



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Priscila Mansur Leal

Efeitos agudos do cálcio suplementar sobre a glicemia, lipemia, pressão arterial e reatividade microvascular cutânea durante o período pós-prandial em mulheres obesas

Rio de Janeiro

2016

Priscila Mansur Leal

Efeitos agudos do cálcio suplementar sobre a glicemia, lipemia, pressão arterial e reatividade microvascular cutânea durante o período pós-prandial em mulheres obesas

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

Orientadora: Prof.^a Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein

Rio de Janeiro

2016

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

L435 Leal, Priscila Mansur.

Efeitos agudos do cálcio suplementar sobre a glicemia, lipemia, pressão arterial e reatividade microvascular cutânea durante o período pós-prandial em mulheres obesas / Priscila Mansur Leal. – 2016
111 f.

Orientadora: Márcia Regina Simas Torres Klein.

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

1. Cálcio no organismo - Teses. 2. Calcificação vascular. 3. Sistema cardiovascular – Doenças - Teses. 4. Doenças cardiovasculares. 5. Período pós-prandial. 6. Colesterol – Teses. I. Klein, Márcia Regina Simas Torres. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 613.27

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

Assinatura

Data

Priscila Mansur Leal

Efeitos agudos do cálcio suplementar sobre a glicemia, lipemia, pressão arterial e reatividade microvascular cutânea durante o período pós-prandial em mulheres obesas

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

Orientadora: Prof.^a Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein
Instituto de Nutrição - UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Andréa Araújo Brandão
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

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

Prof.^a Dra. Glorimar Rosa
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2016

DEDICATÓRIA

À minha avó Suad, por todo amor, apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar meus caminhos e ter me permitido chegar até aqui.

Aos meus pais e a minha irmã Patricia por todo o amor e suporte ao longo da vida.

À minha querida orientadora Prof^a. Márcia Regina Simas Torres Klein por ter me acolhido no CLINEX, pelos ensinamentos, pela paciência e por toda confiança depositada em mim.

Ao Prof. Antonio Felipe Sanjuliani (*in memoriam*), por toda contribuição prestada ao projeto.

À FAPERJ pelo suporte financeiro.

A todos os meus colegas de pesquisa do CLINEX, em especial: Thaís Ferreira da Silva, Vanessa Antunes, Alex Itaborahy, Tainah de Paula Lima, Maria de Lourdes Guimarães, Débora Valença e aos bolsistas Bernardo Barreto e Vittor Stern por todo auxílio durante a pesquisa.

Às secretárias: Paula Nascimento, Cristiane Hipólito e Eliane Soares por todo suporte concedido.

Às professoras Diana Barbosa Cunha do Instituto de Medicina Social (IMS/UERJ) e Maria Inês Barreto do Instituto de Nutrição (INU/UERJ) por auxiliar na análise dos dados dietéticos.

À equipe do Laboratório de Lípidos (Lablip/UERJ), principalmente ao Prof. Dr. José Firmino Nogueira Neto, por contribuir para as análises bioquímicas.

Aos membros da banca por terem aceitado o convite, em especial a Prof^a Andréa Araújo Brandão, responsável pela revisão da dissertação.

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

Às minhas queridas amigas de profissão que me ajudaram muito durante esses dois anos: Viviane Leal, Ana Carla Tavares, Nina Pombo e Fernanda Mululo.

À todas as pessoas queridas que me confortaram nos momentos difíceis, estando longe ou perto.

E as voluntárias que participaram do estudo e disponibilizaram seu tempo para contribuir com a ciência.

RESUMO

LEAL, Priscila Mansur. *Efeitos agudos do cálcio suplementar sobre a glicemia, lipemia, pressão arterial e reatividade microvascular cutânea durante o período pós-prandial em mulheres obesas*. 2016. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Os suplementos de cálcio são amplamente utilizados principalmente por mulheres e junto com as refeições. Existem evidências de que o cálcio suplementar (CS) está associado com aumento no risco de eventos cardiovasculares e o mecanismo proposto é a elevação aguda na concentração sérica de cálcio que ocorre após a ingestão do CS. A elevação do cálcio sérico pode favorecer a calcificação vascular, porém outros mecanismos podem estar envolvidos. Avaliar os efeitos agudos do CS sobre o metabolismo do cálcio, da glicose e dos lipídeos; a pressão arterial (PA); e a função microvascular no período pós-prandial em mulheres obesas. Ensaio clínico randomizado e cruzado envolvendo 16 mulheres obesas. Todas as participantes ingeriram, em dias diferentes (com intervalo de 1 a 2 semana entre eles), 2 refeições hiperlipídicas apresentando quantidade semelhante de energia (695 Kcal) e macronutrientes. As 2 refeições diferiam apenas no teor de cálcio: pobre em cálcio (RPC; 41mg) e rica em CS (RRCS; 541mg) proveniente de 1.250 mg de carbonato de cálcio. O momento da ingestão da refeição foi considerado como minuto 0 (T0). As avaliações foram realizadas nos seguintes momentos: antropometria no minuto -45, PA do minuto -15 ao 120, função vascular nos minutos -30 e 120 e laboratorial nos minutos 0, 120 (T120) e 240 (T240). A avaliação laboratorial incluiu a dosagem de cálcio sérico, hormônio da paratireoide (PTH), glicose, insulina, colesterol total e frações, triglicerídeos e proteína C reativa ultrasensível. A função microvascular foi avaliada por *Laser Speckle Contrast Imaging* (PeriCam PSI-NR[®]). A PA foi avaliada de forma contínua através da fotopletiografia digital (Finometer Pro[®]). O teste ANOVA para medidas repetidas foi utilizado para avaliar as modificações intra e inter-refeições. As participantes apresentaram média de idade de 34,31±2,07 anos e índice de massa corporal de 34,16±0,92 kg/m². Após a ingestão das 2 refeições não foi observada elevação significativa da glicemia, porém houve aumento significativo (p<0,01) na insulinemia. O colesterol total aumentou apenas após a RPC (p=0,004), enquanto o LDL-colesterol diminuiu apenas após a RRCS (p=0,01). Os triglicerídeos aumentaram após as 2 refeições (p<0,0001). Após a RRCS o cálcio sérico total aumentou (T0= 8,97±0,15; T120= 9,17±0,17; T240= 9,52±0,19 mg/dL; p=0,003), enquanto o PTH diminuiu (T0= 41,37 ± 3,61; T120= 26,88 ± 2,86; T240= 32,21 ± 4,10pg/mL; p= 0,0009). Tanto a amplitude quanto a área sob a curva da condutância vascular cutânea apresentaram redução significativa apenas após a RPC. Após a RPC houve elevação significativa (p<0,001) da PA sistólica e da diastólica, enquanto após a RRCS houve elevação significativa apenas da PA sistólica (p<0,001). As demais variáveis avaliadas no estudo não apresentaram modificações significativas. A análise comparativa das 2 refeições revelou que a elevação no cálcio sérico e a redução no PTH foram significativamente maiores após a RRCS, não havendo diferenças entre as 2 refeições em relação as outras variáveis. Em mulheres obesas, no período pós-prandial, o CS está associado com elevação do cálcio sérico e redução do PTH, não apresentando efeitos deletérios sobre a PA e a função microvascular.

Palavras-chave: Cálcio suplementar. Doença cardiovascular. Período pós-prandial. Função vascular. Colesterol

ABSTRACT

LEAL, Priscila Mansur. *Acute effects of calcium supplementation on blood glucose, lipemia, blood pressure and cutaneous microvascular reactivity during the postprandial period in obese women*. 2016. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Calcium supplements are widely used mainly by women and with meals. There is evidence that supplemental calcium (SC) is associated with increased risk of cardiovascular events and the proposed mechanism is the acute increase in serum calcium concentration that occurs after the ingestion of SC. The elevation of serum calcium may promote vascular calcification, but other mechanisms may be involved. Aims: To assess the acute effects of SC on calcium, glucose and lipid metabolism; BP; and microvascular function during the postprandial period in obese women. Randomized crossover clinical trial involving 16 obese women. All subjects ingested on different days (with an interval of 1 to 2 week between them), two high fat meals presenting similar amounts of energy (695 kcal) and macronutrients. The meals differed only in calcium content: low calcium (LCM; 41mg) and rich in SC (RSCM; 541mg) from 1,250 mg of calcium carbonate. The moment of the intake of the meal was regarded as minute 0 (T0). The evaluations were performed at the following times: anthropometry at -45 minute, BP from -15 to 120 minutes, vascular function at -30 and 120 minutes, and laboratory at minutes 0, 120 (T120) and 240 (T240). Laboratory evaluation included the dosage of serum calcium, parathyroid hormone (PTH), glucose, insulin, total cholesterol and fractions, triglycerides, high sensitive C-reactive protein and uric acid. Vascular function was assessed by Laser Speckle Contrast Imaging (PSI-NR® Pericam). The BP was assessed continuously through the digital photoplethysmography (Finometer Pro®). ANOVA for repeated measures was used to evaluate the intra and inter-meals changes. Participants had a mean age of 34.31 ± 2.07 years and a body mass index of 34.16 ± 0.92 kg/m². After the ingestion of both meals there was no significant elevation of blood glucose, but there was a significant increase ($p < 0.01$) in insulin. Total cholesterol increased only after the LCM ($p = 0.004$), while the LDL-cholesterol decreased only after RSCM ($p = 0.01$). Triglycerides increased after the 2 meals ($p < 0.0001$). After RSCM total serum calcium increased (T0 = 8.97 ± 0.15 ; T120 = 9.17 ± 0.17 ; T240 = 9.52 ± 0.19 mg/dL; $p = 0.01$), while PTH decreased (T0 = 41.37 ± 3.61 , $26.88 \pm 2.86 = T120$; T240 = 32.21 ± 4.10 pg/mL; $p = 0.0009$). Both the amplitude and the area under the curve of cutaneous vascular conductance showed a significant reduction only after the LCM. After the LCM there was a significant increase ($p < 0.001$) in systolic and diastolic BP while after RSCM there was a significant elevation only in systolic BP ($p < 0.001$). The other variables evaluated in the study showed no significant changes. The comparative analysis between the 2 meals showed that the rise in serum calcium and the reduction in PTH were significantly higher after RSCM, with no difference between the two meals regarding other variables. In obese women, during the postprandial period, SC is associated with increase in serum calcium and decrease in PTH showing no deleterious effects on BP and microvascular function.

Keywords: Supplemental Calcium. Cardiovascular disease. Postprandial period. Vascular function. Cholesterol

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Desenho do estudo.....	40
Figura 2 -	Representação esquemática do fluxo de pacientes.....	49
Figura 3 -	Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva das variáveis do metabolismo glicídico, de acordo com a refeição teste....	52
Figura 4 -	Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva das variáveis do metabolismo lipídico, de acordo com a refeição teste.....	54
Figura 5 -	Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva das variáveis do metabolismo do cálcio, de acordo com a refeição teste...	57
Figura 6 -	Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva da proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) de acordo com a refeição teste	58
Figura 7 -	Valores médios das variáveis da reatividade microvascular cutânea no pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	60
Figura 8 -	Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva da pressão arterial e da frequência cardíaca de acordo com a refeição teste...	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição nutricional das refeições teste.....	41
Tabela 2 -	Características das participantes do estudo.....	50
Tabela 3 -	Parâmetros antropométricos das participantes do estudo no dia da ingestão da refeição pobre em cálcio (RPC) e no dia da refeição rica em cálcio suplementar (RRCS).....	51
Tabela 4 -	Valores médios da glicemia e da insulinemia nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	52
Tabela 5 -	Valores médios dos parâmetros do metabolismo lipídico nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	54
Tabela 6 -	Valores médios das variáveis relacionadas com o metabolismo do cálcio nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	56
Tabela 7 -	Valores médios dos níveis séricos de proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste..	58
Tabela 8 -	Valores médios das variáveis relacionadas a reatividade microvascular cutânea nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	59
Tabela 9 -	Valores médios das variáveis relacionadas a pressão arterial nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH) ₂ D	1,25 dihidroxivitamina D
25(OH)D	25-hidroxivitamina D
[Ca] _i	Concentração intracelular de cálcio
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
AG	Ácidos graxos
APO	Apolipoproteína
AUC	<i>Area under curve</i> (Área sob a curva)
AVE	Acidente vascular encefálico
BPM	Batimentos por minuto
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CC	Circunferência da cintura
CP	Circunferência do pescoço
CQ	Circunferência do quadril
CVC	Condutância vascular cutânea
DCV	Doença Cardiovascular
ECLIA	<i>Electro-chemiluminescence immunoassay</i> (Imunoensaio por eletroquimioluminescência)
ESPEN	<i>European Society of Parenteral and Enteral Nutrition</i>
FMD	<i>Flow-mediated dilatation</i> (Dilatação fluxo-mediada)
GLUT 4	<i>Glucose transporter type 4</i> (Transportador de glicose tipo 4)
HDL-C	<i>High density lipoprotein cholesterol</i> (Colesterol da lipoproteína de alta densidade)
HOMA-IR	<i>Homeostatic model assessment</i> (Avaliação do Modelo Homeostático)
H	Hora ou horas
HR	<i>Hazard ratio</i>
IAM	Infarto agudo do miocárdio
iAUC	<i>Incremental Area Under Curve</i> (Área incremental sob a curva)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i> (Molécula de adesão intercelular 1)
IDL	<i>Intermediate density lipoprotein</i> (Lipoproteína de densidade

	intermediária)
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusiva
LDL-C	<i>Low density lipoprotein cholesterol</i> (Colesterol da lipoproteína de baixa densidade)
LPL	Lipoproteína lipase
MIN	Minutos
N=	Número de voluntários (as)
OR	<i>Odds ratio</i>
PA	Pressão arterial
PCR-us	Proteína C reativa ultrasensível
pH	Potencial hidrogeniônico
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PTH	Hormônio da Paratireoide
QM	Quilomícrons
RPC	Refeição pobre em cálcio
RRCS	Refeição rica em cálcio suplementar
RTF	<i>Return-to-flow</i>
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
TG	Triglicerídeos
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF α	Fator de necrose tumoral
TRL	<i>Triglyceride-rich lipoproteins</i> (Lipoproteínas ricas em triglicerídeos)
UAP	Unidades arbitrárias de perfusão
VCAM-1	<i>Vascular cell adhesion molecule 1</i> (Molécula de adesão vascular 1)
VET	Valor energético total
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i> (Lipoproteína de muito baixa densidade)
V0	Visita 0

V1

Visita 1

V2

Visita 2

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
Kg	Kilogramas
pH	Potencial hidrogeniônico
Ca ²⁺	Íons de cálcio
mg	Miligramas
mmol/L	Milimol por litro
mmHg	Milímetros de mercúrio
g	Gramas
>	Maior
<	Menor
mg/dL	Miligramas por decilitro
≥	Maior ou igual
nmol/L	Nanomol por litro
±	Mais ou menos
≅	Aproximadamente igual
Kg/m ²	Kilogramas por metro quadrado
≤	Menor ou igual
°C	Graus celsius
m ²	Metro quadrado
α	Alfa
nm	Nanômetros
μU/mL	Microunidades por mililitro
U/L	Unidades por litro
mEq/L	Miliequivalentes por litro
pg/mL	Picograma por mililitro
g/dL	Gramas por decilitro
KJ	Kilojoule
β	Beta

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1	REVISÃO DE LITERATURA	16
1.1	Metabolismo do cálcio	16
1.2	Suplementos de cálcio	17
1.3	Suplementos de cálcio e fatores de risco para doença cardiovascular	19
1.3.1	<u>Suplementos de cálcio e dislipidemia</u>	19
1.3.2	<u>Suplementos de cálcio e pressão arterial</u>	20
1.4	Suplementos de cálcio e risco de doença cardiovascular	20
1.5	Período pós-prandial e doença cardiovascular	24
1.6	Hiperglicemia pós-prandial	24
1.6.1	<u>Mecanismo de ação</u>	26
1.7	Dislipidemia pós-prandial	27
1.7.1	<u>Mecanismo de ação</u>	29
1.8	Obesidade e dismetabolismo pós-prandial	31
1.9	Suplementos de cálcio e período pós-prandial	32
2	JUSTIFICATIVA	35
3	OBJETIVOS	36
3.1	Objetivo geral	36
3.2	Objetivos específicos	36
4	MÉTODOS	37
4.1	Casuística	37
4.2	Critérios de inclusão	38
4.3	Critérios de exclusão	38
4.4	Desenho do estudo	39
4.5	Composição das refeições	40
4.6	Avaliação antropométrica	41
4.6.1	<u>Peso, estatura e índice de massa corporal</u>	41
4.6.2	<u>Circunferência da cintura, circunferência do quadril, razão cintura quadril, razão cintura estatura e circunferência do pescoço</u>	42
4.7	Avaliação da composição corporal	42
4.8	Avaliação do metabolismo glicídico	43

4.9	Avaliação do metabolismo lipídico.....	43
4.10	Avaliação do metabolismo do cálcio.....	44
4.11	Avaliação do biomarcador inflamatório.....	44
4.12	Avaliação da reatividade microvascular cutânea.....	45
4.13	Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca.....	45
4.14	Avaliação do estilo de vida.....	46
4.15	Avaliação do consumo alimentar habitual.....	46
4.16	Análise estatística dos dados e cálculo do tamanho amostral.....	47
5	RESULTADOS.....	48
5.1	Características das participantes do estudo.....	48
5.2	Avaliação antropométrica.....	51
5.3	Metabolismo glicídico.....	51
5.4	Metabolismo lipídico.....	53
5.4	Metabolismo do cálcio.....	56
5.5	Biomarcador inflamatório.....	58
5.6	Reatividade microvascular cutânea.....	59
5.7	Pressão arterial e frequência cardíaca.....	61
5.8	DISCUSSÃO.....	65
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
	CONCLUSÕES.....	81
	REFERÊNCIAS.....	82
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	100
	APÊNDICE B – Ficha de seleção.....	101
	APÊNDICE C – Orientações pré-intervenção.....	102
	APÊNDICE D – Protocolo de acompanhamento.....	103
	ANEXO A – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto.....	106
	ANEXO B – Questionário de frequência alimentar semi-quantitativo.....	109

INTRODUÇÃO

Apesar da ingestão adequada de cálcio ser essencial para o funcionamento de vários sistemas corporais e ser crítica para o desenvolvimento e manutenção da massa óssea, a ingestão deste mineral encontra-se abaixo das recomendações no Brasil e no mundo. A suplementação de cálcio é uma forma alternativa para se alcançar a ingestão adequada deste mineral, visando a prevenção e tratamento da osteoporose.

Ainda não existe um consenso quanto aos efeitos dos suplementos de cálcio sobre a saúde cardiovascular. Evidências indicam que o cálcio suplementar pode apresentar efeitos benéficos sobre alguns fatores de risco para doença cardiovascular (DCV), como hipertensão arterial, dislipidemia e resistência à insulina. Entretanto, alguns estudos recentes observaram que o uso do cálcio suplementar está associado com aumento no risco para eventos cardiovasculares. O mecanismo proposto para explicar essa possível associação é a elevação aguda na concentração sérica de cálcio que ocorre após a ingestão dos suplementos, favorecendo a calcificação vascular.

O aumento no risco de evento cardiovascular associado ao uso do cálcio suplementar pode ser observado rapidamente, após apenas 1 ano de utilização, período considerado muito curto para ocorrer calcificação vascular significativa. Sendo assim, provavelmente outros processos mais “rápidos” podem estar envolvidos, porém ainda não são conhecidos e provavelmente ocorrem logo após a ingestão dos suplementos, no momento em que há elevação nos níveis séricos de cálcio. Considerando que a suplementação de cálcio muito frequentemente é realizada junto com as refeições, esses efeitos do cálcio provavelmente ocorrem durante o período pós-prandial.

Diariamente, o organismo humano permanece durante a maior parte do tempo no estado pós-prandial, pois a maioria das pessoas ingere refeições com intervalos de 4-5 h. A elevação acentuada na glicemia e na lipemia após uma refeição é denominada de dismetabolismo pós-prandial, sendo mais comum nos indivíduos obesos e está associada ao aumento do risco de eventos cardiovasculares. O papel dos suplementos de cálcio durante o período pós-prandial ainda não é conhecido, podendo-se gerar a hipótese tanto de efeitos benéficos, por exemplo, sobre a lipemia por reduzir absorção de ácidos graxos (AG), quanto de efeitos deletérios, por exemplo sobre a pressão arterial (PA) devido a elevação do cálcio sérico.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Metabolismo do cálcio

O cálcio é o mineral mais abundante no corpo humano. Mais de 99% (1,2-1,4 kg) encontra-se nos ossos e dentes, enquanto o restante circula no plasma sob a forma ionizada livre, ligado a albumina ou como complexo de cálcio (Edwards, 2005; Peacock, 2010; Beto, 2015). É essencial para diversos processos fisiológicos, como transmissão do impulso nervoso, contração muscular, coagulação sanguínea, atividade secretória, apoptose, diferenciação celular, resposta imune, ativação enzimática, desenvolvimento e manutenção da massa óssea (Wang et al., 2012; Barboza et al., 2015).

A homeostase do cálcio envolve o intestino, rins, ossos, hormônios e alguns nutrientes (Peacock, 2010; Barboza et al., 2015). A absorção intestinal de cálcio ocorre através de dois mecanismos: transcelular, com transporte ativo saturável, dependente principalmente de vitamina D, predominante em duodeno e jejuno; e paracelular, com transporte passivo não saturável, que ocorre em toda extensão do intestino (Burckhardt, 2013; Barboza et al., 2015). O total de cálcio absorvido depende da quantidade consumida, do tempo de permanência nos vários segmentos do intestino e da quantidade solúvel disponível para absorção, o que é determinado principalmente pelo pH em cada segmento. O meio ácido do estômago solubiliza o cálcio em íons de Ca^{2+} . Quando o pH aumenta, a solubilidade do cálcio diminui (Barboza et al., 2015). A absorção ocorre principalmente nas primeiras horas após a ingestão, a do cálcio dietético se completa após cerca de 7 h, já a absorção do cálcio proveniente de suplementos é mais rápida (Burckhardt, 2013).

O rim é o principal local para a eliminação de cálcio através da filtração e da excreção de urina. Cerca de 200 mg por dia são excretados diariamente pelos adultos na urina, podendo variar de acordo com a ingestão dietética e níveis séricos de cálcio. No rim também ocorre a reabsorção tubular de cálcio visando a preservação deste mineral no organismo (Beto, 2015).

O cálcio pode ser depositado ou removido da matriz óssea, durante o processo de remodelação óssea. O tecido ósseo varia de acordo com o tamanho e densidade óssea e tipicamente possui disponível cerca de 150-200 mg de cálcio. Caso a necessidade seja maior,

o cálcio da matriz óssea é liberado e “emprestado” para manter a concentração sérica dentro dos níveis normais (Beto, 2015).

Os níveis séricos de cálcio não são alterados por modificações na ingestão dietética e, portanto, não sendo indicadores precisos das reservas de cálcio no organismo (Wang et al., 2012; Beto 2015). Com a baixa ingestão dietética de cálcio, o hormônio da paratireoide (PTH) torna-se o principal hormônio regulador da homeostase do cálcio, promovendo a reabsorção óssea através do estímulo da atividade osteoclástica; estimulando a reabsorção no túbulo proximal renal de cálcio e aumentando a eficiência da absorção intestinal de cálcio. No entanto o efeito sobre a absorção intestinal de cálcio é indireto, pois o PTH aumenta os níveis séricos da 1,25 dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂ D] (Fleet & Schoch, 2010).

A ingestão diária recomendada de cálcio para adultos e idosos varia entre 1000-1200 mg/dia (IOM, 2010). Entretanto, a ingestão deste mineral em diferentes regiões geográficas do mundo encontra-se abaixo da recomendação (IBGE, 2010; Shin & Kim, 2015a). O INTERMAP Study avaliou a ingestão dietética de adultos na China, Japão, Reino Unido e Estados Unidos e observou que apenas os homens do Reino Unido apresentavam a ingestão diária média dentro das recomendações (Zhou et al., 2003).

Os dados de consumo alimentar da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009 (IBGE, 2010) revelaram que entre os adultos brasileiros com idade de 19 a 59 anos o cálcio encontra-se entre os micronutrientes com maior prevalência de inadequação no consumo diário. A média de consumo diário deste mineral entre os adultos brasileiros nesta faixa de idade, de acordo com este estudo, foi de 476,4 mg para mulheres e 546,4 mg para homens. Em relação aos adultos com 60 anos ou mais a ingestão média diária de cálcio foi de 494,8 e 519,6 mg para mulheres e homens, respectivamente (IBGE, 2010).

1.2 Suplementos de cálcio

Os suplementos de cálcio podem representar uma alternativa à ingestão dietética, sendo recomendados aos indivíduos com baixa ingestão de cálcio dietético (Shin & Kim, 2015b), visando a prevenção e tratamento da osteoporose (Pinto Neto et al., 2002; Office of the Surgeon General, 2004; Cunha et al., 2011).

Um estudo conduzido por Bailey et al. (2010) estimou em 43% o uso de suplementos de cálcio na população americana e de aproximadamente 70% nas mulheres acima de 50 anos. No Brasil, em um estudo realizado em São Paulo, foi observado que 14,3% de mulheres na pré e pós-menopausa utilizavam suplementos de cálcio (Pinheiro et al., 2010). Entretanto, não existem estudos abrangendo diferentes regiões brasileiras.

Existem diferentes tipos de cálcio suplementar, sendo o carbonato de cálcio o sal com o percentual mais elevado de cálcio biodisponível (40%), seguido por fosfato tricálcico (38%), citrato de cálcio (21%), cálcio citrato malato (13%) e lactato de cálcio (13%). A absorção intestinal é semelhante entre todos os sais e em comparação com o cálcio presente no leite (Weaver & Heaney, 2006; Pereira et al., 2009), variando de 30-40% (Cozzolino, 2005).

Entretanto, alguns aspectos relacionados com a absorção do cálcio suplementar devem ser considerados, são eles: 1) o estado de cálcio do indivíduo, determinado pela ingestão habitual de cálcio, influencia a eficácia da absorção do cálcio. Quanto menor a ingestão, mais eficiente será a absorção. Se a ingestão é baixa, a absorção é alta, enquanto na ingestão elevada a absorção é menor (Grüdtner et al., 1997). 2) forma de ingestão do suplemento. Os sais insolúveis, como o carbonato de cálcio não são adequadamente absorvidos quando administrado em jejum. Por outro lado, em sais mais solúveis, como o citrato de cálcio, a absorção não é prejudicada. O cálcio ingerido em conjunto com a alimentação é melhor absorvido, pois a refeição provoca maior secreção de ácido gástrico e esvaziamento gástrico mais lento, permitindo melhor dispersão, dissolução e absorção do mineral (Pereira et al., 2009).

Diversos estudos sugerem efeitos benéficos da suplementação de cálcio sobre a densidade mineral óssea de algumas regiões em populações com baixa ingestão dietética (Dawson-Hughes, 1990; Lau et al, 1992; Haines et al., 1995; Nakamura et al, 2012). Entretanto, o uso do cálcio suplementar na prevenção de fraturas permanece controverso, pois alguns estudos publicados na última década não observaram redução no risco de fraturas (Reid et al., 2006; Prince et al., 2006; Murad et al., 2012), mesmo quando associado a suplementação de vitamina D (Grant et al., 2005; Jackson et al., 2006; Salovaara et al., 2010). No entanto, a meta-análise publicada recentemente por Weaver et al. (2016) sugere efeito benéfico da suplementação de cálcio associada a vitamina D, para a prevenção de fraturas em adultos e idosos.

1.3 Suplementos de cálcio e fatores de risco para doença cardiovascular

Existem evidências de que o cálcio suplementar (associado ou não a vitamina D) pode apresentar efeitos benéficos sobre alguns fatores de risco para DCV, como dislipidemia (Shahkhalili et al., 2001; Reid et al., 2002; Ditscheid et al., 2005; Major et al., 2007; Sein & Latt, 2014; Cronin et al., 2015), hipertensão arterial (Griffith et al., 1999; van Mierlo et al., 2006; Cormick et al., 2015), resistência à insulina (Pittas et al., 2007a, Tabesh et al., 2014a) e inflamação (Hopkins, 2011; Tabesh et al., 2014b).

1.3.1 Suplementos de cálcio e dislipidemia

O mecanismo proposto para a ação benéfica do cálcio (dietético ou suplementar) sobre o perfil lipídico é o aumento da excreção de gordura fecal. Este aumento pode ser explicado pela capacidade do cálcio em formar sabões insolúveis com AG no intestino e/ou por sua ligação aos ácidos biliares, o que reduz a formação de micelas e consequentemente prejudica a absorção e digestão dos lipídios dietéticos (Christensen et al., 2009; Soerensen et al., 2014).

Ditscheid et al. (2005) realizaram a suplementação de Ca (1.000 mg/dia) por 4 semanas em indivíduos saudáveis. As concentrações de colesterol sérico observadas ao final do estudo no grupo suplementado foram significativamente menores em relação ao grupo placebo (4,36 vs. 4,60 mmol/L). Entretanto, outros estudos que avaliaram os efeitos do cálcio suplementar não observaram efeitos benéficos significativos no perfil lipídico (Reid et al., 2010a; Rajpathak et al., 2010) ou observaram até mesmo efeitos negativos, como aumento do colesterol total sérico (Li et al., 2013).

1.3.2 Suplementos de cálcio e pressão arterial

Alguns ensaios clínicos randomizados que avaliaram os efeitos da suplementação de cálcio identificaram redução modesta da PA (Griffith et al., 1999; van Mierlo et al., 2006). Van Mierlo et al. (2006) realizaram uma meta-análise contendo 40 ensaios clínicos randomizados avaliando o efeito da suplementação de cálcio (dose média: 1.200mg/dia) e encontraram redução significativa da PA sistólica (-1,86mmHg) e diastólica (-0,99mmHg). A suplementação de cálcio apresentou maior efeito hipotensor em indivíduos consumindo regularmente pequenas quantidades de cálcio. Nesses indivíduos com um consumo relativamente baixo de cálcio (800mg/dia), a redução da PA foi maior: -2.63 mmHg (- 4.03 a - 1.24) para a sistólica e -1.30 (- 2.13 a - 0.47) para a diastólica (van Mierlo et al., 2006).

Cormick et al. (2015) realizam uma revisão com o objetivo de avaliar a eficácia e a segurança da suplementação de cálcio na redução da PA em normotensos. Foram incluídos 16 ensaios clínicos randomizados (n=3.048). A suplementação de cálcio foi realizada na forma de pílulas, comprimidos ou pó ou na forma de alimentos ou bebidas fortificadas. Os autores concluíram que a suplementação de cálcio reduz ligeiramente a PA sistólica e diastólica.

O principal mecanismo proposto para explicar o efeito benéfico da suplementação de cálcio na PA está relacionado com a redução dos níveis intracelulares de cálcio das células do músculo liso vascular, promovendo o relaxamento e modulando assim a resistência vascular periférica (Resnick et al., 1999; Ledoux et al., 2006).

