5.6 Variáveis Metabólicas

Como esperado, a média da glicose no repouso foi significativamente maior no grupo OB quando comparado ao grupo C ($92,70 \pm 8,08$ vs. $87,25 \pm 5,38$ mg/dl; $P=0,02$). Diferenças inter-grupo não foram mais observadas após a sobrecarga lipídica. Contudo, ambos os grupos responderam similarmente à refeição rica em lipídios, com aumento dos níveis de glicose, 30 minutos após a ingestão, quando comparado aos seus níveis basais (OB - $92,70 \pm 8,08$ vs. $107,5 \pm 14,46$ mg/dl; $p=0,04$) e (C - $87,25 \pm 5,38$ vs. $102,7 \pm 15,20$ mg/dl; $p < 0,0001$) (figura 19).

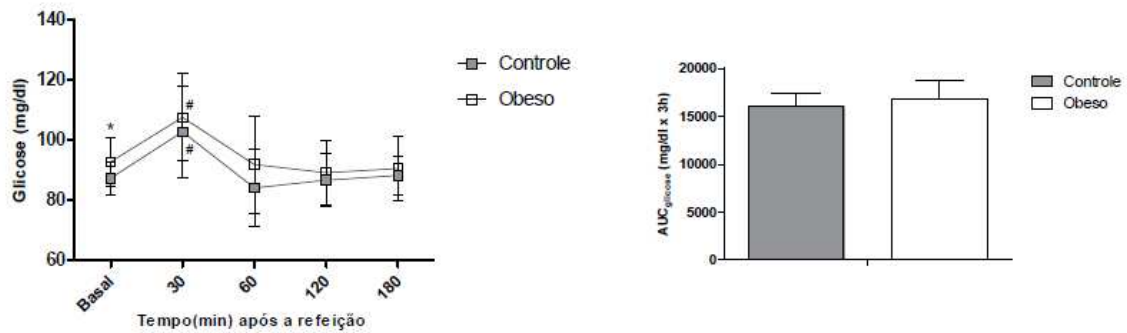


Figura 19– Comparação e AUC 3h dos níveis de glicose das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

* Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

Os níveis de insulina após a sobrecarga lipídica apresentaram-se significativamente elevadas no grupo OB quando comparada ao grupo C aos 30 minutos (43,04[29,20-60,72] vs. 30,10[25,32-37,40] mU/l; p=0,0012); 120 minutos (26,60[18,11-32,31] vs. 16,97[15,49-24,61] mU/l; p=0,01) e aos 180 minutos (21,51[13,56-27,32] vs. 14,90[11,57-19,98] mU/l; p=0,049). O grupo OB obteve níveis significativamente elevados de insulina, quando comparado aos seus valores basais nos tempos: 30 minutos (43,07[29,20-60,72] vs. 12,61[7,4-15,87] mU/l; p<0,0001); 60 minutos (25,11[17,48-46,82] vs. 12,61[7,4-15,87] mU/l; p<0,0001) e aos 120 minutos (26,60[18,11-32,31] vs. 12,61[7,4-15,87] mU/l; p<0,0001). Já o grupo C após a sobrecarga lipídica apresentou os valores de insulina significativamente aumentados quando comparado aos seus valores basais nos tempos: 30 minutos (30,10[25,32-37,40] vs. 6,59[5,66-8,28] mU/l; p<0,0001); 60 min. (21,13[15,85-24,51] vs. 6,59[5,66-8,28] mU/l; p<0,0001); 120 min. (16,97[15,49-24,61] vs. 6,59[5,66-8,28] mU/l; p<0,0001) e aos 180 min. (14,90[11,57-19,98] vs. 6,59[5,66-8,28] mU/l; p<0,0001). A AUC_{insulina} 3h apresentou-se significativamente maior no grupo OB quando comparado ao grupo C, como é possível observar na figura 20.

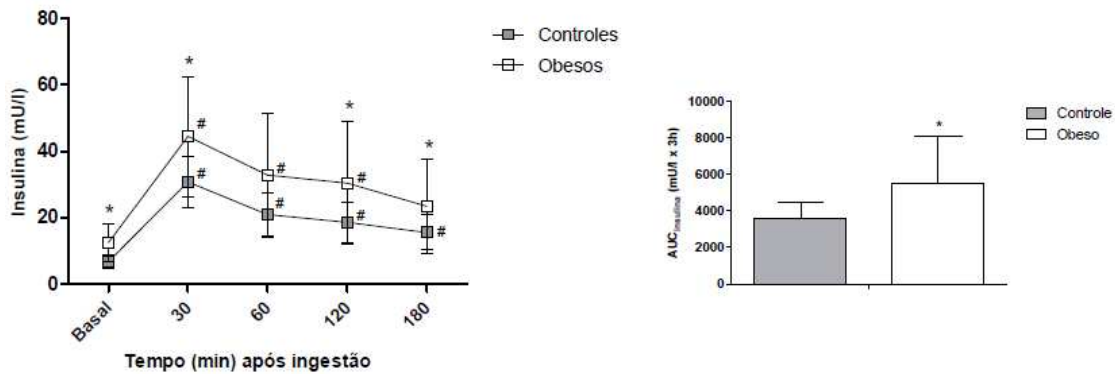


Figura 20– Comparação e AUC 3h dos níveis de insulina das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

* Diferenças significativas em relação ao grupo controle;# Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

Os níveis de CT apresentaram-se significativamente aumentados no grupo OB comparado ao grupo C, no basal (179,50[166,30-211,80] vs. 159,00[143,00-176,80] mg/dl; $p=0,004$), nos tempos 30 (179,00[165,30-219,80] vs. 150,5[137,3-169,00] mg/dl; $p=0,001$); 60 (178,00[164,30-213,30] vs. 152,00[135,00-167,50] mg/dl; $p=0,001$); 120 (180,50[160,30-214,30] vs. 149,00[134,00-171,00] mg/dl; $p=0,002$) e 180 (182,00[161,30-218,00] vs. 148,00[134,50-171,80] mg/dl; $p=0,003$). A AUC_{CT} de 3h foi significativamente maior no grupo OB em relação ao grupo C. Diferenças intra-grupo não foram observadas após a sobrecarga lipídica (Figura 21).

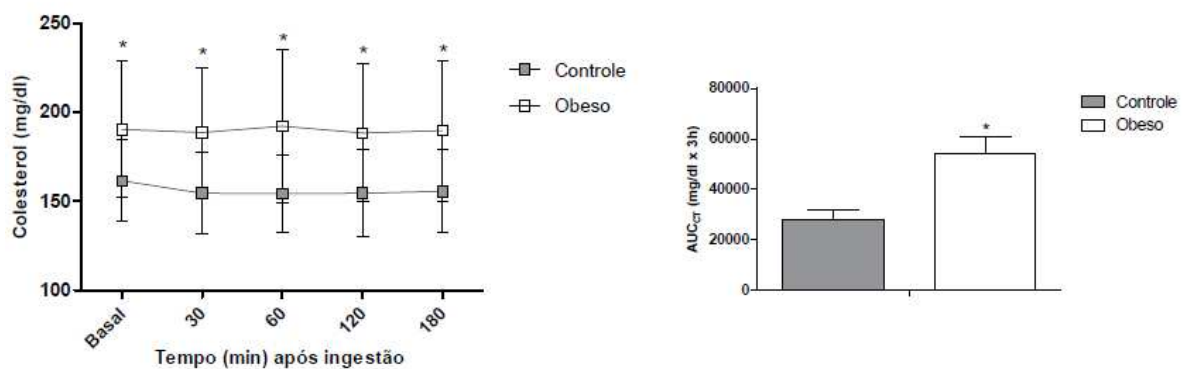


Figura 21 – Comparação e AUC 3h dos níveis de CT das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

CT – colesterol total; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

Ao contrário, os níveis de LDL-c reduziram significativamente em ambos os grupos, após 120 minutos (OB – 105,50[98,25-126,80] vs. 102,00[86,00-125,00] mg/dl; $p < 0,0001$); (C – 82,50[66,50-93,50] vs. 75,00[62,75-90,75] mg/dl; $p < 0,0001$) e 180 min (OB – 105,50[98,25-126,80] vs. 96,50[83,50-179,00] mg/dl; $p < 0,0001$); (C – 82,50[66,50-93,50] vs. 70,50[62,25-86,50] mg/dl; $p < 0,0001$) quando comparado aos seus níveis basais. Além disso, como esperado, o grupo OB apresentou os níveis de LDL-c significativamente maiores do que o grupo C durante todo o tempo de estudo: basal (105,5[98,25-126,8] vs. 74,50[58,00-100,5] mg/dl; $p = 0,0006$); 30 min (106,5[94,5-129,5] mg/dl; $p = 0,0004$); 60 min (106,00[91,75-130,5] vs. 80,00[65,00-86,75] mg/dl; $p = 0,0003$); 120 min (102,00[86,00-125,00] vs. 75,00[62,75-90,75] mg/dl; $p = 0,0006$) e 180 min. (96,50[83,50-179,00] vs. 70,50[62,25-86,50]; $p = 0,001$). Além disso, a AUC_{LDL-c} de 3h apresentou-se significativamente maior no grupo OB quando comparada ao grupo C (Figura 22).

