



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Faculdade de Ciências Médicas

Vanessa Parada Antunes

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

Rio de Janeiro

2017

Vanessa Parada Antunes

Efeitos agudos do cálcio dietético 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 Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

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

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

A636 Antunes, Vanessa Parada

Efeitos agudos do cálcio dietético sobre a glicemia, lipemia, pressão arterial e reatividade microvascular cutânea durante o período pós-prandial em mulheres obesas / Vanessa Parada Antunes. – 2017.

129 f.

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

Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Dieta – Teses. 2. Cálcio na dieta. 3. Doenças cardiovasculares – Teses. 4. Obesidade – Teses. 5. Resistência à insulina. 6. Lipídeos – Teses. I. Klein, Márcia Regina Simas Torres. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 591.53.063

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

Assinatura

Data

Vanessa Parada Antunes

Efeitos agudos do cálcio dietético 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 Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 12 de janeiro de 2017.

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

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Mário Fritsch Toros Neves
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Maria Inês Barreto Silva
Instituto de Nutrição - UERJ

Prof. Dr. Sérgio Girão Barroso
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

À minha amada mãe, Valéria Parada Margato (*in memorian*) pelo amor incondicional, dedicação e exemplo de caráter, força e determinação passados a mim durante toda a sua vida, fundamentais para a realização desse sonho.

A você mãe, toda a minha vida e meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar meus caminhos, cuidar de mim e me permitir superar os obstáculos para a realização de mais um sonho.

Aos meus pais Valéria (*in memoriam*) e Marcelo, meus avós Therezinha e João, minha tia Vânia e meu irmão Patryck, por todo amor e suporte ao longo da vida e por sempre acreditarem em mim.

Ao Paulo Roberto, que com seu companheirismo e incentivo me ajudou a chegar até aqui.

À minha querida orientadora Prof^a Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein, por toda paciência, dedicação e generosidade em passar seus valiosos conhecimentos. Por acreditar em mim, me acolher e por ter sido essencial para o alcance desse objetivo.

Ao Prof. Dr. Antonio Felipe Sanjuliani (*in memoriam*), por toda sua grandiosa trajetória no CLINEX e sua contribuição prestada ao nosso projeto.

À FAPERJ pelo suporte financeiro.

A todos os meus colegas de pesquisa do CLINEX, em especial: Thaís Ferreira da Silva, Priscila Mansur Leal, 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: Cristiane Hipólito, Eliane Soares e Paula Nascimento por todo suporte prestado.

Às professoras Diana Barbosa Cunha do Instituto de Medicina Social (IMS/UERJ), Maria Inês Barreto Silva do Instituto de Nutrição (INU/UERJ) e aos professores Anderson Junger Teodoro e Orlando Gadas de Moaraes da Escola de Nutrição (UNIRIO) pelo auxílio na análise dos dados dietéticos.

À equipe do Laboratório 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 Maria Inês Barreto Silva, responsável pela revisão da dissertação.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência Médica por todo aprendizado.

Às grandes amigas que ganhei da vida: Mariana, Renata Nogueira, Renata Prates e Thaís, por toda compreensão, apoio e por entenderem os vários momentos de ausência.

Às amigas que ganhei da residência do HUPE, em especial: Clarissa, que dividiu comigo passo a passo, os momentos bons e os difíceis, me apoiando e incentivando durante todo esse processo; Juliana, Marcela, Patrícia, Raquel e Vanuza, por serem grandes parceiras de profissão e de vida;

Às minhas queridas amigas de profissão, em especial: Andressa, Bianca, Fernanda e Priscilla, por todo acolhimento e apoio prestados dia após dia.

À toda minha família e amigos queridos, que de uma maneira única e especial, me ajudaram nos momentos difíceis.

E às voluntárias que aceitaram contribuir com a realização do estudo.