1.4 **Suplementos de cálcio e risco de doença cardiovascular**

Com base nos estudos que sugerem efeitos benéficos dos suplementos de cálcio sobre fatores de risco para DCV, pode-se gerar a hipótese de que o cálcio suplementar pode reduzir o risco cardiovascular. Entretanto, os estudos publicados até o presente momento, nos quais se avaliou os efeitos do cálcio suplementar sobre o risco de eventos cardiovasculares apresentam resultados inconsistentes.

Alguns estudos observaram que os suplementos de cálcio podem aumentar o risco de eventos cardiovasculares, principalmente o infarto agudo do miocárdio (IAM) (Bolland et al., 2008; Bolland et al., 2010; Bolland et al., 2011; Li et al., 2012; Xiao et al., 2013; Mao et al., 2013). Bolland et al. (2008) observaram que a suplementação de cálcio (1g de cálcio elementar/dia, na forma de citrato) resultou em aumento significativo ($p=0,008$) no risco de eventos cardiovasculares (IAM, acidente vascular encefálico e morte súbita). Este estudo foi baseado em uma análise secundária de um grande ensaio clínico randomizado, placebo controlado, envolvendo 1.471 mulheres, destinado a avaliar os efeitos do cálcio suplementar no risco de fraturas e na perda de massa óssea em mulheres na pós-menopausa. Em 2010, os mesmos autores publicaram uma meta-análise na qual o cálcio suplementar foi associado com o aumento no risco de IAM (*hazard ratio* [HR]=1,31; intervalo de confiança [IC] 95% 1,02-1,67; $p=0,035$) (Bolland et al., 2010). Nesta meta-análise foram incluídos 15 estudos randomizados placebo-controlados que utilizaram a suplementação de cálcio ≥ 500 mg/dia, totalizando 8.151 participantes acompanhados em média durante 3,6 anos (Bolland et al., 2010).

Posteriormente, estudos realizados pelos mesmos autores e por outros grupos de pesquisadores, também encontraram resultados semelhantes (Bolland et al., 2011; Li et al., 2012; Xiao et al., 2013; Mao et al., 2013). Por exemplo, Li et al. (2012) avaliaram os dados de 23.980 indivíduos que participaram do estudo EPIC-Heidelberg e foram acompanhados durante 11 anos. Os usuários de suplementos contendo cálcio em comparação com os indivíduos que não usavam suplementos apresentaram um aumento estatisticamente significativo no risco de IAM (HR = 1,86; IC 95% 1,17-2,96), que foi mais pronunciado para os usuários de suplementos contendo apenas cálcio (HR=2,39; IC 95% 1,12-5,12).

Apesar dos potenciais efeitos deletérios do cálcio suplementar observados nos trabalhos citados acima, vários estudos não observaram aumento no risco de DCV com a suplementação de cálcio (associada ou não a vitamina D) (Hsia et al., 2007; LaCroix et al., 2009; Shah et al., 2010; Lewis et al., 2011; Van Hemelrijck et al., 2013; Cauley et al., 2013; Lewis et al., 2015). Em uma publicação recente (Paik et al., 2014) foi observado justamente o oposto. Paik et al (2014) conduziram um estudo de coorte prospectivo incluindo 74.245 mulheres do *Nurses' Health Study* acompanhadas durante 24 anos. Nas análises multivariadas, ajustadas para idade, índice de massa corporal (IMC), cálcio dietético, vitamina D e outros fatores de risco para DCV, o risco relativo de DCV para as mulheres em uso de cálcio suplementar > 1.000 mg/dia em comparação com as que não faziam uso foi de 0,82 (IC

95% 0,74-0,92; $p < 0,001$). De forma similar, o risco de doença coronariana foi de 0,71 (IC 95% 0,61-0,83; $p < 0,001$).

O mecanismo proposto para explicar a possível associação entre cálcio suplementar e risco de DCV é a elevação aguda na concentração sérica de cálcio, que persiste por mais de 8 h após a ingestão de suplementos de cálcio, porém não ocorre após a ingestão de cálcio dietético (Reid et al., 2011; Bolland et al., 2013). Além disto, o cálcio dietético é consumido em pequenas quantidades ao longo do dia, geralmente junto com gordura e proteína, e como resultado, ele é absorvido lentamente, causando pouca alteração nos níveis séricos (Reid & Bolland, 2012).

O processo de calcificação vascular é o resultado não apenas da simples precipitação físico-química de cálcio e fosfato. Ele é regulado por processos que envolvem uma série de inibidores da formação de cristais, incluindo Fetuína A, proteína Gla da matriz, pirofosfato, osteoprotegerina e proteína óssea morfogenética 7. Dentre esses moduladores da calcificação, o que mais provavelmente é influenciado pela ingestão de cálcio é o pirofosfato que está presente no fluido extracelular em um equilíbrio dinâmico com o cálcio com quem forma complexos. Quando as concentrações de cálcio ionizado aumentam após a ingestão de cálcio, acredita-se que o declínio recíproco no pirofosfato, esteja associado com perda da inibição da mineralização (Reid et al., 2010b). Um segundo mecanismo pelo qual o cálcio sérico pode afetar a calcificação vascular é através da ligação com o receptor sensível ao cálcio, que é expresso nas células endoteliais, nas plaquetas e no músculo liso vascular (Reid et al., 2010; Reid & Bolland, 2012). A exposição de culturas de células do músculo liso vascular a concentrações crescentes de cálcio resultam em diminuição da atividade desses receptores e aumento na mineralização da cultura de células (Alam et al., 2009).

Alguns estudos sugerem que concentrações séricas elevadas de cálcio (mesmo dentro da faixa da normalidade) estão associadas com calcificação vascular, formação de placas de ateroma na artéria carótida, rigidez arterial, eventos cardiovasculares, insuficiência cardíaca e maior mortalidade em comparação a indivíduos com níveis séricos inferiores (Rubin et al., 2007; Foley et al., 2008; Slinin et al., 2011, Larsson et al., 2011; Grandi et al., 2012; Zhu et al., 2012; Lutsey et al., 2014; Bristow et al., 2015a).

A relação entre o uso de suplementos de cálcio e a calcificação vascular e/ou a espessura da camada íntima-média foi avaliada em alguns estudos publicados nos últimos anos. Esses estudos apresentam resultados inconsistentes. Por exemplo, no ensaio clínico randomizado realizado por Li et al (2013), 190 mulheres na pré-menopausa e 182 na pós-

menopausa, apresentando dislipidemia, receberam 800 mg de cálcio/dia ou placebo durante 2 anos. A suplementação de cálcio aumentou a espessura da íntima-média da carótida nas mulheres na pós-menopausa (Li et al., 2013). Bristow et al. (2015a) em um ensaio clínico randomizado observaram que o aumento na concentração sérica de cálcio, com o uso de suplementos, pode favorecer a calcificação.

Entretanto, em outros estudos a suplementação de cálcio não se associou com maior risco de calcificação vascular (Samelson et al., 2012) nem com maior espessura da íntima-média da carótida (Lewis et al., 2014; Thiele et al., 2015). Samelson et al (2012) realizaram estudo observacional, de coorte prospectivo envolvendo 690 mulheres e 588 homens do *Framingham Offspring Study*. Nesse estudo a calcificação da artéria coronariana não se associou com o uso de suplementos de cálcio, mesmo após ajustes para fatores de confundimento incluindo idade, IMC, tabagismo, consumo de álcool e uso de suplementos de vitamina D (Samelson et al., 2012). Lewis et al. (2014) avaliaram os efeitos da suplementação de carbonato de cálcio (1200 mg/dia), durante 3 anos, na espessura da camada íntima-média e aterosclerose de carótida em mulheres idosas e observaram que não houve aumento da espessura da camada íntima-média da carótida no grupo que recebeu suplementação comparado ao grupo placebo. Além disto, foi observado redução da aterosclerose no tercil mais alto de ingestão de cálcio (suplementos e dieta) em comparação ao tercil mais baixo de ingestão (*odds ratio* [OR]=0,67; IC 95% 0,50-0,90] $p=0,008$ e OR = 0,70 [IC 95% 0,51-0,96], $p=0,028$, respectivamente).

Apesar do aumento na calcificação vascular ser o mecanismo proposto para o aumento no risco de evento cardiovascular, o rápido aumento no risco de IAM após o início da suplementação (dentro de 1 ano) (Bolland et al., 2010; Bolland et al., 2011) sugere que outros processos mais “rápidos” possam estar envolvidos. Esses outros processos provavelmente ocorrem logo após a ingestão dos suplementos, no momento em que há elevação nos níveis séricos de cálcio. Considerando que a suplementação de cálcio muito frequentemente é realizada junto com as refeições, esses efeitos do cálcio provavelmente ocorrem durante o período pós-prandial.

1.5 Período pós-prandial e doença cardiovascular

Diariamente, o organismo humano permanece durante a maior parte do tempo no estado pós-prandial, pois a maior parte dos indivíduos realizam refeições e/ou pequenos lanches contendo carboidratos e gorduras, com intervalos de 4-5 h (Lairon et al., 2007).

Em 1979, Zilversmit postulou que a aterosclerose tratava-se de um fenômeno pós-prandial e desde então aumentaram as evidências indicando uma relação entre dismetabolismo pós-prandial, que é caracterizado por uma elevação acentuada nos níveis séricos de glicose e lipídios após uma refeição, com o aumento do risco de eventos cardiovasculares (DECODE Study Group, 2001; Qiao et al., 2002; Cavalot et al., 2006; Nordestgaard et al., 2007; Freiberg et al., 2008; Mora et al., 2008; Lairon et al., 2007; Garber, 2012; Varbo et al., 2011; Cavalot et al., 2011; Langsted et al., 2011; Bören et al., 2014; Pirillo et al., 2014).

Existem evidências de que a toxicidade cardiovascular do dismetabolismo pós-prandial é mediada principalmente pelo estresse oxidativo, que é diretamente proporcional ao aumento na glicemia e lipemia após a refeição. Este aumento transitório nos radicais livres pode desencadear inflamação, disfunção endotelial, hipercoagulabilidade, hiperatividade simpática e outras modificações aterogênicas (O'Keefe & Bell, 2007; Lacroix et al., 2012).

A diminuição dos picos pós-prandiais de glicemia e lipemia podem melhorar a inflamação e a função endotelial. A redução no dismetabolismo pós-prandial parece retardar significativamente a progressão da aterosclerose e pode melhorar o prognóstico cardiovascular (Esposito et al., 2004; Noda et al., 2013; Ohno et al., 2014).

1.6 Hiperglicemia pós-prandial

A fisiopatologia da hiperglicemia pós-prandial difere da hiperglicemia de jejum, entretanto a resistência insulínica está envolvida em ambas as respostas, mas em locais diferentes. A hiperglicemia em jejum resulta principalmente da resistência hepática a insulina, com sensibilidade muscular normal e redução na primeira fase da secreção de insulina (30 minutos) com resposta de segunda fase normal (60-120 minutos) após a ingestão oral de glicose. Já a hiperglicemia pós-prandial resulta principalmente de redução da sensibilidade

hepática a insulina e de resistência insulínica muscular de moderada a grave. Há defeito na secreção de insulina na primeira fase e um déficit grave na segunda fase, após a ingestão oral de glicose (Nathan et al., 2007).

A tolerância à glicose diminuída é definida como uma condição na qual os níveis séricos de glicose 2 h após o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) são de 140 – 199 mg/dL. O TOTG deve ser realizado utilizando-se uma sobrecarga de glicose contendo o equivalente a 75g de glicose anidra dissolvida em água (ADA, 2014).

Em 1999 foi publicado um estudo realizado pelo grupo DECODE (*Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe*) no qual as concentrações de glicose em jejum quando avaliadas isoladamente não foram suficientes para identificar indivíduos com maior risco de morte. Entretanto, a glicemia avaliada após o TOTG foi capaz de detectar indivíduos com maior risco de morte. Nesta publicação, foram avaliados 13 estudos de coorte prospectivos europeus, totalizando 18.048 homens e 7.316 mulheres com 30 anos ou mais apresentando acompanhamento médio de 7,3 anos (DECODE, 1999).

Na meta-análise realizada por Coutinho et al. (1999) foram incluídos 20 estudos que relatavam glicemia: de jejum, 2 h pós-TOTG, 1 h pós-TOTG e casual. A sobrecarga de glicose utilizada nos estudos variou de 50 a 100g. Em comparação com níveis de glicose de 75 mg/dL, a glicemia de jejum de 110 mg/dL e de 2h de 140 mg/dL, se associaram com risco de evento cardiovascular de 1,33 (IC 95% 1,06–1,67) e 1,58 (IC 95% 1,19 –2,10), respectivamente. O estudo demonstrou relação progressiva entre glicemia de jejum e pós-prandial com risco de DCV, mesmo em níveis abaixo do limiar para diagnóstico de diabetes (Coutinho et al., 1999).

Posteriormente, Levitan et al. (2004) publicaram uma meta-análise que incluiu 38 estudos e demonstrou que mesmo fora da faixa de diagnóstico do diabetes o grupo que alcançou os níveis mais elevados de glicemia após o TOTG (150-194 mg/dL) apresentou um risco 27% maior para DCV comparado ao grupo com níveis mais baixos (69-107 mg/dL) (IC 95% 1,09-1,48).

O TOTG é um substituto, porém não é um sinônimo de glicemia pós-prandial (O'Keefe & Bell, 2007). Existem evidências de que a glicemia pós-prandial após uma refeição reflete a resposta fisiológica do indivíduo melhor do que o TOTG (Rijkelijhuizen et al., 2009).

O estudo de coorte de Rijkelijhuizen et al. (2009) avaliou as respostas glicêmicas durante um TOTG e um teste de tolerância a refeição. Participaram deste estudo indivíduos

com metabolismo normal da glicose, tolerância à glicose reduzida e diabetes *mellitus* tipo 2. Os participantes foram submetidos ao TOTG contendo 75g de carboidratos e ao teste de tolerância a refeição, que era composta por: 75g de carboidratos, 50g de gordura e 24g de proteínas. Os achados sugeriram que a resposta das células beta é mais potente depois da refeição mista do que após o TOTG com quantidades iguais de carboidratos e que essa resposta potencializada pode ser explicada principalmente pela maior sensibilidade das células beta durante a refeição (Rijkeljkhuizen et al., 2009).

1.6.1 Mecanismo de ação

A hiperglicemia provoca uma série de efeitos tóxicos simultâneos e interdependentes (Rebolledo & Dato, 2005). Após o consumo de refeições que induzem a hiperglicemia, há aumento no estresse oxidativo, que é diretamente proporcional a elevação na glicemia após a refeição e pode desencadear disfunção endotelial, inflamação, vasoconstrição, hipercoagulabilidade e uma cascata de outras modificações aterogênicas (O'Keefe & Bell, 2007; Garber, 2012; Gerich, 2013). As repetições e a duração da hiperglicemia pós-prandial parecem desempenhar um papel importante no desenvolvimento e progressão da aterosclerose (Garber, 2012).

Um dos principais impactos da hiperglicemia no sistema cardiovascular é a disfunção endotelial (Garber, 2012; Lacroix et al., 2012), que pode ser explicada pela redução da biodisponibilidade do óxido nítrico (Mah & Bruno, 2012). Kawano et al. (1999) avaliaram a dilatação fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial de indivíduos com tolerância normal à glicose, pré-diabéticos e diabéticos, no jejum e pós TOTG. Foi observada redução da FMD mediante a hiperglicemia nos indivíduos pré-diabéticos e diabéticos. Outros estudos mais recentes também observaram associação inversa significativa entre glicemia após sobrecarga de glicose e FMD (Mah et al., 2011; Watanabe et al., 2011; Suzuki et al., 2012).

Perkins et al. (2015) realizaram um ensaio clínico randomizado com 22 indivíduos com obesidade/sobrepeso, no qual utilizaram a técnica do *clamp* pancreático para gerar quatro estados diferentes glicemia e insulinemia: 1) insulina e glicemia normal, 2) insulina normal e hiperglicemia, 3) hiperinsulinemia e hiperglicemia, 4) hiperinsulinemia e euglicemia,

observaram um decréscimo na função endotelial na vigência da hiperglicemia associada a insulina normal comparado aos outros estados.

A hiperglicemia pós-prandial induz a hipercoagulabilidade através da ativação plaquetária e mudanças em fatores envolvidos na cascata de coagulação, que estão intimamente relacionados com o aparecimento de síndrome coronariana aguda (Sakamoto et al., 2000; Garber, 2012). Sakamoto et al. (2000) acompanharam a agregação plaquetária de 20 indivíduos após a ingestão de 75g de glicose em diferentes momentos (60, 120 e 180 minutos) e observaram o aumento da agregação plaquetária paralelamente com a glicemia e insulinemia após o TOTG (Sakamoto et al., 2000).

Indivíduos diabéticos parecem ter níveis de marcadores inflamatórios circulantes superiores a indivíduos saudáveis (Pickup et al., 2000). A hiperglicemia pós-prandial também pode promover elevação de marcadores inflamatórios. Entretanto, quando é realizado um controle glicêmico eficaz, há redução desses marcadores (Arnalich et al., 2000). Esposito et al. (2002) avaliaram os efeitos agudos da hiperglicemia em marcadores inflamatórios (interleucina-6, fator de necrose tumoral α e interleucina-18) em indivíduos saudáveis e com tolerância diminuída a glicose e observaram o aumento dessas citocinas, que foi mais pronunciado nos indivíduos com intolerância à glicose. Além disso, a infusão do antioxidante glutathiona suprimiu a elevação de citocinas plasmáticas induzidas pela glicose, em ambos os grupos, sugerindo que o efeito prejudicial da hiperglicemia na inflamação é mediado por estresse oxidativo (Esposito et al., 2002).

1.7 Dislipidemia pós-prandial

O termo lipemia pós-prandial se refere às modificações dinâmicas nos lipídeos e lipoproteínas séricas que ocorrem após uma refeição ou uma sobrecarga de lipídeos. Essas modificações refletem principalmente elevações nos triglicerídeos (TG) séricos (Bravo et al., 2010; Kolovou & Ooi, 2013; Botham & Wheeler-Jones, 2013), pois o colesterol total e o HDL-colesterol (HDL-C) sofrem alterações mínimas no período pós-prandial (Wilder et al., 1995; Craig et al., 2000; Mora et al., 2008). As diretrizes nacionais e internacionais de tratamento e prevenção da dislipidemia recomendam que o perfil lipídico seja mensurado após jejum de 8-12 h. (Perk et al., 2012; Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2013; Stone et

al., 2014). Existem duas razões importantes para se recomendar a avaliação do perfil lipídico em jejum. A primeira é reduzir a variabilidade que geralmente é observada com os TG no período pós-prandial em relação ao estado de jejum. A segunda é que normalmente a dosagem de TG em jejum é necessária para o cálculo do LDL-colesterol (LDL-C) através da fórmula de *Friedewald* (Kolovou et al., 2011).

A determinação da concentração sérica de TG fora do jejum é definida como aquela que é mensurada em qualquer momento durante 8 h após a ingestão de qualquer refeição. Enquanto que a avaliação pós-prandial dos TG é aquela realizada em um momento fixo em até 8 h após a ingestão de um teste de tolerância a gordura ou refeição hiperlipídica (Nordestgaard et al., 2011).

Estudos recentes sugerem que os TG fora do jejum e o pós-prandial podem ser preditores de eventos cardiovasculares de forma semelhante ou superior aos TG em jejum (Mora et al., 2008; Langsted et al., 2008).

No estudo epidemiológico prospectivo *Copenhagen City Heart Study*, 7.587 mulheres e 6.394 homens dinamarqueses com idade de 20 – 93 anos foram acompanhados do *baseline* até 2004. Os autores observaram que níveis elevados de TG fora do período de jejum se associaram com risco aumentado de IAM e doença coronariana isquêmica. Os níveis de TG fora do período de jejum $\geq 442,5$ mg/dL, em comparação com valores $< 88,5$ mg/dL, foram associados com um aumento no risco de IAM de 17 vezes em mulheres e cinco vezes em homens; e com um aumento de quatro vezes em mulheres e de duas vezes em homens no risco de mortalidade total (Nordestgaard et al., 2007).

O período pós-prandial é importante, pois reflete a capacidade do organismo em metabolizar de forma eficiente uma refeição contendo gordura (Lairon et al., 2007). A hiperlipidemia pós-prandial que é caracterizada por níveis elevados de TG, quilomícrons (QM) remanescentes e AG livres resulta em estresse oxidativo e inflamação, potencializando os efeitos adversos da hiperglicemia pós-prandial e sendo uma condição de alto risco para a aterosclerose (O'Keefe & Bell, 2007; Alipour et al., 2007; LaCroix et al., 2012). A elevação dos TG no período pós-prandial é dose dependente: baixas doses de lipídios (5-10 g) não aumentam significativamente a trigliceridemia, já as refeições contendo um teor de lipídeos > 30 g causam elevação significativa da lipemia pós-prandial até aproximadamente 80 g (Lairon et al, 2007). Considerando-se que o conteúdo médio de lipídeos em refeições ocidentais é de 20 – 40 g e que o hábito dietético típico são 3 – 4 refeições/dia, pode-se supor que a trigliceridemia pós-prandial frequentemente dura 18 h/dia (Bravo et al., 2010; Botham &

Wheeler-Jones, 2013). O pico de TG após uma refeição ocorre aproximadamente 4 h após a ingestão (Kolovou et al., 2011; Borén et al., 2014).

Após um teste oral de tolerância aos lipídeos, no qual em geral são ingeridos 1 g de lipídeos/kg peso corporal ou 75g de lipídeos, o aumento médio nos TG séricos é de 89 - 178 mg/dL. Enquanto após uma refeição normal o aumento é bem menor em torno de 27 mg/dL (Jackson et al., 2012). Ainda não existem pontos de corte estipulados para o perfil lipídico no estado pós-prandial (Borén et al., 2014). Entretanto, foi proposto por Kolovou et al. (2011) que os níveis desejáveis de TG fora do período de jejum devem ser < 180 mg/dL e os TG pós-prandiais < 220 mg/dL. Atualmente, está bem estabelecido que a lipemia pós-prandial é influenciada por uma série de fatores incluindo o padrão dietético habitual e a composição da refeição (quantidade e tipo de gordura, carboidratos, proteínas, fibras e álcool); condições relacionadas ao estilo de vida (atividade física e tabagismo); fatores fisiológicos (idade, gênero e menopausa); e condições patológicas (obesidade, resistência à insulina e diabetes *mellitus*) (Lopez-Miranda et al., 2007). Sendo assim, a resposta pós-prandial dos TG a uma refeição rica em lipídios padronizada já demonstrou ser altamente variável entre os indivíduos (Jackson et al., 2012). O consumo excessivo de gordura e a diminuição no intervalo entre as refeições resultam em aumento exagerado e prolongado nos níveis de TG no período pós-prandial (Maranhão et al., 2014).

1.7.1 Mecanismo de ação

Apesar de já ter sido demonstrado que existe uma relação direta entre TG séricos no período pós-prandial e risco de DCV, o mecanismo pelo qual os TG exercem seu efeito sobre a parede vascular não é completamente conhecido (Jackson et al., 2012).

Após uma refeição, no intestino delgado, os TG (principais componentes dos lipídios dietéticos) são emulsificados pelos sais biliares e parcialmente hidrolisados pela ação da lipase pancreática, gerando AG livres, glicerol, monoglicerídeos e diglicerídeos. Estas substâncias são absorvidas através da membrana apical dos enterócitos, onde são transformadas novamente em TG, sendo incorporados aos QM no retículo endoplasmático. A proteína de transferência de triglicérides microsomal é necessária para a transferência dos TG para a apolipoproteína (apo) B-48, que é sintetizada pelas próprias células intestinais. O

tamanho e a composição dos QM formados são dependentes da quantidade e tipo de gordura ingerida e absorvida. O aumento na absorção de gordura gera QM maiores (Abumrad, 2012; Feingold & Grunfeld, 2015).

Os QM são lançados no sistema linfático através do ducto torácico e atingem a corrente sanguínea. A lipoproteína lipase é produzida nos músculos e tecido adiposo, é ativada pela apo C-II, transportada no QM, promovendo a hidrólise dos TG e resultando na formação de AG livres, que podem ser absorvidos pelas células musculares ou adipócitos, para a produção ou armazenamento de energia. A medida que os TG são removidos, os QM se transformam em QM remanescentes, adquirindo apo E. Essas partículas são menores, apresentam maior densidade e são enriquecidas em ésteres de colesterol (Feingold & Grunfeld, 2015).

Em condições normais, os remanescentes de QM são removidos da circulação sanguínea pelo fígado, através de receptores localizados nas membranas dos hepatócitos: proteoglicano de heparan sulfato e receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDL) por meio da ligação com a apo E dos QM (Borén, 2014). No fígado, os TG provenientes dos QM remanescentes tanto podem ser utilizados, como podem retornar ao sangue incorporados em outra lipoproteína, a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). A partícula de VLDL é menor do que a de QM e é importante para a realização do transporte dos TG sintetizados endogenamente. As partículas de VLDL são secretadas de forma contínua pelo fígado na circulação e seus TG também são hidrolisados pela lipase lipoproteica (LPL) formando os remanescentes de VLDL ou as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), podendo ser captadas pelo fígado via apo E ou convertidas para LDL-C. QM, VLDL e seus respectivos remanescentes são chamados de lipoproteínas ricas em TG (TRL) (Tushuizen et al., 2005; Feingold & Grunfeld, 2015).

A hipertriceridemia pós-prandial trata-se de uma alteração metabólica, sendo iniciada por excesso de produção e/ou diminuição do catabolismo de TRLs (Borén, 2014). O acúmulo no período pós-prandial de remanescentes de QM e VLDL promove uma resposta celular que leva a inflamação na parede do vaso, levando inicialmente a adesão de monócitos nas células endoteliais. Quando os QM remanescentes se acumulam no espaço extracelular subendotelial (o que pode ser estimulado pela resposta pós-prandial aumentada e prolongada), os monócitos diferenciam-se em macrófagos e absorvem as partículas remanescentes retidas, tornando-se células espumosas, iniciando assim o processo aterosclerótico. (Riccardi, 2006). A hipertrigliceridemia pós-prandial também é o maior determinante do estresse oxidativo e

função endotelial prejudicada, apresentando importante papel no avanço das lesões ateroscleróticas (Riccardi, 2006).

As TRLs podem ser associadas a um estado trombofílico ativado pelo fator VII, uma enzima envolvida na produção de trombina, através da conversão do fibrinogênio em fibrina. Tal estado é perigoso, exacerbando a trombogênese na presença da placa aterosclerótica, podendo levar a oclusão do vaso (Riccardi, 2006).

Em alguns estudos, as lipoproteínas ricas em TG no período pós-prandial estão associadas com aumento na expressão da molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) (Rubin et al., 2008; Sun et al., 2012). Já foi observada, após sobrecarga de lipídeos, elevação significativa de citocinas inflamatórias, tais como interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e PCR-us (Derosa et al., 2009).

Estudos transversais observaram a relação da lipemia pós-prandial (avaliada através dos TG, VLDL e TRLs) com o aumento da espessura íntima-média carotídea, como marcador precoce de aterosclerose (Ryu et al., 1992; Sharrett et al., 1995; Karpe et al., 1998; Boquist et al., 1999; Karpe et al., 2001; Chen et al., 2003; Mori et al., 2005; Khamseh et al., 2007).

A ingestão de refeições hiperlipídicas se associou com aumento significativo da PA nos estudos realizados por Lithander et al. (2013) e Esser et al. (2013). Já foi proposto alguns fatores podem contribuir para este aumento na PA como a ativação simpática que ocorre após a ingestão de uma refeição associada ao aumento no estresse oxidativo com consequente disfunção endotelial (Lithander et al., 2013).

1.8 Obesidade e dismetabolismo pós-prandial

A obesidade está associada com uma série de fatores de risco para DCV incluindo hiperglicemia, dislipidemia, hipertensão arterial, estado inflamatório de baixo grau e disfunção endotelial (Jonk et al., 2007; Leon & Maddox, 2015).

Existem evidências de que a adiposidade corporal influencia a resposta pós-prandial, especialmente a obesidade abdominal, que está associada com acúmulo de tecido adiposo visceral e resistência à insulina. (Paglialunga & Cianflone, 2007). Alguns estudos observaram uma resposta lipêmica pós-prandial mais deletéria nos indivíduos obesos em comparação com

os indivíduos eutróficos (Blackburn et al., 2003; Van Wijk et al., 2003; Schwander et al., 2014; Adamska et al., 2015). A resistência à insulina presente nos indivíduos obesos pode contribuir tanto para a hiperglicemia quanto para a hipertrigliceridemia pós-prandial, por induzir alterações no metabolismo glicídico e lipídico que são mediadas dentre outros fatores, por prejuízos na translocação da GLUT 4 e por diminuição atividade da LPL (Saltiel & Kahn, 2001; Palanivel et al., 2006; Bullo et al., 2002; Bloomer & Fisher-Wellman, 2009).

1.9 Suplementos de cálcio e período pós-prandial

O efeito do cálcio suplementar sobre o metabolismo durante o período pós-prandial foi avaliado em um número extremamente pequeno de estudos. Esses estudos avaliaram os efeitos sobre o metabolismo da glicose (Cummings et al., 2006; Lorenzen et al., 2007; Trautvetter & Jahreis, 2014) e sobre a lipemia (Lorenzen et al., 2007).

A suplementação de cálcio não apresentou efeitos significativos sobre a glicemia e insulinemia nos estudos realizados por Cummings et al. (2006), Lorenzen et al. (2007) e Trautvetter & Jahreis (2014). Cummings et al. (2006) realizaram um estudo cruzado com 8 indivíduos saudáveis (6 homens e 2 mulheres), no qual foram oferecidas 3 refeições isocalóricas e com distribuição similar de macronutrientes: \cong 2400 KJ (574 Kcal), proteína \cong 15% do valor energético total (VET), lipídio \cong 34% do VET e carboidrato \cong 47% do VET. As 3 refeições apresentavam teores e fontes diferentes de cálcio. A pobre em laticínios apresentava baixo teor de cálcio e vitamina D (Ca: 176 mg; vitamina D: 40 nmol/l), a rica em cálcio suplementar possuía alto teor de cálcio suplementar (citrato de cálcio), porém pobre em vitamina D (Ca: 575 mg; vitamina D: 45 nmol/l) e a rica em cálcio proveniente de laticínios com alto teor de cálcio dietético e vitamina D (Ca: 530 mg; vitamina D: 364 nmol/l). Não foram observadas diferenças significativas entre as três refeições em relação a glicemia e a insulinemia pós-prandial.

Lorenzen et al. (2007) avaliaram os efeitos de diferentes teores e fontes de cálcio sobre a lipemia pós-prandial em 18 indivíduos saudáveis. As refeições teste apresentavam teor semelhante de energia (\pm 4.500 kJ ou 1.075 Kcal), proteínas \sim 15% do VET, carboidratos \cong 46% do VET e lipídios \cong 39% do VET. Em relação a fonte e quantidade de cálcio as

refeições eram: rica em cálcio dietético (793 mg), moderada em cálcio dietético (350 mg), pobre em cálcio dietético (68 mg) e rica em cálcio suplementar (carbonato de cálcio – 850 mg), sendo todas com o mesmo valor calórico. O cálcio dietético reduziu significativamente a lipemia pós-prandial. Em comparação com a área sob a curva (AUC) dos TG de QM após a refeição pobre em cálcio, a AUC após a refeição moderada em cálcio dietético foi $\cong 17\%$ menor ($p=0,02$) e após a refeição rica em cálcio dietético foi $\cong 19\%$ menor ($p=0,007$) do que após a refeição pobre em cálcio dietético. Não foram observadas diferenças significativas entre as refeições em relação aos níveis séricos de glicose e insulina.