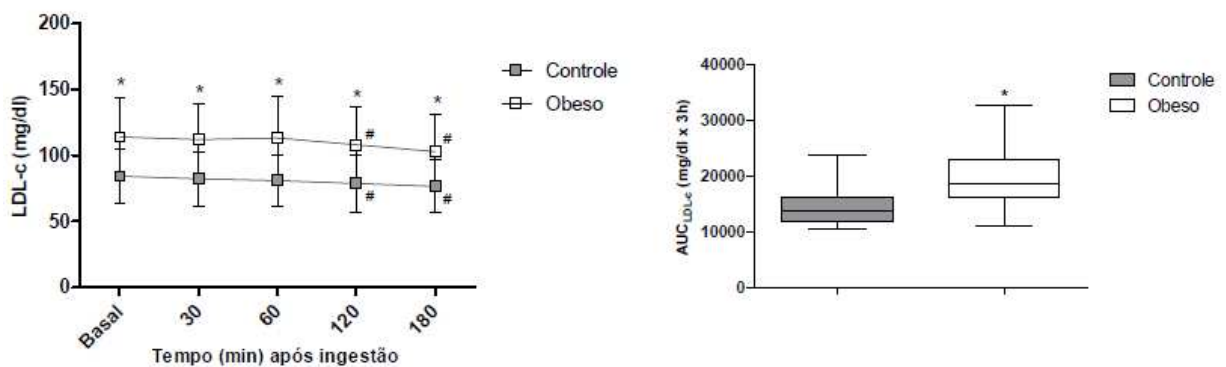


Figura 22– Comparação e AUC 3h dos níveis de LDL-c das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

* Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças significativas intra-grupo.

O grupo OB apresentou os níveis de HDL-c menores que o grupo C no estado pré-prandial (48,00[45,25-55,75] vs. 57,50[55,25-68,25] mg/dl; $p = 0,005$), porém no estado pós-prandial, diferenças inter-grupos não foram mais observadas. Ao contrário, o grupo C apresentou diminuição significativa dos níveis de HDL-c, quando comparado aos seus níveis basais no tempo 30 (59,50[55,25-68,25] vs. 57,00[47,74-65,00] mg/dl; $p < 0,0001$), mantendo-se aos 60 (59,50[55,25-68,25] vs. 53,50[48,50-64,50] mg/dl; $p < 0,0001$); 120 (59,50[55,25-

68,25] vs. 53,00[48,25-62,00] mg/dl; $p<0,0001$) e 180 min (59,50[55,25-68,25] vs. 52,00[47,00-64,00] mg/dl; $p<0,0001$). O grupo OB também apresentou uma redução dos níveis de HDL-c quando comparado ao início do estudo, porém com significância estatística somente aos 180 minutos (48,00[45,25-55,75] vs. 45,00[42,25-55,50] mg/dl; $p<0,0001$). Em relação à AUC_{HDL-c} não foram encontrados resultados significativos entre os grupos (Figura 23).

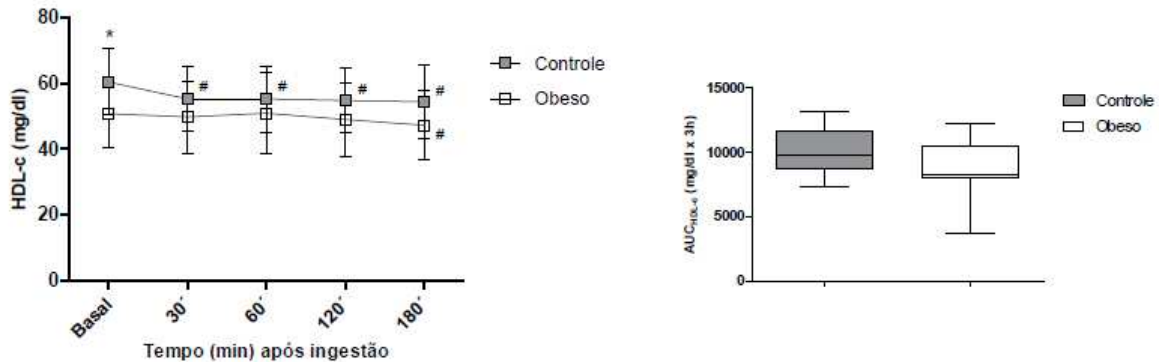


Figura 23– Comparação e AUC 3h dos níveis de HDL-c das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

* Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

A figura 24 apresenta o comportamento dos TG pré e pós-prandial em ambos os grupos. O grupo OB apresentou os níveis dos TG significativamente elevados quando comparado ao grupo C, ao longo de todo o estudo: basal (112,00[83,5-167,50] vs. 74,50[58,00-100,50] mg/dl; $p=0,0051$); 30 minutos (117,50[88,75-166,80] vs. 79,00[59,25-100,00] mg/dl; $p=0,003$); 60 minutos (129,00[93,75-164,00] vs. 81,00[62,25-104,50] mg/dl; $p=0,002$); 120 minutos (155,50[103,30-175,30] vs. 99,50[78,75-124,50] mg/dl; $p=0,006$) e 180 minutos (189,00[118,5-239,50] vs. 111,50[88,25-164,30] mg/dl; $p=0,003$).

Após a sobrecarga lipídica, ambos os grupos apresentaram resultados similares, com aumento gradativo dos níveis de TG. Tanto o grupo OB quanto o grupo C apresentaram diferenças significativas quando comparado aos seus níveis basais em 120 minutos (OB – 112,00[83,50-167,50] vs. 155[103,30-175,30] mg/dl; $p<0,001$); (C – 74,50[58,00-100,50] vs. 99,50[78,75-124,50] mg/dl; $P<0,0001$) e 180 minutos (OB – 112,00[83,50-167,50] vs. 189,00[118,50-239,50] mg/dl; $p<0,0001$); (C - 74,50[58,00-100,50] vs. 111,50[88,25-

164,30] mg/dl; $p < 0,0001$) após a refeição. Novamente, a AUC_{TG} 3h foi significativamente maior no grupo OB que no grupo C.

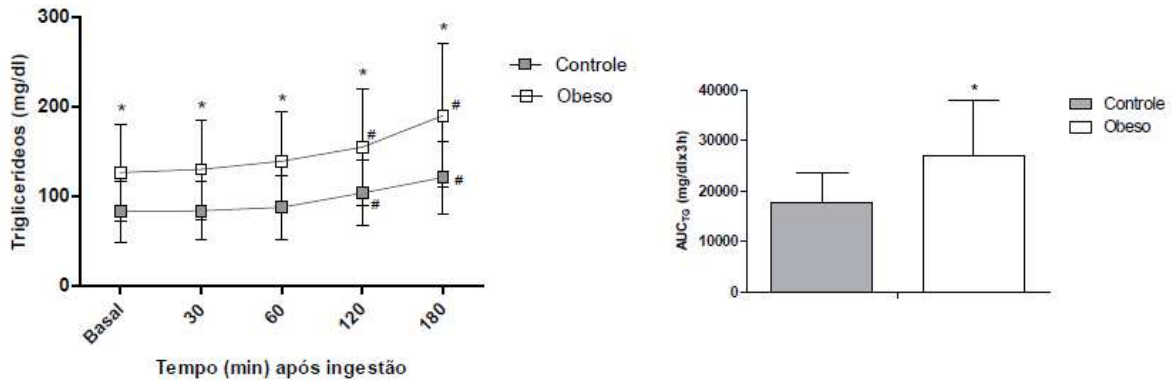


Figura 24 – Comparação e AUC 3h do TG das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

TG – triglicerídeos; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle;# Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

5.7 Ácidos graxos Livres (AGL)

A figura 25 mostra o comportamento dos AGL durante o estudo. Pode-se perceber que não ocorreram alterações significativas inter-grupos no estado pré-prandial. Contudo, após a sobrecarga lipídica houve uma diminuição gradativa dos níveis do AGL, sendo significativamente menor no grupo C aos 60 minutos quando comparado ao grupo OB (0,27[0,20-0,36] vs. 0,22[0,16-0,27] mmol/l; $p=0,04$). Além disso, o grupo OB apresentou os níveis de AGL significativamente menores aos 60 e 120 minutos no estado pós-prandial quando comparado ao valor pré-prandial (0,60[0,46-0,70] vs. 0,27[0,20-0,36] mmol/l; $p < 0,0001$) e (0,60[0,46-0,70] vs. 0,34[0,23-0,41] mmol/l; $p < 0,0001$), respectivamente. Paralelamente, o grupo C apresentou aos 30, 60, 120 e 180 minutos após a sobrecarga lipídica, níveis do AGL significativamente menores do que seus níveis basais (0,48[0,41-0,63] vs. 0,39[0,25-0,42] mmol/l; $p < 0,0001$), (0,48[0,41-0,63] vs. 0,22[0,16-0,27] mmol/l; $p < 0,0001$), (0,48[0,41-0,63] vs. 0,27[0,21-0,33] mmol/l; $p < 0,001$) e (0,48[0,41-0,63] vs. 0,38[0,26-0,48] mmol/l; $p < 0,001$), respectivamente. Paralelamente, a AUC_{AGL} de 3h foi significativamente maior no grupo OB do que quando comparada ao grupo C.