RESUMO

ANTUNES, Vanessa Parada. *Efeitos agudos do cálcio dietético sobre a glicemia, lipemia, pressão arterial e reatividade microvascular cutânea durante o período pós-prandial em mulheres obesas*. 2017. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

O aumento exacerbado da glicose e dos triglicerídeos (TG) no período pós-prandial é preditor de eventos cardiovasculares. Apesar da ingestão de cálcio dietético e/ou de laticínios (principal fonte alimentar de cálcio) apresentar associação inversa com resistência à insulina, dislipidemia e pressão arterial (PA), seus efeitos pós-prandiais não são conhecidos. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos agudos do cálcio dietético sobre o metabolismo da glicose, dos lipídeos e do cálcio; a proteína C-reativa; a função microvascular; e a PA no período pós-prandial em mulheres obesas. Neste ensaio clínico randomizado e cruzado foram incluídas 16 mulheres obesas. Todas as participantes ingeriram, em dias diferentes (com intervalo de 1 a 2 semana), 2 refeições hiperlipídicas apresentando quantidade semelhante de energia (~695Kcal) e macronutrientes (~15g proteínas, 73g carboidratos e 38g lipídios). As 2 refeições diferiam apenas no teor de cálcio: pobre em cálcio (RPC; 41mg) e rica em cálcio dietético (RRCD; ~550mg). 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 microvascular nos minutos -30 e 120 e laboratorial nos minutos 0, 120 (T120) e 240 (T240). A avaliação laboratorial incluiu a dosagem de glicose, insulina, colesterol total e frações, TG, cálcio sérico, hormônio da paratireoide (PTH) e proteína C reativa ultrasensível. A função microvascular foi avaliada por *Laser Speckle Contrast Imaging* (PeriCam PSI-NR®) e a PA 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 na insulinemia (p<0,0001), colesterol total (p<0,01) e TG (p<0,0001). Após a RRCD o cálcio sérico total aumentou (p=0,04) e o PTH diminuiu (p<0,0001). Após a RPC o cálcio sérico não se elevou, porém o PTH se modificou de forma significativa (p<0,0001). Tanto o pico, quanto a amplitude e a área sob a curva da condutância vascular cutânea (CVC) apresentaram redução significativa após a RPC. Após a RRCD, apenas o pico e a amplitude da CVC apresentaram redução significativa. A PA sistólica e a diastólica aumentaram significativamente após a RPC e a RRCD (p<0,01). As demais variáveis avaliadas no estudo não apresentaram modificações após as 2 refeições. A análise comparativa das refeições revelou maior redução do PTH após a RRCD (p=0,02) e ausência de diferenças entre as refeições em relação aos outros parâmetros avaliados. O presente estudo sugere que em mulheres obesas o cálcio dietético promove redução aguda do PTH, porém não apresenta efeitos agudos sobre glicemia, lipemia, PA e função microvascular durante o período pós-prandial.

Palavras-chave: Cálcio dietético. Doença cardiovascular. Período pós-prandial.

Função microvascular. Lipídeos.

ABSTRACT

ANTUNES, Vanessa Parada. *Acute effects of dietary calcium on blood glucose, lipemia, blood pressure and cutaneous microvascular reactivity during the postprandial period in obese women*. 2017. 129f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

The marked increase of glucose and triglycerides (TG) in the postprandial period is a predictor of cardiovascular events. Although dietary calcium and / or dairy products (the main dietary source of calcium) are inversely associated with insulin resistance, dyslipidemia and blood pressure (BP), their postprandial effects are not known. The aim of the present study was to evaluate the acute effects of dietary calcium on the metabolism of glucose, lipids and calcium; C-reactive protein; Microvascular function; and BP in the postprandial period in obese women. In this randomized, cross-over trial, 16 obese women were included. All participants ate 2 high-fat meals presenting similar content of energy (~ 695 Kcal) and macronutrients (~ 15g proteins, 73g carbohydrates and 38g lipids) on different days (1 to 2 weeks apart). The two meals differed only in the calcium content: low calcium (LCM, 41mg) and high dietary calcium (HDCM ~ 550mg). The moment of ingestion of the meal was considered as minute 0 (T0). The evaluations were performed in the following moments: anthropometry at minute -45, BP minute -15 to 120, microvascular function at minutes -30 and 120 and laboratory at minutes 0, 120 (T120) and 240 (T240). Laboratory evaluation included glucose, insulin, total cholesterol and fractions, TG, serum calcium, parathyroid hormone (PTH), and ultra-sensitive C-reactive protein. Microvascular function was evaluated by Laser Speckle Contrast Imaging (PeriCam PSI-NR®) and BP continuously by digital photoplethysmography (Finometer Pro®). The repeated-measures ANOVA test was used to evaluate intra and inter-meal modifications. The 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 intake of the 2 meals, no significant elevation of glycemia was observed, but there was a significant increase in insulinemia ($p < 0.0001$), total cholesterol ($p < 0.01$) and TG ($p < 0.0001$). After HDCM the total serum calcium increased ($p = 0.04$), while PTH decreased ($p < 0.0001$). After LCM, serum calcium levels did not show significant elevation, but PTH changed significantly ($p < 0.0001$). The peak, the amplitude and the area under the curve of cutaneous vascular conductance (CVC) showed a significant reduction after LCM. After the HDCM, only the peak and the amplitude of the CVC showed a significant reduction. Systolic and diastolic BP increased significantly after LCM and HDCM ($p < 0.01$). The other variables evaluated in the study did not present significant modifications after the 2 meals. The comparative analysis of the two meals revealed that PTH had a greater decrease after HDCM ($p = 0.02$) and a lack of significant differences between meals in relation to all of the evaluated parameters. This study suggests that in obese women dietary calcium acutely decreases PTH, but does not present acute effects on glycemia, lipemia, BP and microvascular function during the postprandial period