É importante ressaltar que dentre os estudos que avaliaram os efeitos do cálcio suplementar sobre o metabolismo pós-prandial a maioria incluiu indivíduos saudáveis. Por exemplo, no estudo realizado por Lorenzen et al. (2007) foram incluídos indivíduos saudáveis com idade entre 18 - 50 anos apresentando sobrepeso (IMC: 24-31kg/m²), enquanto no estudo de Trautvetter & Jahreis (2014) os participantes apresentavam entre 20 e 35 anos e IMC médio de 23 kg/m². Tal fato pode reduzir a chance de se observar efeitos do cálcio suplementar sobre metabolismo de carboidratos e lipídios, pois estes indivíduos apresentam menor risco de dismetabolismo pós-prandial. No estudo realizado por Cummings et al. (2006) os participantes apresentavam maior faixa etária (47 – 66 anos) e valores mais elevados de IMC (27,6 – 36,1 Kg/m²), porém o valor energético das refeições não era muito elevado (574 Kcal) e o percentual de lipídios pode ser considerado dentro da faixa de normalidade (34% do VET). Este fato também pode dificultar a observação de possíveis efeitos do cálcio sobre o metabolismo pós-prandial.

Em relação a PA durante o período pós-prandial os dados disponíveis são ainda mais escassos. Pode-se aventar a hipótese de que pelo fato do cálcio suplementar elevar de forma aguda o cálcio sérico, ele poderia aumentar a PA, pois estudos sugerem que a elevação do cálcio sérico ionizado, através da infusão venosa de cálcio, se associa com a elevação da PA (Nilsson et al., 2001; Kamycheva et al., 2005).

O efeito sobre a PA do cálcio sérico e da ingestão aguda de cálcio parece ser diferente do efeito da ingestão em longo prazo de cálcio suplementar. A possível explicação é o fato da ingestão crônica dos suplementos não resultar em aumento na concentração sérica de cálcio, devido aos vários mecanismos fisiológicos que regulam de forma muito estreita os níveis séricos de cálcio. Entretanto, a concentração extracelular de cálcio pode aumentar aos níveis máximos da normalidade ou acima nos períodos imediatamente após a suplementação (Bristow et al., 2014). Portanto, é possível que os suplementos de cálcio apresentem efeitos

diferentes sobre a pressão quando administrados de forma aguda, pois neste momento aumentam a concentração sérica de cálcio.

Por outro lado, também é possível imaginar que caso o cálcio suplementar seja capaz de reduzir a lipemia pós-prandial, quando associado a uma refeição hiperlipídica o que poderia reduzir o estresse oxidativo reduzindo a PA. Apenas um estudo avaliou o efeito do cálcio suplementar sobre a PA no período pós-prandial (Bristow et al., 2015b). Neste estudo a refeição utilizada era um desjejum leve associado a ingestão de cálcio suplementar (1g) ou placebo. Foi observada redução da PA após a ingestão de cálcio e de placebo, porém a redução foi significativamente maior após a ingestão do placebo (Bristow et al., 2015b).

Através de abrangente busca bibliográfica não foi possível identificar estudos avaliando o efeito dos suplementos de cálcio sobre os biomarcadores de inflamação e função endotelial durante o período pós-prandial. Burt et al. (2013) e Yaron et al (2014) avaliaram o efeito da administração isolada de cálcio suplementar (sem associação com refeição) e não observaram efeitos benéficos nem deletérios sobre a função endotelial.

2 JUSTIFICATIVA

Apesar dos suplementos de cálcio serem amplamente utilizados, principalmente por mulheres, ainda não há um consenso em relação aos seus efeitos sobre o risco de DCV. Existem evidências de que o uso de cálcio suplementar pode apresentar efeitos benéficos sobre alguns fatores de risco para DCV como a resistência à insulina, a dislipidemia e a hipertensão arterial. Ao mesmo tempo, estudos recentes sugerem que os suplementos de cálcio estão associados com aumento no risco de eventos cardiovasculares e o mecanismo proposto é a elevação aguda na concentração sérica de cálcio, que ocorre após sua ingestão e pode favorecer a calcificação vascular. A elevação aguda no cálcio sérico provavelmente apresenta outros efeitos deletérios, pois os suplementos de cálcio foram associados com aumento no risco de evento cardiovascular quando utilizados por período relativamente curto de tempo (por exemplo: 1 ano), tempo insuficiente para desenvolvimento de calcificação significativa. Os outros possíveis efeitos deletérios do aumento agudo na concentração sérica de cálcio provavelmente ocorrem no período pós-prandial, pois os suplementos de cálcio normalmente são ingeridos junto com as refeições.

O organismo humano permanece durante a maior parte do tempo ao longo de um dia no estado pós-prandial, ou fora do estado de jejum, pois a maioria das pessoas ingere refeições com intervalos de 4-5 h. O aumento acentuado na glicemia e na lipemia no período pós-prandial é denominado de dismetabolismo pós-prandial e está associado com aumento no risco cardiovascular. Em indivíduos obesos a presença de alterações metabólicas no período pós-prandial é mais frequente do que em eutróficos.

Os efeitos dos suplementos de cálcio sobre o metabolismo pós-prandial ainda não são conhecidos e provavelmente podem haver efeitos benéficos, pois estudos sugerem que o cálcio pode reduzir a absorção intestinal de lipídios. Da mesma forma, que podem haver efeitos deletérios como por exemplo sobre a PA, pois estudos prévios já indicaram que valores elevados de cálcio sérico estão associados com aumento da PA.

Diante de tudo o que foi exposto, é de grande importância a avaliação dos efeitos do cálcio suplementar no período pós-prandial, pois poderá auxiliar na elucidação do papel dos suplementos de cálcio no risco cardiovascular.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos agudos do cálcio suplementar sobre o metabolismo pós-prandial em mulheres obesas.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar em mulheres obesas, no período pós-prandial, os efeitos do cálcio suplementar sobre:

- a) a glicemia e a insulinemia
- b) as concentrações séricas de colesterol total e frações
- c) a trigliceridemia
- d) o metabolismo do cálcio
- e) a concentração sérica de proteína C reativa
- f) a reatividade microvascular cutânea
- g) a pressão arterial

4 MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório da Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental (CLINEX) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto antes do início de sua realização (Registro CAAE: 19393213.7.0000.5259) (Anexo A). Todas as participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes da sua inclusão no estudo (Apêndice A). O estudo encontra-se registrado no *clinicaltrials.org* sob o número NCT02137434.

4.1 Casuística

Foram incluídas neste estudo 16 mulheres, com IMC entre 30 a 40 kg/m², sem distinção de etnia, com idade entre 23 e 48 anos e apresentando baixa ingestão habitual de laticínios (≤ 1 porção/dia). As participantes deste estudo foram selecionadas nas salas de espera dos Ambulatórios de Cirurgia Plástica da Policlínica Piquet Carneiro e de Ginecologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto.

A abordagem inicial consistiu no convite para participação no estudo, com esclarecimento das principais características do mesmo. As mulheres que aceitaram participar assinaram o TCLE e foram submetidas a avaliação preliminar que consistiu na determinação do peso corporal e da estatura, além da realização de uma entrevista abordando diferentes critérios elegibilidade (Apêndice B).

Todas as mulheres potencialmente elegíveis para o estudo foram agendadas para a visita de seleção (visita 0: V0) no Laboratório e receberam as orientações necessárias para a realização desta próxima visita. Essas orientações incluíram jejum de 12 h e abstinência de bebida alcoólica por 3 dias.

Na visita de seleção (V0) as mulheres foram submetidas a avaliação antropométrica, da composição corporal, da ingestão alimentar habitual, clínica e laboratorial, com o objetivo de avaliar outros critérios de elegibilidade. Após a realização das avaliações em V0, as participantes receberam as orientações necessárias para a realização das visitas de

intervenção: visita 1 (V1) e visita 2 (V2). Essas orientações incluíram jejum de 12 h e evitar o consumo nos 3 dias anteriores às visitas de intervenção de: alimentos ricos em gordura, suco de uva, chá (verde ou branco), chocolate amargo, quantidades maiores que 2 porções de frutas/dia e bebidas alcólicas. Além disso, foram orientadas a não realizar exercícios físicos diferentes da sua rotina atual e a manter ingestão habitual de leite e derivados (no máximo 1 porção/dia) (Apêndice C).

4.2 Critérios de inclusão

As participantes incluídas no estudo preencheram os seguintes critérios:

- idade entre 20 a 50 anos;
- obesidade, com IMC ≥ 30 e < 40 Kg/m²;
- baixa ingestão habitual de laticínios (≤ 1 porção/dia);
- assinatura do TCLE antes de iniciar a participação no estudo.

4.3 Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo as participantes:

- tabagistas;
- em uso de qualquer suplemento dietético (incluindo suplementos de cálcio e vitamina D) e em uso de drogas que interferem no controle do peso corporal, no perfil metabólico e na PA;
- apresentando modificações recentes (últimos 3 meses) no peso corporal (≥ 3 kg), na ingestão alimentar ou na intensidade ou frequência de exercícios físicos;
- com diagnóstico de diabetes *mellitus* (ADA, 2015), hipertensão arterial (Sociedade Brasileira de Hipertensão, 2010) e/ou dislipidemia com indicação de uso de hipolipemiantes, de acordo com a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Xavier et al., 2013);

- com história clínica de angina *pectoris*, disfunção da tireóide, insuficiência cardíaca, doença vascular periférica, IAM ou acidente vascular encefálico (AVE), neuropatia periférica, doença renal crônica ou insuficiência hepática;
- gestantes ou lactantes ou na fase pós-menopausa;
- em processo inflamatório agudo ou crônico.

4.4 Desenho do estudo

O presente estudo consistiu em um ensaio clínico randomizado controlado e cruzado. Após uma a duas semanas da visita de seleção (V0), as participantes retornaram ao Laboratório e aquelas cujos exames laboratoriais estiveram de acordo com os critérios de elegibilidade foram submetidas nesta mesma visita (V1) a intervenção nutricional que consistiu na ingestão de uma das duas refeições teste: refeição pobre em cálcio (RPC) ou refeição rica em cálcio suplementar (RRCS). Após uma a duas semanas as pacientes retornaram ao Laboratório para realizar a V2 na qual receberam a outra refeição. Sendo assim, todas as participantes do estudo ingeriram as 2 refeições: RPC e RRCS. As pacientes que em V1 foram alocadas para receber a RRCS, em V2 receberam a RPC e vice-versa (Figura 1).

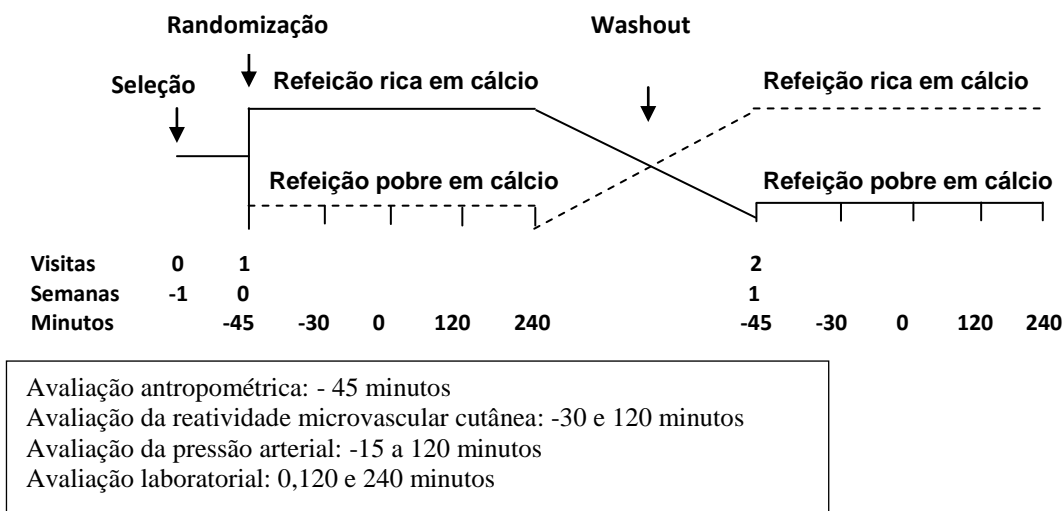
Nas visitas 1 e 2, as participantes compareceram ao Laboratório após 12 h de jejum e inicialmente foram submetidas a avaliação antropométrica, da reatividade microvascular cutânea, da PA e laboratorial. Após estas avaliações iniciais, as participantes foram submetidas a intervenção nutricional (ingestão da refeição teste). As pacientes foram instruídas a consumir a refeição teste em no máximo 15 minutos. O momento da ingestão da refeição foi considerado como o minuto 0 do estudo.

A primeira coleta de sangue, para realização da avaliação bioquímica, foi feita imediatamente antes da ingestão da refeição, sendo assim foi considerada como tendo sido realizada no momento 0. As demais coletas de sangue foram realizadas nos minutos 120 e 240 após a ingestão da refeição teste. As amostras de sangue foram utilizadas para avaliação do metabolismo da glicose, da lipemia, da atividade inflamatória e do metabolismo do cálcio.

As avaliações antropométricas foram realizadas no minuto - 45. A reatividade microvascular cutânea foi avaliada nos minutos - 30 e 120. A PA foi mensurada de forma contínua (batimento a batimento cardíaco) do minuto - 15 ao 120. O desenho do estudo e o momento de cada avaliação estão descritos na figura 1.

O processamento do sangue foi feito atendendo as especificações próprias de cada variável. Alíquotas de plasma e soro foram estocadas a -20°C ou -80°C , conforme apropriado, para as determinações laboratoriais. Todos os dados coletados foram registrados em protocolo específico elaborado para o estudo (Apêndice D).

Figura 1 - Desenho do estudo



4.5 Composição das refeições

As 2 refeições utilizadas no estudo foram elaboradas para fornecer valor energético semelhante (714 Kcal) e percentuais semelhantes de macronutrientes (proteínas 7,9 %, carboidratos 41,0 %, lipídios 48,5% e AG saturados 27,7 % do valor energético total) (Tabela 1). A RPC foi composta por: biscoito salgado (26g) com manteiga com sal (10g) e uma bebida que foi um batido contendo creme de leite (50g), albumina em pó com aroma de baunilha (15 g), açúcar (36 g), maltodextrina (20 g) e manteiga com sal (15 g). Na RRCS foi adicionado na bebida da RPC 1,25 g de carbonato de cálcio em pó, adquirido na Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Tabela 1 - Composição nutricional das refeições teste

Nutriente	Refeição pobre em cálcio	Refeição rica em cálcio suplementar
Valor energético total (kcal)	695,24	695,24
Proteínas (g)	14,08	14,08
Proteínas (% VET)	7,88	7,88
Carboidratos (g)	73,19	73,19
Carboidratos (% VET)	40,99	40,99
Lipídeos (g)	38,46	38,46
Lipídeos (% VET)	48,47	48,47
AG saturados (g)	21,97	21,97
AG saturados (% VET)	27,69	27,69
Cálcio (mg)	41,50	541,5
Sódio (mg)	449,71	449,71

VET = valor energético total, AG = ácidos graxos

4.6 Avaliação antropométrica

4.6.1 Peso, estatura e índice de massa corporal

A avaliação antropométrica foi realizada através das seguintes medidas: peso corporal (kg), estatura (m), circunferência da cintura (CC; cm), circunferência do quadril (CQ; cm) e circunferência do pescoço (CP; cm).

As mensurações de peso corporal (precisão de 0,1 Kg) e estatura (precisão de 0,5 cm) foram realizadas em balança antropométrica digital da marca Filizola[®], com os pacientes em jejum, descalços e vestindo roupas leves. O IMC foi calculado dividindo-se o peso corporal (Kg) pela estatura ao quadrado (m²) e a classificação realizada segundo os critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000).

4.6.2 Circunferência da cintura, circunferência do quadril, razão cintura quadril, razão cintura estatura e circunferência do pescoço.

A CC e a CQ foram mensuradas com os pacientes em pé e com o auxílio de uma fita métrica inextensível. A CC foi determinada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, mantendo a fita paralela ao chão, sem comprimir a pele, ao final de uma expiração normal e com o abdome relaxado (WHO, 2008). A CQ foi medida na maior circunferência na extensão posterior das nádegas (WHO, 2008). A obesidade abdominal foi definida quando a CC era ≥ 80 cm (Alberti et al., 2009).

A razão cintura quadril (RCQ) foi obtida pela divisão da CC (cm) pela CQ (cm). A razão cintura estatura foi determinada pela divisão da CC (cm) pela estatura (cm).

A CP foi mensurada segundo a descrição de Zhou et al (2013), com os pacientes em pé, com a cabeça posicionada no plano horizontal de Frankfurt e com o auxílio de uma fita métrica inextensível. A borda superior da fita métrica posicionada logo abaixo da proeminência laríngea e colocada perpendicularmente ao eixo do pescoço.

4.7 **Avaliação da composição corporal**

A composição corporal foi determinada por bioimpedância elétrica, utilizando-se o aparelho tetrapolar *Biodynamics*® modelo 450 (Biodynamics Corp., Seattle, WA, USA). Os resultados foram estimados por equações padronizadas carregadas no *software* do aparelho e foram expressas em percentual do peso corporal como: gordura corporal total (%). As pacientes foram avaliadas em jejum e foram orientadas a não consumir alimentos com quantidade significativa de cafeína como café e chás, além de refrigerantes à base de cola e bebidas alcoólicas, no dia anterior ao exame. As mulheres avaliadas estavam fora do período menstrual de acordo com recomendações da *European Society of Parenteral and Enteral Nutrition* (ESPEN) (Kyle et al., 2004). As pacientes foram orientadas a esvaziar a bexiga antes do exame. Os eletrodos foram fixados do lado direito do corpo, e as pacientes posicionadas da seguinte maneira: deitadas sobre uma maca, sem sapatos e meias; livre de qualquer metal em contato com o corpo (bijouterias, joias, cinto ou óculos); com os braços

separados do corpo num ângulo aproximado de 30°, e as pernas separadas entre si num ângulo de mais ou menos de 40°.

4.8 Avaliação do metabolismo glicídico

A glicemia de jejum foi determinada pelo método da glicose oxidase, por técnica automatizada, sendo considerados valores de normalidade em jejum: 70 – 105 mg/dL. A insulina plasmática foi mensurada por radioimunoensaio usando o *Kit* comercial *HI-14K Human Insulin Specific*, (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA). Valores de normalidade em jejum: 2,6-24,9 µU/mL.

O índice de resistência à insulina foi obtido utilizando-se a fórmula do *Homeostatic Model Assessment* (HOMA-IR), na qual a resistência é determinada pelo produto da insulinemia de jejum (µU/mL) e da glicemia de jejum (mmol/L) dividido por 22,5. Este índice apresenta alta correlação com o “*clamping*” euglicêmico hiperinsulinêmico (Mathews et al., 1985; Avignon et al., 1999).

4.9 Avaliação do metabolismo lipídico

O colesterol total, HDL-C e os TG foram dosados por técnica automatizada. O LDL-C foi estimado usando-se a fórmula de Friedewald, quando os valores dos TG séricos forem inferiores a 400 mg/dL: $LDL-C = \text{Colesterol total} - (\text{HDL-colesterol} + \text{triglicerídeos}/5)$ (Friedewald et al., 1972). Foram considerados como valores de normalidade em jejum: colesterol total < 200mg/dL; HDL-C > 60 mg/dL, LDL-C < 130 mg/dL e TG < 150 mg/dL (SBC, 2013).

4.10 Avaliação do metabolismo do cálcio

Os níveis séricos de cálcio foram determinados por complexometria automatizada. O cálcio sérico ionizado foi determinado a partir da seguinte fórmula (Miller, 1999):

$$\text{Cálcio ionizado} = \frac{(6 \times \text{cálcio total (mg/dL)} - (\text{proteínas totais (g/dL)} / 3))}{\text{Proteínas totais (g/dL)} + 6}$$

A concentração sérica de proteínas totais foi determinada por método colorimétrico, sendo utilizada no cálculo do cálcio sérico ionizado (Miller, 1999).

Para avaliar o estado de vitamina D, os níveis séricos basais (V0) de 25(OH)D foram determinados através do método de *Electro-chemiluminescence immunoassay* (ECLIA) utilizando o equipamento Cobas^R e 411 (Roche, Basileia, Suíça). Foi utilizada a seguinte classificação para o estado de vitamina D: deficiência de vitamina D - níveis séricos de 25(OH)D < 20 ng/mL; insuficiência - valores entre 20 – 29 ng/mL, adequado - valores ≥ 30 ng/mL (Holick et al., 2011).

Para avaliar o parâmetro PTH (molécula intacta), os níveis séricos de PTH foram determinados através do método ECLIA utilizando o equipamento de imunoensaio Elecsys e Cobas^R e (Roche, Basileia, Suíça); valores de normalidade em jejum: 15 – 65 pg/mL.

4.11 Avaliação do biomarcador inflamatório

A atividade inflamatória foi avaliada por meio dos níveis circulantes de PCR-us. A determinação da concentração sérica da PCR-us foi realizada por método de turbidimetria, utilizando o *Kit C-reactive protein* ELISA (Helica Biosystems Inc, Fullerton, CA, USA), e o aparelho Analisador Automático A15 (Helica Biosystems Inc, Fullerton, CA, USA). Valor de referência em jejum adotado: 19 - 49 anos < 0,33 mg/dL.

4.12 Avaliação da reatividade microvascular cutânea

A reatividade microvascular cutânea foi avaliada por meio da técnica de *Laser Speckle Contrast Imaging* (fluxometria laser *speckle*), que permite a avaliação não invasiva em tempo real de uma ampla área de tecido, com resolução espacial muito boa e excelente reprodutibilidade (Roustit et al., 2010; Hellman et al., 2015). O equipamento utilizado foi o PeriCam PSI-NR (Perimed AB, Järfälla, Suécia) com comprimento de onda de 780 nm, tendo sido avaliadas as variações de fluxo microvascular (dependente e independente do endotélio) através da hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO).

A avaliação da microcirculação foi realizada após um período de repouso de 20 minutos na posição supina em ambiente com temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$). Durante o teste de HRPO, a oclusão arterial foi realizada por meio da insuflação do manguito 50 mmHg acima da PA sistólica por 3 minutos. O fluxo sanguíneo cutâneo foi avaliado no antebraço antes da oclusão arterial (período basal) e após a rápida deflação do manguito. As imagens foram analisadas usando o *software* do fabricante (PIMSoft, Perimed, Järfälla, Sweden). As medidas do fluxo microvascular cutâneo foram expressão em unidades arbitrárias de perfusão (UAP), sendo divididas pela PA média para gerar dados de condutância vascular cutânea (CVC), expressa como UAP/mmHg.

Os parâmetros utilizados para quantificar a resposta do fluxo após a oclusão arterial foram: (1) pico da hiperemia: valor máximo da CVC, (2) amplitude da resposta a hiperemia expressa como CVC no pico menos a CVC no período basal e (3) a área sob a curva (AUC) pós-oclusão.

4.13 Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca

A PA e a frequência cardíaca (FC) foram mensuradas através da fotopletismografia digital (Finometer Pro, Finapres Medical System, Amsterdam, Holanda) (Langewouters et al., 1998). Após a calibração *Physiocal* RTF, os dados foram registrados continuamente durante 15 minutos antes (descontando os 10 primeiros minutos para determinação da PA e FC de repouso) e durante 120 minutos após a intervenção nutricional.

Na pletismografia digital, os registros de PA são obtidos a partir de um manguito digital colocado na falange medial do dedo médio da mão esquerda das voluntárias. O manguito digital consiste em um pletismógrafo equipado com um emissor e receptor de luz infravermelha. O pletismógrafo aplica uma pressão constante no dedo, permitindo perceber as alterações da pressão a partir da modificação do volume arterial provocado pelo fluxo sanguíneo na artéria digital. A frequência cardíaca é registrada a partir da variação da absorção espectral da luz pelas células sanguíneas em função do ritmo do pulso. O manguito digital será calibrado automaticamente a cada 70 pulsos para assegurar a manutenção das condições fisiológicas da artéria digital (*Physiocal*). Um sensor hidrostático de nível permite a correção dos registros de pressão digital, reconstruindo os valores de pressão obtidos na artéria digital para o nível braquial através da técnica *return-to-flow* (RTF-CAL) (Bos et al., 1996).

4.14 Avaliação do estilo de vida

As pacientes do estudo foram caracterizadas em relação ao seu estilo de vida, sendo considerada a ingestão de álcool e prática de atividade física como variáveis categóricas. Foi considerada resposta positiva para ingestão de álcool quando a paciente referiu consumir qualquer quantidade de álcool pelo menos uma vez por semana. Em relação à atividade física, foram consideradas praticantes aquelas que desempenhavam alguma atividade no mínimo três vezes por semana, com pelo menos 40 minutos em cada vez, incluindo atividades leves como caminhadas.

4.15 Avaliação do consumo alimentar habitual

A avaliação do consumo alimentar habitual de cálcio (nos últimos 6 meses) foi realizada na V0 através do questionário de frequência de consumo alimentar semi-quantitativo (Anexo 2). Este questionário, com 80 itens e porções usuais, foi desenvolvido para a

população brasileira com base em alimentos de consumo habitual e foi validado contra métodos mais acurados (Sichieri & Everhearth, 1998).

Foram utilizados o software SAS[®] e a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO; UNICAMP, 2011) para análise do questionário de frequência de consumo alimentar semi-quantitativo.

4.16 Análise estatística dos dados e cálculo do tamanho amostral

Foram utilizadas para a descrição das variáveis contínuas, as médias aritméticas e seus respectivos erros padrões. A apresentação das variáveis categóricas foi realizada através do número absoluto e frequência relativa. As variáveis que não apresentaram distribuição normal, cuja verificação foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk, foram transformadas em logaritmo.

A área sob a curva (AUC) das variáveis metabólicas e da PA foi calculada considerando-se todos os tempos em que essas variáveis foram avaliadas. Posteriormente, a área incremental sob a curva (iAUC) foi calculada como a AUC menos o valor da variável no estado de jejum. Os dados antropométricos avaliados nas visitas V1 e V2 e as iAUC de todas as variáveis foram comparados através do teste t.

As comparações intra e inter-refeições das variáveis bioquímicas, da reatividade microvascular cutânea e da PA foram realizadas através da análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Os efeitos da RRCS foram considerados significativamente diferentes do efeitos da RPC com base no valor de p para a interação refeição x tempo no teste ANOVA para medidas repetidas. O nível de significância estatística adotado foi $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada com o *software* STATA versão 12.

Não foi possível determinar o tamanho da amostra desejado para alcançar modificações significativas nas diferentes variáveis avaliados no estudo, devido a ausência de estudos prévios com intervenção similar.

5 RESULTADOS

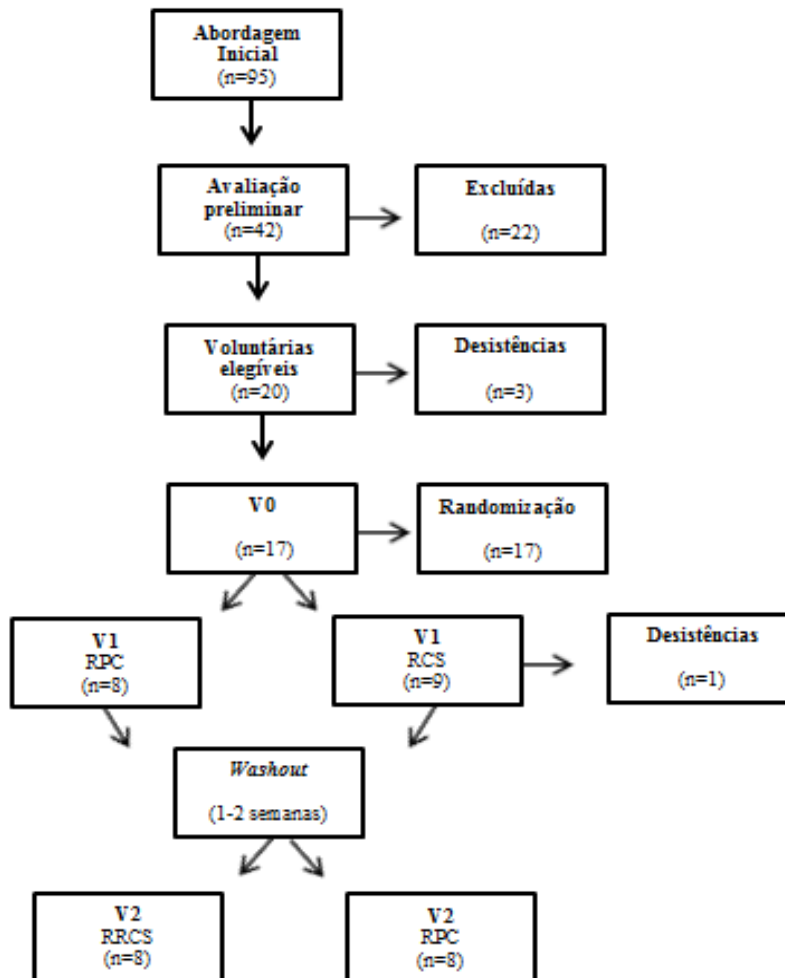
No período entre janeiro de 2014 e julho de 2015, 95 mulheres foram abordadas e convidadas a participar do estudo e 42 se interessaram em participar. Dentre estas, 22 não preencheram os critérios de inclusão: alteração recente de peso ou IMC < 30 ou ≥ 40 kg/m² (n=7), hipertensão arterial (n=4), uso de medicações (n=4), dislipidemia com necessidade de uso de tratamento medicamentoso (n=3), tabagismo (n=2), menopausa (n=1) e hipotireoidismo (n=1).

Todas as 20 voluntárias que preencheram os critérios de elegibilidade foram agendadas para a visita de seleção (V0) no Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental (CLINEX). Dessas 20 voluntárias, 3 não compareceram a V0 alegando falta de interesse e/ou disponibilidade de tempo. As 17 voluntárias que participaram da V0 foram randomizadas e incluídas no estudo. Após o início do estudo apenas 1 voluntária desistiu do estudo tendo comparecido somente a V1 (Figura 2).

5.1 Características das participantes do estudo

As características principais das participantes do estudo estão apresentadas na tabela 2. A média de idade foi de 34,31 anos e apenas 1 voluntária era praticante de atividade física, correspondendo a 6% da amostra total. O nível de escolaridade da maioria das participantes era o ensino médio completo (63%). A avaliação antropométrica revelou que a média do IMC encontrava-se dentro da classificação de obesidade grau I e a média da circunferência de cintura na classificação de obesidade abdominal. A ingestão habitual de cálcio foi inferior a 800 mg/dia. O valor médio da concentração sérica da 25(OH)D foi de 30,86 ng/mL caracterizando suficiência de vitamina D e nenhuma paciente apresentou deficiência desta vitamina. O perfil metabólico avaliado após 12 h de jejum revelou que as participantes do estudo apresentavam valores médios de glicose, colesterol total, HDL-C, LDL-C e TG dentro da faixa de normalidade.