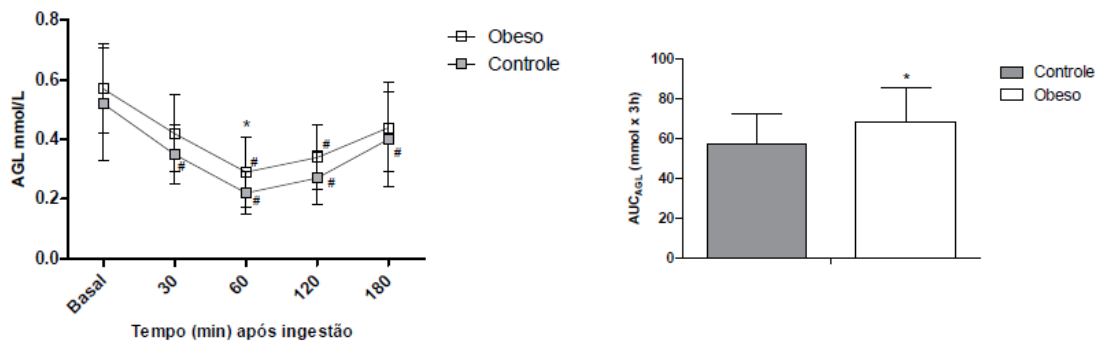


Figura 25- Comparação e AUC 3h dos níveis de AGL das mulheres controles e obesas antes e após a sobrecarga lipídica.

AGL – ácidos graxos livres; * Diferenças significativas em relação ao grupo controle; # Diferenças intra-grupo em relação ao basal.

6 DISCUSSÃO

A proposta do presente estudo foi investigar os efeitos de uma sobrecarga lipídica na reatividade microcirculatória em mulheres obesas. Considerando nosso principal objetivo, observamos um efeito importante no estado pós prandial na função microcirculatória em mulheres obesas mesmo na ausência de co-morbidades, conseqüentemente com possível efeito deletério na morbidade cardiovascular em longo prazo.

As mulheres obesas apresentaram alterações importantes nas variáveis metabólicas, com a elevação dos níveis de glicose e insulina; no perfil lipídico, com o aumento dos níveis TG e a redução dos níveis de HDL-c; na função microcirculatória, com a redução da DCF no repouso, durante a hiperemia reativa e pós-oclusão venosa, além da diminuição da VDH e VDH_{max} , e o aumento do $TVDH_{max}$. Paralelamente, houve o aumento da PAS após a ingestão da dieta hiperlipídica.

Como esperado, na caracterização da população deste estudo, foi observado que as mulheres do grupo OB apresentaram maior massa corporal, IMC, circunferência abdominal, circunferência do quadril, RCQ e maior porcentagem de massa gorda quando comparado ao grupo C. A idade do grupo OB apresentou-se significativamente maior do que o grupo C, entretanto apesar desta diferença, não consideramos que esta estivesse associada com as piores respostas microcirculatórias encontradas no grupo OB já que em números absolutos ela se expressa por uma diferença mediana de apenas 2,5 anos. Além disso, a diferença entre as idades da amostra não caracteriza qualquer alteração hormonal que possa ter influenciando os resultados deste estudo. Como foi o caso de uma pesquisa realizada com mulheres (34-70 anos) com pós-menopausa que observou a correlação negativa entre idade e valores da VDH e VDH_{max} e o tempo do início da menopausa, o que foi associado ao dano microcirculatório (Clapauch et al., 2009). Além disso, apesar da faixa de idade ser entre 19-40 anos, todas as participantes estavam em idade fértil. Cabe ressaltar, que nossos exames não foram feitos com precaução relacionada ao ciclo, pois já foi demonstrado que a função microcirculatória independe do ciclo menstrual em mulheres em idade reprodutiva (Ketel et al., 2009).

Considerando os parâmetros metabólicos no recrutamento das pacientes, ambos os grupos foram caracterizadas como normoglicêmicos de acordo com os critérios da Sociedade Americana de Diabetes (ADA, 2013) e corroborados pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009), porém o grupo OB apresentou valores mais elevados do que o grupo C. Além disso, os níveis de insulina foram significativamente mais altos no grupo OB, mas sem caracterizar um quadro de resistência à insulina, definido através do $HOMA-IR >2,71$

(Geloneze et al., 2006), apesar de apresentarem uma diminuição da sensibilidade à insulina em jejum quando comparado ao grupo C. O perfil lipídico de ambos os grupos foi considerado dentro da normalidade/ limítrofe; entretanto, o grupo OB apresentava os níveis de TG, LDL-c e CT maiores do que o grupo C.

Aliás, 43% das obesas apresentavam o diagnóstico de SM apesar de nenhuma participante apresentava diagnóstico de intolerância à glicose, hipertensão e DM2. Assim, a caracterização da amostra com obesidade é importante, para esclarecer que o grupo OB apresenta-se metabolicamente comprometido.

A videocapilaroscopia tem sido utilizada para avaliação da microcirculação cutânea e dados obtidos a partir dela tem sido associados ao risco cardiovascular em indivíduos obesos e diabéticos do tipo 2 (de Jongh et al., 2008; Ijzerman et al., 2003). A disfunção microcirculatória tem sido demonstrada através da redução do recrutamento e da densidade capilar que consequentemente diminuem o fluxo sanguíneo em indivíduos obesos (de Jongh et al., 2004c). Esta disfunção tem sido associada normalmente à resistência à insulina característica comum na obesidade (Kraemer-Aguiar et al., 2008; Lillioja et al., 1987).

A DCF tem sido avaliada por outros autores através da técnica de videocapilaroscopia do dorso do dedo, e esses vêm evidenciando, que o número de capilares recrutados por indivíduos saudáveis e obesos não apresentam diferenças significativas no repouso (Francischetti et al., 2011; Jonk et al., 2011; van Genugten et al., 2013). O presente estudo avaliou a DCF por dois métodos, e por ambos foi possível comprovar que não há alterações na microperfusão tecidual entre indivíduos C e OB no estado pré-prandial, corroborando os achados anteriores. Entretanto, um estudo do nosso laboratório, usando o método de videocapilaroscopia dinâmica periungueal, observou a ocorrência de rarefação capilar de indivíduos com SM quando comparado aos indivíduos saudáveis (Kraemer-Aguiar et al., 2008), este além de metabolicamente ativos compreendiam uma população com mais idade que as pacientes deste estudo.

Na hiperemia reativa e após-oclusão venosa no repouso não foi possível observar diferenças inter-grupo. Nosso achado está de acordo com a literatura que não demonstra diferenças significativas durante a hiperemia reativa e pós-oclusão venosa entre indivíduos saudáveis e obesos (Jonk et al., 2011).

Após a ingestão de uma refeição rica em gordura, foi possível notar que o grupo OB apresentou um decréscimo na DCF em ambas as técnicas. Entretanto, somente na técnica realizada no dorso do dedo (basal, durante hiperemia reativa e pós-oclusão venosa) foi possível a observação da redução da DCF após os 180 minutos da refeição quando comparado

aos valores basais no grupo OB. Ao contrário, nesses períodos, o grupo C manteve-se com a DCF estável. Estudos recentes avaliando a função microcirculatória em indivíduos obesos e saudáveis após uma refeição observaram o aumento da densidade capilar no tecido muscular e cutâneo em indivíduos saudáveis, mas não em indivíduos obesos, confirmando que na obesidade há um prejuízo na função microcirculatória após a ingestão de uma refeição (Keske et al., 2009b; van Genugten et al., 2013). Contudo, não se pode considerar esse achado um consenso, já que há um estudo que não identificou diferenças na DCF em indivíduos obesos e saudáveis no estado pós-prandial (Jonk et al., 2011).

Sabe-se que a disfunção microcirculatória pode preceder o desenvolvimento da resistência à insulina e da hipertensão, e esta hipótese foi baseada em um estudo que observou a presença desse dano em indivíduos na meia idade, normoglicêmicos e com disposição genética para a DM2 (Caballero, 2004). Tem sido recentemente hipotetizado que a disfunção microcirculatória altera a eficiência do acesso da glicose e insulina aos tecidos-alvos, através de um defeito pré-receptor (Jonk et al., 2010; Liu et al., 2009). Corroborando esse achado, uma meta-análise realizada recentemente evidenciou que a disfunção microcirculatória esteve associada com o aumento da incidência da DM2 e ainda com a intolerância à glicose (Muris et al., 2012). Sugerimos assim, que apesar da nossa amostra com obesidade não apresentar comorbidades, a disfunção microcirculatória já está instalada, expressa primordialmente por alterações dinâmicas no microfluxo vascular, o qual pode levar a redução da DCF após sobrecarga lipídica. A insulina atua no relaxamento de arteríolas pré-capilares e tem efeitos na vasomotricidade microcirculatória, facilitando o recrutamento de capilares e expandindo a área disponível para transporte de insulina e glicose (Barrett et al., 2009). Há evidências de que no obeso a redução da DCF está correlacionada ao prejuízo na captação de glicose mediada pela insulina (Meijer et al., 2012). O presente estudo observou o aumento de insulina em ambos os grupos no estado pós-prandial, porém o grupo OB apresentou níveis mais elevados do que o grupo C. Contudo, sugerimos que a redução da DCF nas participantes obesas pode ser o reflexo da hiperinsulinemia pós-prandial e/ou a inabilidade da insulina de atuar a nível vascular, demonstrada experimentalmente pela ocorrência concomitante de resistência à insulina no miócito e na célula endotelial (Kubota et al., 2008).