Keywords: Dietary Calcium. Cardiovascular disease. Postprandial period. Microvascular function. Lipids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho do estudo.....	44
Figura 2 - Representação esquemática do fluxo de pacientes.....	54
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	59
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.....	62
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.....	65
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	67
Figura 7 - Valores médios das variáveis da reatividade microvascular cutânea no pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	69
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.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição nutricional das refeições teste.....	45
Tabela 2 -	Características das participantes do estudo.....	55
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 dietético (RRCD).....	57
Tabela 4 -	Valores médios da glicemia e da insulinemia nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	58
Tabela 5 -	Valores médios dos parâmetros do metabolismo lipídico nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	60
Tabela 6 -	Valores médios das variáveis relacionadas com o metabolismo do cálcio nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	64
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.....	66
Tabela 8 -	Valores médios das variáveis relacionadas a reatividade microvascular cutânea nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	68
Tabela 9 -	Valores médios das variáveis relacionadas a pressão arterial nos períodos pré e pós-prandial, de acordo com a refeição teste.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH) ₂ D	1,25 dihidroxivitamina D
25(OH)D	25-hidroxivitamina D
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
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
CLINEX	Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental
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)
GIP 1-42	<i>Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide</i> (peptídeo insulinoatrópico dependente de glicose)
GLP-1	<i>Glucagon-like peptide-1</i> (Peptídeo similar ao glucagon 1)
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)
H	Hora ou horas
HOMA-IR	<i>Homeostatic model assessment</i> (Avaliação do Modelo Homeostático)
HR	<i>Hazard ratio</i>
HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusiva
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)
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusiva
LSCI	<i>Laser speckle contrast imaging</i> (fluxometria <i>laser speckle</i>)
LDF	<i>Laser doppler fluxometria</i>
LDL-C	<i>Low density lipoprotein cholesterol</i> (Colesterol da lipoproteína de baixa densidade)
LPL	Lipase lipoprotéica
MIN	Minutos
n=	Número de voluntários (as)
PA	Pressão arterial
PAM	Pressão arterial média
PCR-us	Proteína C reativa ultrasensível
PTH	Hormônio da Paratireóide
QM	Quilomícrons
RCE	razão cintura estatura
RCQ	razão cintura quadril
RPC	Refeição pobre em cálcio
RRCD	Refeição rica em cálcio dietético
RTF	<i>Return-to-flow</i>
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
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
MJ	Megajoule
β	Beta

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	16
1	REVISÃO DE LITERATURA	18
1.1	Cálcio dietético e risco de doenças cardiovasculares	18
1.2	Cálcio dietético e fatores de risco para doença cardiovascular	19
1.3	Dismetabolismo pós-prandial	23
1.3.1	<u>Hiperglicemia pós-prandial e risco de doença cardiovascular</u>	24
1.3.2	<u>Dislipidemia pós-prandial e risco de doença cardiovascular</u>	28
1.4	Obesidade e período pós-prandial	34
1.5	Intervenções nutricionais e metabolismo pós-prandial	36
1.6	Cálcio dietético e dismetabolismo pós-prandial	36
2	JUSTIFICATIVA	39
3	OBJETIVOS	40
3.1	Objetivo geral	40
3.2	Objetivos específicos	40
4	MÉTODOS	41
4.1	Casuística	41
4.2	Critérios de inclusão	42
4.3	Critérios de exclusão	42
4.4	Desenho do estudo	43
4.5	Composição das refeições	45
4.6	Avaliação antropométrica	46
4.6.1	<u>Peso, estatura e índice de massa corporal</u>	46
4.6.2	<u>Circunferência da cintura, circunferência do quadril, razão cintura quadril, razão cintura estatura e circunferência do pescoço</u>	46
4.7	Avaliação da composição corporal	47
4.8	Avaliação do metabolismo glicídico	47
4.9	Avaliação do metabolismo lipídico	48
4.10	Avaliação do metabolismo do cálcio	48
4.11	Avaliação do biomarcador inflamatório	49
4.12	Avaliação da reatividade microvascular cutânea	49
4.13	Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca	50