Figura 2: Representação esquemática do fluxo de pacientes



Legenda: V = visita

Tabela 2 - Características das participantes do estudo, incluindo dados nutricionais e laboratoriais avaliados na visita de seleção

Características	Grupo total
	(n=16)
Idade (anos)	34,31 ± 2,07
Cor da pele	
Branca (n;%)	7 (44%)
Estilo de vida	
Etilismo (n; %)	5 (31%)
Atividade física (n; %)	1 (6%)
Nível de escolaridade	
Fundamental incompleto (n; %)	1 (6%)
Fundamental completo (n; %)	1 (6%)
Médio incompleto (n; %)	0 (0%)
Médio completo (n; %)	10 (63%)
Superior incompleto (n; %)	3 (19%)
Superior completo (n; %)	1 (6%)
Avaliação Nutricional	
Índice de massa corporal (kg/m ²)	34,16 ± 0,92
Circunferência da cintura (cm)	101,72 ± 2,48
Circunferência do quadril (cm)	117,03 ± 2,11
Circunferência do pescoço (cm)	36,33 ± 0,61
Razão cintura quadril	0,87 ± 0,02
Razão cintura altura	0,63 ± 0,01
Gordura corporal (%)	40,01 ± 0,70
Ingestão de cálcio (mg/dia)	646,66 ± 81,31
Avaliação Laboratorial	
25(OH)D (ng/ml)	30,86 ± 3,11
Hemoglobina (mg/dL)	12,01 ± 0,23
Hematócrito (%)	37,04 ± 0,64
Leucócitos (mg/dia)	5706,25 ± 367,70
Glicose (mg/dL)	88,29 ± 1,90
Insulina (μU/mL)	25,01 ± 2,74
HOMA-IR	5,79 ± 0,59
Ureia (mg/dL)	23,88 ± 1,45
Creatinina (mg/dL)	0,83 ± 0,04
Ácido úrico (mg/dL)	4,69 ± 0,33
Colesterol total (mg/dL)	166,88 ± 8,51
HDL-colesterol (mg/dL)	54,19 ± 3,33
LDL-colesterol (mg/dL)	94,31 ± 7,37
Triglicérides (mg/dL)	92,63 ± 10,08
Proteínas totais (g/dL)	7,18 ± 0,10
Albumina (g/dL)	4,29 ± 0,05
TGO (U/L)	15,00 ± 0,90
TGP (U/L)	15,25 ± 1,78
GGT (U/L)	26,71 ± 3,32
Fosfatase alcalina (U/L)	63,20 ± 4,69
Sódio (mEq/L)	139,80 ± 1,39
Potássio (mEq/L)	4,18 ± 0,09
Avaliação da Pressão Arterial e frequência cardíaca	
Pressão arterial sistólica (mmHg)	123,13 ± 3,40
Pressão arterial diastólica (mmHg)	77,69 ± 2,92
Frequência cardíaca (bpm)	71,25 ± 2,38

Legenda: 25(OH)D = 25 hidroxivitamina D, HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade; TGO = transaminase glutâmica oxalacética; TGP = transaminase glutâmica pirúvica; GGT = Gama glutamil transpeptidase.

Nota: Variáveis contínuas expressas como média ± erro padrão da média; variáveis categóricas expressas como valor absoluto (%).

5.2 Avaliação antropométrica

Não foram observadas diferenças significativas nos valores das variáveis antropométricas avaliadas no dia da ingestão da RPC e no dia da RRCS, indicando que as participantes do estudo não apresentaram modificações significativas nesses parâmetros ao longo do estudo (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros antropométricos das participantes do estudo no dia da ingestão da refeição pobre em cálcio (RPC) e no dia da refeição rica em cálcio suplementar (RRCS)

Variáveis	RPC (n=16)	RRCS (n=16)	p
Peso corporal (Kg)	88,89 ± 3,23	88,89 ± 3,30	1,00
Índice de massa corporal (kg/m ²)	34,08 ± 0,87	34,18 ± 0,95	0,94
Circunferência da cintura (cm)	102,26 ± 2,60	101,64 ± 2,50	0,87
Circunferência do quadril (cm)	118,77 ± 2,27	118,56 ± 2,41	0,95
Circunferência do pescoço (cm)	36,34 ± 0,61	36,26 ± 0,59	0,92
Razão cintura quadril	0,86 ± 0,02	0,86 ± 0,02	0,89
Razão cintura altura	0,63 ± 0,01	0,63 ± 0,01	0,87

Legenda: Os valores são expressos como média ± erro padrão da média
Valor p= RPC vs. RRCS

5.3 Metabolismo glicídico

Os valores médios da glicemia e da insulinemia antes e aos 120 e 240 minutos após a ingestão da RPC e da RRCS encontram-se na tabela 4. A glicemia não apresentou modificações significativas após a ingestão das 2 refeições. Já a insulina apresentou elevação significativa após as 2 refeições, atingindo o pico no minuto 120 em ambas as refeições.

A análise comparativa das refeições revelou não haver diferenças significativas entre as mesmas em relação as modificações no período pós-prandial (efeito refeição x tempo) tanto na glicemia quanto na insulinemia (Figura 3). A área incremental sob a curva da glicemia e da insulinemia também foram semelhantes nas 2 refeições (Figura 3).

Tabela 4 - Valores médios da glicemia e da insulinemia nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.

	Tempo (minutos)			Δ	p**
	0	120	240		
Glicose (mg/dL)					
RPC (n=16)	94,38 \pm 2,77	96,75 \pm 5,02	91,31 \pm 3,42	-3,06 \pm 2,98	0,53
RRCS (n=16)	95,88 \pm 2,69	99,19 \pm 5,52	90,25 \pm 2,46	-5,62 \pm 1,69	0,15
p*	0,70	0,75	0,80		
Insulina (μU/mL)					
RPC (n=16)	26,30 \pm 2,87	72,81 \pm 15,23	40,27 \pm 11,11	13,97 \pm 9,77	0,002
RRCS (n=16)	23,73 \pm 2,64	93,64 \pm 20,56	30,56 \pm 3,64	6,84 \pm 1,84	<0,0001
p*	0,51	0,42	0,41		

Legenda : RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar;

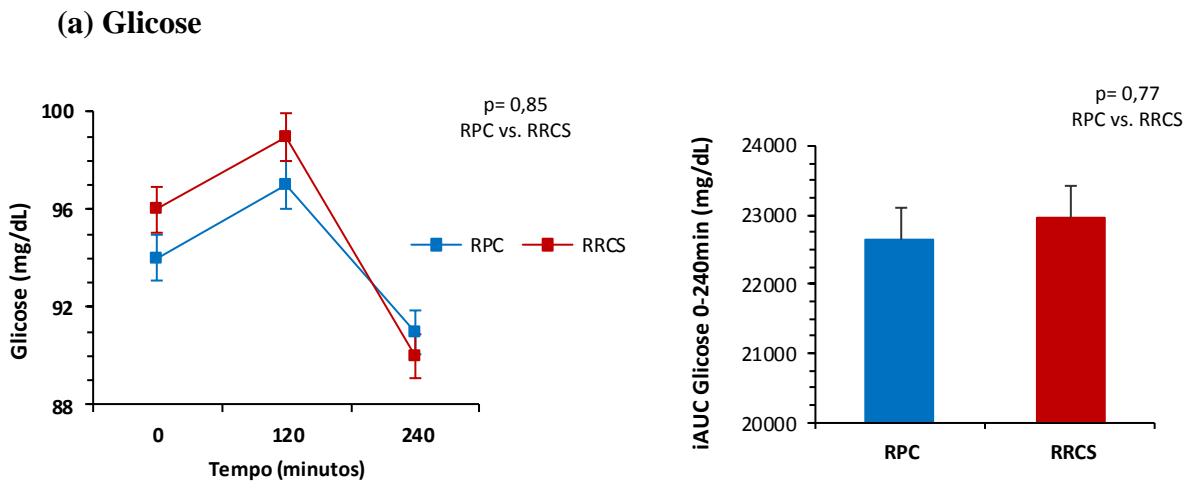
Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0)

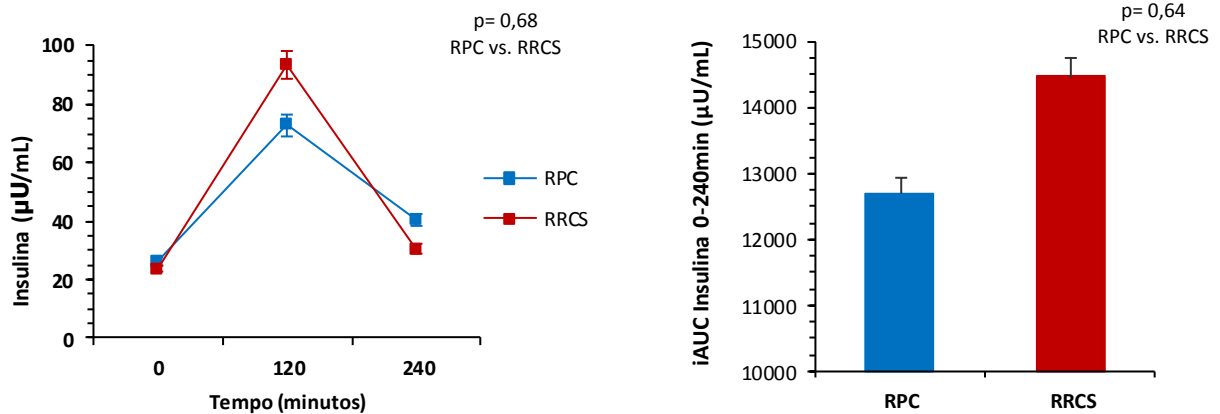
Valor p* para comparação entre RPC e RRCS nos diferentes tempos do estudo

Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

Nota: Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média

Figura 3 – Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva das variáveis do metabolismo glicídico, de acordo com a refeição teste



(b) Insulina

Legenda: RPC = Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; iAUC = área incremental sob a curva

5.4 Metabolismo lipídico

Apesar da concentração sérica de colesterol ter aumentado após a ingestão das 2 refeições, este aumento alcançou significância estatística apenas após a RPC, enquanto o LDL-C-c apresentou redução significativa apenas após a RRCS. Os TG aumentaram de forma significativa após as 2 refeições, atingindo o pico no minuto 120 (Tabela 5).

A comparação entre RPC e RRCS, considerando os diferentes tempos do estudo, indicou não haver diferenças significativas em nenhuma das variáveis do metabolismo lipídico (Figura 4).

Tabela 5 - Valores médios dos parâmetros do metabolismo lipídico nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste

	Tempo (minutos)			Δ	p**
	0	120	240		
Colesterol total (mg/dL)					
RPC (n=16)	168,44 ± 6,69	175,94 ± 7,65	181,06 ± 8,59	7,75 ± 2,21	0,004
RRCS (n=16)	174,75 ± 8,09	178,38 ± 8,38	181,06 ± 8,59	6,31 ± 2,73	0,07
p*	0,55	0,83	0,67		
HDL-C (mg/dL)					
RPC (n=16)	56,68 ± 4,02	56,56 ± 4,60	55,16 ± 4,41	-1,52 ± 1,16	0,32
RRCS (n=16)	58,12 ± 4,71	56,97 ± 4,84	56,94 ± 4,48	-1,18 ± 1,46	0,58
p*	0,82	0,95	0,78		
LDL-C (mg/dL)					
RPC (n=16)	93,23 ± 5,88	89,00 ± 6,50	92,28 ± 5,25	-0,95 ± 1,95	0,21
RRCS (n=16)	98,29 ± 6,55	90,53 ± 6,17	96,27 ± 5,88	-2,03 ± 2,32	0,01
p*	0,57	0,87	0,62		
Triglicerídeos (mg/dL)					
RPC (n=16)	92,88 ± 11,88	151,94 ± 16,56	148,63 ± 19,77	55,75 ± 1,47	<0,0001
RRCS (n=16)	91,88 ± 11,88	154,31 ± 19,00	139,56 ± 18,20	47,69 ± 10,93	<0,0001
p*	0,95	0,93	0,74		

Legenda: RPC = Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; HDL-C = colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C = colesterol da lipoproteína de baixa densidade

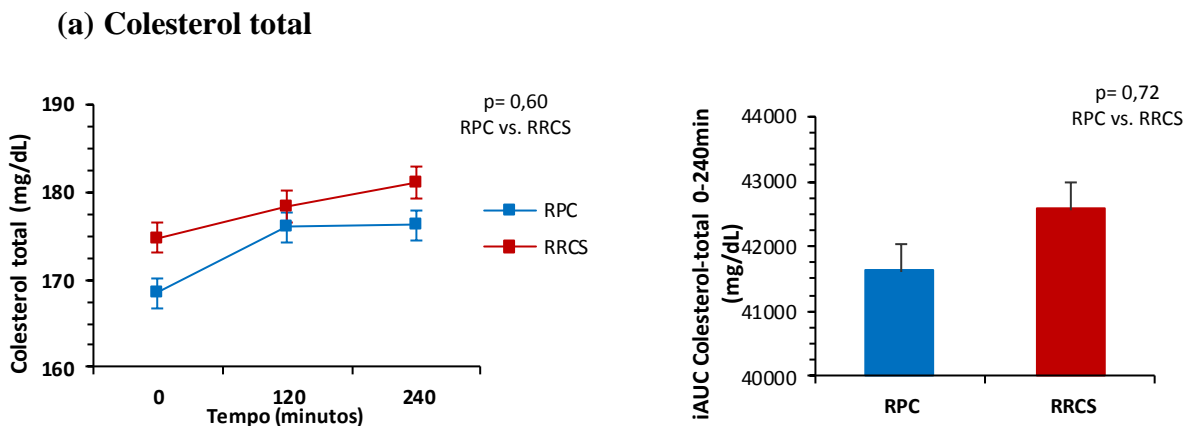
Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0)

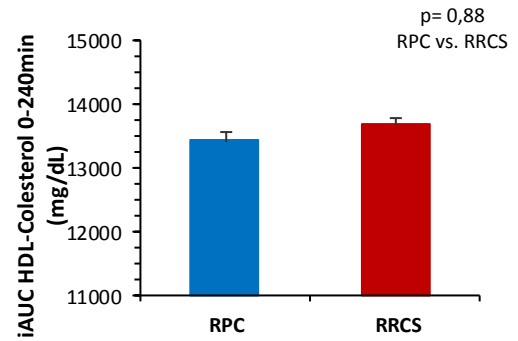
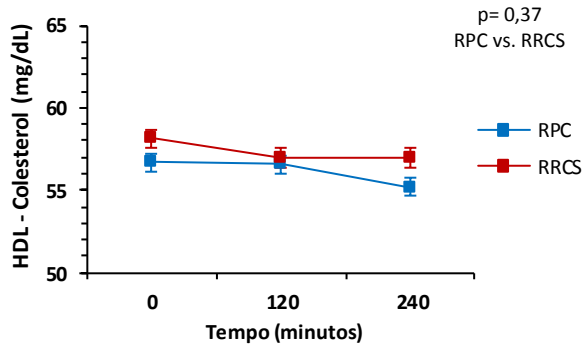
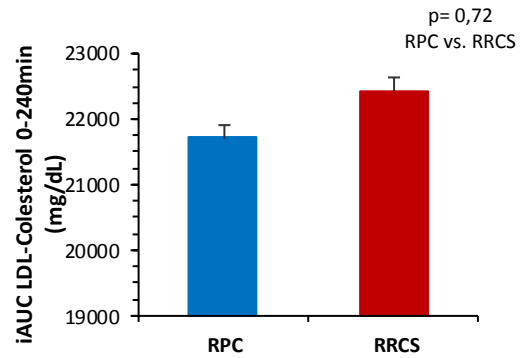
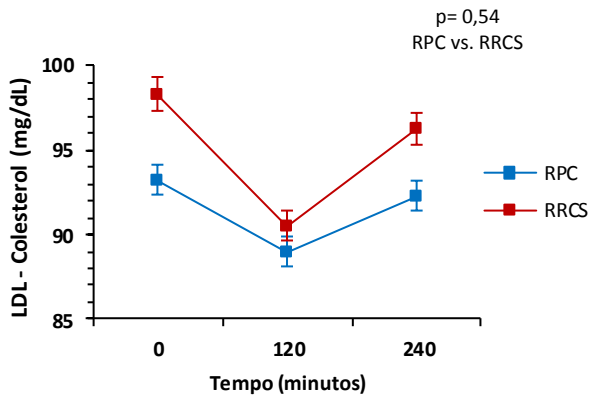
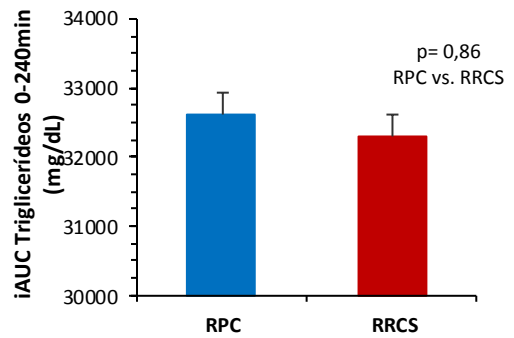
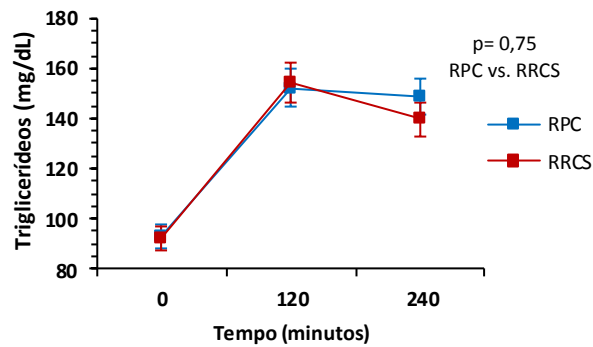
Valor p* para comparação entre RPC e RRCS nos diferentes tempos do estudo

Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

Nota: Os valores são expressos como média ± erro padrão da média

Figura 4 – Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva das variáveis do metabolismo lipídico, de acordo com a refeição teste.



(b) HDL - Colesterol**(c) LDL - Colesterol****(d) Triglicerídeos**

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL = lipoproteína de baixa densidade; iAUC = área incremental sob a curva

5.5 Metabolismo do cálcio

Após a RRCS foi observado aumento significativo na concentração sérica de cálcio total e de cálcio ionizado, enquanto não foram observadas modificações significativas nessas variáveis após a RPC. As modificações na concentração sérica de PTH foram significativas após as 2 refeições (Tabela 6).

A comparação entre as refeições indicou que as modificações no cálcio total e no cálcio ionizado no período pós-prandial foram significativamente maiores na RRCS em comparação com a RPC (efeito refeição x tempo) (Figura 5). Os valores de cálcio total e de cálcio ionizado no minuto 240 também foram significativamente mais elevados na RRCS (Tabela 6). Em relação ao PTH a queda nos seus níveis séricos no pós-prandial foi significativamente maior nas participantes da RRCS (efeito refeição x tempo) (Figura 5) e no minuto 240 a concentração de PTH foi significativamente maior após a RRCS do que após a RPC (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores médios das variáveis relacionadas com o metabolismo do cálcio nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste

	Tempo (minutos)			Δ	p**
	0	120	240		
Cálcio total (mg/dL)					
RPC (n=16)	8,88 \pm 0,13	9,03 \pm 0,18	8,86 \pm 0,15	-0,03 \pm 0,09	0,24
RRCS (n=16)	8,97 \pm 0,15	9,17 \pm 0,17	9,52 \pm 0,19	0,55 \pm 0,14	0,003
p*	0,65	0,56	0,01		
Cálcio ionizado (mg/dL)					
RPC (n=16)	3,99 \pm 0,06	4,00 \pm 0,09	3,90 \pm 0,07	-0,09 \pm 0,04	0,16
RRCS (n=16)	4,01 \pm 0,07	4,09 \pm 0,10	4,20 \pm 0,09	0,19 \pm 0,07	0,04
p*	0,88	0,54	0,01		
PTH (pg/mL)					
RPC (n=16)	42,91 \pm 6,31	33,64 \pm 2,52	45,72 \pm 4,47	2,81 \pm 2,75	0,0005
RRCS (n=16)	41,37 \pm 3,61	26,88 \pm 2,86	32,21 \pm 4,10	-9,16 \pm 4,24	0,0009
p*	0,79	0,09	0,03		

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; PTH = hormônio da paratireoide.

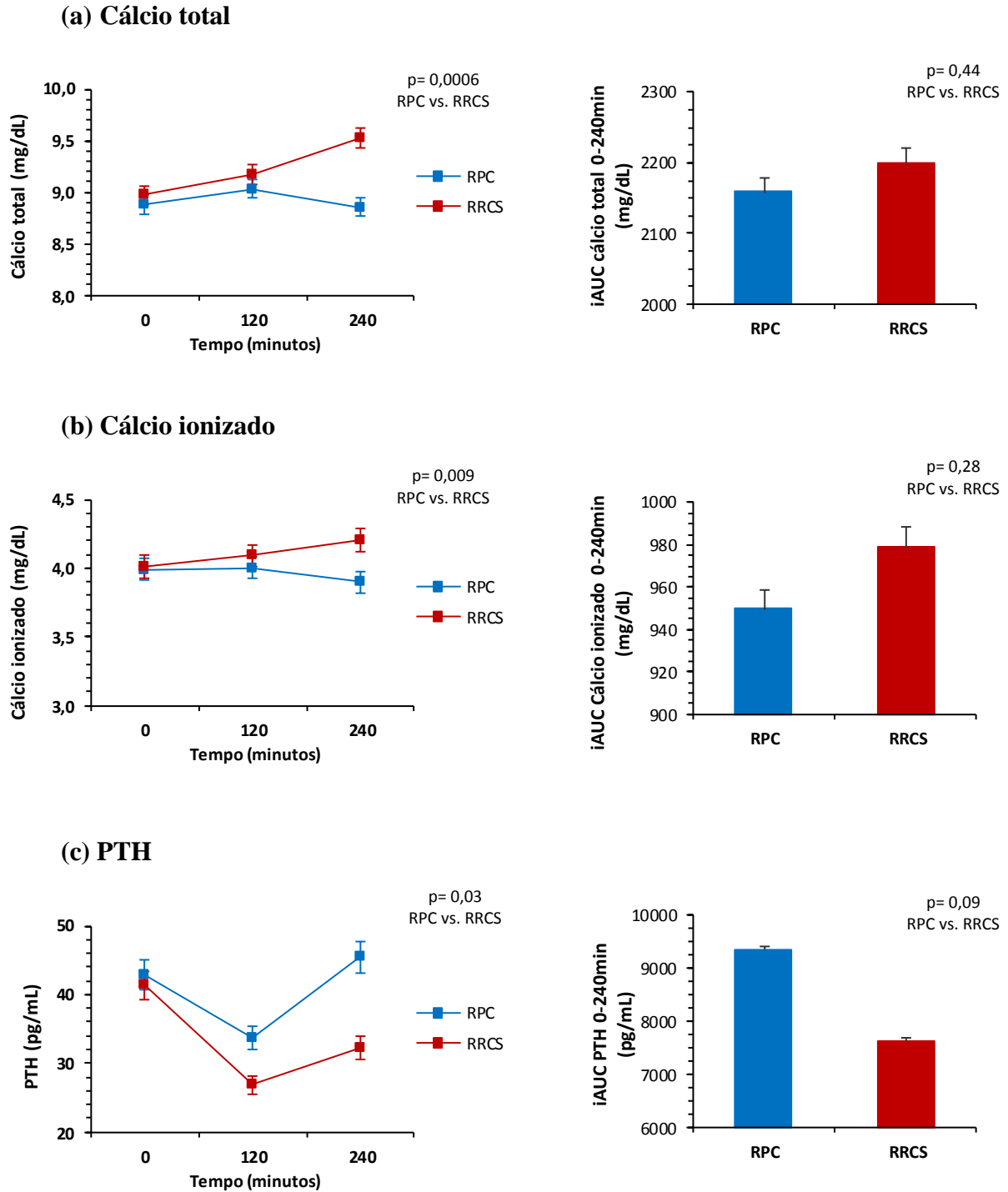
Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0)

Valor p* para comparação entre RPC e RRCS nos diferentes tempos do estudo

Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

Nota: Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média

Figura 5 – Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva das variáveis do metabolismo do cálcio, de acordo com a refeição teste



Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; iAUC = área incremental sob a curva

5.6 Biomarcador inflamatório

A concentração sérica de PCR-us não apresentou modificações significativas após nenhuma das refeições (Tabela 7) e não foram observadas diferenças entre as refeições em relação a esta variável (Figura 6).

Tabela 7 - Valores médios dos níveis séricos de proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.

	Tempo (minutos)			Δ	P**
	0	120	240		
PCR-us (mg/dL)					
RPC (n=16)	0,32 \pm 0,04	0,32 \pm 0,05	0,32 \pm 0,04	-0,004 \pm 0,01	0,76
RRCS (n=16)	0,32 \pm 0,04	0,31 \pm 0,04	0,31 \pm 0,04	-0,008 \pm 0,01	0,48
p*	0,95	0,86	0,89		

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar.

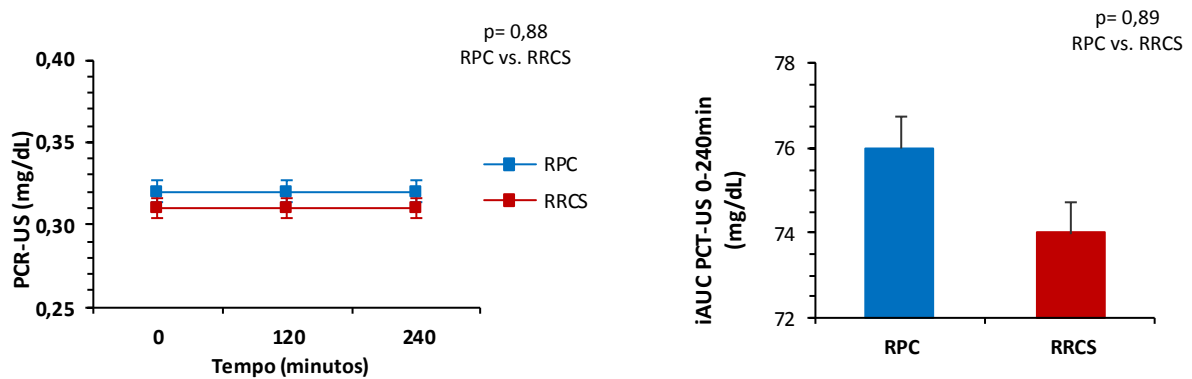
Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0),

Valor p* para comparação entre RPC e RRCS nos diferentes tempos do estudo

Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

Nota: Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média

Figura 6 – Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva da proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) de acordo com a refeição teste



Legenda: RPC = Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; iAUC = área incremental sob a curva

5.7 Reatividade microvascular cutânea

Foi observada redução significativa do pico da CVC após a ingestão das 2 refeições. Entretanto a amplitude da CVC e a área sob a curva pós-oclusão apresentaram redução significativa apenas após a RPC (Tabela 8).

Comparando-se as 2 refeições não foram observadas diferenças significativas em relação a nenhuma das variáveis relacionadas com a reatividade microvascular cutânea.

Tabela 8 - Valores médios das variáveis relacionadas a reatividade microvascular cutânea nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste

	Tempo (minutos)		Δ	p**
	0	120		
Pico CVC (UAP/mmHg)				
RPC (n=16)	0,87 \pm 0,06	0,74 \pm 0,06	-0,13 \pm 0,03	0,0007
RRCS (n=16)	0,91 \pm 0,07	0,76 \pm 0,03	-0,15 \pm 0,07	0,04
p*	0,66	0,76		
Amplitude CVC (UAP/mmHg)				
RPC (n=16)	0,65 \pm 0,04	0,53 \pm 0,04	-0,11 \pm 0,02	0,0001
RRCS (n=16)	0,66 \pm 0,05	0,54 \pm 0,03	-0,12 \pm 0,06	0,06
p*	0,90	0,94		
AUC pós oclusão (UAP/segundo)				
RPC (n=16)	2630,85 \pm 215,99	2357,83 \pm 219,63	-273,03 \pm 97,72	0,01
RRCS (n=16)	2848,01 \pm 257,48	2751,83 \pm 240,19	-96,18 \pm 254,20	0,71
p*	0,52	0,24		

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; CVC = condutância vascular cutânea; UAP = unidade arbitrária de perfusão, AUC = área sob a curva

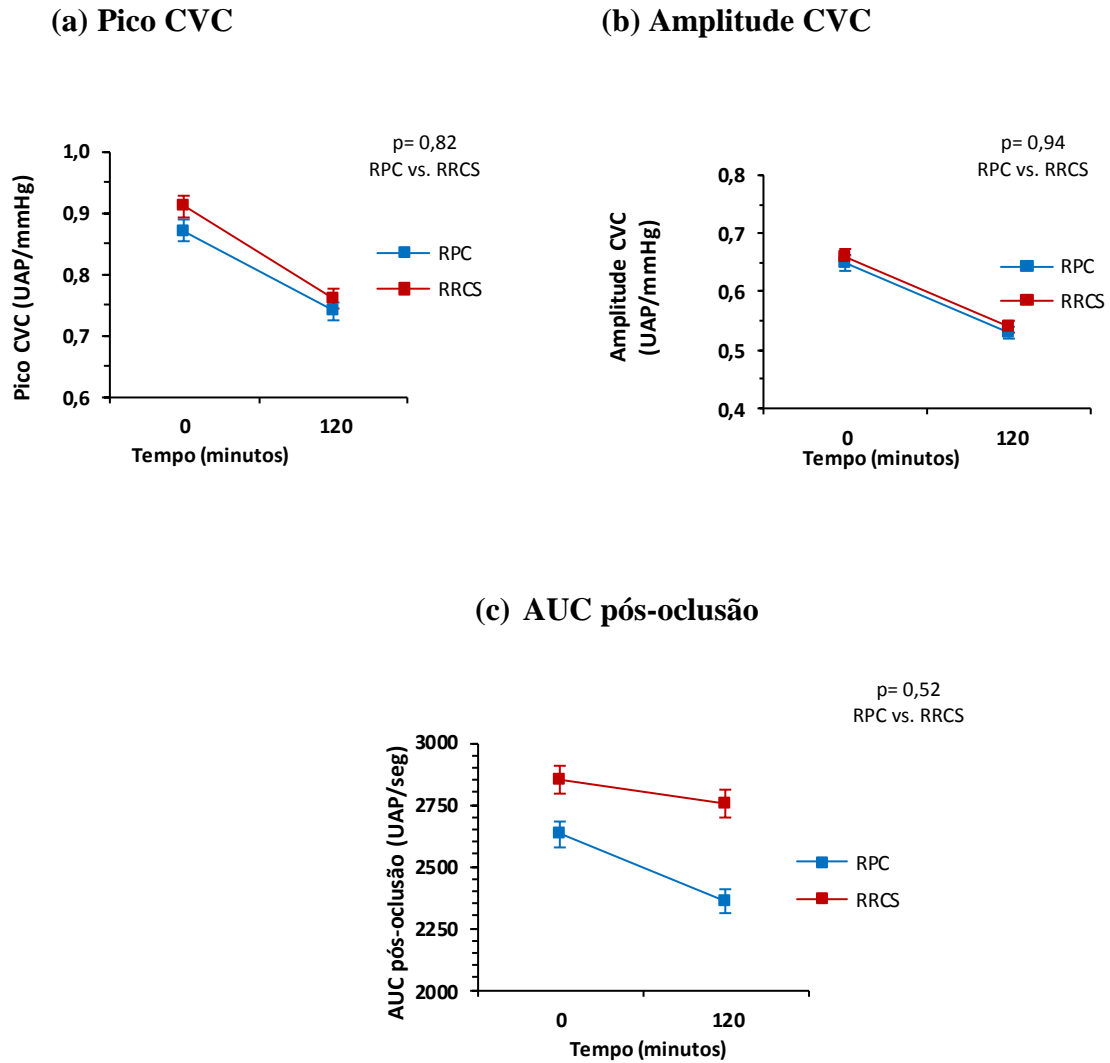
Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0),

Valor p* para comparação entre RPC e RRCS nos diferentes tempos do estudo

Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

Nota: Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média

Figura 7 – Valores médios das variáveis da reatividade microvascular cutânea no pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste



Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; CVC = condutância vascular cutânea; UAP = unidade arbitrária de perfusão, AUC = área sob a curva

5.8 Pressão arterial e frequência cardíaca

Após a ingestão tanto da RPC quanto da RRCS foi observada elevação da PA. Houve elevação significativa da PA sistólica, diastólica e média após a RPC, enquanto após a RRCS houve elevação significativa apenas da PA sistólica e média (Tabela 9).