No estado pós-prandial, não somente a secreção da insulina é estimulada, mas outras mudanças ocorrem, as quais podem influenciar a função microcirculatória. É o caso do tecido adiposo, principalmente da adiposidade de localização visceral que tem sido correlacionada negativamente com a redução da DCF (de Jongh et al., 2004a). Isto porque os AGL, provenientes dos adipócitos através da lipólise, têm sido citados como um dos componentes

responsáveis pela alteração da função microcirculatória, principalmente por diminuir o *clearance* hepático de insulina e aumentarem a resistência à sua ação (Liu et al., 2009). Com isso, o AGL liberado pelo tecido adiposo, pode influenciar a função microcirculatória, principalmente por afetar vias importantes de sinalização da insulina que estão diretamente relacionadas à produção de NO, com consequente vasoconstrição em artérias de resistência muscular (Kim et al., 2006). Evidencia-se que os AGL reduzem a disponibilidade de NO por inibição da eNOS e estimulação da produção de espécies reativas de oxigênio (Inoguchi et al., 2000). Em nosso estudo, os níveis de AGL em ambos os grupos, foram diminuindo gradativamente até os 60 minutos após a refeição, secundariamente ao aumento dos níveis de insulina, que ao inibir LPL e lipólise, reduz a liberação dos AGLs na corrente sanguínea. Contudo, paralelamente ao retorno da insulina aos níveis basais, a partir dos 60 minutos após a refeição, os níveis de AGL voltam a subir. Vêm sendo demonstrado os efeitos dos AGL no aumento da pressão sistólica, sendo um fator para o desenvolvimento da hipertensão (Steinberg et al., 1997). Além disso, achados anteriores demonstram que os AGL levam a danos microcirculatórios através da redução da DCF (de Jongh et al., 2004b; Liu et al., 2009). Porém, essa relação não foi observada em um estudo recente, que demonstrou não haver relação entre disfunção microcirculatória e níveis de AGL pós-prandiais, apesar de não excluir a importância deste no dano vascular (van Genugten et al., 2013).

Além disso, como descrito na literatura o aumento da atividade simpática é uma característica comum na obesidade (Grassi et al., 1995). esta é associada ao aumento dos níveis de AGL que afetam a sensibilidade dos baroreceptores, além da insulina responsável pela vasoconstrição dos vasos e o aumento dos níveis de leptina (Grassi et al., 2010; Lambert et al., 2010).

O aumento da atividade simpática pode elevar a pressão arterial através da inervação simpática renal e da vasoconstrição, esta última influenciada pela insulina (Rahmouni et al., 2005). É o que foi observado em um estudo experimental que sugeriu que o estado de hiperinsulinemia pode ser o gatilho para as alterações estruturais vasculares, relacionadas ao efeito pró-hipertrofia principalmente no miocárdio e nas paredes das artérias (Grassi, 2009). Além disso, evidenciou-se que em obesos normotensos o sistema nervoso simpático é o maior determinante para alterações na função endotelial e renal, porém o mais interessante desses dados é que eles foram obtidos sem o diagnóstico clínico de hipertensão, enfatizando que as alterações estruturais e funcionais na obesidade são independentes da presença desse diagnóstico (Lambert et al., 2010). Todavia, o sistema nervoso autonômico parece também ser influenciado pela ingestão alimentar, porém não tem sido descrito a elevação através da

ingestão de refeições ricas em gorduras ou proteínas, somente aquelas ricas em carboidratos, que estimulam o aumento dos níveis de insulina (Tentolouris et al., 2003; Welle et al., 1981).

Apesar das participantes obesas do nosso estudo não terem critérios clínicos para o diagnóstico de hipertensão arterial, ou seja, não apresentarem uma pressão sistólica ≥ 140 mmHg ou diastólica ≥ 80 mmHg (Chobanian et al., 2003); observou-se um aumento da PAS dessas mulheres após a sobrecarga lipídica, quando comparado ao grupo C, e esses valores mantiveram-se elevados até o final da sobrecarga em conjunto com a elevação da FC. O aumento da PAS pôde, em conjunto com outras variáveis, ter influenciado diretamente a DCF. Estudos já têm demonstrado correlação negativa entre a densidade capilar e a pressão arterial (de Jongh et al., 2004c). Assim, o aumento da resistência vascular periférica em proporção ao aumento da pressão sanguínea, refletem conseqüentemente mudanças na microcirculação (Levy et al., 2008). Indica-se que o aumento da relação parede-lúmen e rarefação capilar podem ser vistos como o resultado do aumento da pressão vascular. Entre os fatores que iniciam esse remodelamento vascular pode-se citar a disfunção endotelial, mudanças no fluxo sanguíneo e aumento da pressão transmural, além da angiotensina II um importante fator para estímulo do remodelamento (Touyz, 2005). Com isso, nosso estudo pode sugerir que o aumento da ingestão de uma refeição rica em lipídios por mulheres obesas pode contribuir mais rapidamente para esse quadro, lembrando ainda que estudos epidemiológicos comprovam que o aumento da PAS está associado ao aumento do DCVs, como o maior risco acidente vascular cerebral (AVC) (Kannel et al., 1971).

O recrutamento capilar na hiperemia reativa foi realizado, para comparar os grupos estudados antes e após a refeição. Foi possível constatar que o recrutamento capilar do grupo OB foi bem similar àquele observado no grupo C, demonstrando que a sobrecarga lipídica não influenciou esta variável. Corroborando este achado, podemos citar o estudo de Jonk e colaboradores (2011), que não observaram alterações no recrutamento capilar na hiperemia reativa em obesos, após uma refeição mista.

Parâmetros funcionais (VDH e VDH_{max} e o $TVDH_{max}$) representam medições diretas da vasodilatação a nível pré-capilar, e os seus danos podem ser interpretados como uma disfunção microcirculatória (Kraemer-Aguiar et al., 2008). Nosso estudo observou que o grupo OB apresentou valores mais baixos de VDH e VDH_{max} no estado pré-prandial quando comparado ao grupo C. Esse resultado já havia sido observado por nosso grupo em indivíduos com obesidade, com e sem SM (Kraemer-Aguiar et al., 2008; Kraemer-Aguiar et al., 2010a; Kraemer-Aguiar et al., 2010b); porém nosso estudo é o primeiro a avaliar a velocidade de deslocamento das hemácias no estado pós-prandial. Assim, logo nos primeiros 30 minutos de

observação foi possível verificar que o dano foi mais acentuado no grupo OB, que apresentaram tanto a VDH quanto a VDH_{max} reduzida concomitantemente com o aumento no $TVDH_{max}$; o grupo C também apresentou um dano microcirculatório na primeira hora após sobrecarga, com valores reduzidos de VDH_{max} além do $TVDH_{max}$ aumentado similarmente ao grupo OB. Sabe-se que velocidade na hiperemia reativa (VDH_{max}) é dependente da liberação de NO pelo endotélio, aumento da pressão intraluminal e da quantidade de espécies reativas de oxigênio e produtos metabólicos (Kraemer de Aguiar et al., 2007). A literatura sugere que o indivíduo obeso já apresenta disponibilidade de NO diminuída, aumento da pressão intraluminal, além de maiores níveis de espécies reativas de oxigênio e marcadores inflamatórios; todos esses pontos parecem ainda mais reforçados após a ingestão de lipídios (Sies et al., 2005).

Sugerimos que o dano mais acentuado na VDH e a VDH_{Max} do grupo OB pode ser uma consequência da redução da DCF. É possível que no intuito de preservar a nutrição tecidual e melhorar as trocas gasosas/nutrição e depuração das excretas, no indivíduo que apresenta a rarefação capilar, a velocidade de deslocamento das hemácias seja reduzida. Esse dado já foi demonstrando em pesquisa experimental, onde foi possível observar que ratos Zucker obesos apresentavam redução da perfusão total e consequente alteração na distribuição do fluxo capilar (Wu et al., 2011). No grupo C, sugerimos que a VDH_{max} reduzida e o $TVDH_{max}$ elevado estão provavelmente relacionados ao aumento de radicais livres após a ingestão de lipídios por este grupo, como observado por outros autores (Anderson et al., 2001; Berry et al., 2008).

A porcentagem de incremento na VDH_{max} foi calculado, contudo não foi observado significância estatística entre os grupos. Porém, é possível notar que os grupos C e OB apresentam resultados similares até os 60 minutos, a partir daí há uma redução da média de incremento da VDH_{max} no grupo OB, possivelmente relacionada ao aumento dos níveis de AGL, que a partir do 60 minutos já começam a retornar aos níveis basais, além do aumento dos níveis de TG, que discutiremos mais a frente.

Paralelamente, realizamos a análise da viscosidade plasmática em duas velocidades de rotação, dando origem a duas medidas em diferentes velocidades de estresse por cisalhamento (Baskurt et al., 2009b). Trabalhávamos com a hipótese que a hipertrigliceridemia pós-prandial aumentaria a viscosidade plasmática, levando consequentemente à redução da VDH. Entretanto, nossa hipótese não foi confirmada. Há evidências que indivíduos com síndrome metabólica apresentam maior viscosidade plasmática que indivíduos saudáveis e que essas alterações hemorreológicas estejam relacionadas ao perfil inflamatório, de intolerância à

glicose e a parâmetros que podem favorecer eventos atero-trombóticos em pacientes com síndrome metabólica (Irace et al., 2009; Vaya et al., 2011). Porém, o presente estudo não observou essas diferenças entre os grupos, sugerindo que possivelmente, a viscosidade plasmática não estaria associada ao dano microcirculatório, mas para isso seriam necessárias mais análises, até mesmo do sangue total, que não foi realizado neste estudo. A princípio, podemos hipotetizar que o aumento de radicais livres após a refeição, seja um dos principais responsáveis por danos na microcirculação funcional, porém não avaliamos biomarcadores de estresse oxidativo para comprovar nossa hipótese.