4.14	Avaliação do estilo de vida.....	51
4.15	Avaliação do consumo alimentar habitual.....	51
4.16	Análise estatística dos dados e cálculo do tamanho amostral.....	52
5	RESULTADOS.....	53
5.1	Características das participantes do estudo.....	54
5.2	Avaliação antropométrica.....	56
5.3	Metabolismo glicídico.....	57
5.4	Metabolismo lipídico.....	60
5.5	Metabolismo do cálcio.....	63
5.6	Biomarcador inflamatório.....	66
5.7	Reatividade microvascular cutânea.....	67
5.8	Pressão arterial e frequência cardíaca.....	69
6	DISCUSSÃO.....	74
	CONCLUSÕES.....	95
	REFERÊNCIAS.....	96
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	118
	APÊNDICE B – Ficha de seleção.....	119
	APÊNDICE C – Orientações pré-intervenção.....	120
	APÊNDICE D – Protocolo de acompanhamento.....	121
	ANEXO A – Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto.....	123
	ANEXO B – Questionário de frequência alimentar semi-quantitativo.....	126

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morte no mundo, perfazendo 30% das mortes globais, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2011). As intervenções nutricionais apresentam um importante papel na prevenção dessas doenças (Artinian et al., 2010). Os hábitos alimentares podem influenciar o risco cardiovascular, através de seus efeitos sobre fatores de risco para DCV tais como dislipidemia, hipertensão arterial, excesso de peso corporal e diabetes ou através de efeitos independentes desses fatores de risco. O impacto da dieta nas DCV pode ser investigado tanto avaliando nutrientes específicos quanto avaliando alimentos ou grupos de alimentos (European Heart Network, 2011; Perk et al., 2012). A composição nutricional de uma refeição, por exemplo, pode determinar as modificações metabólicas observadas no período pós-prandial, modulando a glicemia e a lipemia pós-prandiais (O'Keefe & Bell, 2007; Jackson et al., 2012). Em uma série de estudos epidemiológicos, tanto a hiperglicemia quanto a hipertrigliceridemia no período pós-prandial foram preditoras de risco para DCV (The DECODE Study Group, 2001; Nordestgaard et al., 2007; Sarwar et al., 2010; Lindman et al., 2010; Cavalot et al., 2011; Langsted et al., 2011).

Alguns estudos observacionais prospectivos, publicados nos últimos anos, sugerem que o consumo de cálcio dietético e/ou laticínios (principal fonte de cálcio dietético) apresenta associação inversa com risco de DCV (Elwood et al., 2010; Larsson et al., 2013; Kondo et al., 2013; Patterson et al., 2013; Hu et al., 2014; Chan et al., 2013; Qin et al., 2015; Alexander et al., 2016; de Goede et al., 2016). Os potenciais mecanismos responsáveis pela associação inversa entre cálcio dietético e risco de DCV não são totalmente conhecidos. Entretanto, existem evidências de que o cálcio e/ou laticínios podem apresentar efeitos benéficos sobre diferentes fatores de risco para DCV, incluindo resistência à insulina e/ou diabetes (Gao et al., 2013; O'Connor et al., 2014; Díaz-Lopez et al., 2016; Gijsbers et al., 2016), dislipidemia (Major et al., 2007; Lorenzen et al., 2011; Lorenzen et al., 2014) e hipertensão arterial (Ralston et al., 2012; Park & Cifelli, 2013; Wang et al., 2015). Esses potenciais efeitos benéficos do cálcio foram observados avaliando o metabolismo da glicose e dos lipídeos durante o período de jejum. Apenas um

número muito reduzido de estudos avaliou o efeito do cálcio dietético e/ou laticínios sobre a glicemia, a lipemia e a pressão arterial (PA) durante o período pós-prandial (Lorenzen et al., 2007; Van Meijl & Mensink, 2013; Ballard et al., 2013; Gonzalez & Stenvenson, 2014; Schmid et al., 2015).