Através da comparação entre as refeições, não foram encontradas diferenças significativas entre as mesmas (Figura 8).

Tabela 9 - Valores médios no pré e pós-prandial da pressão arterial e da frequência cardíaca de acordo com a refeição teste

	Tempo (minutos)													p**
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	
PAS (mmHg)														
RPC	125 ± 2,6	133 ± 2,6	133 ± 2,8	133 ± 2,8	131 ± 2,9	132 ± 2,9	132 ± 2,9	132 ± 3,0	131 ± 3,0	131 ± 2,8	130 ± 2,9	130 ± 3,0	131 ± 3,0	0,0007
RRCS	125 ± 2,6	132 ± 2,7	130 ± 2,6	131 ± 2,5	132 ± 2,7	132 ± 2,9	132 ± 2,3	130 ± 2,0	128 ± 2,4	128 ± 3,1	128 ± 2,9	128 ± 2,7	128 ± 3,3	0,0004
p*	0,96	0,67	0,53	0,65	0,81	0,96	0,97	0,74	0,51	0,41	0,66	0,56	0,58	
PAD (mmHg)														
RPC	75 ± 1,6	80 ± 1,7	77 ± 1,5	77 ± 1,4	76 ± 1,4	77 ± 1,4	78 ± 1,6	78 ± 1,6	78 ± 1,8	80 ± 1,7	79 ± 2,1	79 ± 2,1	80 ± 2,2	0,0004
RRCS	74 ± 2,0	79 ± 2,0	76 ± 2,1	76 ± 2,2	78 ± 2,2	77 ± 2,2	78 ± 1,6	78 ± 1,5	77 ± 2,0	77 ± 2,1	77 ± 2,0	77 ± 1,6	78 ± 2,0	0,09
p*	0,72	0,76	0,74	0,94	0,65	0,88	0,83	0,87	0,54	0,30	0,49	0,41	0,45	
PAM (mmHg)														
RPC	96 ± 1,8	103 ± 1,9	100 ± 1,6	99 ± 1,7	99 ± 1,7	99 ± 1,7	99 ± 1,9	99 ± 2,0	99 ± 2,1	101 ± 2,0	100 ± 2,4	100 ± 2,4	101 ± 2,4	0,01
RRCS	96 ± 2,0	101 ± 1,9	99 ± 2,1	99 ± 2,2	100 ± 2,4	100 ± 2,4	100 ± 1,8	99 ± 1,5	97 ± 2,0	97 ± 2,3	98 ± 2,1	98 ± 2,1	99 ± 2,5	0,04
p*	0,85	0,66	0,69	0,84	0,60	0,82	0,74	0,88	0,49	0,31	0,54	0,46	0,53	
FC (bpm)														
RPC	66 ± 1,9	69 ± 1,9	72 ± 2,0	73 ± 1,9	73 ± 2,1	73 ± 2,0	73 ± 1,6	73 ± 1,9	74 ± 2,0	75 ± 1,3	74 ± 2,0	74 ± 2,2	74 ± 2,3	<0,001
RRCS	66 ± 2,2	69 ± 1,9	73 ± 2,0	74 ± 2,1	75 ± 2,1	74 ± 2,2	76 ± 2,0	74 ± 2,0	75 ± 2,1	74 ± 2,0	74 ± 2,2	72 ± 2,3	74 ± 2,5	<0,001
p*	0,84	0,98	0,79	0,68	0,66	0,75	0,39	0,84	0,94	0,50	0,90	0,65	0,98	

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica; PAM = Pressão arterial média; FC = Frequência cardíaca.

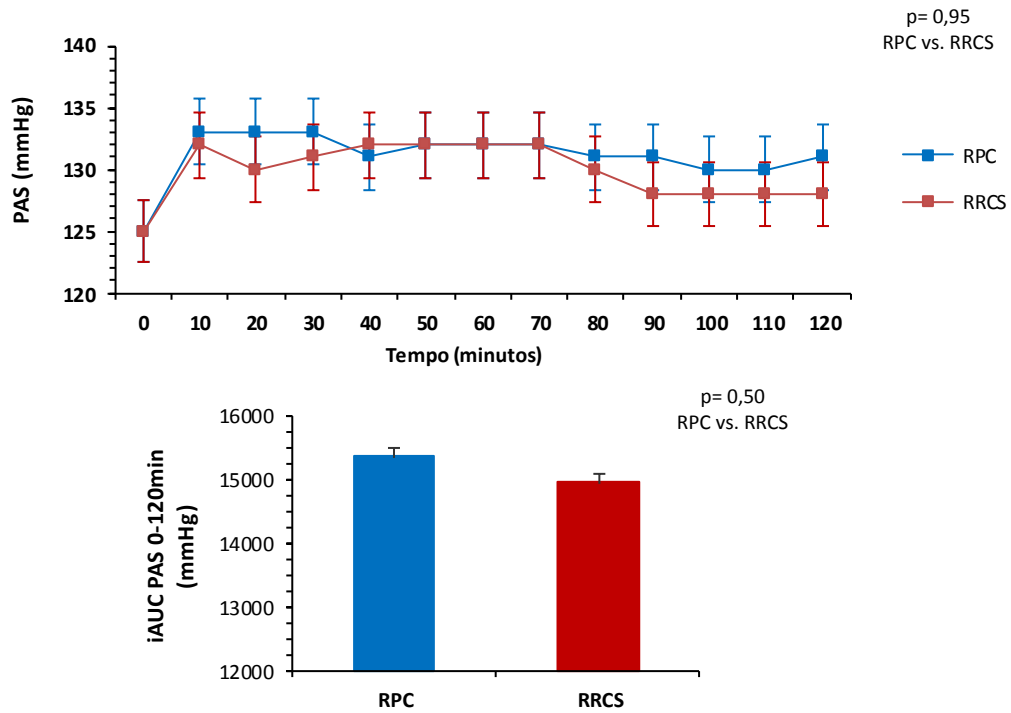
Valor p* para comparação entre RPC e RRCS nos diferentes tempos do estudo

Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

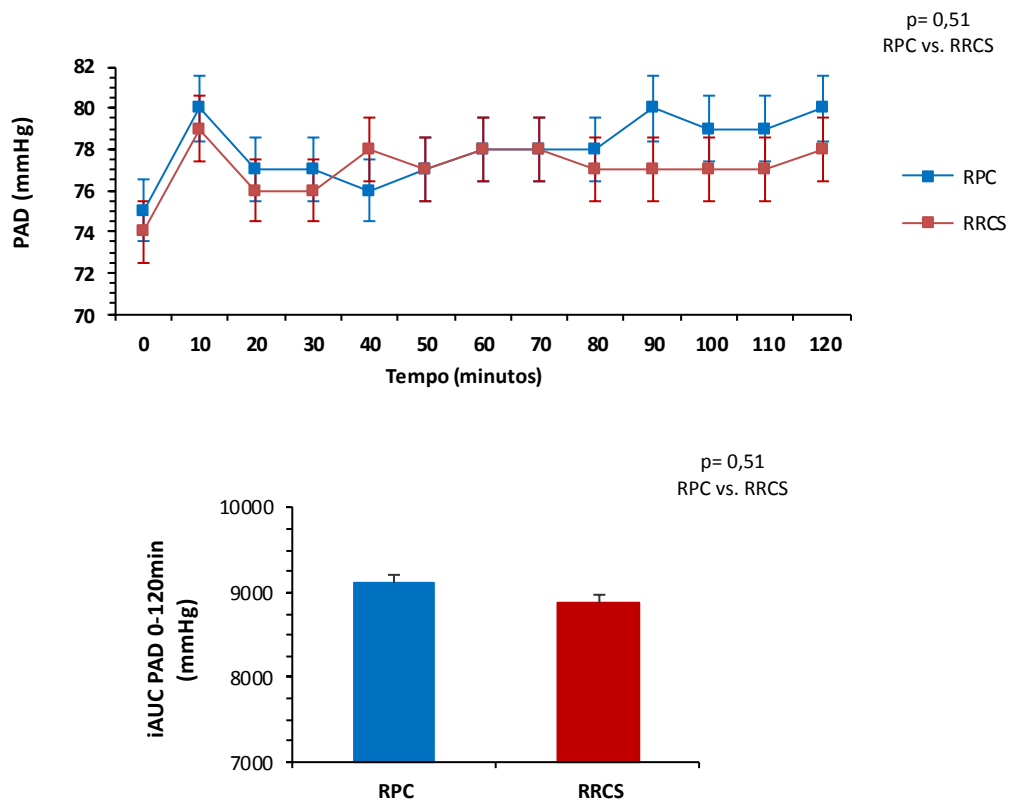
Nota: Os valores são expressos como média ± erro padrão da média

Figura 8 – Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva da pressão arterial e da frequência cardíaca de acordo com a refeição teste

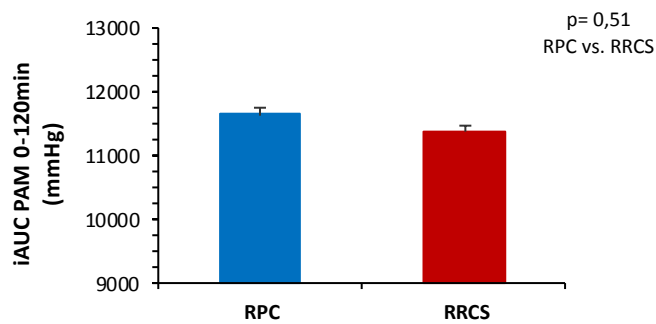
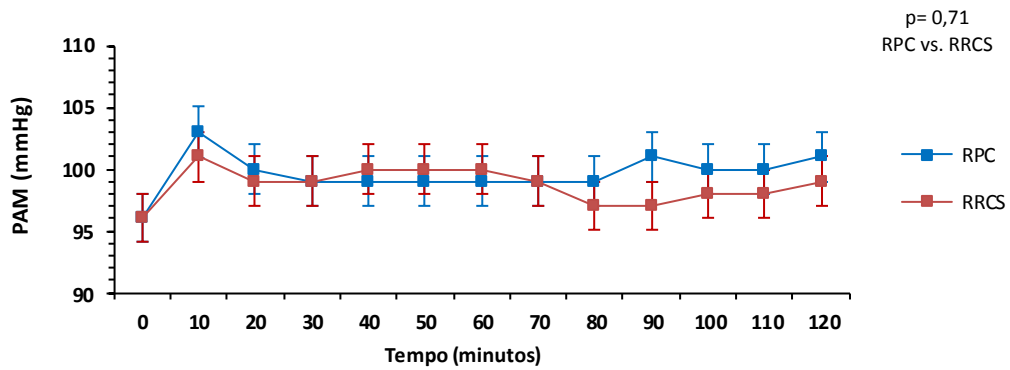
(a) Pressão arterial sistólica (PAS)



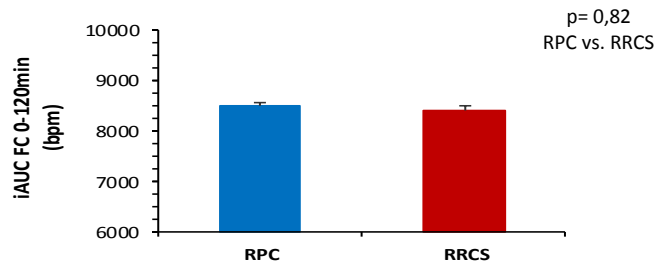
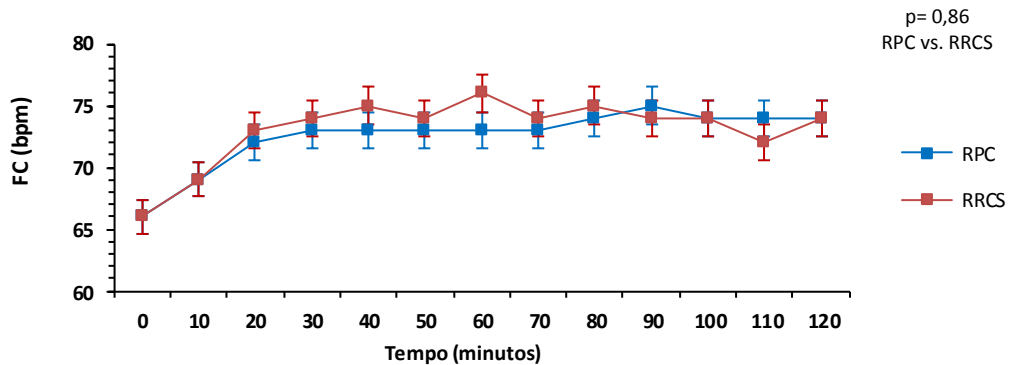
(b) Pressão arterial diastólica (PAD)



(c) Pressão arterial média (PAM)



(d) Frequência cardíaca (FC)



Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCS = Refeição rica em cálcio suplementar; PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica; PAM = Pressão arterial média; FC = Frequência cardíaca; iAUC = área incremental sob a curva

6 DISCUSSÃO

Os principais achados do estudo foram: após a ingestão das 2 refeições não houve modificação significativa da glicemia, porém a insulinemia aumentou significativamente. A elevação do colesterol total foi significativa somente após a RPC, os níveis de LDL-C decresceram apenas após a RRCS e os TG aumentaram após as 2 refeições. Houve aumento significativo no cálcio sérico total e ionizado somente após a RRCS e os níveis de PTH diminuíram após as 2 refeições. Apesar do pico da CVC ter apresentado redução significativa após as 2 refeições, a amplitude da CVC e a AUC pós-oclusão diminuíram significativamente somente após a RPC. Após a RPC houve elevação significativa da PA sistólica, diastólica e média, enquanto após a RRCS houve elevação significativa da PA sistólica e média. A análise comparativa das 2 refeições revelou que a elevação no cálcio sérico e a redução no PTH foram significativamente maiores após a RRCS do que após RPC, não havendo diferenças entre as 2 refeições em relação as demais variáveis.

6.1 Metabolismo glicídico

O carboidrato é o principal componente da dieta que interfere na glicemia (SBD, 2009; Blaak et al., 2012). No presente estudo, as refeições continham 73 g de carboidratos, representando 41% do VET. Este teor de carboidratos é muito semelhante ao utilizado no TOTG (75g) (ADA, 2015), porém o tipo de carboidrato é diferente. Enquanto no TOTG utiliza-se apenas carboidrato simples, no presente estudo foram utilizados carboidratos complexos associados a carboidratos simples. Outra diferença em relação ao TOTG é a presença de proteínas e lipídeos juntamente com os carboidratos nas refeições teste.

Em condições normais o aumento da glicemia é limitado pela ação da insulina, que é o principal hormônio hipoglicemiante do organismo humano (Gilon et al., 2014). A secreção de insulina é um processo dependente de cálcio, podendo ser influenciada de forma adversa através de alterações no fluxo de Ca^{2+} nas células β pancreáticas (Pittas et al., 2007b; Gilon et al., 2014). Pittas et al. (2007b) sugerem que uma ingestão inadequada de cálcio pode alterar o

balanço intra e extracelular de cálcio dessas células, podendo interferir na secreção de insulina, especialmente frente a uma sobrecarga de glicose.

Além de um potencial efeito sobre a secreção de insulina, existem evidências de que o cálcio suplementar pode melhorar a sensibilidade à insulina e de que este efeito seja mediado por alterações na concentração intracelular de cálcio $[Ca]_i$ (Sánchez et al., 1997; Pikilidou et al., 2009). Dietas com baixo teor de cálcio levam a redução na concentração sérica de cálcio, o que constitui um estímulo para a liberação de PTH, favorecendo a formação do metabólito ativo da vitamina D, a $1,25(OH)_2D$ (Teegarden, 2005). Existem evidências de que o PTH e principalmente a $1,25(OH)_2D$ podem interferir no fluxo de cálcio em diferentes tipos celulares podendo, por exemplo, elevar a $[Ca^{+2}]_i$ nas células alvo da insulina como os adipócitos e células musculares (Zemel et al., 2000; Zemel, 2004).

Segundo Pittas et al. (2007b) mudanças na $[Ca]_i$ em tecidos alvo de insulina podem contribuir para resistência periférica à insulina devido a prejuízos na transdução do sinal de insulina, levando à atividade reduzida do GLUT 4. Alguns estudos observaram relação entre elevação na $[Ca]_i$ e a resistência à insulina (Draznin et al., 1987; Draznin et al., 1988; Sela et al., 2002; Tsuda et al., 2000). Ainda nas décadas de 80 e 90, Draznin et al. (1987) demonstraram que a concentração aumentada de cálcio intracelular podia comprometer o transporte de glicose mediado pela insulina, sugerindo que níveis ótimos de cálcio intracelular livre são necessários para máxima ação da insulina na célula. Este efeito não parece refletir translocação prejudicada do GLUT 4 para a superfície da membrana plasmática, mas sim uma falha na ação da insulina de ativar a fosfatase que desfosforila o GLUT 4 (Reusch et al., 1991; Begum et al., 1993; Zemel, 1995). Desta forma, pode-se inferir que a elevação na $[Ca]_i$ decorrente de uma baixa ingestão de cálcio possa prejudicar a sensibilidade à insulina.

Em um estudo placebo controlado, realizado com hipertensos estágio 1 não tratados, a ingestão de 1.500 mg/dia de cálcio suplementar durante 8 semanas reduziu a $[Ca]_i$ e afetou positivamente o metabolismo da glicose, aumentando a sensibilidade à insulina e reduzindo a insulina plasmática em jejum (Sánchez et al., 1997). Pikilidou et al. (2009) investigaram os efeitos da suplementação de cálcio (1.500 mg de cálcio elementar/dia) durante 8 semanas em indivíduos com diabetes tipo 2 e hipertensos. Houve melhora significativa da sensibilidade à insulina avaliada através do *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico. Os autores sugerem que esta melhora possa ter sido medida por modificações na $[Ca]_i$, pois a suplementação de cálcio levou a redução significativa da $[Ca]_i$ e a análise de regressão simples indicou que as

modificações na [Ca]_i determinaram de forma significativa as modificações na sensibilidade à insulina ($\beta = -0,36$; $p < 0,05$).

A glicemia e a insulinemia pós-prandiais no presente estudo foram similares na RRCS e na RPC. Este achado é semelhante ao observado em estudos que avaliaram o efeito agudo do cálcio suplementar sobre o metabolismo pós-prandial (Cummings et al., 2006; Lorenzen et al., 2007; Trautvetter & Jahreis, 2014). Nesses estudos prévios foram incluídos participantes que não apresentavam obesidade, o que pode ter contribuído para uma menor resistência à insulina, tornando mais difícil a observação de um possível efeito benéfico do cálcio. No presente estudo foram incluídos apenas indivíduos obesos (segundo o IMC) e que também apresentavam obesidade abdominal segundo a CC (todas apresentavam $CC > 80$ cm). Além disto, o valor médio dos níveis de insulina em jejum das participantes do estudo na V0 foi igual a $25,01 \pm 2,74$ $\mu\text{U/mL}$, indicando ligeira hiperinsulinemia de jejum (valor de referência adotado: 2,6-24,9 $\mu\text{U/mL}$). Foi observado valor médio do HOMA-IR de $5,79 \pm 0,59$, sendo indicativo da presença resistência insulínica ($\text{HOMA-IR} > 4,65$) (SBD, 2015). Apenas 4 participantes apresentavam $\text{HOMA-IR} < 4,65$. A CP é uma medida alternativa que está associada à adiposidade visceral e ao IMC (Preis et al., 2010) e também tem sido associada à resistência à insulina (Wang et al., 2015). Foi proposto por Stabe et al. (2013) um ponto de corte para a CP ($> 36,1$ cm), em mulheres, que está associado a uma maior probabilidade de resistência à insulina. No presente estudo a média da CP foi igual a $36,33 \pm 0,61$ cm, sendo mais um indicador da relação entre adiposidade e resistência à insulina.

Apesar dos estudos com suplementação aguda de cálcio não terem observados efeitos significativos sobre a glicemia e a insulinemia no período pós-prandial, recentemente, foi observado em um estudo cruzado duplo-cego que a ingestão aguda de cálcio suplementar aumentou a concentração plasmática do peptídeo semelhante ao glucagon 1 (Trautvetter & Jahreis, 2014). Este achado sugere que não se deve descartar um possível efeito agudo do cálcio sobre o metabolismo glicídico, indicando a necessidade de novos estudos avaliando outras variáveis em indivíduos com resistência à insulina e até mesmo com diabetes tipo 2.

Além da presença de resistência à insulina, o teor e o tipo de carboidrato utilizados nas refeições teste, também são importantes para induzir maior resposta da glicemia e insulinemia e, portanto podendo potencializar o possível efeito hipoglicemiante do cálcio. Por exemplo, Adamska et al. (2015) conduziram um estudo cruzado no qual indivíduos eutróficos e obesos receberam 2 refeições com diferentes teores de carboidratos: teor moderado (45% de carboidratos e 25% de lipídeos) e teor elevado (89% de carboidratos e 0% de lipídeos).

Observou-se que a resposta glicêmica ao longo do tempo e os valores de AUC foram significativamente maiores após a refeição com alto teor de carboidratos em comparação a refeição com teor moderado, tanto nos obesos quanto nos eutróficos. Entretanto, os níveis basais, resposta insulínica e os valores de AUC foram significativamente maiores nos indivíduos obesos, após as duas refeições, em comparação aos indivíduos eutróficos (Adamska et al., 2015).

6.2 Metabolismo lipídico

A adiposidade corporal está associada a uma lipemia pós-prandial exacerbada, por estar associada à resistência à insulina (Paglialunga & Cianflone, 2007). A insulina exerce um papel fundamental no metabolismo da lipemia pós-prandial, pois suprime a lipólise do tecido adiposo e a produção hepática de VLDL. No entanto, quando há resistência à insulina, a produção de VLDL pelo fígado aumenta, juntamente com a redução da atividade da LPL, resultando em hipertrigliceridemia no período pós-prandial (Tushuizen et al., 2005). Apesar de todas as participantes serem obesas e da trigliceridemia ter elevado de forma significativa após as 2 refeições, os TG não ultrapassaram os níveis considerados desejáveis (TG pós-prandiais < 220 mg/dL) conforme proposto por Kolovou et al. (2011).

Segundo Primeau et al. (2011), as alterações metabólicas relacionadas a obesidade podem variar entre os indivíduos. Alguns fatores estão relacionados ao desenvolvimento de tal fenótipo, tais como: diferenças nos locais de acúmulo de gordura visceral, peso ao nascimento, tamanho do adipócito e marcadores de expressão gênica da codificação de diferenciação celular adiposa. Perez – Martinez et al. (2014), conduziram um estudo para avaliar as respostas após uma dieta hiperlipídica, de acordo com o fenótipo e nível de adiposidade em 1.002 indivíduos que foram distribuídos da seguinte maneira : (1) eutróficos, sem alterações metabólicas; (2) eutróficos, com alterações metabólicas; (3) sobrepeso, sem alterações metabólicas; (4) sobrepeso, com alterações metabólicas; (5) obesos, sem alterações metabólicas; (6) obesos, com alterações metabólicas. Foi observado que os indivíduos sem alterações metabólicas (avaliadas em jejum) apresentaram níveis pós-prandiais de TG e TRLs significativamente inferiores aos indivíduos com alterações metabólicas, independentemente do excesso de peso (Perez – Martinez et al., 2014).

Em relação às características nutricionais das refeições teste do estudo, destaca-se o teor de AG saturados (21,9g/27,6% do VET) e teor moderado de sacarose (36g/20,7% do VET). O tipo de AG na refeição parece influenciar na lipemia pós-prandial: os AG saturados tem um impacto maior em comparação aos AG monoinsaturados e polinsaturados (Jackson et al. 2002a; Jackson et al. 2002b; Jackson et al., 2005). A manteiga e o creme de leite foram as principais fontes de AG saturados, sendo o ácido palmítico presente em maior proporção (TACO, 2011). O tipo de AG saturado também parece causar alterações diferentes no metabolismo das lipoproteínas: o ácido palmítico eleva os níveis de LDL-C, ao contrário do ácido esteárico e láurico que reduzem a razão colesterol total/HDL-C (DiNicolantonio et al., 2015).

A sacarose é um tipo de carboidrato, que teve como fonte o açúcar nas refeições teste. Tem o potencial de influenciar a sensibilidade à insulina e o metabolismo lipídico (Gibson et al., 2013). A elevação da trigliceridemia pós-prandial pode ser explicada pelo aumento da produção hepática de TG levando conseqüentemente a uma redução em sua depuração (Grant et al., 1994).

Apesar de não ter sido observada diferenças significativas entre a RRCS e a PRC em relação as modificações pós-prandiais do colesterol total e do LDL-C, apenas na RPC houve aumento significativo no colesterol total e na RRCS houve redução significativa do LDL-C. Esses achados podem sugerir um efeito benéfico do cálcio suplementar por inibir a elevação do colesterol total e redução do LDL-C no período pós-prandial. Conforme citado na introdução, o único estudo que avaliou efeito do cálcio suplementar sobre lipemia pós-prandial não encontrou efeitos benéficos (Lorenzen et al., 2007).

Entretanto, estudos que avaliaram os efeitos dos suplementos de cálcio sobre o metabolismo lipídico em jejum encontraram efeitos benéficos. Denke et al. (1993) realizaram um ensaio clínico, randomizado, cruzado, com duração de 10 dias, no qual compararam os efeitos de uma dieta rica em cálcio suplementar (2200 mg/dia de cálcio citrato malato) vs. dieta com baixo teor de cálcio (410 mg), apresentando teores semelhantes de gorduras \cong 34% (AG saturados \cong 13%, colesterol \cong 240 mg), carboidratos \cong 55% e proteínas \cong 11% sobre a lipemia e excreção fecal de ácidos biliares em indivíduos do sexo masculino saudáveis (n=13) com moderada hipercolesterolemia. Foi observado que a dieta rica em cálcio suplementar aumentou a excreção dos ácidos graxos saturados de 6 para 13%, reduziu o colesterol total em 6% (5.99 vs. 5.66 mmol/L), LDL-C em 11% (4.13 vs. 3.67 mmol/L) e apo B em 7%.

Shahkhalili et al. (2001) conduziram um ensaio clínico randomizado, cruzado, para observar os efeitos de um chocolate (com alto teor de AG saturados) suplementado com 900 mg de cálcio/dia, na excreção fecal e perfil lipídico de 11 indivíduos saudáveis. Cada intervenção durou duas semanas, com o mesmo período de *washout*. A suplementação resultou em aumento da excreção fecal de gordura de 4,4 para 8,4 g/dia ($p < 0,0001$); redução de 13% da absorção da manteiga de cacau (principal constituinte do chocolate) e redução de 15% do LDL-C.

Um estudo *in vitro* conduzido por Vinarova et al. (2015), simulando as condições *in vivo* de digestão e absorção de lipídeos, observou que o cálcio afetou fortemente a bioacessibilidade do colesterol e ácidos graxos saturados, propondo ainda dois mecanismos complementares de redução do colesterol: (1) a precipitação dos AG saturados pelos íons de cálcio reduzem a solubilização das micelas, diminuindo a quantidade de colesterol bioacessível; (2) a supressão da produção hepática de colesterol devido a redução da bioacessibilidade do AG saturado (Vinarova et al., 2015).

6.3 Metabolismo do cálcio

No presente estudo houve elevação significativa nos níveis séricos de cálcio total e ionizado no período pós-prandial apenas na RRCS. O aumento tanto no cálcio sérico total quanto no ionizado foi observado aos 120 minutos e se acentuou aos 240 minutos. Na RRCS, em comparação com os valores no minuto 0, aos 120 minutos a elevação no cálcio sérico total não foi significativa ($p=0,08$ – dado não apresentado nos resultados), porém aos 240 minutos foi significativa ($p=0,001$ – dados não apresentados nos resultados). O comportamento do cálcio sérico ionizado foi semelhante, sugerindo que a elevação no cálcio sérico pode durar por 4h ou mais após o consumo de cálcio suplementar e tal fato também foi observado em outros estudos (Karp et al., 2009; Wang et al., 2014). Apesar do aumento na concentração sérica de cálcio, seus valores médios permaneceram dentro da faixa de normalidade que é de 8,6 a 10,3 mg/dL para o cálcio total.

Alguns fatores podem interferir na resposta aguda ao cálcio suplementar, como por exemplo, o tipo de sal de cálcio, a forma de apresentação (pó, comprimidos) e a forma de administração (com ou sem alimento). Todos esses fatores podem influenciar a absorção e

consequente elevação aguda dos níveis séricos de cálcio (Thomas et al., 2008; Wang et al., 2014; Bristow et al., 2015c).

Thomas et al. (2008) observaram, em mulheres na pós-menopausa, que 500 mg de citrato de cálcio produziu maior elevação nos níveis de cálcio sérico total e ionizado comparado a 1.000 mg de carbonato de cálcio. Em contrapartida, Wang et al. (2014) compararam o carbonato de cálcio em pó (1.000 mg de cálcio elementar) e o citrato de cálcio (500 mg de cálcio elementar) em comprimidos administrados junto com uma refeição leve em mulheres na pré-menopausa. Os autores observaram que o grupo que recebeu o carbonato de cálcio apresentou maior incremento nos níveis séricos de cálcio total e ionizado.