A hiperglicemia tem sido associada ao aumento do risco cardiovascular (Klein, 1995) e estudos epidemiológicos sugerem a associação entre o aumento de glicose pós-prandial e o risco de morbidade e mortalidade em indivíduos com e sem DM2 (DECODE Study Group, 1999). Além disso, a hiperglicemia tem sido considerada o maior estímulo para a produção de espécies reativas de oxigênio através do aumento da produção de O_2^- via glicose oxidase e NADPH oxidase (Granger et al., 2010). Nosso estudo demonstrou um aumento dos níveis de glicose somente 30 minutos após a sobrecarga lipídica, ocorrendo uma resposta muito similar nos grupos OB e C; Demonstramos que ambos os grupos apresentaram respostas semelhantes de glicose pós-prandial, entretanto, o aumento de insulina foi conseqüentemente maior no grupo OB do que no grupo C, o que pode levar a danos vasculares.

Estudos corroboram nosso achado, demonstrando que após a uma sobrecarga lipídica há o aumento dos níveis de glicose até 1h após a ingestão da refeição em indivíduos normoglicêmicos. Porém a hiperglicemia pós-prandial parece ter um efeito precoce quando comparado com a hipertrigliceridemia, que tem um efeito retardado, mas considerado duradouro; enfim a combinação de ambos aumenta o efeito no desenvolvimento da aterosclerose (Ceriello et al., 2004).

Adicionalmente, o metabolismo de TG é reconhecidamente prejudicado na obesidade e em indivíduos com resistência à insulina (Adiels et al., 2006). A hipertrigliceridemia pós-prandial, particularmente em mulheres, está associada ao aumento do risco de mortalidade e eventos cardiovasculares, como o infarto agudo do miocárdio e AVC (Bansal et al., 2007; Stensvold et al., 1993). Evidências sugerem que mulheres que apresentam níveis de TG acima de 350mg/dl têm cinco vezes mais chances de DCVs, ao contrário daquelas com níveis abaixo de 133mg/dl (Stensvold et al., 1993). Além disso, a hipertrigliceridemia pode induzir a disfunção endotelial por múltiplos mecanismos, como o aumento de espécies reativas de oxigênio, a “varredura” de NO pelo O_2^- com conseqüente produção do peroxinitrito, indução de moléculas de adesão e estímulo à produção de mediadores pró-inflamatórios (Jagla e

Schrezenmeir, 2001). Sugere-se que na hipertrigliceridemia, há o favorecimento da produção de O_2^- e a destruição de NO, anulando a resposta da insulina na vasodilatação mediada pelo NO (Sowers, 2004).

Nosso estudo observou um aumento gradativo dos TG, similar em ambos os grupos com a média dos valores sempre maiores no grupo OB do que o grupo C. As alterações pós-prandiais dos TG e no metabolismo de lipoproteínas são transitórias e geralmente ocorrem de 6-8h após a ingestão da sobrecarga lipídica (Chan et al., 2008) o que justifica não termos observado o pico dos níveis de TG após a refeição.

As HDL-c realizam atividades consideradas anti-aterogênicas, através das vias que estão associados, como o de transporte reverso de colesterol e conseqüentemente tem sido evidenciado que os níveis de HDL-c são inversamente correlacionados com a disfunção endotelial (Anderson et al., 2001). Como já era esperado, notou-se que o grupo OB apresenta os níveis de HDL-c significativamente reduzidos quando comparados ao do grupo C; após a refeição houve uma redução dos níveis de HDL-c em ambos os grupos. Sabe-se que no estado pós-prandial, a hiperinsulinemia é reconhecida por estimular a produção de QM (Duez et al., 2006); justificando os baixos níveis de HDL-c pós-prandiais observados no nosso estudo, que estão associados não só a produção de altos níveis de QM, mas também aos VLDL remanescentes e/ou LDL-c.

Evidencia-se que a LDL-c é aumentada no estado pós-prandial e tem características altamente aterogênicas. Após a refeição ela está aumentada na circulação, sendo oxidada e englobada pelos macrófagos para a parede da artéria promovendo a lesão aterogênica (Tanaka, 2004). Contudo, nosso estudo não observou a elevação desses níveis após a refeição, assim como os níveis de CT que mantiveram-se sem alterações ao longo do estudo. Estudos de Bae e colaboradores (2001) e (2003), corroboram nossos achados, ao não observarem após 2 e 4h da ingestão da sobrecarga lipídica a elevação dos níveis de LDL-c e CT (Bae et al., 2001; Bae et al., 2003); além disso, um estudo mais recente, que ofereceu uma refeição padrão para 45 indivíduos saudáveis e fez o acompanhamento por 8 h do estado pós-prandial, observou a diminuição do LDL-c nas primeiras 3h e depois o aumento dos seus níveis (Nagata et al., 2012). Acredita-se que as concentrações diminuem durante o dia com o ritmo circadiano, o que explicaria nossos achados (Miida et al., 2002; Romon et al., 1997). Ainda assim, acreditamos que com mais tempo de observação seria possível notar o aumento dos níveis de LDL-c (pela resposta da refeição) como o estudo de Norata e colaboradores (2012).

O presente estudo apresentou limitações, a primeira delas foi relacionada a não avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo, como a LDL oxidada ou o isoprostano

urinário, que poderiam nos fornecer dados mais robustos para a discussão da disfunção microcirculatória pós-prandial; o segundo ponto é a questão do tempo de análise pós-prandial de 3h não ter sido o suficiente para o alcance do pico dos níveis de TG e por fim, nosso estudo não poder ser extrapolado para toda a população, porque só trabalhamos com mulheres obesas sem co-morbidades. Além disso, a falta de consenso entre os estudos que avaliam o estado pós-prandial provavelmente está relacionada ao tipo de refeição oferecida em cada estudo, que acaba sendo uma importante limitação para a comparação dos resultados, pois alguns autores ofereceram refeições mistas, outros, refeições ricas em gordura com quantidades diferentes de macronutrientes o que interfere na resposta metabólica e na função vascular.

7 RESUMO DOS ACHADOS

Tabela 5 - Resumo dos achados

Variáveis	C (evolução)	OB (evolução)	OB x C (AUC 3h)
DCF dinâmica (n/mm ²)	=	↓	-
DCF dorso (n/mm ²)	=	↓	-
DCF durante hiperemia (n/mm ²)	=	↓	-
DCF pós-oclusão venosa (n/mm ²)	=	↓	-
Recrutamento capilar %	=	=	-
VDH (mm/s)	=	↓	-
VDH _{max} (mm/s)	↓	↓	-
Incremento VDH _{max} (%)	=	=	-
TVDH _{max} (s)	↑	↑	-
Viscosidade plasmática (cP)	=	↑	-
PAS (mmHg)	=	↑	↑
PAD (mmHg)	=	=	-
FC (bpm)	↑	↑	-
Glicose (mg/dl)	↑	↑	=
Insulina (mU/l)	↑	↑	↑
CT (mg/dl)	=	↑	↑
LDL-c (mg/dl)	↓	↓	↑
HDL-c (mg/dl)	↓	↓	=
TG (mg/dl)	↑	↑	↑
AGL (mmol/l)	↓	↓	↑

C – controles; OB – obesos; = resultados sem alteração ao longo do estudo; ↓ resultados com redução ao longo do estudo; ↑ resultados com aumento ao longo do estudo; - análise não realizada. AUC 3h referente ao grupo OB; evolução – relacionada ao basal.

8 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que uma refeição rica em lipídios promove alterações deletérias à reatividade microvascular demonstradas através do aumento da rarefação capilar, redução da VDH e da VDH_{Max} e aumento no $TVDH_{max}$.

Concluimos que uma refeição rica em lipídios é promotora de disfunção microcirculatória aguda em mulheres obesas sem co-morbidades.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Nosso estudo da LPP em mulheres obesas com acompanhamento por 3h observou alterações metabólicas, no perfil lipídico, pressão sistólica, além da disfunção microcirculatória tanto pela redução da DCF quanto pela redução do deslocamento da velocidade das hemácias após a refeição nas obesas. Nosso trabalho é o primeiro a demonstrar alterações no fluxo sanguíneo no estado pós-prandial, sendo de grande relevância este dado para comprovar as alterações que ocorrem após a refeição. Porém, nosso estudo não realizou correlações entre as variáveis metabólicas e as microcirculatórias, que devem ser realizadas futuramente para fortalecer ainda mais nossos achados.

Além disso, o presente estudo avaliou a LPP de forma aguda, havendo necessidade de mais pesquisas com acompanhamento ao longo prazo a fim de consolidar nossos achados. Cabe ressaltar, que podemos supor que as alterações agudas na reatividade microcirculatória, aqui observadas, em decorrência da lipemia pós-prandial podem ter implicações a saúde vascular a longo prazo se, estímulos negativos a função vascular e repetidos (ex. frequentes lanches hiperlipídicos) ocorrerem de forma continuada nesta população. Além disso, há a necessidade de extrapolar as populações de estudo, principalmente avaliando mulheres obesas com co-morbidades (intolerância à glicose e diabetes mellitus do tipo 2).

REFERÊNCIAS

ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2013, 36(suppl 1), S11-S66.

Adiels M, Olofsson SO, Taskinen MR and Boren J. Diabetic dyslipidaemia. *Curr Opin Lipidol* 2006; 17:238-46.

Adiels M, Olofsson SO, Taskinen MR and Boren J. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28:1225-36.

Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120:1640-5.

Anderson RA, Evans ML, Ellis GR, Graham J, Morris K, Jackson SK, et al. The relationships between post-prandial lipaemia, endothelial function and oxidative stress in healthy individuals and patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2001; 154:475-83.

Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257:79-83.

Aucott L, Poobalan A, Smith WC, Avenell A, Jung R and Broom J. Effects of weight loss in overweight/obese individuals and long-term hypertension outcomes: a systematic review. *Hypertension* 2005; 45:1035-41.