Os desenhos desses estudos são extremamente variados e ainda não existe um consenso sobre os efeitos do cálcio dietético no período pós-prandial.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Cálcio dietético e risco de doenças cardiovasculares

Alguns estudos observacionais prospectivos, publicados nos últimos anos, sugerem que o consumo de cálcio dietético e/ou laticínios (principal fonte de cálcio dietético) apresenta associação inversa com risco de DCV, incluindo doença coronariana e principalmente acidente vascular encefálico (AVE), ou com risco de mortalidade por DCV ou por todas as causas (Umesawa et al., 2006; Elwood et al., 2008; Umesawa et al., 2008; van de Pols et al., 2009; Elwood et al., 2010; Kaluza et al., 2010; Soedamah-Muthu et al., 2011; Sonestedt et al., 2011; Li et al., 2012; Van Hemelrijck et al., 2013; Larsson et al., 2013; Kondo et al., 2013; Patterson et al., 2013; Hu et al., 2014; Chan et al., 2013; Qin et al. 2015; Alexander et al., 2016; de Goede et al., 2016).

Li et al (2012) avaliaram a associação da ingestão de cálcio com o risco de infarto agudo do miocárdio (IAM), AVE e mortalidade cardiovascular. Foram analisados os dados de 23.980 indivíduos que participaram do *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study* (EPIC-Heidelberg) com acompanhamento de 11 anos. O terceiro quartil em comparação com o menor quartil de ingestão de cálcio dietético total e de cálcio proveniente de laticínios apresentou risco de IAM significativamente menor com um *hazard ratio* (HR) de 0,69 [Intervalo de confiança (IC) 95% 0,50-0,94] e 0,68 (IC 95% 0,50-0,93), respectivamente.

Kondo et al (2013) avaliaram a associação entre consumo de leite e laticínios e morte por DCV no Japão. Homens e mulheres (n=9.243) com idade ≥ 30 anos foram acompanhados durante 24 anos. O risco de mortalidade foi avaliado de acordo com o tercil de ingestão de leite e laticínios, com o grupo de maior consumo utilizado como referência. Nas análises incluindo apenas as mulheres, o HR para morte por DCV, doença coronariana e AVE no grupo de menor consumo foi de 1,27 (IC 95% 0,99-1,58; p=0,045), 1,67 (IC 95% 0,99-2,80; p=0,02) e 1,34 (IC 95% 0,94-1,90; p=0,08), respectivamente.

Recentemente, Larsson et al (2013) realizaram uma meta-análise de estudos prospectivos com o objetivo de avaliar a associação entre ingestão de cálcio dietético e risco de AVE. Foram incluídos 11 estudos, totalizando 9.095 casos de AVE. Os resultados sugerem que a ingestão de cálcio pode estar inversamente associada com o risco de AVE em populações com baixa a moderada ingestão de cálcio (<700mg/dia) assim como em populações asiáticas. Em populações com baixa a moderada ingestão de cálcio, um aumento de 300mg/dia na ingestão de cálcio se associou com redução de 18% no risco de AVE.

Apesar dos estudos citados anteriormente sugerirem que o consumo de cálcio dietético e/ou laticínios pode auxiliar na redução do risco de DCV, até o presente momento ainda não existe um consenso sobre este assunto, pois em alguns estudos este fato não foi observado (Al-Delaimy et al., 2003; Marniemi et al., 2005; Michaëlsson et al., 2013; Xiao et al., 2013; Dalmeijer et al., 2013).