A divergência entre os resultados dos estudos citados no parágrafo anterior pode ser atribuída a fatores já citados nesta dissertação. A forma de apresentação em pó está associada com maior velocidade de absorção, o carbonato de cálcio deve ser ingerido junto com uma refeição para melhorar sua absorção e o citrato de cálcio pode ser administrado sem a ingestão concomitante de alimentos (Straub, 2007; van der Velde et al., 2014).

Visando avaliar o efeito apenas de um tipo de sal de cálcio (citrato) em apenas uma dosagem, Bristow et al. (2015c) realizaram um ensaio clínico para observar possíveis diferenças na resposta aguda do cálcio sérico total e ionizado após a ingestão de: 500 mg de citrato de cálcio em jejum, 500 mg de citrato de cálcio com suco de frutas, 500 mg de citrato de cálcio junto a uma refeição com baixo teor de cálcio e refeição com alto teor de cálcio dietético (580 mg). Após as intervenções, os níveis de cálcio total e ionizado aumentaram ao longo do tempo, entretanto foram mais elevados no grupo que consumiu o suplemento em jejum e no grupo suplemento com o suco de frutas. Durante o período analisado (tempo=6h), tanto o cálcio total quanto o ionizado elevaram-se significativamente ao longo do tempo após todas as intervenções, no entanto a refeição rica em cálcio dietético promoveu o menor incremento. Os maiores aumentos (ainda na faixa de normalidade) no cálcio sérico e ionizado foram após o suplemento junto à refeição, tais achados sugerem que ingerir um suplemento cálcio (citrato de cálcio) após uma refeição contendo proteína e gordura pareceu apenas retardar a elevação do cálcio sérico, mas não diminuí-la.

No presente estudo houve declínio significativo do PTH após as 2 refeições, apesar da grande diferença dos teores de cálcio, entretanto a queda foi significativamente maior após a RRCS. Este fato já foi observado em outros estudos nos quais o cálcio suplementar administrado de forma aguda foi capaz de suprimir os níveis séricos de PTH, de forma dose-

dependente (Sadideen & Swaminathan, 2004; Thomas et al., 2008; Karp et al., 2009; Wang et al., 2014; Kruguer et al., 2014).

O PTH é o hormônio regulador primário da fisiologia do cálcio, atuando diretamente sobre o osso, onde induz a reabsorção do cálcio e sobre o rim, onde intensifica a reabsorção do cálcio, bem como a síntese da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, que aumenta a absorção gastrointestinal de cálcio (Peacock, 2010). A supressão do PTH mediante a uma dose de cálcio é uma maneira de manter a homeostase, sendo mediada pelo receptor de detecção de cálcio na glândula paratiróide, que responde ao aumento transitório de cálcio ionizado no plasma dentro de segundos (Kruguer et al., 2014).

Um achado de certa forma não esperado no presente estudo foi a redução significativa da concentração sérica de PTH após a RPC. Algumas considerações sobre este achado podem ser feitas. Primeira, a significância estatística foi observada com a utilização do teste ANOVA para medidas repetidas que leva em consideração as medidas realizadas em todos os tempos durante o estudo e não apenas a modificação ao longo do estudo. Sendo assim, pode-se observar uma queda inicial no PTH aos 120 minutos, porém valores acima dos observados em jejum aos 240 minutos (minuto 0: 42,91pg/mL; minuto 120: 33,64 pg/mL; minuto 240: 45,72 pg/ml). Outra consideração que pode ser feita é que a RPC continha cálcio, em quantidade muito pequena, porém o mineral estava presente nesta refeição ($\pm 40\text{mg}$).

6.4 Biomarcador inflamatório

A PCR-us é uma proteína de fase aguda, produzida pelo fígado, sendo um marcador sensível e não específico de inflamação aguda, em resposta as citocinas inflamatórias, como a IL-6 e a interleucina 1 (IL-1). O grau de aumento é determinado pela gravidade da causa subjacente, atingindo o pico em 48h e possuindo meia-vida plasmática de 19 h (Pepys & Hirschfield, 2003; Dallmeier & Koenig, 2014). No presente estudo, os valores médios em jejum da PCR-us estavam dentro da faixa de normalidade (valor de referência: $<0,33 \text{ mg/dL}$) e não foram alterados no período pós-prandial.

A elevação acentuada na lipemia e na glicemia no período pós-prandial geram espécies reativas de oxigênio que desencadeiam uma cascata bioquímica levando a inflamação e outras desordens (O' Keefe et al., 2008). Em um estudo realizado com 256

indivíduos saudáveis e 274 pacientes com diabetes tipo 2, o TOTG se associou com aumento significativo de marcadores inflamatórios incluindo a PCR-us (Derosa et al., 2010). Pode-se sugerir que no presente estudo os níveis de PCR-us não se alteraram significativamente, pois não foi observada elevação significativa na glicemia.

Entretanto, apesar de no presente estudo a glicemia não ter apresentado aumento significativo, a trigliceridemia aumentou de forma significativa o que poderia ter se associado com aumento na PCR-us. Por exemplo, no estudo realizado por Derosa et al. (2009) uma sobrecarga oral de lipídios produziu aumento significativo na trigliceridemia de 70,37% e 58,33% após 6h e 9h, respectivamente, tendo sido observado aumento significativo da PCR-us nesses mesmos períodos de tempo: 90,91% e 63,64% após 6 h e 9h, respectivamente (Derosa et al., 2009). No presente estudo a elevação nos TG foi um pouco, mas não muito menor, e os valores de PCR-us praticamente não se modificaram. Na RPC os TG aumentaram 63,59% e 60,02% após 2h e 4h, respectivamente; enquanto na RRCS os TG apresentaram elevação de 67,95% e 51,89% após 2h e 4h, respectivamente. Outros fatores provavelmente podem estar associados com a ausência de elevação na PCR-us, por exemplo, no presente estudo o teor de calorias (± 700 Kcal) e lipídios ($\pm 48\%$) nas refeições teste eram bem menores do que na refeição teste do estudo de Derosa et al (2009) que continha 1.147 kcal e 68% de lipídios.

Algumas evidências sugerem que o PTH pode modular os níveis circulantes de IL-6 (Grey et al., 1996; Grey et al., 1999; Mitnick et al., 2001). Foi realizado um estudo por Grey et al. (2006) para testar a hipótese de que o cálcio suplementar poderia reduzir os níveis de PCR-us através da supressão do PTH. Entretanto, após 12 meses de suplementação diária com 1.000 mg de cálcio elementar, não foi observada alteração nos níveis de PCR-us em mulheres na pós menopausa. Por outro lado, Tabesh et al (2014b) observaram em uma amostra de 118 indivíduos diabéticos tipo 2 e com insuficiência de vitamina D, que a suplementação com 1.000 mg de carbonato de cálcio por 8 semanas reduziram os níveis de leptina e IL-6 comparados ao grupo placebo (Tabesh et al., 2014b). Portanto, os estudos avaliando os efeitos do cálcio suplementar sobre os biomarcadores inflamatórios são extremamente escassos e inconclusivos. Além disto, não existem estudos avaliando os efeitos do cálcio especificamente durante o período pós-prandial o que dificulta a comparação dos nossos achados.

6.5 Reatividade microvascular cutânea

No presente estudo a função vascular foi avaliada através da reatividade microvascular cutânea. Segundo Hellman et al (2015) a disfunção microvascular pode preceder o prejuízo na função endotelial nas grandes artérias e alguns leitos microvasculares como da retina e do rim podem estar alterados nas doenças cardiovasculares. Nos últimos anos, a microcirculação da pele tem sido considerada um leito vascular facilmente acessível e potencialmente representativo para avaliar e compreender os mecanismos da função e disfunção microvascular (Mahé et al., 2012; Hellman et al., 2015). A disfunção microvascular cutânea foi descrita em diferentes condições fisiológicas e patologias (Roustit & Cracowski, 2013). Por exemplo, a doença coronariana se correlaciona com a reatividade microvascular cutânea dependente do endotélio (IJzerman et al., 2003). A função microvascular cutânea é um marcador independente de doença cardiovascular em pacientes com diabetes tipo 2 (Yamamoto-Suganuma & Aso, 2009) ou doença renal crônica terminal (Kruger et al., 2006). Em resumo, a circulação cutânea é um leito vascular acessível no qual a disfunção se correlaciona com marcadores de doença cardiovascular (Roustit & Cracowski, 2013).

A microcirculação se refere aos vasos menores do que 150 μ m de diâmetro, incluindo arteríolas, capilares e vênulas. Os mecanismos envolvidos na regulação de fluxo sanguíneo cutâneo incluem: resposta miogênica arteriolar, vasodilatação endotélio dependente (através do óxido nítrico, prostaciclina e fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio), além de interações metabólicas e neurovasculares. Dentre estas últimas, a ativação simpática causa vasoconstricção através da liberação de norepinefrina, enquanto o sistema simpático colinérgico está envolvido na vasodilatação. Outros vasodilatadores incluem o peptídeo relacionado com o gene da calcitonina ou substância P. As variações no fluxo sanguíneo da pele resultam de interações complexas entre esses mecanismos (Charkoudian, 2010; Cracowisk et al., 2015).

A avaliação da reatividade microvascular cutânea pode ser feita através de técnicas invasivas e não invasivas. Entre as técnicas não invasivas, os sistemas de laser são os mais utilizados. O desenvolvimento recente da técnica de *laser speckle contrast imaging* (LSCI) (fluxometria laser *speckle*) para monitorização da reatividade microvascular cutânea da pele permite a sua utilização como um desfecho substituto em estudos clínicos. O LSCI permite monitorar modificações no fluxo sanguíneo cutâneo de forma não invasiva, sem contato e em

tempo real. Evidências recentes indicam que a técnica LSCI reduz drasticamente a variabilidade das medidas clínicas em comparação com a técnica de *laser doppler fluxometria* (LDF), tornando a técnica uma ferramenta interessante para facilitar estudos microvasculares na rotina clínica (Mahé et al., 2012; Hellman et al., 2015).

Diferentes testes microvasculares com o LSCI foram desenvolvidos. Os 2 principais tipos de testes são testes sem intervenção farmacológica e testes com intervenção farmacológica (Mahé et al., 2012). Dentre os testes não farmacológicos, um muito utilizado e que foi o utilizado no presente estudo é a hiperemia reativa pós-oclusão (HRPO). Este teste de reatividade envolve o aumento agudo no fluxo sanguíneo observado imediatamente após a liberação da oclusão arterial. Ele é realizado colocando um manguito na parte superior do braço e aumentando a pressão acima da pressão sistólica. O tempo de isquemia normalmente utilizado é de 3 – 5 minutos. Posteriormente, o fluxo é medido no antebraço (Hellman et al., 2015; Roustit, 2013; Crackcowisk et al., 2015). Os mecanismos propostos como responsáveis pela hiperemia cutânea pós-oclusão incluem tanto fatores dependentes quanto independentes do endotélio. Os fatores que provavelmente estão envolvidos são: os fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio que foram sugeridos como os principais contribuintes do endotélio na HRPO, mais especificamente os ácidos epoxieicosatrienoicos. O envolvimento dos nervos sensoriais através de reflexo axônico local tem sido descrito como um importante contribuinte para a HRPO (Hellman et al., 2015; Crackcowisk et al., 2015). Portanto, a HRPO não deve ser considerada como um teste de função endotelial microvascular, mas sim como uma ferramenta para detectar modificações gerais na reatividade microvascular cutânea (Roustit et al., 2010).

Após a ingestão a ingestão da RPC, no presente estudo, foi observado prejuízo significativo na reatividade microvascular cutânea avaliada através dos 3 parâmetros utilizados no estudo (pico da CVC, amplitude da CVC e AUC pós-oclusão). Após a RRCS também foi observado prejuízo na função vascular, porém só foi alcançada significância estatística no pico da CVC. Não foi possível encontrar estudos avaliando o efeito de refeições hiperlipídicas sobre a reatividade microvascular cutânea avaliada através da HRPO utilizando LSCI.

Entretanto, a hiperglicemia e a hipertrigliceridemia no período pós-prandial são fatores que podem levar a disfunção endotelial, principalmente através do aumento no estresse oxidativo (Mah et al., 2011; Lacroix et al., 2012; Mah & Bruno, 2012; Xiang et al., 2012). A coexistência dessas situações no período pós-prandial leva a um prejuízo mais pronunciado na

função endotelial (Ceriello et al., 2002; Zhang et al., 2012). Efeitos deletérios da hipertrigliceridemia pós-prandial sobre a rigidez arterial avaliada através da velocidade da onda de pulso foram observados (Lithander et al., 2013).

Através de abrangente busca bibliográfica também não foi possível identificar estudos avaliando o efeito dos suplementos de cálcio sobre a função endotelial durante o período pós-prandial. Burt et al. (2013) e Yaron et al (2014) avaliaram o efeito da administração isolada de cálcio suplementar (sem associação com refeição) e não observaram efeitos benéficos nem deletérios.

Burt et al. (2013) conduziram um ensaio clínico com 25 indivíduos adultos e idosos e avaliaram os efeitos agudos do citrato de cálcio (1.000 mg) sobre alguns parâmetros vasculares como a rigidez arterial (avaliada através da velocidade da onda de pulso) e a função endotelial (avaliada através da tonometria arterial periférica). Foi observada elevação no cálcio total e ionizado ao longo do tempo porém não houve modificação significativa na função endotelial ou velocidade da onda de pulso.

Yaron et al. (2014) realizaram um estudo cruzado, com 11 indivíduos saudáveis, no qual avaliaram os efeitos agudos do cálcio suplementar (600 mg de citrato de cálcio) e dietético (600 mg provenientes de laticínios com baixo teor de gordura) em parâmetros vasculares: rigidez arterial (velocidade da onda de pulso) e função endotelial (dilatação fluxo mediada). Duas horas após a ingestão do cálcio suplementar, foi observada elevação significativa do cálcio total e supressão do PTH. Os parâmetros vasculares avaliados não apresentaram modificações significativas após as intervenções.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os poucos estudos prévios (Burt et al., 2013; Yaron et al., 2014) que também não observaram efeitos agudos deletérios dos suplementos de cálcio sobre a função vascular.

6.6 Pressão arterial e frequência cardíaca

Os valores médios da PA sistólica, PA média e FC aumentaram de forma significativa após as 2 refeições, enquanto a PA diastólica aumentou significativamente somente após a RPC. No presente estudo, a elevação na PA e na FC foi observada nos 10 minutos iniciais do período pós-prandial e se manteve até o final dos 120 minutos.

As modificações na PA durante o período pós-prandial foram avaliadas em poucos estudos, cujos resultados são muito divergentes (Esser et al., 2013; Taylor et al., 2014), sugerindo que no período pós-prandial a PA pode sofrer a influência de inúmeros fatores como por exemplo os micro e macronutrientes presentes na refeição. Um número limitado de estudos avaliou os efeitos específicos de uma refeição hiperlipídica (como a do presente estudo), havendo relatos de aumento da PA (Esser et al., 2013; Lithander et al., 2013), semelhante ao que observamos. A sobrecarga oral ou mesmo venosa de lipídios (não associada a refeição) também foi capaz de produzir aumento significativo da PA nos estudos realizados por Gosmanov et al. (2010) e Umpierrez et al. (2009).

Esser et al. (2013) realizaram um ensaio clínico, randomizado, duplo-cego com 20 indivíduos jovens e saudáveis para comparar os efeitos agudos de uma refeição hiperlipídica/hipercalórica (954 Kcal / 6g proteínas / 95g lipídios / 22g carboidratos) vs. refeição equilibrada em macronutrientes (400 Kcal / 17g proteínas / 14,5 g lipídios / 49,5 g carboidratos) sobre a PA, que foi avaliada através do aparelho Dinamap® PRO. Houve aumento significativo da frequência cardíaca e da PA sistólica após as duas refeições, entretanto a elevação da PA sistólica foi maior em resposta a refeição hiperlipídica/hipercalórica. No entanto, não houve alteração significativa na PA diastólica.

Um mecanismo proposto para explicar a elevação da PA no pós-prandial é o aumento da atividade simpática (Jones et al., 2004; Taylor et al., 2014). Especificamente em relação a refeição hiperlipídica, acredita-se que a consequente hipertrigliceridemia e elevação na concentração de ácidos graxos livres pode aumentar o estresse oxidativo levando a disfunção endotelial e consequente elevação da PA (Lithander et al., 2013). Por outro lado, alguns componentes da dieta apresentam efeitos benéficos sobre a função endotelial, podendo auxiliar na redução da PA como os compostos antioxidantes incluindo os polifenóis presentes, por exemplo, em frutas, chá verde e chocolate amargo (Lekakis et al., 2005; Vlachopoulos et al., 2005; Alexopoulos et al., 2008). Os carboidratos apresentam um potencial para reduzir a

PA por induzirem a liberação de insulina que apresenta efeito vasodilatador (Kearney et al., 1995). Entretanto, em estudo realizado com 14 jovens eutróficos foi observada elevação da PA sistólica, PA diastólica e PA média após a ingestão de uma refeição rica em carboidratos (78% do VET) (Cao & Pilowsky, 2014). Nesse estudo, a PA também foi avaliada de forma contínua utilizando o Finometer e a PA aumentou ao longo de 120 minutos, atingindo o maior valor aos 60 minutos (Cao & Pilowsky, 2014).

Bristow et al. (2015b) realizaram o primeiro estudo randomizado, placebo controlado para avaliar o efeito agudo do cálcio suplementar sobre a PA. Uma dose de 1.000 mg de cálcio elementar foi administrada junto com água e durante a intervenção foram administrados 3 lanches com teores equilibrados de macronutrientes, sendo o primeiro logo após a ingestão do suplemento e os próximos na 4^a e 6^a h de estudo. A PA foi avaliada utilizando-se o aparelho Dinamap® automático. A PA sistólica e a PA diastólica apresentaram redução significativa em comparação com o início do estudo em todos os momentos nos quais a PA foi avaliada (2, 4, 6 e 8 h) nos 2 grupos do estudo (suplemento de cálcio e controle). A redução na PA sistólica foi menor no grupo que recebeu a suplementação (> 5 mmHg) em comparação com o grupo controle entre 2 e 6 h ($p \leq 0,02$) e na redução da PA diastólica foi menor em 2 h (diferença entre grupos=4,5 mmHg) ($p=0,004$).

Os autores do estudo citado no parágrafo anterior (Bristow et al., 2015b) atribuíram a queda da PA nos 2 grupos a variação diurna normal da pressão PA, que é caracterizada por uma ascensão matinal. Entretanto, como o estudo de Bristow foi realizado apenas com mulheres que estavam há pelo menos 5 anos na pós-menopausa, com faixa etária de 59 – 84 anos poderia se esperar uma redução na PA, pois a hipotensão pós-prandial em idosos já foi relatada em outros estudos (Lipsitz & Fullerton, 1986; Trahair et al., 2014). No presente estudo, não foi observada redução da PA, mas sim elevação e as explicações podem incluir o uso de refeição hiperlipídica e a inclusão de mulheres mais jovens na pré-menopausa. Outra diferença em relação ao nosso estudo, é que no estudo de Bristow et al. (2015b) os lanches fornecidos no momento da ingestão do suplemento de cálcio e na 4^a h do estudo continham frutas o que pode ter efeito benéfico sobre a função endotelial e consequentemente sobre a PA.

Em relação ao efeito do cálcio sobre a PA, no presente estudo não foi observado efeito significativo. Este achado também diverge do encontrado no estudo de Bristow et al. (2015b), no qual os valores de PA foram mais elevados com o uso do suplemento de cálcio em comparação com o grupo controle. Alguns fatores podem ter contribuído para esta diferença

como a dose de cálcio suplementar que foi o dobro no estudo realizado por Bristow et al. (2015) o que pode ter produzido maior elevação no cálcio sérico. Conforme já citado, a idade das participantes do presente estudo era bem menor e no presente estudo não foram incluídas mulheres em uso de drogas anti-hipertensivas como no estudo de Bristow et al. (2015b).

Nossos resultados se assemelham aos observados por Burt et al. (2013) e Yaron et al. (2014) que avaliaram os efeitos da suplementação de cálcio em jejum (sem refeição associada) sobre o cálcio sérico e a PA. Nesses estudos não foram incluídos grupos controle (refeição pobre em cálcio) o que limita a interpretação dos resultados, mas apesar do cálcio sérico ter apresentado elevação de forma significativa, os níveis de PA não se modificaram. Esses 2 estudos foram realizados com indivíduos mais jovens e com menor dose de cálcio em comparação com o estudo de Bristow et al. (2015b).

No presente estudo foi utilizado o equipamento Finometer, que fornece de forma não invasiva, contínua os valores de PA. Os dispositivos oscilométricos automáticos fornecem apenas um valor momentâneo da PA. O dispositivo é considerado sensível em pequenas alterações na função cardiovascular decorrentes de intervenções dietéticas (Schutte et al., 2003; Cao & Pilowsky, 2014).

Até o presente momento não há um consenso sobre o efeito agudo do cálcio suplementar sobre a PA. Entretanto, não se pode descartar um provável efeito devido a uma série de evidências disponíveis: (1) níveis séricos mais elevados de cálcio estão associados com valores mais altos de PA e maior prevalência de hipertensão (Jorde et al., 1999; Sabanayagam & Shankar, 2011). (2) A elevação aguda do cálcio sérico está associada com aumento da PA (Nilsson et al., 2001; Kamycheva et al., 2005). (3) A elevação aguda do cálcio inibe a liberação de renina via mecanismos extra e intracelulares (Vaidya et al., 2015). (4) Estados crônicos de elevação do cálcio ou ativação de receptores sensíveis ao cálcio estão associados com elevações variáveis na atividade plasmática de renina (Vaidya et al., 2015).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Algumas limitações do presente estudo podem ter influenciado alguns dos resultados encontrados. A principal limitação deste estudo foi a avaliação de um pequeno número de voluntárias, alguns dados podem não ter alcançado significância estatística em função deste fato.

Outro fato a ser considerado, foi o perfil metabólico (glicemia em jejum e lipidograma) apresentado pelas voluntárias que estavam dentro dos valores de normalidade. Diversos estudos avaliando o dismetabolismo pós-prandial foram realizados com indivíduos com alterações importantes nesses marcadores.

A dosagem de outros marcadores do metabolismo lipídico, estresse oxidativo e inflamação poderiam mostrar resultados significativos, entretanto não diminuindo a importância dos resultados e conclusões do estudo.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo realizado com 16 mulheres obesas sugerem que o cálcio suplementar no período pós-prandial:

- a) Aumenta os níveis séricos de cálcio total e ionizado, sem ultrapassar a faixa de normalidade;
- b) Reduz a concentração sérica de PTH;
- c) Não interfere na glicemia, na lipemia e em marcadores de inflamação;
- d) Não exerce efeitos deletérios sobre os parâmetros de reatividade microvascular cutânea;
- e) Não eleva a PA.

REFERÊNCIAS

- Abumrad NA, Davidson NO. Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev.* 2012; 92(3):1061-85.
- Adamska E, Ostrowska L, Gościk J, Waszczeniuk M, Krętowski A, Górska M. Intake of Meals Containing High Levels of Carbohydrates or High Levels of Unsaturated Fatty Acids Induces Postprandial Dysmetabolism in Young Overweight/Obese Men. *Biomed Res Int.* 2015; 2015:147196.
- Alam MU, Kirton JP, Wilkinson FL, Towers E, Sinha S, Rouhi M, et al. Calcification is associated with loss of functional calcium-sensing receptor in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res.* 2009; 81(2):260-8.
- 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(16):1640-5.
- Alexopoulos N, Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Baou K, Vasiliadou C, Pietri P, et al. The acute effect of green tea consumption on endothelial function in healthy individuals. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2008;15:300-5.
- Alipour A, Elte JW, van Zaanen HC, Rietveld AP, Cabezas MC. Postprandial inflammation and endothelial dysfunction. *Biochem Soc Trans.* 2007; 35(Pt 3):466-9.
- American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes *Diabetes Care* 2015; 38(Suppl. 1): S8–S16.
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2014; 37(1):S81 – S90.
- Arnalich F, Hernanz A, López-Maderuelo D, Peña JM, Camacho J, Madero R, et al. Enhanced acute-phase response and oxidative stress in older adults with type II diabetes. *Horm Metab Res.* 2000; 32: 407–412.
- Avignon A, Colette C, Monnier L. Assessment of insulin sensitivity from plasma insulin and glucose in the fasting or post oral glucose-load state. *Int J Obes.* 1999;23:512-7.
- Bailey RL, Dodd KW, Goldman JA, Gahche JJ, Dwyer JT, Moshfegh AJ, et al. Estimation of total usual calcium and vitamin D intakes in the United States. *J Nutr.* 2010; 140(4):817-22.
- Barboza GD, Guizzardi S, Talamoni NT. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(23):7142-54.
- Begum N, Leitner W, Reusch JE, Sussman KE, Draznin B. GLUT-4 phosphorylation and its intrinsic activity. Mechanism of Ca(2+)-induced inhibition of insulin-stimulated glucose transport. *J Biol Chem.* 1993;268(5):3352-6.
- Beto JA. The role of calcium in human aging. *Clin Nutr Res.* 2015; 4:1-8.
- Blaak EE, Antoine JM, Benton D, Björck I, Bozzetto L, Brouns F et al. Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. *Obes Rev.* 2012; 13(10):923-84.

- 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(12):3303-9.
- Bloomer RJ, Fisher-Wellman KH. Systemic oxidative stress is increased to a greater degree in young, obese women following consumption of a high fat meal. *Oxid Med Cell Longev*. 2009; 2(1):19-25.
- Bolland MJ, Avenell A, Baron JA, Grey A, MacLennan GS, Gamble GD et al. Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis. *BMJ*. 2010; 341:c3691.
- Bolland MJ, Barber PA, Doughty RN, Mason B, Horne A, Ames R et al. Vascular events in healthy older women receiving calcium supplementation: randomised controlled trial. *BMJ*. 2008; 336(7638):262-6.
- Bolland MJ, Grey A, Avenell A, Gamble GD, Reid IR. Calcium supplements with or without vitamin D and risk of cardiovascular events. *BMJ*. 2011; 342:d2040.
- Bolland MJ, Grey A. Calcium supplements associated with increased risk of cardiovascular death in men but not women. *Evid Based Nurs*. 2013; 17 (3): 90.
- Boquist S, Ruotolo G, Tang R, Bjorkegren J, Bond MG, de Faire U, et al. Alimentary lipemia, postprandial triglyceride-rich lipoproteins, and common carotid intima-media thickness in healthy, middle-aged men. *Circulation*. 1999; 100:723-8.
- Borén J, Matikainen M, Adiels M, Taskinen M. Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clinica Chimica Acta*. 2014;131-42.
- Bos WJ, van Goudoever J, van Montfrans GA, van den Meiracker AH, Wesseling, KH. Reconstruction of brachial artery pressure from noninvasive finger pressure measurements. *Circulation*. 1996;94(8):1870-5.
- Botham KM, Wheeler-Jones CPD. Postprandial lipoproteins and the molecular regulation of vascular homeostasis. *Progress in Lipid Research*. 2013; 52: 446-64.
- Bravo E, Napolitano M, Kathleen M. Botham. Postprandial Lipid Metabolism: The Missing Link Between Life-Style Habits and the Increasing Incidence of Metabolic Diseases in Western Countries? *The Open Translational Medicine Journal*. 2010; 2: 1-13.
- Bristow SM, Gamble GD, Pasch A, O'Neill WC, Stewart A, Horne AM et al. Acute and 3-month effects of calcium carbonate on the calcification propensity of serum and regulators of vascular calcification: secondary analysis of a randomized controlled trial. *Osteoporos Int*. 2015a Oct 22. [Epub ahead of print].
- Bristow SM, Gamble GD, Stewart A, Horne AM, Reid IR. Acute effects of calcium supplements on blood pressure and blood coagulation: secondary analysis of a randomised controlled trial in post-menopausal women. *Br J Nutr*. 2015b; 114(11):1868-74
- Bristow SM, Gamble GD, Stewart A, Horne L, House ME, Aati O, et al. Acute and 3-month effects of microcrystalline hydroxyapatite, calcium citrate and calcium carbonate on serum calcium and markers of bone turnover: a randomised controlled trial in postmenopausal women. *Br J Nutr*. 2014;112(10):1611-20.
- Bristow SM, Gamble GD, Stewart A, Kalluru R, Horne AM, Reid IR. Acute effects of calcium citrate with or without a meal, calcium-fortified juice and a dairy product meal on serum calcium and phosphate: a randomised cross-over trial. *Br J Nutr*. 2015c;113(10):1585-94.

- Bullo M, Garcia-Lorda P, Peinado-Onsurbe J, Hernandez M, Del Castillo D, Argiles JM, et al. TNF-alpha expression of subcutaneous adipose tissue in obese and morbid obese females: relationship to adipocyte LPL activity and leptin synthesis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26:652-8.
- Burckhardt P. Calcium revisited: part I. *Bonekey Rep*. 2013; 2:433.
- Burt MG, Mangelsdorf BL, Srivastava D, Petersons CJ. Acute effect of calcium citrate on serum calcium and cardiovascular function. *J Bone Miner Res*. 2013; 28(2):412-8.
- Cao L, Pilowsky PM. Quiet standing after carbohydrate ingestion induces sympathoexcitatory and pressor responses in young healthy males. *Auton Neurosci*. 2014;185:112-9.
- Cauley JA, Chlebowski RT, Wactawski-Wende J, Robbins JA, Rodabough RJ, Chen Z, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and health outcomes five years after active intervention ended: the Women's Health Initiative. *J Womens Health (Larchmt)*. 2013; 22(11):915-29.
- Cavalot F, Pagliarino A, Valle M, Di Martino L, Bonomo K, Massucco P, et al. Postprandial blood glucose predicts cardiovascular events and all-cause mortality in type 2 diabetes in a 14-year follow-up: lessons from the San Luigi Gonzaga Diabetes Study. *Diabetes Care*. 2011; 34(10):2237-43.
- Cavalot F, Petrelli A, Traversa M, Bonomo K, Fiora E, Conti M, Anfossi G, et al. Postprandial blood glucose is a stronger predictor of cardiovascular events than fasting blood glucose in type 2 diabetes mellitus, particularly in women: lessons from the San Luigi Gonzaga Diabetes Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:813-819.
- Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, Quagliari L, Piconi L, Bais B, et al. Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress generation: effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation*. 2002;106(10):1211-8.
- Charkoudian N. Mechanisms and modifiers of reflex induced cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2010;109(4):1221-8.
- Chen X, Tian H, Liu R. Association between fasting and postprandial triglyceride levels and carotid intima-media thickness in type 2 diabetes patients. *Chin Med J (Engl)*. 2003; 116(12):1933-5.
- Christensen R, Lorenzen JK, Svith CR, Bartels EM, Melanson EL, Saris WH et al. Effect of calcium from dairy and dietary supplements on faecal fat excretion: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev*. 2009; 10:475-86.
- Cormick G, Ciapponi A, Cafferata ML, Belizán JM. Calcium supplementation for prevention of primary hypertension. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;6:CD010037.
- Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care*. 1999; 22(2):233-40.
- Cozzolino, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. Barueri: Manole, 2005. 878p.
- Cracowski JL, Roustit M. Current methods to assess human cutaneous blood flow. An updated focus on laser based-techniques. *Microcirculation*. 2015 Nov 26. [Epub ahead of print]

Craig SR, Amin RV, Russell DW, Paradise NF. Blood cholesterol screening influence of fasting state on cholesterol results and management decisions. *J Gen Intern Med.* 2000;15:395-99.