Ayer JG, Harmer JA, Steinbeck K and Celermajer DS. Postprandial vascular reactivity in obese and normal weight young adults. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18:945-51.

Bae JH, Bassenge E, Kim KB, Kim YN, Kim KS, Lee HJ, et al. Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Atherosclerosis* 2001; 155:517-23.

Bae JH, Schwemmer M, Lee IK, Lee HJ, Park KR, Kim KY, et al. Postprandial hypertriglyceridemia-induced endothelial dysfunction in healthy subjects is independent of lipid oxidation. *Int J Cardiol* 2003; 87:259-67.

Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM and Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA* 2007; 298:309-16.

Baron AD. Hemodynamic actions of insulin. *Am J Physiol* 1994; 267:E187-E202.

Barrett EJ, Eggleston EM, Inyard AC, Wang H, Li G, Chai W, et al. The vascular actions of insulin control its delivery to muscle and regulate the rate-limiting step in skeletal muscle insulin action. *Diabetologia* 2009; 52:752-64.

Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009a; 42:75-97.

Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009b; 42:75-97.

Beckman JS and Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996; 271:C1424-C1437.

Beevers G, Lip GY and O'Brien E. ABC of hypertension: The pathophysiology of hypertension. *BMJ* 2001; 322:912-6.

Behrendt D and Ganz P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol* 2002; 90:40L-8L.

Berry SE, Tucker S, Banerji R, Jiang B, Chowienczyk PJ, Charles SM, et al. Impaired postprandial endothelial function depends on the type of fat consumed by healthy men. *J Nutr* 2008; 138:1910-4.

Blackburn P, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Tremblay A, Bergeron J, et al. Contribution of visceral adiposity to the exaggerated postprandial lipemia of men with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 2003; 26:3303-9.

Burdge GC and Calder PC. Plasma cytokine response during the postprandial period: a potential causal process in vascular disease? *Br J Nutr* 2005; 93:3-9.

Caballero AE. Endothelial dysfunction, inflammation, and insulin resistance: a focus on subjects at risk for type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 2004; 4:237-46.

Cai H and Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87:840-4.

Ceriello A, Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Da RR, Maier A, et al. Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes* 2004; 53:701-10.

Chan DC, Chen MM, Ooi EM and Watts GF. An ABC of apolipoprotein C-III: a clinically useful new cardiovascular risk factor? *Int J Clin Pract* 2008; 62:799-809.

Chan DC, Pang J, Romic G and Watts GF. Postprandial hypertriglyceridemia and cardiovascular disease: current and future therapies. *Curr Atheroscler Rep* 2013; 15:309.

Chavez-Jauregui RN, Mattes RD and Parks EJ. Dynamics of fat absorption and effect of sham feeding on postprandial lipema. *Gastroenterology* 2010; 139:1538-48.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289:2560-72.

Cicha I, Suzuki Y, Tateishi N and Maeda N. Enhancement of red blood cell aggregation by plasma triglycerides. *Clin Hemorheol Microcirc* 2001; 24:247-55.

Clapauch R, Mecnas AS, Maranhao PA and Bouskela E. Microcirculatory function in postmenopausal women: role of aging, hormonal exposure and metabolic syndrome. *Microvasc Res* 2009; 78:405-12.

Clark MG. Impaired microvascular perfusion: a consequence of vascular dysfunction and a potential cause of insulin resistance in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295:E732-E750.

Corp ES, Woods SC, Porte D, Jr., Dorsa DM, Figlewicz DP and Baskin DG. Localization of 125I-insulin binding sites in the rat hypothalamus by quantitative autoradiography. *Neurosci Lett* 1986; 70:17-22.

Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, et al. Postprandial triglyceride response in visceral obesity in men. *Diabetes* 1998; 47:953-60.

Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, Aljada A, Browne R, Hamouda W, et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:355-62.

de Jongh RT, Clark AD, Ijzerman RG, Serne EH, de VG and Stehouwer CD. Physiological hyperinsulinaemia increases intramuscular microvascular reactive hyperaemia and vasomotion in healthy volunteers. *Diabetologia* 2004a; 47:978-86.

de Jongh RT, Serne EH, Ijzerman RG, de VG and Stehouwer CD. Free fatty acid levels modulate microvascular function: relevance for obesity-associated insulin resistance, hypertension, and microangiopathy. *Diabetes* 2004b; 53:2873-82.

de Jongh RT, Serne EH, Ijzerman RG, de VG and Stehouwer CD. Impaired microvascular function in obesity: implications for obesity-associated microangiopathy, hypertension, and insulin resistance. *Circulation* 2004c; 109:2529-35.

de Jongh RT, Serne EH, Ijzerman RG, Jorstad HT and Stehouwer CD. Impaired local microvascular vasodilatory effects of insulin and reduced skin microvascular vasomotion in obese women. *Microvasc Res* 2008; 75:256-62.

De FE, Cusi K, Ocampo G, Berria R, Buck S, Consoli A, et al. Exercise-induced improvement in vasodilatory function accompanies increased insulin sensitivity in obesity and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4903-10.

DECODE Study Group. Glucose Tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. *Lancet* 354, 617-621. 1999.

Derosa G, Ferrari I, D'Angelo A, Salvadeo SA, Fogari E, Gravina A, et al. Effects of a standardized oral fat load on vascular remodelling markers in healthy subjects. *Microvasc Res* 2010; 80:110-5.

Duez H, Lamarche B, Uffelman KD, Valero R, Cohn JS and Lewis GF. Hyperinsulinemia is associated with increased production rate of intestinal apolipoprotein B-48-containing lipoproteins in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1357-63.

Evans K, Kuusela PJ, Cruz ML, Wilhelmova I, Fielding BA and Frayn KN. Rapid chylomicron appearance following sequential meals: effects of second meal composition. *Br J Nutr* 1998; 79:425-9.

Forstermann U and Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation* 2006; 113:1708-14.

Francischetti EA, Tibirica E, da Silva EG, Rodrigues E, Celoria BM and de Abreu VG. Skin capillary density and microvascular reactivity in obese subjects with and without metabolic syndrome. *Microvasc Res* 2011; 81:325-30.

Friedewald WT, Levy RI and Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.

Gaenger H, Sturm W, Neumayr G, Kirchmair R, Ebenbichler C, Ritsch A, et al. Pronounced postprandial lipemia impairs endothelium-dependent dilation of the brachial artery in men. *Cardiovasc Res* 2001; 52:509-16.

Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA and Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2006; 72:219-20.

Ginsberg HN. Lipoprotein physiology. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998; 27:503-19.

Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996; 37:693-707.

Granger DN, Rodrigues SF, Yildirim A and Senchenkova EY. Microvascular responses to cardiovascular risk factors. *Microcirculation* 2010; 17:192-205.

Grassi G. Assessment of sympathetic cardiovascular drive in human hypertension: achievements and perspectives. *Hypertension* 2009; 54:690-7.

Grassi G, Seravalle G, Cattaneo BM, Bolla GB, Lanfranchi A, Colombo M, et al. Sympathetic activation in obese normotensive subjects. *Hypertension* 1995; 25:560-3.

Grassi G, Seravalle G and Dell'oro R. Sympathetic activation in obesity: a noninnocent bystander. *Hypertension* 2010; 56:338-40.

Gregersen S, Samocha-Bonet D, Heilbronn LK and Campbell LV. Inflammatory and oxidative stress responses to high-carbohydrate and high-fat meals in healthy humans. *J Nutr Metab* 2012; 2012:238056.

Grundy SM. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:563S-72S.

Grundy SM and Denke MA. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res* 1990; 31:1149-72.

Higdon JV and Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:365-7.

Hughes TA, Heimberg M, Wang X, Wilcox H, Hughes SM, Tolley EA, et al. Comparative lipoprotein metabolism of myristate, palmitate, and stearate in normolipidemic men. *Metabolism* 1996; 45:1108-18.

Hyson D, Rutledge JC and Berglund L. Postprandial lipemia and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2003; 5:437-44.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares. 1-1-2010.

Ijzerman RG, de Jongh RT, Beijk MA, van Weissenbruch MM, Delemarre-van de Waal HA, Serne EH, et al. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur J Clin Invest* 2003; 33:536-42.

Ijzerman RG, Voordouw JJ, van Weissenbruch MM, Yudkin JS, Serne EH, Delemarre-van de Waal HA, et al. TNF-alpha levels are associated with skin capillary recruitment in humans: a

potential explanation for the relationship between TNF- α and insulin resistance. *Clin Sci (Lond)* 2006; 110:361-8.

Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes* 2000; 49:1939-45.

Irace C, Scavelli F, Carallo C, Serra R and Gnasso A. Plasma and blood viscosity in metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19:476-80.

Jagla A and Schrezenmeir J. Postprandial triglycerides and endothelial function. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109:S533-S547.

Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC and Stehouwer CD. Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda)* 2007; 22:252-60.

Jonk AM, Houben AJ, Schaper NC, de Leeuw PW, Serne EH, Smulders YM, et al. Angiotensin II enhances insulin-stimulated whole-body glucose disposal but impairs insulin-induced capillary recruitment in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:3901-8.

Jonk AM, Houben AJ, Schaper NC, de Leeuw PW, Serne EH, Smulders YM, et al. Obesity is associated with impaired endothelial function in the postprandial state. *Microvasc Res* 2011; 82:423-9.

Kannel WB, Gordon T and Schwartz MJ. Systolic versus diastolic blood pressure and risk of coronary heart disease. The Framingham study. *Am J Cardiol* 1971; 27:335-46.