1.2 Cálcio dietético e fatores de risco para doença cardiovascular

Os possíveis mecanismos responsáveis pela associação inversa entre cálcio dietético e risco de DCV não são completamente conhecidos. Entretanto, existem evidências de que o cálcio e/ou laticínios podem apresentar efeitos benéficos sobre diferentes fatores de risco para DCV e/ou mecanismos responsáveis por esses fatores, incluindo resistência à insulina e/ou diabetes (Choi et al., 2005; Pittas et al., 2006; Pittas et al., 2007; Villegas et al., 2009; Fumeron et al., 2011; Ferreira et al., 2013; Aune et al., 2013; Gao et al., 2013; O'Connor et al., 2014; Díaz-Lopez et al., 2016; Gijsbers et al., 2016), dislipidemia (Jacqmain et al., 2003; Ditscheid et al., 2005; Major et al., 2007; Lorenzen et al., 2011; Lorenzen et al., 2014), hipertensão arterial (Griffith et al., 1999; Ruidavets et al., 2006; vanMierlo et al., 2006; Snijder et al., 2007; Wang et al., 2008; Engberink et al., 2009; Torres et al., 2010; Ralston et al., 2012; Park & Cifelli, 2013; Wang et al., 2015) e estresse oxidativo e inflamatório (Sun & Zemel, 2007; Zemel et al., 2010; Stancliffe et al., 2011; Ferreira et al., 2013).

A associação entre baixa ingestão de cálcio e/ou laticínios e aumento na prevalência de diabetes tipo 2 e/ou resistência à insulina foi encontrada em alguns estudos observacionais de coorte (Choi et al., 2005; Pittas et al., 2006; Pittas et al.,

2007; Villegas et al., 2009; Fumeron et al., 2011). Pittas et al (2006) acompanharam durante 20 anos 83.779 mulheres participantes do *Nurses' Health Study* e identificaram risco relativo para diabetes *mellitus* tipo 2 de 0,79 (IC 95% 0,70-0,90; $p < 0,001$) quando compararam a categoria de maior de ingestão de cálcio (dietético + suplementar) com a de menor ingestão. Apesar dos achados epidemiológicos, existem evidências limitadas sobre os efeitos da suplementação de cálcio sobre a sensibilidade à insulina (Pittas et al., 2007). O mecanismo pelo qual o cálcio pode modular a resistência à insulina não é conhecido (Torres & Sanjuliani, 2012). Existem evidências de que a baixa ingestão de cálcio pode aumentar a concentração intracelular de cálcio em adipócitos e outras células alvo da insulina, resultando em resistência à insulina via fosforilação da proteína transportadora de glicose 4 (GLUT 4) e de outros substratos sensíveis a insulina (Zemel, 1995).

A insulina é o principal hormônio hipoglicemiante do organismo humano, limitando a elevação da glicemia em condições normais (Gilon et al., 2014). Acredita-se que alterações no fluxo de cálcio nas células β pancreáticas pode prejudicar a secreção de insulina, pois a secreção deste hormônio é dependente de cálcio (Pittas et al., 2007; Gilon et al., 2014). Segundo Pittas et al (2007) a ingestão inadequada de cálcio pode alterar o equilíbrio intra e extracelular de cálcio nas células β pancreáticas interferindo na secreção de insulina frente a uma sobrecarga de glicose.

Existem evidências de que a ingestão de cálcio também pode interferir na sensibilidade à insulina através de modificações na concentração intracelular de cálcio (Sánchez et al., 1997; Pikilidou et al., 2009). Dietas com baixo teor de cálcio reduzem a concentração sérica deste mineral, estimulando a liberação do hormônio da paratireóide (PTH) e conseqüentemente favorecendo a formação do metabólito ativo da vitamina D, a 1,25 dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D] (Teegarden, 2005). Estudos sugerem que o PTH e principalmente a 1,25(OH)₂D podem aumentar o fluxo de cálcio em diferentes tipos celulares podendo, por exemplo, elevar a concentração intracelular de cálcio nas células alvo da insulina como os adipócitos e células musculares (Zemel et al., 2000; Zemel, 2004).

Segundo Pittas et al (2007) mudanças na concentração intracelular de cálcio 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 concentração de cálcio intracelular e a resistência à insulina (Draznin et al., 1987; Draznin et al., 1988; Tsuda et al., 2000; Sela et al., 2002). Ainda nas décadas de 80 e 90, Draznin *et al* (1987) demonstraram que a concentração aumentada de cálcio intracelular pode comprometer o transporte de glicose mediado pela insulina.