Cronin BE, Allsopp PJ, Slevin MM, Magee PJ, Livingstone MB, Strain JJ et al. Effects of supplementation with a calcium-rich marine-derived multi-mineral supplement and short-chain fructo-oligosaccharides on serum lipids in postmenopausal women. *Br J Nutr.* 2015; 16:1-8.

Cummings NK, James AP, Soares MJ. The acute effects of different sources of dietary calcium on postprandial energy metabolism. *Br J Nutr.* 2006;96(1):138-44.

Cunha EP, Steiner ML, Strufaldi R, Fernandes C, Laurindo IMM, Pereira RMR, et al. Osteoporose: Tratamento. Projeto diretrizes. Associação Médica Brasileira, 2011. Disponível em: <http://www.projetodiretrizes.org.br/ans/diretrizes/osteoporose-tratamento.pdf>

Dallmeier D, Koenig W. Strategies for vascular disease prevention: the role of lipids and related markers including apolipoproteins, low-density lipoproteins (LDL)-particle size, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA₂) and lipoprotein(a) (Lp(a)). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014;28(3):281-94.

Dawson-Hughes B, Dallal GE, Krall EA, Sadowski L, Sahyoun N, Tannenbaum S. A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1990;323:878-83.

DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. *Arch Intern Med.* 2001;161(3):397-405.

DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. *Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe.* *Lancet.* 1999, 354:617–21.

Denke MA, Fox MM, Schulte MC. Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men. *J Nutr.* 1993;123(6):1047-53.

Derosa G, D'Angelo A, Salvadeo SA, Ferrari I, Fogari E, Gravina A, et al. Oral glucose tolerance test effects on endothelial inflammation markers in healthy subjects and diabetic patients. *Horm Metab Res.* 2010; 42 (1): 8–13.

Derosa G, Ferrari I, D'Angelo A, Salvadeo SA, Fogari E, Gravina A, et al. Oral fat load effects on inflammation and endothelial stress markers in healthy subjects. *Heart Vessels.* 2009; 24(3):204-10.

DiNicolantonio JJ, Lucan SC, O'Keefe JH. The Evidence for Saturated Fat and for Sugar Related to Coronary Heart Disease. *Prog Cardiovasc Dis.* 2015 Nov 14. [Epub ahead of print]

Ditscheid B, Keller S, Jahreis G. Cholesterol metabolism is affected by calcium phosphate supplementation in humans. *J Nutr.* 2005; 135: 1678-1682.

Draznin B, Sussman K, Kao M, Lewis D, Sherman N. The existence of an optimal range of cytosolic free calcium for insulin-stimulated glucose transport in rat adipocytes. *J Biol Chem.* 1987;262(30):14385-8.

Draznin B, Sussman KE, Eckel RH, Kao M, Yost T, Sherman NA. Possible role of cytosolic free calcium concentrations in mediating insulin resistance of obesity and hyperinsulinemia. *J Clin Invest.* 1988;82(6):1848-52.

Edwards SL. Maintaining calcium balance: physiology and implications. *Nurs Times*. 2005;101:19, 58–61.

Esposito K, Giugliano D, Nappo F, Marfella R; Campanian. Postprandial Hyperglycemia Study Group. Regression of carotid atherosclerosis by control of postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2004; 110(2):214-9.

Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*. 2002;106(16):2067-72.

Esser D, Oosterink E, Jos op 't Roodt, Henry RM, Stehouwer CD, Müller M et al. Vascular and inflammatory high fat meal responses in young healthy men; a discriminative role of IL-8 observed in a randomized trial. *PLoS One*. 2013;8(2):e53474.

Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. [Updated 2015 Jun 10]. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/> Acesso em: 1 set. 2015

Fleet JC, Schoch RD. Molecular mechanisms for regulation of intestinal calcium absorption by vitamin D and other factors. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2010; 47(4): 181–195.

Foley RN, Collins AJ, Ishani A, Kalra PA. Calcium-phosphate levels and cardiovascular disease in community-dwelling adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am Heart J*. 2008; 156:556-63.

Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Nordestgaard BG. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *JAMA*. 2008; 300(18):2142-52.

Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*. 1972; 18:499-502.

Garber AJ. Postprandial dysmetabolism and the heart. *Heart Fail Clin*. 2012; 8(4):563-73.

Gerich J. Pathogenesis and management of postprandial hyperglycemia: role of incretin-based therapies. *Int J Gen Med*. 2013; 6:877-95.

Gibson S, Gunn P, Wittekind A, Cottrell R. The effects of sucrose on metabolic health: a systematic review of human intervention studies in healthy adults. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2013;53(6):591-614.

Gilon P, Chae HY, Rutter GA, Ravier MA. Calcium signaling in pancreatic β -cells in health and in Type 2 diabetes. *Cell Calcium*. 2014; 56(5):340-61.

Gilon P, Chae HY, Rutter GA, Ravier MA. Calcium signaling in pancreatic β -cells in health and in Type 2 diabetes. *Cell Calcium*. 2014;56(5):340-61.

Gosmanov AR, Smiley DD, Robalino G, Siquiera J, Khan B, Le NA, et al. Effects of oral and intravenous fat load on blood pressure, endothelial function, sympathetic activity, and oxidative stress in obese healthy subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(6):E953-8.

Grandi NC, Brenner H, Hahmann H, Wüsten B, März W, Rothenbacher D et al. Calcium, phosphate and the risk of cardiovascular events and all-cause mortality in a population with stable coronary heart disease. *Heart*. 2012; 98(12):926-33.

- Grant AM, Avenell A, Campbell MK, McDonald AM, MacLennan GS, McPherson GC, et al. Oral vitamin D3 and calcium for secondary prevention of low-trauma fractures in elderly people (Randomised Evaluation of Calcium Or vitamin D, RECORD): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2005 May 7-13;365(9471):1621-8.
- Grant KI, Marais MP, Dhansay MA. Sucrose in a lipid-rich meal amplifies the postprandial excursion of serum and lipoprotein triglyceride and cholesterol concentrations by decreasing triglyceride clearance. *Am J Clin Nutr*. 1994;59(4):853-60.
- Grey A, Gamble G, Ames R, Horne A, Mason B, Reid IR. Calcium supplementation does not affect CRP levels in postmenopausal women--a randomized controlled trial. *Osteoporos Int*. 2006;17(8):1141-5.
- Grey A, Mitnick MA, Masiukiewicz U, Sun BH, Rudikoff S, Jilka RL, Manolagas SC et al. A role for interleukin-6 in parathyroid hormone-induced bone resorption in vivo. *Endocrinology*. 1999; 140:4683-90.
- Grey A, Mitnick MA, Shapses S, Ellison A, Gundberg C, Insogna K. Circulating levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha are elevated in primary hyperparathyroidism and correlate with markers of bone resorption-a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996; 81:3450-54.
- Griffith LE, Guyatt GH, Cook RJ, Bucher HC, Cook DJ. The influence of dietary and nondietary calcium supplementation on blood pressure: an updated metaanalysis of randomized controlled trials. *Am J Hypertens*. 1999; 12: 84-92.
- Grüdtner VS, Weingrill P, Fernandes AL. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. *Rev Bras Reumatol*. 1997; 37(3): 143-151.
- Haines CJ, Chung TK, Leung PC, Hsu SY, Leung DH. Calcium supplementation and bone mineral density in postmenopausal women using estrogen replacement therapy. *Bone*. 1995; 16(5):529-31.
- Hellmann M, Roustit M, Cracowski JL. Skin microvascular endothelial function as a biomarker in cardiovascular diseases? *Pharmacol Rep*. 2015;67(4):803-10.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911-30.
- Hopkins MH, Owen J, Ahearn T, Fedirko V, Flanders WD, Jones DP, et al. Effects of supplemental vitamin D and calcium on biomarkers of inflammation in colorectal adenoma patients: a randomized, controlled clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2011; 4:1645-54.
- Hsia J, Heiss G, Ren H, Allison M, Dolan NC, Greenland P, et al. Calcium/vitamin D supplementation and cardiovascular events. *Circulation*. 2007; 115(7):846-54.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2008-2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 20 dez. 2015.
- IJzerman RG, de Jongh RT, Beijk MA, van Weissenbruch MM, Delemarre-van de Waal HA, Serné 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(7):536-42.
- Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Editors: Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>. Acesso em: 20 dez. 2015

- Jackson KG, Poppitt SD, Minihane AM. Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: Interrelationships between dietary, physiological and genetic determinants. *Atherosclerosis*. 2012; 220(1):22-33.
- Jackson KG, Robertson MD, Fielding BA, Frayn KN, Williams CM. Measurement of apolipoprotein B-48 in the Svedberg floatation rate (Sf) 4 400, Sf 60–400 and Sf 20–60 reveal novel findings with respect to effects of dietary fatty acids on triacylglycerol-rich lipoproteins in postmenopausal women. *Clin Sci*. 2002b; 103: 227–237.
- Jackson KG, Robertson MD, Fielding BA, Frayn KN, Williams CM. Olive oil increases the number of triacylglycerol-rich chylomicron particles compared with other oils: an effect retained when a second standard meal is fed. *Am J Clin Nutr*. 2002a; 76: 942–49.
- Jackson KG, Wolstencroft EJ, Bateman PA, Yaqoob P, Williams CM. Greater enrichment of triacylglycerol-rich lipoproteins with apolipoproteins E and C-III after meals rich in saturated fatty acids than after meals rich in unsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 2005; 81:25–34.
- Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, Wallace RB, Robbins J, Lewis CE et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. *N Engl J Med*. 2006; 354:669–683.
- Jones PP, Van Pelt RE, Johnson DG, Seals DR. Role of sympathetic neural activation in age- and habitual exercise-related differences in the thermic effect of food. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(10):5138-44.
- Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serné EH, Schaper NC, 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.
- Jorde R, Sundsfjord J, Fitzgerald P, Børnaa KH. Serum calcium and cardiovascular risk factors and diseases: the Tromsø study. *Hypertension*. 1999;34(3):484-90.
- Kamycheva E, Jorde R, Haug E, Sager G, Sundsfjord J. Effects of acute hypercalcaemia on blood pressure in subjects with and without parathyroid hormone secretion. *Acta Physiologica Scand*. 2005;184(2):113-9.
- Karp HJ, Ketola ME, Lamberg-Allardt CJ. Acute effects of calcium carbonate, calcium citrate and potassium citrate on markers of calcium and bone metabolism in young women. *Br J Nutr*. 2009;102(9):1341-7.
- Karpe F, Boquist S, Tang R, Bond GM, de Faire U, Hamsten A. Remnant lipoproteins are related to intima-media thickness of the carotid artery independently of LDL cholesterol and plasma triglycerides. *J Lipid Res*. 2001; 42: 17-21.
- Karpe F, de Faire U, Mercuri M, Bond MG, Hellenius ML, Hamsten A. Magnitude of alimentary lipemia is related to intima-media thickness of the common carotid artery in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1998; 141: 307-14.
- Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, Hirai N, Miyao Y, Sakamoto T, et al. Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol*. 1999; 34(1):146-54.
- Kearney MT, Cowley AJ, Macdonald IA. The cardiovascular responses to feeding in man. *Exp Physiol*. 1995;80(5):683-700.
- Khamseh ME, Soltani K, Rafiee J, Mokhber A, Baradaran H. The Association of Carotid Intima-Media Thickness and Postprandial Dyslipidemia in Patients with Type 2 Diabetes. *Int J Endocrinol Metab* 2007; 1: 5-8.

- 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(3):258-70.
- Kolovou, G, Ooi, TC. Postprandial lipaemia and vascular disease. *Curr Opin Cardiol*. 2013; 28(4):446-51.
- Kruger A, Stewart J, Sahityani R, O'Riordan E, Thompson C, Adler S, et al. Laser Doppler flowmetry detection of endothelial dysfunction in end-stage renal disease patients: correlation with cardiovascular risk. *Kidney Int*. 2006;70(1):157-64.
- Kruger MC, von Hurst PR, Booth CL, Kuhn-Sherlock B, Todd JM, Schollum LM. Postprandial metabolic responses of serum calcium, parathyroid hormone and C-telopeptide of type I collagen to three doses of calcium delivered in milk. *J Nutr Sci*. 2014;3:e6.
- Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez J, et al. Bioelectrical impedance analysis-part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr*. 2004;23:1430-53.
- LaCroix AZ, Kotchen J, Anderson G, Brzyski R, Cauley JA, Cummings SR et al. Calcium plus vitamin D supplementation and mortality in postmenopausal women: the Women's Health Initiative calcium-vitamin D randomized controlled trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64(5):559-67.
- LaCroix S, Rosiers CD, Tardif JC, Nigam A. The role of oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction. *Nutr Res Rev*. 2012; 25(2):288-301.
- Lairon D, Lopez-Miranda J, Williams C. Methodology for studying postprandial lipid metabolism. *Eur J Clin Nutr*. 2007; 61(10):1145-61.
- Langewouters GJ, Settels JJ, Roelandt R, Wesseling KH. Why use Finapres or Portapres rather than intra-arterial or intermittent non-invasive techniques of blood pressure measurement? *Journal of medical engineering & technology*. 1998;22(1):37-43.
- Langsted A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Fasting and nonfasting lipid levels: influence of normal food intake on lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and cardiovascular risk prediction. *Circulation*. 2008; 118(20):2047-56.
- Langsted A, Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, Jensen GB, Nordestgaard BG. Nonfasting cholesterol and triglycerides and association with risk of myocardial infarction and total mortality: the Copenhagen City Heart Study with 31 years of follow-up. *J Intern Med*. 2011; 270(1):65-75.
- Larsson TE, Olauson H, Hagström E, Ingelsson E, Arnlöv J, Lind L et al. Conjoint effects of serum calcium and phosphate on risk of total, cardiovascular, and noncardiovascular mortality in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010; 30(2):333-9.
- Lau EM, Woo J, Leung PC, Swaminathan R, Leung D. The effects of calcium supplementation and exercise on bone density in elderly Chinese women. *Osteoporos Int*. 1992; 2:168-73.
- Ledoux J, Werner ME, Brayden JE, Nelson MT. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone. *Physiology (Bethesda)*. 2006; 21:69-78.
- Lekakis J, Rallidis LS, Andreadou I, Vamvakou G, Kazantzoglou G, Magiatis P, et al. Polyphenolic compounds from red grapes acutely improve endothelial function in patients with coronary heart disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2005;12:596-600.

- Leon BM, Maddox TM. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World J Diabetes*. 2015 Oct 10;6(13):1246-58.
- Levitan EB, Song Y, Ford ES, Liu S. Is nondiabetic hyperglycemia a risk factor for cardiovascular disease? A meta-analysis of prospective studies. *Arch Intern Med*. 2004; 164(19):2147-55.
- Lewis JR, Calver J, Zhu K, Flicker L, Prince RL. Calcium supplementation and the risks of atherosclerotic vascular disease in older women: results of a 5-year RCT and a 4.5-year follow-up. *J Bone Miner Res*. 2011; 26(1):35-41.
- Lewis JR, Radavelli-Bagatini S, Rejnmark L, Chen JS, Simpson JM, Lappe JM et al. The effects of calcium supplementation on verified coronary heart disease hospitalization and death in postmenopausal women: a collaborative meta-analysis of randomized controlled trials. *J Bone Miner Res*. 2015;30(1):165-75.
- Lewis JR, Zhu K, Thompson PL, Prince RL. The effects of 3 years of calcium supplementation on common carotid artery intimal medial thickness and carotid atherosclerosis in older women: an ancillary study of the CAIFOS randomized controlled trial. *J Bone Miner Res*. 2014; 29(3):534-41.
- Li K, Kaaks R, Linseisen J, Rohrmann S. Associations of dietary calcium intake and calcium supplementation with myocardial infarction and stroke risk and overall cardiovascular mortality in the Heidelberg cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study (EPIC-Heidelberg). *Heart*. 2012; 98:920-5.
- Li S, Na L, Li Y, Gong L, Yuan F, Niu Y et al. Long-term calcium supplementation may have adverse effects on serum cholesterol and carotid intima-media thickness in postmenopausal women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2013;98(5):1353-9.
- Lipsitz LA, Fullerton KJ. Postprandial blood pressure reduction in healthy elderly. *J Am Geriatr Soc*. 1986;34(4):267-70.
- Lithander FE, Herlihy LK, Walsh DM, Burke E, Crowley V, Mahmud A. Postprandial effect of dietary fat quantity and quality on arterial stiffness and wave reflection: a randomised controlled trial. *Nutr J*. 2013;12:93.
- Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*. 2007; 98(3):458-73.
- Lorenzen JK, Nielsen S, Holst JJ, Tetens I, Rehfeld JF, Astrup A. Effect of dairy calcium or supplementary calcium intake on postprandial fat metabolism, appetite, and subsequent energy intake. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85:678-87.
- Lutsey PL, Alonso A, Michos ED, Loehr LR, Astor BC, Coresh J et al. Serum magnesium, phosphorus, and calcium are associated with risk of incident heart failure: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr*. 2014; 100(3):756-64.
- Mah E, Bruno RS. Postprandial hyperglycemia on vascular endothelial function: mechanisms and consequences. *Nutr Res*. 2012; 32(10):727-40.
- Mah E, Noh SK, Ballard KD, Matos ME, Volek JS, Bruno RS. Postprandial hyperglycemia impairs vascular endothelial function in healthy men by inducing lipid peroxidation and increasing asymmetric dimethylarginine:arginine. *J Nutr*. 2011; 141(11):1961-8.

- Mahé G, Humeau-Heurtier A, Durand S, Leftheriotis G, Abraham P. Assessment of skin microvascular function and dysfunction with laser speckle contrast imaging. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5(1):155-63.
- Major GC, Alarie F, Dore J, Phouttama S, Tremblay A. Supplementation with calcium + vitamin D enhanced the beneficial effect of weight loss on plasma lipid and lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85(1): 54-59.
- Mao PJ, Zhang C, Tang L, Xian YQ, Li YS, Wang WD et al. Effect of calcium or vitamin D supplementation on vascular outcomes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol*. 2013;169(2):106-11.
- Maranhão PA, Bouskela E, Aguiar LGK. Lipemia pós-prandial e incretinas na reatividade endotelial. *Revista HUPE*. 2014;13(1):80-86.
- Mathews DR, Hosker JP, Treacher DF, Turner RC. Homeostais model assessment insulin resistance and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-9.
- Miller O. Bioquímica do sangue – substâncias não eletrolíticas. In: Miller O. Laboratório para o clínico. 1999, Ed Atheneu São Paulo 8ed Cap. 1 pp 3-32.
- Mitnick MA, Grey A, Masiukiewicz U, Bartkiewicz M, Rios-Velez L, Friedman S et al. Parathyroid hormone induces hepatic production of bioactive interleukin-6 and its soluble receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001; 280:E405–E412.
- Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Fasting compared with non-fasting lipids and apolipoproteins for predicting incident cardiovascular events. *Circulation* 2008; 118: 993-1001.
- Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting lipids and apolipoproteins for predicting incident cardiovascular events. *Circulation*. 2008; 118(10):993-1001.
- Mori Y, Itoh Y, Komiya H, Tajima N. Association between postprandial remnant-like particle triglyceride (RLP-TG) levels and carotid intima-media thickness (IMT) in Japanese patients with type 2 diabetes: assessment by meal tolerance tests (MTT). *Endocrine*. 2005; 28(2):157-63.
- Murad MH, Drake MT, Mullan RJ, Mauck KF, Stuart LM, Lane MA, et al. Clinical review. Comparative effectiveness of drug treatments to prevent fragility fractures: a systematic review and network meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97(6):1871-80.
- Nakamura K, Saito T, Kobayashi R, Oshiki R, Kitamura K, Oyama M, et al. Effect of low-dose calcium supplements on bone loss in perimenopausal and postmenopausal Asian women: a randomized controlled trial. *J Bone Miner Res* 2012; 27: 2264-70.
- Nakatsuji H, Kishida K, Kitamura T, Nakajima C, Funahashi T, Shimomura I. Dysregulation of glucose, insulin, triglyceride, blood pressure, and oxidative stress after an oral glucose tolerance test in men with abdominal obesity. *Metabolism*. 2010; 59(4):520-6.
- Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR, Pratley R, Zinman B; American Diabetes Association. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care*. 2007; 30(3):753-9.
- Nilsson IL, Rastad J, Johansson K, Lind L. Endothelial vasodilatory function and blood pressure response to local and systemic hypercalcemia. *Surgery*. 2001;130(6):986-90.

- Noda Y, Miyoshi T, Oe H, Ohno Y, Nakamura K, Toh N et al. Alogliptin ameliorates postprandial lipemia and postprandial endothelial dysfunction in non-diabetic subjects: a preliminary report. *Cardiovasc Diabetol*. 2013; 12: 8.
- Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA*. 2007; 298(3):299-308.
- Nordestgaard BG, Freiberg JJ. Clinical Relevance of Non-Fasting and Postprandial Hypertriglyceridemia and Remnant Cholesterol. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011; 9, 281-286.
- Office of the Surgeon General (US). Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. Rockville (MD): Office of the Surgeon General (US); 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45513/>
- Ohno Y, Miyoshi T, Noda Y, Oe H, Toh N, Nakamura K et al. Bezafibrate improves postprandial hypertriglyceridemia and associated endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome: a randomized crossover study. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:71.
- O'Keefe JH, Bell DS. Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 2007; 100(5):899-904.
- O'Keefe JH, Gheewala NM, O'Keefe JO. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51(3):249-55.
- Paglalunga S, Cianflone K. Regulation of postprandial lipemia: an update on current trends. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007; 32: 61-75.
- Paik JM, Curhan GC, Sun Q, Rexrode KM, Manson JE, Rimm EB et al. Calcium supplement intake and risk of cardiovascular disease in women. *Osteoporos Int*. 2014; 25(8):2047-56.
- Palanivel R, Maida A, Liu Y, Sweeney G. Regulation of insulin signalling, glucose uptake and metabolism in rat skeletal muscle cells upon prolonged exposure to resistin. *Diabetologia*. 2006; 49:183-90.
- Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5 Suppl 1:S23-30.
- Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805-12.
- Pereira GAP, Genaro PS, Pinheiro MM, Szejnfeld VL, Martini LA. Dietary calcium – strategies to optimize intake. *Rev Bras Reumatol* 2009; 49(2):164-80.
- Perez-Martinez P, Alcalá-Díaz JF, Delgado-Lista J, García-Ríos A, Gómez-Delgado F, Marín-Hojosa C, et al. Metabolic phenotypes of obesity influence triglyceride and inflammation homeostasis. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(11):1053-64.
- Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, et al. Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice; European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Atherosclerosis*. 2012;223(1):1-68.

- Perkins JM, Joy NG, Tate DB, Davis SN. Acute effects of hyperinsulinemia and hyperglycemia on vascular inflammatory biomarkers and endothelial function in overweight and obese humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015; 309(2):E168-76.
- Pickup JC, Chusney GD, Thomas SM, Burt D. Plasma interleukin-6, tumor necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sci.* 2000; 67: 291–300.
- Pikilidou MI, Lasaridis AN, Sarafidis PA, Befani CD, Koliakos GG, Tziolas IM et al. Insulin sensitivity increase after calcium supplementation and change in intraplatelet calcium and sodium-hydrogen exchange in hypertensive patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2009;26(3):211-9.
- Pinheiro MM, Reis Neto ET, Machado FS, Omura F, Yang JHK, Szejnfeld I J, et al. Fatores de risco para fratura por osteoporose e baixa densidade óssea em mulheres na pré e pós-menopausa. *Rev Saúde Pública* 2010; 44(3):479-85.
- Pinto Neto AM, Soares A, Urbanetz AA, Araújo e Souza AC, Ferrari AEM, Amaral B, et al. Consenso Brasileiro de Osteoporose 2002. *Rev Bras Reumatol.* 2002; 42(6): 343-354.
- Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. Postprandial lipemia as a cardiometabolic risk factor. *Curr Med Res Opin.* 2014; 30(8):1489-503.
- Pittas AG, Harris SS, Stark PC, Dawson-Hughes B. The Effect of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. *Diabetes Care.* 2007a; 30:980-6.
- Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007b; 92(6): 2017-29.
- Preis SR, Massaro JM, Hoffmann U, D'Agostino RB Sr, Levy D, Robins SJ et al. Neck circumference as a novel measure of cardiometabolic risk: the Framingham Heart study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(8):3701-10.
- Primeau V, Coderre L, Karelis AD, Brochu M, Lavoie ME, Messier V, et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. *Int J Obes (Lond).* 2011;35(7):971-81.
- Prince RL, Devine A, Dhaliwal SS, Dick IM. Effects of calcium supplementation on clinical fracture and bone structure: Results of a 5-year, double-blind, placebo-controlled trial in elderly women. *Arch Intern Med.* 2006; 166:869–875.
- Qiao Q, Pyörälä K, Pyörälä M, Nissinen A, Lindström J, Tilvis R et al. Two-hour glucose is a better risk predictor for incident coronary heart disease and cardiovascular mortality than fasting glucose. *Eur Heart J.* 2002; 23(16):1267-75.
- Rajpathak SN, Xue X, Wassertheil - Smoller S, Van Horn L, Robinson JG, Liu S et al. Effect of 5 y of calcium plus vitamin D supplementation on change in circulating lipids: results from the Women's Health Initiative. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(4):894-9.
- Rebollo OR, Actis Dato SM. Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia generated glycoxidative stress: its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005; 9: 191-208.
- Reid IR, Ames R, Mason B, Bolland MJ, Bacon CJ, Reid HE, et al. Effects of calcium supplementation on lipids, blood pressure, and body composition in healthy older men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2010a;91(1):131-9.

- Reid IR, Bolland MJ, Avenell A, Grey A. Cardiovascular effects of calcium supplementation. *Osteoporos Int*. 2011; (6):1649-58.
- Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Does calcium supplementation increase cardiovascular risk? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010b;73(6):689-95.
- Reid IR, Bolland MJ. Risk factors: Calcium supplements and cardiovascular risk. *Nat Rev Cardiol*. 2012; 9(9):497-8.
- Reid IR, Mason B, Horne A, Ames R, Clearwater J, Bava U et al. Effects of calcium supplementation on serum lipid concentrations in normal olderwomen: a randomized controlled trial. *Am J Med*. 2002; 112(5):343-7.
- Reid IR, Mason B, Horne A, Ames R, Reid HE, Bava U, et al. Randomized controlled trial of calcium in healthy older women. *Am J Med*. 2006; 119(9):777-85.
- Resnick LM. The role of dietary calcium in hypertension: a hierarchical overview. *Am J Hypertens* (1999) 12 (1): 99-112.
- Reusch JE, Begum N, Sussman KE, Draznin B. Regulation of GLUT-4 phosphorylation by intracellular calcium in adipocytes. *Endocrinology*. 1991;129(6):3269-73.
- Riccardi G, Bozzetto L, Annuzzi G. Postprandial lipid metabolism. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition* 2006; 50 (S2): 99-106.
- Rijkeljkhuizen JM, Girman CJ, Mari A, Alsema M, Rhodes T, Nijpels G et al. Classical and model-based estimates of β -cell function during a mixed meal vs. an OGTT in a population-based cohort. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 83: 280-88.
- Roustit M, Cracowski JL. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol Sci*. 2013; 34(7):373-84.
- Roustit M, Millet C, Blaise S, Dufournet B, Cracowski JL. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvasc Res*. 2010;80(3):505-11.
- Rubin D, Claas S, Pfeuffer M, Nothnagel M, Foelsch UR, Schrezenmeir J. s- ICAM-1 and s-VCAM-1 in healthy men are strongly associated with traits of the metabolic syndrome, becoming evident in the postprandial response to a lipid-rich meal. *Lipids in Health and Disease*. 2008; 7:32.
- Rubin MR, Rundek T, McMahon DJ, Lee HS, Sacco RL, Silverberg SJ. Carotid artery plaque thickness is associated with increased serum calcium levels: the Northern Manhattan study. *Atherosclerosis*. 2007; 194(2):426-32.
- Ryu JE, Howard G, Craven TE, Bond MG, Hagaman AP, Crouse JR III. Postprandial triglyceridemia and carotid atherosclerosis in middle-aged subjects. *Stroke* 1992; 23: 823-8.
- Sabanayagam C, Shankar A. Serum calcium levels and hypertension among U.S. adults. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2011;13(10):716-21.
- Sadideen H, Swaminathan R. Effect of acute oral calcium load on serum PTH and bone resorption in young healthy subjects: an overnight study. *Eur J Clin Nutr*. 2004;58(12):1661-5.
- Sakamoto T, Ogawa H, Kawano H, Hirai N, Miyamoto S, Takazoe K et al. Rapid change of platelet aggregability in acute hyperglycemia. Detection by a novel laser-light scattering method. *Thromb Haemost*. 2000; 83(3):475-9.

- Salovaara K, Tuppurainen M, Kärkkäinen M, Rikkinen T, Sandini L, Sirola J et al. Effect of vitamin D(3) and calcium on fracture risk in 65- to 71-year-old women: a population-based 3-year randomized, controlled trial--the OSTPRE-FPS. *J Bone Miner Res.* 2010;25(7):1487-95.
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414:799-806.
- Samelson EJ, Booth SL, Fox CS, Tucker KL, Wang TJ, Hoffmann U et al. Calcium intake is not associated with increased coronary artery calcification: the Framingham Study. *Am J Clin Nutr.* 2012; 96(6):1274-80.
- Sánchez M, de la Sierra A, Coca A, Poch E, Giner V, Urbano-Márquez A. Oral calcium supplementation reduces intraplatelet free calcium concentration and insulin resistance in essential hypertensive patients. *Hypertension.* 1997;29(1 Pt 2):531-6.
- SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2015. Disponível em: www.diabetes.org.br. Acesso em 20 dez. 2015.
- SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. Manual oficial de contagem de carboidratos para profissionais de saúde. 2009. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/pdf/manual-carboidratos.pdf>. Acesso em 20 dez. 2015.
- Schutte AE, Huisman HW, Van Rooyen JM, Oosthuizen W, Jerling JC. Sensitivity of the Finometer device in detecting acute and medium-term changes in cardiovascular function. *Blood Press Monit.* 2003; 8(5):195-201.
- Schwander F, Kopf-Bolanz KA, Buri C, Portmann R, Egger L, Chollet M et al. A dose-response strategy reveals differences between normal-weight and obese men in their metabolic and inflammatory responses to a high-fat meal. *J Nutr.* 2014;144(10):1517-23.
- Sein M, Latt T. Effect of Oral Calcium Supplementation on Lipid Profile and Atherogenic Index of Plasma. *JAFES.* 2014; 29(2), 135.
- Sela S, Shurtz-Swirski R, Farah R, Levy R, Shapiro G, Chezar J et al. A link between polymorphonuclear leukocyte intracellular calcium, plasma insulin, and essential hypertension. *Am J Hypertens.* 2002;15(4 Pt 1):291-5.
- Shah SM, Carey IM, Harris T, DeWilde S, Cook DG. Calcium supplementation, cardiovascular disease and mortality in older women. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2010; 19(1):59-64.
- Shahkhalili Y, Murset C, Meirim I, Duruz E, Guinchard S, Cavadini C et al. Calcium supplementation of chocolate: effect on cocoa butter digestibility and blood lipids in humans. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(2):246-52.
- Sharrett AR, Chambless LE, Heiss G, Paton CC, Patsch W. Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate responses with asymptomatic carotid artery atherosclerosis in middle-aged men and women. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 2122-9.
- Shin CS, Kim KM. Calcium, Is It Better to Have Less?-Global Health Perspectives. *J Cell Biochem.* 2015a;116(8):1513-21.
- Shin CS, Kim KM. The risks and benefits of calcium supplementation. *Endocrinol Metab.* 2015b;30:27-34.
- Sichieri R & Everhart. Validity of a Brazilian frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. *Nutr Res.* 1998;8(10):1649-59.