Keske MA, Clerk LH, Price WJ, Jahn LA and Barrett EJ. Obesity blunts microvascular recruitment in human forearm muscle after a mixed meal. *Diabetes Care* 2009a; 32:1672-7.

Keske MA, Clerk LH, Price WJ, Jahn LA and Barrett EJ. Obesity blunts microvascular recruitment in human forearm muscle after a mixed meal. *Diabetes Care* 2009b; 32:1672-7.

Ketel IJ, Stehouwer CD, Serne EH, Poel DM, Groot L, Kager C, et al. Microvascular function has no menstrual-cycle-dependent variation in healthy ovulatory women. *Microcirculation* 2009; 16:714-24.

Khoury DE, Hwalla N, Frochot V, Lacorte JM, Chabert M and Kalopissis AD. Postprandial metabolic and hormonal responses of obese dyslipidemic subjects with metabolic syndrome to test meals, rich in carbohydrate, fat or protein. *Atherosclerosis* 2010; 210:307-13.

Kim JA, Montagnani M, Koh KK and Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006; 113:1888-904.

Klauser R, Prager R, Schernthaner G and Olefsky JM. Contribution of postprandial insulin and glucose to glucose disposal in normal and insulin-resistant obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73:758-64.

Klein R. Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Care* 1995; 18:258-68.

Klyszcz T, Hahn M, Rassner G and Junger M. [The technical construction of a computer-supported measuring unit for in-vivo capillary pressure measurement in human nail fold capillaries]. *Biomed Tech (Berl)* 1997; 42:310-8.

Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, et al. Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol* 2011; 9:258-70.

Kraemer de Aguiar LG, Laflor CM, Bahia L, Villela NR, Wiernsperger N, Bottino DA, et al. Metformin improves skin capillary reactivity in normoglycaemic subjects with the metabolic syndrome. *Diabet Med* 2007; 24:272-9.

Kraemer-Aguiar LG, Laflor CM and Bouskela E. Skin microcirculatory dysfunction is already present in normoglycemic subjects with metabolic syndrome. *Metabolism* 2008; 57:1740-6.

Kraemer-Aguiar LG, Maranhao PA, Cyrino FZ and Bouskela E. Waist circumference leads to prolonged microvascular reactive hyperemia response in young overweight/obese women. *Microvasc Res* 2010a; 80:427-32.

Kraemer-Aguiar LG, Maranhao PA, Sicuro FL and Bouskela E. Microvascular dysfunction: a direct link among BMI, waist circumference and glucose homeostasis in young overweight/obese normoglycemic women? *Int J Obes (Lond)* 2010b; 34:111-7.

Kris-Etherton PM and Yu S. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:1628S-44S.

Kubota T, Kubota N and Kadowaki T. [Endothelial function and insulin resistance]. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2008; 131:85-8.

Lambert GW, Straznicky NE, Lambert EA, Dixon JB and Schlaich MP. Sympathetic nervous activation in obesity and the metabolic syndrome--causes, consequences and therapeutic implications. *Pharmacol Ther* 2010; 126:159-72.

Levy BI, Ambrosio G, Pries AR and Struijker-Boudier HA. Microcirculation in hypertension: a new target for treatment? *Circulation* 2001; 104:735-40.

Levy BI, Schiffrin EL, Mourad JJ, Agostini D, Vicaut E, Safar ME, et al. Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation* 2008; 118:968-76.

Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420:868-74.

Lillioja S, Young AA, Culter CL, Ivy JL, Abbott WG, Zawadzki JK, et al. Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinants of in vivo insulin resistance in man. *J Clin Invest* 1987; 80:415-24.

Liu Z, Liu J, Jahn LA, Fowler DE and Barrett EJ. Infusing lipid raises plasma free fatty acids and induces insulin resistance in muscle microvasculature. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:3543-9.

Lohman, T. G. Roche A. F. Martorrel R. *Anthropometric Standartization Reference Manual*. Champaing, Iiinois, Human Kinetics . 1988.

Ref Type: Generic

Lopez S, Bermudez B, Ortega A, Varela LM, Pacheco YM, Villar J, et al. Effects of meals rich in either monounsaturated or saturated fat on lipid concentrations and on insulin secretion and action in subjects with high fasting triglyceride concentrations. *Am J Clin Nutr* 2011; 93:494-9.

Maranhao PA, Kraemer-Aguiar LG, de Oliveira CL, Kuschnir MC, Vieira YR, Souza MG, et al. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Nutr Metab (Lond)* 2011; 8:32.

Marchesi S, Lupattelli G, Schillaci G, Pirro M, Siepi D, Roscini AR, et al. Impaired flow-mediated vasoactivity during post-prandial phase in young healthy men. *Atherosclerosis* 2000; 153:397-402.

Maron DJ, Fair JM and Haskell WL. Saturated fat intake and insulin resistance in men with coronary artery disease. The Stanford Coronary Risk Intervention Project Investigators and Staff. *Circulation* 1991; 84:2020-7.

Mattes RD. Brief oral stimulation, but especially oral fat exposure, elevates serum triglycerides in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296:G365-G371.

Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF and Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-9.

Meijer RI, De Boer MP, Groen MR, Eringa EC, Rattigan S, Barrett EJ, et al. Insulin-induced microvascular recruitment in skin and muscle are related and both are associated with whole-body glucose uptake. *Microcirculation* 2012; 19:494-500.

Mero N, Malmstrom R, Steiner G, Taskinen MR and Syvanne M. Postprandial metabolism of apolipoprotein B-48- and B-100-containing particles in type 2 diabetes mellitus: relations to angiographically verified severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000; 150:167-77.

Miida T, Nakamura Y, Mezaki T, Hanyu O, Maruyama S, Horikawa Y, et al. LDL-cholesterol and HDL-cholesterol concentrations decrease during the day. *Ann Clin Biochem* 2002; 39:241-9.

Miller WC, Lindeman AK, Wallace J and Niederpruem M. Diet composition, energy intake, and exercise in relation to body fat in men and women. *Am J Clin Nutr* 1990; 52:426-30.

Muris DM, Houben AJ, Schram MT and Stehouwer CD. Microvascular dysfunction is associated with a higher incidence of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32:3082-94.

Nagata T, Sugiyama D, Kise T, Tsuji S, Ohira H, Sato I, et al. Fasting remnant lipoproteins can predict postprandial hyperlipidemia. *Lipids Health Dis* 2012; 11:146.

Norata GD, Grigore L, Raselli S, Redaelli L, Hamsten A, Maggi F, et al. Post-prandial endothelial dysfunction in hypertriglyceridemic subjects: molecular mechanisms and gene expression studies. *Atherosclerosis* 2007; 193:321-7.

O'Keefe JH and Bell DS. Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 2007; 100:899-904.

Otto C, Ritter MM, Richter WO, Minkenberg R and Schwandt P. Hemorrhologic abnormalities in defined primary dyslipoproteinemias with both high and low atherosclerotic risks. *Metabolism* 2001; 50:166-70.

Pastromas S, Terzi AB, Tousoulis D and Koulouris S. Postprandial lipemia: an under-recognized atherogenic factor in patients with diabetes mellitus. *Int J Cardiol* 2008; 126:3-12.

Peairs AD, Rankin JW and Lee YW. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. *Nutr J* 2011; 10:122.

Perticone F, Ceravolo R, Candigliota M, Ventura G, Iacopino S, Sinopoli F, et al. Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress: protective effect of vitamin C. *Diabetes* 2001; 50:159-65.

Plotnick GD, Corretti MC and Vogel RA. Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal. *JAMA* 1997; 278:1682-6.

Rahmouni K, Correia ML, Haynes WG and Mark AL. Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms. *Hypertension* 2005; 45:9-14.

Raitakari OT, Lai N, Griffiths K, McCredie R, Sullivan D and Celermajer DS. Enhanced peripheral vasodilation in humans after a fatty meal. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:417-22.

Ramirez-Velez R. [Postprandial lipemia induces endothelial dysfunction and higher insulin resistance in healthy subjects]. *Endocrinol Nutr* 2011; 58:529-35.

Rattigan S, Bussey CT, Ross RM and Richards SM. Obesity, insulin resistance, and capillary recruitment. *Microcirculation* 2007; 14:299-309.

Raz O, Steinvil A, Berliner S, Tovit R, Justo D and Shapira I. The effect of two iso-caloric meals containing equal amounts of fats with a different fat composition on the inflammatory and metabolic markers in apparently healthy volunteers. *J Inflamm (Lond)* 2013; 10:3.

Reaven GM and Chen YD. Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4:639-52.

Robertson MD, Henderson RA, Vist GE and Rumsey RD. Extended effects of evening meal carbohydrate-to-fat ratio on fasting and postprandial substrate metabolism. *Am J Clin Nutr* 2002; 75:505-10.

Romon M, Le FC, Lebel P, Edme JL, Fruchart JC and Dallongeville J. Circadian variation of postprandial lipemia. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:934-40.

Rosencranz R and Bogen SA. Clinical laboratory measurement of serum, plasma, and blood viscosity. *Am J Clin Pathol* 2006; 125 Suppl:S78-S86.

Rosenson RS and Lowe GD. Effects of lipids and lipoproteins on thrombosis and rheology. *Atherosclerosis* 1998; 140:271-80.

SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 3, 1-400. 2009.

Sies H, Stahl W and Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* 2005; 135:969-72.

Signori LU, Vargas da Silva AM, Della Mea PR, Geloneze B, Moreno H, Jr., Bello-Klein A, et al. Reduced venous endothelial responsiveness after oral lipid overload in healthy volunteers. *Metabolism* 2008; 57:103-9.