Os efeitos do cálcio sobre o perfil lipídico ainda não foram elucidados. Alguns estudos usando cálcio dietético ou suplementar observaram reduções significativas no colesterol total e no colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL) ou aumento no colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL) (Ditscheid et al., 2005; Major et al., 2007; Lorenzen et al., 2011; Ferreira et al., 2013; Lorenzen et al., 2014), enquanto outros estudos não encontraram tais benefícios (Reid et al., 2010; Rajpathak et al., 2010). A possível ação do cálcio sobre a redução do LDL-colesterol pode ser explicada pela sua ligação com ácidos graxos no intestino (saponificação) reduzindo a absorção intestinal de lipídeos (Ditscheid et al., 2005; Lorenzen et al., 2011). O cálcio também pode se ligar a sais biliares, aumentando sua excreção fecal e favorecendo a conversão de colesterol em ácidos biliares (Vaskonen et al., 2003).

Diversos estudos epidemiológicos observaram relação inversa entre ingestão de cálcio e/ou laticínios e PA (Ruidavets et al., 2006; Snijder et al., 2007; Wang et al., 2008; Engberink et al., 2009; Ralston et al., 2012; Wang et al., 2015). Os ensaios clínicos randomizados que avaliaram os efeitos da suplementação de cálcio identificaram uma redução modesta da PA (Griffith et al., 1999; vanMierlo et al., 2006; Torres et al., 2010). VanMierlo 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 (1) indivíduos consumindo regularmente pequenas quantidades de cálcio (vanMierlo et al., 2006); (2) indivíduos hipertensos ou em grupos com elevado risco de desenvolvimento de hipertensão, como indivíduos sensíveis ao sal e mulheres grávidas (Miller et al., 2000); e (3) estudos usando cálcio dietético ao invés do suplementar (Griffith et al., 1999). O efeito protetor do cálcio sobre a PA pode ser parcialmente explicado pela influencia sobre a concentração intracelular de cálcio. Uma dieta pobre em cálcio pode aumentar a concentração

intracelular de cálcio nas células do músculo liso vascular, resultando em vasoconstrição e consequente aumento da PA (Zemel, 2001).

Os resultados de alguns estudos observacionais e de intervenção sugerem que a ingestão de cálcio pode facilitar a supressão do estado inflamatório e do estresse oxidativo (Sun & Zemel, 2007; Zemel et al., 2010; Panagiotakos et al., 2010; Esmailzadeh et al., 2010; Stancliffe et al., 2011; Ferreira et al., 2013). Zemel et al (2010) conduziram um estudo para avaliar os efeitos agudos de uma dieta rica em laticínios sobre o estresse oxidativo e estado inflamatório em indivíduos com excesso de peso corporal. Neste estudo randomizado e cruzado, dietas normocalóricas foram suplementadas com laticínios ou soja durante 2 períodos de 28 dias, separados por um *washout* de 28 dias. A dieta suplementada com laticínios resultou em supressão significativa do estresse oxidativo e valores mais baixos de marcadores inflamatórios, enquanto a soja não exerceu efeito significativo. Por outro lado, este efeito benéfico do cálcio dietético e/ou laticínios sobre biomarcadores inflamatórios não foi observado em alguns estudos (Wennersberg et al., 2009; van Meijl et al., 2010; Van Loan et al., 2011; Torres et al., 2013). Uma meta-análise e uma revisão sistemática de estudos randomizados, publicadas recentemente concluíram que a ingestão de laticínios não apresenta efeitos significativos sobre marcadores inflamatórios (Benatar et al., 2013; Labonté et al., 2013).

A quase totalidade dos estudos citados anteriormente avaliou o perfil metabólico, a PA e o estado inflamatório durante o período de jejum. Desta forma, atualmente, praticamente todas as evidências disponíveis dos efeitos do cálcio dietético sobre os diferentes fatores de risco para DCV não foram obtidas no período pós-prandial. No entanto, nos últimos anos, tem se valorizado cada vez mais a avaliação desses fatores de risco no estado pós-prandial, uma vez que tem havido uma crescente conscientização sobre a importância desse período no desenvolvimento das DCV (Lambert & Parks, 2012). Os possíveis efeitos do cálcio dietético sobre diferentes fatores de risco para DCV precisam ser avaliados no período pós-prandial, pois de acordo com os possíveis mecanismos de ação do cálcio sobre os fatores de risco para DCV (descritos anteriormente) existe a possibilidade de efeitos benéficos neste período.