- Slinin Y, Blackwell T, Ishani A, Cummings SR, Ensrud KE. Serum calcium, phosphorus and cardiovascular events in post-menopausal women. *Int J Cardiol.* 2011; 149(3):335-40.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia, Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ et al. V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(4 Suppl 1):1-20.
- Sociedade Brasileira de Hipertensão. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Rev Bras Hipertens.* 2010; 13:1-66.
- Soerensen KV, Thorning TK, Astrup A, Kristensen M, Lorenzen JK. Effect of dairy calcium from cheese and milk on fecal fat excretion, blood lipids, and appetite in young men. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99(5):984-91.
- Stabe C, Vasques ACJ, Lima MMO, Tambascia MA, Pareja JC, Yamanaka et al. Neck circumference as a simple tool for identifying the metabolic syndrome and insulin resistance: results from the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Clinical Endocrinology.* 2013;78,874-81.
- Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH et al. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2014;129(25 Suppl 2):S1-45.
- Straub DA. Calcium supplementation in clinical practice: a review of forms, doses, and indications. *Nutr Clin Pract.* 2007;22(3):286-96.
- Sun C, Alkhoury K, Wang YI, Foster GA, Radecke CE, Tam K et al. IRF-1 and miRNA126 modulate VCAM-1 expression in response to a high-fat meal. *Circ Res.* 2012; 111(8):1054-64.
- Suzuki K, Watanabe K, Futami-Suda S, Yano H, Motoyama M, Matsumura N et al. The effects of postprandial glucose and insulin levels on postprandial endothelial function in subjects with normal glucose tolerance. *Cardiovasc Diabetol.* 2012; 11:98.
- Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl. 2011. 161 p.
- Tabesh M, Azadbakht L, Faghihimani E, Tabesh M, Esmailzadeh A. Calcium-vitamin D co-supplementation influences circulating inflammatory biomarkers and adipocytokines in vitamin D-insufficient diabetics: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014b; 99(12):E2485-93.
- Tabesh M., Azadbakht L., Faghihimani E, Tabesh M, Esmailzadeh A. Effects of calcium – vitamin D co-supplementation on metabolic profiles in vitamin D insufficient people with type 2 diabetes : a randomised controlled clinical trial. *Diabetologia,* 2014a; 57:2038–2047.
- Taylor JL, Curry TB, Matzek LJ, Joyner MJ, Casey DP. Acute effects of a mixed meal on arterial stiffness and central hemodynamics in healthy adults. *Am J Hypertens.* 2014;27(3):331-7.
- Teegarden D. The influence of dairy product consumption on body composition. *J Nutr.* 2005;135(12):2749-52.

- Thiele I, Linseisen J, Meisinger C, Schwab S, Huth C, Peters A et al. Associations between calcium and vitamin D supplement use as well as their serum concentrations and subclinical cardiovascular disease phenotypes. *Atherosclerosis*. 2015; 241(2):743-51.
- Thomas SD, Need AG, Tucker G, Slobodian P, O'Loughlin PD, Nordin BE. Suppression of parathyroid hormone and bone resorption by calcium carbonate and calcium citrate in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*. 2008;83(2):81-4.
- Trahair LG, Horowitz M, Jones KL. Postprandial hypotension: a systematic review. *J Am Med Dir Assoc*. 2014; 15(6):394-409.
- Trautvetter U, Jahreis G. Effect of supplementary calcium phosphate on plasma gastrointestinal hormones in a double-blind, placebo-controlled, cross-over human study. *Br J Nutr*. 2014; 111(2):287-93.
- Tsuda K, Kinoshita Y, Nishio I, Masuyama Y. Role of insulin in the regulation of membrane fluidity of erythrocytes in essential hypertension: an electronparamagnetic resonance investigation. *Am J Hypertens*. 2000;13(4 Pt 1):376-82.
- Tushuizen ME, Diamant M, Heine RJ. Postprandial dysmetabolism and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Postgrad Med J*. 2005; 81(951):1-6.
- Umpierrez GE, Smiley D, Robalino G, Peng L, Kitabchi AE, Khan B, et al. Intravenous intralipid-induced blood pressure elevation and endothelial dysfunction in obese African-Americans with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(2):609-14
- Vaidya A, Brown JM, Williams JS. The renin-angiotensin-aldosterone system and calcium-regulatory hormones. *J Hum Hypertens*. 2015;29(9):515-21.
- van der Velde RY, Brouwers JR, Geusens PP, Lems WF, van den Bergh JP. Calcium and vitamin D supplementation: state of the art for daily practice. *Food Nutr Res*. 2014;58.
- Van Hemelrijck M, Michaelsson K, Linseisen J, Rohrmann S. Calcium intake and serum concentration in relation to risk of cardiovascular death in NHANES III. *PLoS One*. 2013; 8(4):e61037.
- Van Mierlo LA, Arends LR, Streppel MT, Zeegers MP, Kok FJ, Grobbee DE, et al. Blood pressure response to calcium supplementation: a metaanalysis of randomized controlled trials. *J Hum Hypertens*. 2006; 20(8): 571-580.
- Van Wijk JPH, Halkes CJM, Erkelens DW, Castro Cabezas M. Fasting and daytime triglycerides in obesity with and without type 2 diabetes. *Metabolism* 2003; 52:1043-49.
- Varbo A, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, Jensen GB, Benn M. Nonfasting triglycerides, cholesterol, and ischemic stroke in the general population. *Ann Neurol*. 2011 Apr;69(4):628-34.
- Vinarova L, Vinarov Z, Tcholakova S, Denkov ND, Stoyanov S, Lips A. The mechanism of lowering cholesterol absorption by calcium studied by using an in vitro digestion model. *Food Funct*. 2015 Oct 20. [Epub ahead of print]
- Visvanathan R, Chen R, Garcia M, Horowitz M, Chapman I. The effects of drinks made from simple sugars on blood pressure in healthy older people. *Br J Nutr*. 2005;93(5):575-9.
- Visvanathan R, Horowitz M, Chapman I. The hypotensive response to oral fat is comparable but slower compared with carbohydrate in healthy elderly subjects. *Br J Nutr*. 2006;95(2):340-5.

- Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Alexopoulos A, Economou E, Andreadou I, Stefanadis C. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals. *Am J Hypertens*. 2005;18:785–91.
- Wang H, Bua P, Capodice J. A comparative study of calcium absorption following a single serving administration of calcium carbonate powder versus calcium citrate tablets in healthy premenopausal women. *Food Nutr Res*. 2014;58.
- Wang L, Manson JE, Sesso HD. Calcium intake and risk of cardiovascular disease: a review of prospective studies and randomized clinical trials. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2012; 12(2):105-16.
- Wang X, Zhang N, Yu C, Ji Z. Evaluation of neck circumference as a predictor of central obesity and insulin resistance in Chinese adults. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(10):19107-13.
- Watanabe K, Oba K, Suzuki T, Ouchi M, Suzuki K, Futami-Suda S et al. Oral glucose loading attenuates endothelial function in normal individual. *Eur J Clin Invest*. 2011; 41(5):465-73.
- Weaver C & Heaney R. *Calcium in Human Health*, Towata, NJ: Humana Press. 878p.
- Weaver CM, Alexander DD, Boushey CJ, Dawson-Hughes B, Lappe JM, LeBoff MS et al. Calcium plus vitamin D supplementation and risk of fractures: an updated meta-analysis from the National Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int*. 2016; 27(1):367-376.
- WHO - World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series (894).Geneva, 2000.
- WHO STEP wise approach to surveillance (STEPS). [homepage na Internet] Geneva: World Health Organization (WHO), 2008.Disponível em: <http://www.who.int/chp/steps/manual/en/>. Acesso em: 15 dez. 2015.
- Wilder LB, Bachorik PS, Finney CA, Moy TF, Becker DM. The effect of fasting status on the determination of low-density and high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Med*. 1995; 99:374 –377.
- Xiang GD, Xiang LW, He HL, Zhao LS. Postprandial lipaemia suppresses endothelium-dependent arterial dilation in patients with hypothyroidism. *Endocrine*. 2012;42(2):391-8.
- Xiao Q, Murphy RA, Houston DK, Harris TB, Chow WH, Park Y. Dietary and Supplemental Calcium Intake and Cardiovascular Disease Mortality. The National Institutes of Health–AARP Diet and Health Study. *JAMA Intern Med*. 2013;173(8):639-46.
- Yamamoto-Suganuma R, Aso Y. Relationship between post-occlusive forearm skin reactive hyperaemia and vascular disease in patients with Type 2 diabetes--a novel index for detecting micro and macrovascular dysfunction using laser Dopplerflowmetry. *Diabet Med*. 2009;26(1):83-8.
- Yaron M, Roach V, Izkhakov E, Ish-Shalom M, Sack J, Sofer Y et al. Effects of a typical acute oral calcium load on arterial properties and endothelial function in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2014; 68(5):608-12.
- Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo, Zemel PC. Regulation of adiposity by dietary calcium. *FASEB J*. 2000;14:1132-8.
- Zemel MB. Insulin resistance vs. hyperinsulinemia in hypertension: insulin regulation of Ca²⁺ transport and Ca(2+)-regulation of insulin sensitivity. *J Nutr*. 1995;125(6 Suppl):1738S-1743S.

- Zemel MB. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight Management. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(suppl):907S-12S.
- Zhang TX, Peng F, Chai DJ, Lin JX. Effects of combined glucose and fat load on endothelium-dependent brachial artery vasodilatation in hypertensive patients. *Am J Med Sci.* 2012;344(6):447-51.
- Zhou BF, Stamler J, Dennis B, Moag-Stahlberg A, Okuda N, Robertson C, et al. Nutrient intakes of middle-aged men and women in China, Japan, United Kingdom, and United States in the late 1990s: The INTERMAP Study. *J Hum Hypertens.* 2003; 17, 623–630.
- Zhou J, Ge H, Zhu MF, Wang LJ, Chen L, Tan YZ et al. Neck circumference as an independent predictive contributor to cardio-metabolic syndrome. *Cardiovasc Diabetol.* 2013; 12: 76.
- Zhu D, Mackenzie NC, Farquharson C, MacRae VE. Mechanisms and clinical consequences of vascular calcification. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2012; 3:95.
- Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation.* 1979;60(3):473-85.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Faculdade de Ciências Médicas
Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Estudo: Avaliação dos efeitos da suplementação aguda de cálcio dietético e de cálcio suplementar sobre o perfil metabólico, estresse oxidativo, pressão arterial e função endotelial no período pós-prandial em obesos.

Instituição: Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Local: Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX

Endereço: Av. 28 de Setembro, 87 – 3^o andar - sala 361; 363 e 363. Vila Isabel. CEP 20.551-030

Tel (21) 2334-2063

Pesquisadores: Priscila Mansur Leal, Thaís da Silva Ferreira, Vanessa Parada Antunes, Márcia Regina Simas Torres Klein, Antonio Felipe Sanjuliani.

Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE: (21) 2868-8253

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa científica no Laboratório da Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental (CLINEX).

Estou ciente e autorizo minha participação na pesquisa sobre os efeitos da suplementação aguda de cálcio dietético e cálcio medicamentoso sobre o perfil metabólico, estresse oxidativo, pressão arterial e função endotelial no período pós-prandial em obesos. O presente estudo será realizado no CLINEX, na Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Declaro que entendi que este trabalho tem como objetivo: avaliar os efeitos da suplementação aguda de cálcio dietético e cálcio medicamentoso sobre o perfil metabólico, estresse oxidativo, pressão arterial e função endotelial no período pós-prandial em obesos. Fui orientado que receberei todas as informações necessárias para a realização de todos os exames. Declaro também ter entendido que irei ingerir 3 refeições com quantidades diferentes de cálcio, havendo 1 semana de intervalo entre cada refeição. Durante o estudo serei submetido à avaliação do estado nutricional, pressão arterial, função endotelial e coleta de sangue. Fui informado também, e estou ciente, que não precisarei ficar internado para realização desses procedimentos. Os exames que serão realizados não apresentam risco, sendo que a coleta do sangue será realizada com material descartável e acompanhada pelo pesquisador responsável.

Eu entendi que minha participação é voluntária, sendo livre para interrompê-la a qualquer momento, sem que isso afete meu tratamento. Receberei todos os esclarecimentos necessários sobre este estudo antes e durante a pesquisa. Caso minhas visitas ao Hospital ocorram com frequência maior que minhas consultas habituais, terei meu transporte para ir e vir do Hospital pago pelos responsáveis da pesquisa.

O sigilo e a confidencialidade das informações coletadas serão preservados, assim como minha identidade não será revelada. Cada amostra de material biológico fará parte de um banco de dados identificados por códigos específicos. Receberei informações sobre os resultados de todos os exames realizados e os mesmos serão utilizados com fins científicos, podendo ser publicados em revistas científicas, estando os registros disponíveis para uso da pesquisa.

Declaro que li e entendi o que me foi explicado.

		/ /
Nome do paciente	Assinatura	Data
		/ /
Nome do pesquisador	Assinatura e identidade	Data

APÊNDICE B – Ficha de seleção

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Faculdade de Ciências Médicas
Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX

Projeto: Avaliação dos efeitos da suplementação aguda de cálcio dietético e de cálcio suplementar sobre o perfil metabólico, estresse oxidativo, pressão arterial e função endotelial no período pós-prandial em obesos.

FICHA DE SELEÇÃO

Nome: _____ Reg: _____

Data: ____/____/____ Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: _____ (25 – 50)

Endereço: _____

Telefones: _____

Altura (m): _____ Peso (Kg): _____ IMC (Kg/m²): _____ (≥ 30 e < 40Kg/ m²)

	SIM	NÃO	Desconhece
Idade < 25 anos ou > 50 anos			
IMC < 30 ou > 40,0 kg/m ²			
Fuma			
Apresentou modificações recentes (6 meses) no peso corporal (> 3kg), atividade física ou padrão alimentar			
Faz uso de medicação para perda de peso ou fez uso nos últimos 3 meses			
Faz uso de suplementação de cálcio e/ou vitamina D			
Faz uso de algum suplemento nutricional ou chás			
Uso de corticóides; inflamação aguda ou crônica			
Hipertensão arterial em uso de medicamento			
Diabetes mellitus			
Dislipidemia em uso de medicamento			
Histórico de IAM ou AVC			
Angina instável, marcapasso permanente			
Insuficiência Cardíaca			
Insuficiência ou doença hepática			
DRC com Clearance creatinina ≤ 60 ml/min.			
Hipotireoidismo e/ou Hipertireoidismo			
História de doença vascular periférica ou neuropatia periférica			
História de cirurgias no estômago ou intestino			
Diagnóstico de HIV+, doenças auto-imunes e câncer			
DPOC			
Gestante ou lactante			
Tem intolerância ou alergia ou aversão ao leite e derivados do leite			
Ingestão de laticínios (leite, queijo ou iogurte) ≥ 2 porções / dia			

Responder SIM a qualquer pergunta acima = exclusão

	Sim	Não
Tem interesse em participar do estudo?		
Disponibilidade para comparecer ao hospital durante 4 manhãs inteiras?		

Responder NÃO a qualquer pergunta acima = exclusão

Inclui no estudo: SIM () NÃO ()

Data da V0: ____/____/____ (Orientar para retornar em V0 em jejum de 12h e evitar álcool durante 3 dias).

APÊNDICE C – Orientações pré-intervenção

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Faculdade de Ciências Médicas
Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX

ORIENTAÇÕES PARA EXAMES DE SANGUE E AVALIAÇÃO CORPORAL

Nome: _____ Reg: _____

Data: ____/____/____

Realização dos exames: ____ / ____ / ____ , _____ - feira. Horário: ____ h.

Local: Laboratório de Pesquisa Clínica do Clinex no 3º Andar do Hospital Universitário Pedro Ernesto (salas 361, 363, 365 e 367).

Nos **3 dias anteriores ao exame** (desde ____ / ____ / ____ , _____ - feira):

- NÃO consumir alimentos ricos em gordura: frituras, pizza, salgadinhos, churrasco, *fast food* em geral (hambúrgueres e batatas fritas);
- NÃO realizar exercícios físicos diferentes da sua rotina atual;
- NÃO consumir BEBIDA ALCOÓLICA.
- Manter ingestão habitual de leite e derivados (no máximo 1 porção/dia)
- Não consumir: suco de uva, chá (verde ou branco) e chocolate amargo.
- Consumir no máximo 2 porções de fruta/dia

Guardar **12 h de jejum**, ou seja, não comer ou beber líquidos diferentes de água desde as ____ h do dia ____ / ____ / ____ , _____ - feira).

APÊNDICE D – Protocolo de acompanhamento

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Faculdade de Ciências Médicas
Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX

FICHA DE ACOMPANHAMENTO

Projeto: Avaliação dos efeitos da suplementação aguda de cálcio dietético e de cálcio suplementar sobre o perfil metabólico, estresse oxidativo, pressão arterial e função endotelial no período pós-prandial em obesos.

1 – Identificação:

Randomização: () A () B () C

Nome: _____ Reg.: _____ Ident: _____

Endereço: _____

Tel: _____ E-mail: _____

Data de nascimento: ___/___/___ Idade: _____ Raça: () branca () Não branca

Ingestão de bebida alcoólica: () nunca () < 1 x/sem () ≥ 1 x/sem

Escolaridade: () Fundamental () Médio () Superior () Completo () Incompleto

Atividade física: () nunca () < 3x/semana (30min/dia) () ≥ 3x/semana (30min/dia)

2 - Avaliação Antropométrica e da Composição Corporal:

	Visita 0	Visita 1	Visita 2	Visita 3
Data				
Refeição				
Peso Corporal (kg)				
Altura (m)				
IMC (kg/m ²)				
Circunferência da Cintura (cm)				
Circunferência do Quadril (cm)				
Razão cintura quadril (cm/cm)				
Razão cintura estatura (cm/cm)				
Circunferência do Pescoço (cm)				
Ângulo de fase				
Capacitância				
Resistência				
Reactância				
Massa celular corporal (kg/%)				
Massa extracelular (kg/%)				
Massa magra (kg/%)				
Massa gorda (kg/%)				
ME/MCC				
TMB (kcal)				
Água intracelular (l/%)				
Água extracelular (l/%)				
Água corporal total (L)				
ACT/Massa magra (%)				

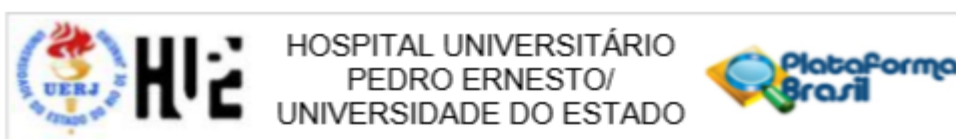
2. Avaliação Laboratorial

Visita 0 (____ / ____ / ____)			
Hemácias (milhões/mm ³)		Glicose (mg/dl)	
Hemoglobina (g/dl)		Creatinina (mg/dl)	
Hematócrito (%)		Uréia (mg/dl)	
VGM (fl)		Ácido úrico (mg/dl)	
HGM (pg)		Colesterol total (mg/dl)	
CHGM (g/dl)		HDL-colesterol (mg/dl)	
Índice de anisocitose (RDW)		Triglicerídeos (mg/dl)	
Leucócitos totais (/mm ³)		LDL-colesterol (mg/dl)	
Neutrófilos totais (/mm ³)		Proteínas totais (g/dl)	
Linfócitos (%)		Albumina (g/dl)	
Monócitos (%)		Globulina (g/dl)	
Eosinófilos (%)		TGO (U/L)	
Basófilos (%)		TGP (U/L)	
Plaquetas (mil/mm ³)		Fosfatase alcalina (U/L)	
1,25 dihidroxivitamina D (pg/ml)		PAS/PAD/FC 1 (mmHg)	
HOMA-IR		PAS/PAD/FC 2 (mmHg)	
		PAS/PAD/FC 3 (mmHg)	

Visita 1 (____ / ____ / ____)	-30 min	0 min	120 min	240 min
Colesterol total (mg/dl)				
HDL-colesterol (mg/dl)				
Triglicerídeos (mg/dl)				
LDL-colesterol (mg/dl)				
Glicose (mg/dl)				
Insulina (μU/ml)				
Proteínas totais (g/dl)				
Albumina (g/dl)				
Globulina (g/dl)				
Cálcio sérico (mg/dl)				
Cálcio ionizado (mg/dl)				
Paratormônio (pg/ml)				
PCR-us (mg/dl)				

	Média (UAP)	AUC (mm ²)
Jejum		
TOI 1 basal		
TOI 3 pós-occlusão		
TOI 2 pico		
Pós-prandial		
TOI 1 basal		
TOI 3 pós-occlusão		
TOI 2 pico		

ANEXO A – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO AGUDA DE CÁLCIO DIETÉTICO E DE CÁLCIO SUPLEMENTAR SOBRE O PERFIL METABÓLICO, ESTRESSE OXIDATIVO, PRESSÃO ARTERIAL E FUNÇÃO ENDOTELIAL NO PERÍODO PÓS-PRANDIAL EM OBESOS.

Pesquisador: Thaís da Silva Ferreira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 19393213.7.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

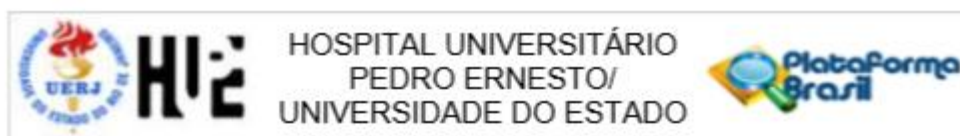
Número do Parecer: 339.112

Data da Relatoria: 22/07/2013

Apresentação do Projeto:

Ensaio clínico randomizado, controlado e cruzado envolvendo 15 mulheres obesas com idade entre 25 e 50 anos. As pacientes potencialmente elegíveis para o estudo serão agendadas para a visita de seleção (V0) no Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental, quando serão submetidas à avaliação clínica e laboratorial. Após uma semana (V1), as participantes retornarão ao Laboratório e aquelas que estiverem de acordo com os critérios de elegibilidade serão randomizadas para serem submetidas nesta mesma visita a intervenção nutricional que consistirá na ingestão de uma das 3 refeições teste (pobre em cálcio, rica em cálcio dietético e rica em cálcio suplementar). Nas semanas seguintes (V2 e V3) as pacientes receberão outras refeições. Nas visitas 1, 2 e 3 as participantes comparecerão ao Laboratório após 12h de jejum e inicialmente serão submetidas a avaliação antropométrica, da composição corporal, da função endotelial, da PA e laboratorial. Em seguida, as participantes irão ingerir a refeição teste (minuto 0). A coleta de sangue será realizada nos minutos 60, 120 e 180. A função endotelial será avaliada aos 180 min, por meio da tonometria arterial periférica (Endo-PAT2000®) e por laser doppler fluxometria (PeriCam PSI system). A PA será avaliada de forma contínua durante 180 min após a refeição através da fotopletiografia digital (Finometer Pro®).

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2963-3253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 339.112

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar os efeitos da suplementação aguda de cálcio dietético e de cálcio suplementar sobre o cálcio sérico, perfil metabólico, estresse oxidativo, pressão arterial e função endotelial no período pós-prandial em indivíduos obesos. **Objetivo Secundário:** Avaliar em pacientes obesos no período pós-prandial, os efeitos da suplementação de cálcio dietético e de cálcio suplementar sobre: o metabolismo do cálcio, a glicemia, as concentrações séricas de insulina, a resistência à insulina, as concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol, as concentrações séricas de malondialdeído e de 8-isoprostanos, a pressão arterial e a função endotelial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não existem riscos para os participantes do estudo. Os exames que serão realizados não apresentam risco ao paciente, sendo a coleta do sangue será realizada com material descartável e por profissionais de saúde capacitados. **Benefícios:** Auxiliar no conhecimento sobre os efeitos da suplementação de cálcio dietético e suplementar no metabolismo pós-prandial.

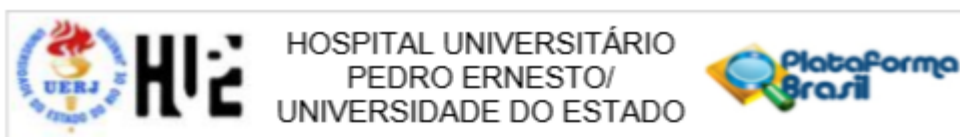
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo consistirá em um ensaio clínico randomizado, controlado e cruzado. Serão incluídas 15 mulheres obesas (índice de massa corporal ≥ 30 e < 40 kg/m²) com idade entre 25 e 50 anos e apresentando baixa ingestão habitual de cálcio (< 500 mg/dia). Serão excluídas do estudo mulheres: tabagistas; em uso de qualquer suplemento dietético; em uso de drogas que interferem no controle do peso corporal, perfil metabólico e pressão arterial; com alterações nos últimos 3 meses no peso corporal (± 3 kg), ingestão alimentar ou intensidade ou frequência de exercícios físicos; com diabetes mellitus, disfunção da tireóide, hipertensão arterial, angina pectoris, insuficiência cardíaca, insuficiência renal, insuficiência hepática ou dislipidemia em uso de drogas; apresentando má absorção intestinal; gestantes ou nutrizes; na menopausa; com processo inflamatório agudo ou crônico. As pacientes serão selecionadas nos Ambulatórios de Cirurgia Plástica e Ginecologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto. A abordagem inicial consistirá no convite para participação no estudo, com esclarecimento das principais características do mesmo. As mulheres que aceitarem participar serão submetidas à uma avaliação do peso corporal e da estatura, além da realização de uma entrevista abordando diferentes critérios de inclusão e exclusão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos condizentes e adequados as boas práticas em pesquisa.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2868-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 339.112

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto está apto a ser realizado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 23 de Julho de 2013

Assinador por:
WILLE OIGMAN
 (Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2068-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br

PRODUTO	QUANTIDADE			FREQUÊNCIA						
				mais de 3 vezes por dia	2 a 3 vezes por dia	1 vez por dia	5 a 6 vezes por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez por semana	1 a 3 vezes por mês
Lentilha, Ervilha Seca ou Grão de Bico	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Alface	2 folhas <input type="radio"/>	3 a 4 folhas <input type="radio"/>	5 folhas <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Couve	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Repolho	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Laranja ou Tangerina	1 média <input type="radio"/>	2 médias <input type="radio"/>	3 médias <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Banana	1 média <input type="radio"/>	2 médias <input type="radio"/>	3 médias <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Mamão (fatia) ou Papaia (1/2 unidade)	1 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Maçã (unidade)	1 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Melancia ou Melão	1 fatia <input type="radio"/>	2 fatias <input type="radio"/>		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Abacaxi	1 fatia <input type="radio"/>	2 fatias <input type="radio"/>	3 fatias <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Abacate	1/4 unidade <input type="radio"/>	1/2 unidade <input type="radio"/>	1 unidade <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Manga	1 unidade <input type="radio"/>	2 unidades <input type="radio"/>		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Limão	Anote só a frequência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Maracujá	Anote só a frequência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Uva	1/2 cacho <input type="radio"/>	1 cacho <input type="radio"/>	2 cachos <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Goiaba	1 média <input type="radio"/>	2 médias <input type="radio"/>	3 médias <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Pêra (unidade)	1 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Chicória	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Tomate (unidade)	1 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>	3 <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Pimentão	Anote só a frequência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Chuchu	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Abóbora (pedaço)	1 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>	3 <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Abobrinha	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Pepino (fatia)	1 ou 2 <input type="radio"/>	3 ou 4 <input type="radio"/>	5 ou 6 <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Vagem	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Quiabo	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Cenoura	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Beterraba (fatia)	1 ou 2 <input type="radio"/>	3 ou 4 <input type="radio"/>	5 <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Couve-flor (ramos)	1 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>	3 <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Ovos (unidade)	1 <input type="radio"/>	2 <input type="radio"/>	3 <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

PRODUTO	QUANTIDADE			FREQÜÊNCIA							
				mais de 3 vezes por dia	2 a 3 vezes por dia	1 vez por dia	5 a 6 vezes por semana	2 a 4 vezes por semana	1 vez por semana	1 a 3 vezes por mês	nunca ou quase nunca
Chocolate em Pó ou Nescau	1 colher <input type="radio"/>	2 colheres <input type="radio"/>	3 colheres <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Chocolate Barra (30g) ou Bombom	1 unidade <input type="radio"/>	2 unidades <input type="radio"/>	3 unidades <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Pudim ou Doce	1 pedaço <input type="radio"/>		2 pedaços <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Refrigerantes	1 copo <input type="radio"/>	2 copos <input type="radio"/>	3 copos <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Café	1 xícara <input type="radio"/>	2 xícaras <input type="radio"/>	3 xícaras <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Suco da Fruta ou da Polpa	1 copo <input type="radio"/>	2 copos <input type="radio"/>	3 copos <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Mate	1 copo <input type="radio"/>	2 copos <input type="radio"/>	3 copos <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Vinho	1 copo <input type="radio"/>	2 copos <input type="radio"/>	3 copos <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Cerveja (copo)	1 ou 2 <input type="radio"/>	3 ou 4 <input type="radio"/>	5 ou 6 <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Outras Bebidas Alcolólicas	1 dose <input type="radio"/>	2 doses <input type="radio"/>	3 doses <input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Carnes ou Peixes conservados em sal: bacalhau, carne seca, etc.				Anote só a freqüência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Alimentos enlatados: ervilha, azeitona, palmito, etc.				Anote só a freqüência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Frios como mortadela, salame, presuntada				Anote só a freqüência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Churrasco				Anote só a freqüência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

01. Utiliza com maior freqüência:

- Manteiga Margarina Ambas Não utiliza

02. Se utiliza margarina, ela é light?

- Não Sim Não Sei Não utiliza

03. Utiliza com maior freqüência:

- Leite desnatado Leite semidesnatado Leite integral Não utiliza

04. Utiliza com maior freqüência, Queijo, Requeijão ou Iogurte:

- Diet / Light Normal Ambos Não utiliza

05. Utiliza com maior freqüência Refrigerante:

- Diet / Light Normal Ambos Não utiliza

06. Com que freqüência coloca sal no prato de comida?

- Nunca Prova e coloca, se necessário Quase sempre

07. Com que freqüência retira pele do frango ou gordura da carne?

- Nunca Algumas vezes Na maioria das vezes Sempre

08. Utiliza adoçante em café, chá, sucos, etc?

- Nunca Algumas vezes Na maioria das vezes Sempre