Skoczynska A, Kreczynska B and Poreba R. Postprandial lipemia in diabetic men during hypolipemic therapy. *Pol Arch Med Wewn* 2009; 119:461-8.

Sowers JR. Insulin resistance and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286:H1597-H1602.

Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G and Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97:2601-10.

Steinberg HO, Tarshoby M, Monestel R, Hook G, Cronin J, Johnson A, et al. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Invest* 1997; 100:1230-9.

Stensvold I, Tverdal A, Urdal P and Graff-Iversen S. Non-fasting serum triglyceride concentration and mortality from coronary heart disease and any cause in middle aged Norwegian women. *BMJ* 1993; 307:1318-22.

Sydow K and Munzel T. ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl* 2003; 4:41-51.

Tanaka A. Postprandial hyperlipidemia and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2004; 11:322-9.

Tentolouris N, Tsigos C, Perea D, Koukou E, Kyriaki D, Kitsou E, et al. Differential effects of high-fat and high-carbohydrate isoenergetic meals on cardiac autonomic nervous system activity in lean and obese women. *Metabolism* 2003; 52:1426-32.

Touyz RM. Intracellular mechanisms involved in vascular remodelling of resistance arteries in hypertension: role of angiotensin II. *Exp Physiol* 2005; 90:449-55.

Tsai WC, Li YH, Lin CC, Chao TH and Chen JH. Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106:315-9.

van Genugten RE, Serne EH, Heymans MW, van Raalte DH and Diamant M. Postprandial microvascular function deteriorates in parallel with gradual worsening of insulin sensitivity and glucose tolerance in men with the metabolic syndrome or type 2 diabetes. *Diabetologia* 2013; 56:583-7.

Vaya A, Hernandez-Mijares A, Bonet E, Sendra R, Sola E, Perez R, et al. Association between hemorheological alterations and metabolic syndrome. *Clin Hemorheol Microcirc* 2011; 49:493-503.

Verdant C and De BD. How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11:240-4.

Vincent MA, Clerk LH, Lindner JR, Klibanov AL, Clark MG, Rattigan S, et al. Microvascular recruitment is an early insulin effect that regulates skeletal muscle glucose uptake in vivo. *Diabetes* 2004; 53:1418-23.

Vincent MA, Dawson D, Clark AD, Lindner JR, Rattigan S, Clark MG, et al. Skeletal muscle microvascular recruitment by physiological hyperinsulinemia precedes increases in total blood flow. *Diabetes* 2002; 51:42-8.

Welle S, Lilavivat U and Campbell RG. Thermic effect of feeding in man: increased plasma norepinephrine levels following glucose but not protein or fat consumption. *Metabolism* 1981; 30:953-8.

Wheatcroft SB, Williams IL, Shah AM and Kearney MT. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. *Diabet Med* 2003; 20:255-68.

Wu F, Beard DA and Frisbee JC. Computational analyses of intravascular tracer washout reveal altered capillary-level flow distributions in obese Zucker rats. *J Physiol* 2011; 589:4527-43.

Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994; 74:139-62.

Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979; 60:473-85.

APÊNDICE – Termo de consentimento livre e esclarecido para participação em estudo clínico.

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
PARA PARTICIPAÇÃO EM ESTUDO CLÍNICO**



**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SOBRECARGA LIPÍDICA NA
REATIVIDADE MICROVASCULAR EM MULHERES OBESAS**

Investigadores: Nut. Priscila Alves Maranhão, Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar, Dra. Eliete Bouskela

Local do estudo:

Laboratório de Pesquisa Clínica e Experimental em Biologia Vascular (BioVasc)

UERJ - Pavilhão Reitor Haroldo Lisboa da Cunha, Rua São Francisco Xavier, 524 / 104 –
térreo - CEP: 20550-013 Rio de Janeiro - RJ

Telefone: (021) 2334-0703

Este termo de consentimento poderá conter palavras que você não entenda. Por favor, pergunte ao seu médico ou à sua equipe de estudos sobre qualquer palavra ou informação que você não entenda perfeitamente.

Você receberá uma cópia deste Termo de Consentimento para o seu registro.

Introdução e objetivos

Investigar os vasos sanguíneos e determinar mudanças nos microvasos após o consumo de uma refeição rica em gorduras em mulheres jovens com obesidade.

Duração do estudo

A duração deste estudo é de 2 anos, e a duração de sua participação será de aproximadamente de 3 meses e meio. No entanto, se for necessário, o estudo poderá ser suspenso ou você poderá retirar-se, se for do seu interesse, ou para seu benefício.

Descrição do estudo

Determinar mudanças nos vasos sanguíneos após uma refeição rica em gorduras. Este estudo será realizado pelo investigador com mulheres entre 19 a 40 anos, com diagnóstico de obesidade. Você não precisará tomar nenhum medicamento.

VOCÊ NÃO PODERÁ CORTAR AS CUTÍCULAS DAS UNHAS DO QUARTO DEDO DA MÃO ESQUERDA (ANULAR ESQUERDO – O DEDO DO ANEL DE CASAMENTO) POR TRÊS SEMANAS, ANTES DO DIA DO EXAME.

No primeiro dia de participação você fará exames iniciais (exame clínico) e será feita uma avaliação nutricional e antropométrica (medidas como peso e altura). No segundo dia de participação, conforme marcado, você fará os exames de videocapilaroscopia, o qual não é invasivo e não provoca qualquer dor ou mal estar. Esse exame será realizado na sua chegada e repetidos 30, 60, 120 e 180 min. após você ingerir uma refeição rica em gordura. Ao chegar ao BioVasc, você deverá estar em jejum de 10-12h e será confortavelmente instalado(a) em sala climatizada e aguardará 30 min para o início. Previamente a realização deste exame, um cateter venoso será inserido no braço, com o único objetivo de manter um acesso venoso para a coleta de amostras sanguíneas no decorrer do exame. Com isto, você será submetida a somente uma picada de agulha durante todo o exame. Para o exame de videocapilaroscopia, você será sentado em uma cadeira, e o dedo o qual você usa a aliança será visualizado através de um microscópio, a fim de avaliar os vasos sanguíneos. Após o exame, você poderá retornar às suas atividades normais. Nos dias de exame e consultas, se necessário, forneceremos um Atestado Médico para ser apresentado no seu trabalho (abono das horas). Não serão feitas biópsias (retirada de qualquer porção da pele).

Riscos e desconfortos

Os métodos utilizados para o estudo não provocam qualquer desconforto ou risco para a sua saúde. Porém, o BioVasc apresenta uma equipe treinada, com médico e enfermeiro, que estarão presentes durante todo o exame, além de uma estrutura adequada para a realização dos exames.

Benefícios

Você não terá gastos. Todos os exames serão feitos gratuitamente. Os resultados do estudo poderão alertá-lo sobre sua saúde, caso algum problema de saúde seja detectado nos exames. Os resultados do estudo poderão trazer avanços para o estudo de mecanismos iniciais de doenças como Diabetes Mellitus, importante problema de saúde pública, e condições associadas, através da publicação de artigos e apresentações em congressos científicos.

Ao final do exame e nos dias de treinamento você receberá vale transporte, de acordo com o local da sua residência.

Confidencialidade

As informações que forem obtidas no estudo, incluindo registros clínicos e/ou hospitalares, serão tratadas de forma confidencial e não serão liberadas ou reveladas a qualquer pessoa, exceto ao seu médico, sem o seu consentimento por escrito.

Participação voluntária/retirada

A sua participação neste estudo é voluntária. Você pode recusar-se a participar ou retirar-se do estudo a qualquer momento. Se você decidir fazê-lo, solicitamos que telefone para o investigador. A sua decisão de recusar-se a participar do estudo não afetará qualquer benefício que tenha recebido neste local.

Novos achados

Você será comunicado, assim que a informação estiver disponível, sobre qualquer novo achado importante registrado no decorrer deste estudo que possa eventualmente influenciar o seu desejo de continuar no estudo.

Consentimento do paciente

Li e entendi as informações precedentes descrevendo este estudo e todas as minhas dúvidas em relação ao estudo e à minha participação nele foram respondidas satisfatoriamente. Dou livremente meu consentimento para participar do estudo até que decida pelo contrário.

Assinando este termo de consentimento concordo em participar deste estudo e não abro mão, na condição de participante de um estudo de pesquisa, de nenhum dos direitos legais que eu teria de outra forma.

O PACIENTE ACIMA MENCIONADO RECEBEU TODAS AS INFORMAÇÕES SOBRE O ESTUDO

Nome do paciente (letra de forma) - Assinatura do paciente

Data

Nome da testemunha (letra de forma) - Assinatura da testemunha

Data

Nome do Investigador

Assinatura do Investigador

Data

Telefone: 2334-0703

ANEXO – Carta de aprovação do estudo no comitê de ética e pesquisa



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



Rio de Janeiro, 13 de Outubro de 2010

Do: Comitê de Ética em Pesquisa

Prof.: Wille Oigman

Para: Aut. Priscila Alves Maranhão – Orient. Prof. Eliete Boouskela / Nutrição

Registro CEP/HUPE: 2745 (este número deverá ser citado nas correspondências referentes ao projeto)
CAAE: 0190.0.228.000-10

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto, "AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SOBRECARGA LIPÍDICA NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E NA REATIVIDADE MICROVASCULAR EM MULHERES JOVENS OBESAS" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o termo de consentimento livre e esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. Sa., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Prof. Wille Oigman
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
HUPE/UERJ**