1.3 Dismetabolismo pós-prandial

A maior parte dos indivíduos ingere refeições de forma regular durante todo o dia com intervalos não superiores a 6h, além disto, a maioria das pessoas ainda ingere lanches entre as refeições. Sendo assim, 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. As únicas exceções são as poucas horas pela manhã antes do desjejum (O'Keefe & Bell, 2007; Nordestgaard et al., 2009; Jackson et al., 2012; Nakamura et al., 2016). O estado pós-prandial quando caracterizado por elevação anormal dos níveis séricos de glicose e lipídeos, pode ser denominado de dismetabolismo pós-prandial, sendo considerado um preditor independente de eventos cardiovasculares futuros (Tushuizen et al., 2005; O'Keefe & Bell, 2007; Garber, 2012; Ceriello & Genovese, 2016).

No final da década de 1970, um artigo de revisão escrito por Zilversmit sugeriu que a aterosclerose pode ser considerada um fenômeno pós-prandial (Zilversmit, 1979). Desde então, estudos indicam uma relação entre dismetabolismo pós-prandial, especialmente a hiperglicemia e a hipertrigliceridemia, e o risco de DCV (Haffner, 1998; Karpe, 1999; Ceriello, 2000; Eberly et al., 2003; Bansal et al., 2007; Nordestgaard et al., 2007, Mora et al., 2008; Pirillo et al., 2014). A elevação dos valores séricos de glicose e triglicérides (TG) pode desencadear uma série de processos pró-ateroscleróticos e pró-trombóticos, incluindo estresse oxidativo, disfunção endotelial, inflamação, hipercoagulabilidade e ativação simpática (O'Keefe et al., 2008; Ceriello & Genovese, 2016). Quando a hiperglicemia e a hiperlipidemia pós-prandial coexistem, os efeitos sobre os marcadores de disfunção endotelial são mais pronunciados. A hipótese do dismetabolismo pós-prandial foi reforçada por estudos de intervenção que demonstraram que a redução dos picos pós-prandiais de glicemia e lipemia pode melhorar a inflamação e a função endotelial (O'Keefe & Bell, 2007; Garber, 2012).

1.3.1 Hiperglicemia pós-prandial e risco de doença cardiovascular

A glicemia pós-prandial se eleva em estágio mais precoce do que a glicemia de jejum à medida que os indivíduos progredem para o diabetes (Gerich, 2003). A tolerância à glicose diminuída é definida como uma condição na qual os níveis séricos de glicose 2h 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 (*American Diabetes Association (ADA), 2014*).

Em indivíduos não diabéticos, as células beta pancreáticas liberam uma quantidade relativamente constante de insulina durante o jejum, além de liberar uma quantidade maior de insulina em resposta ao consumo de alimentos. Após a ingestão alimentar, a elevação nos níveis plasmáticos de glicose e a liberação de insulina inibem a secreção de glucagon; juntos, esses fatores suprimem a liberação de glicose na circulação pelo fígado e pelo rim e promovem a captação de glicose em vários tecidos. Em pessoas com hiperglicemia pós-prandial, a liberação precoce de insulina após a ingestão de alimentos está reduzida e existe menor inibição da secreção de glucagon, resultando em supressão inadequada da produção de glicose pelo fígado e pelo rim e captação insuficiente de glicose pelos tecidos periféricos, com consequente hiperglicemia (Gerich, 2013). A associação entre hiperglicemia e DCV já está bem estabelecida e ocorre mesmo abaixo dos pontos de corte para diabetes, pois o risco de DCV está aumentado mesmo quando a glicemia está apenas minimamente elevada. Tanto a hiperglicemia pós-prandial quanto a de jejum têm sido associadas com maior risco cardiovascular (Garber, 2012). Em uma série de estudos epidemiológicos, a glicemia pós-prandial ou glicemia pós-TOTG, foi preditora de risco para DCV (sendo melhor preditora do que a glicemia de jejum em alguns estudos) tanto em indivíduos não-diabéticos quanto em diabéticos (Donahue et al., 1987; Lowe et al., 1997; Coutinho et al., 1999; The DECODE Study Group, 1999; Tominaga et al., 1999; de Vegt et al., 1999; Saydah et al., 2001; The DECODE Study Group, 2001; Qiao et al., 2002; Meigs et al., 2002; Cavalot et al., 2006; Lin et al., 2009; Sarwar et al., 2010; Cavalot et al., 2011).

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 com acompanhamento médio de 7,3 anos.

Posteriormente, esse mesmo grupo comparou a glicemia de jejum com a glicemia 2h após o TOTG com relação a predição de risco de mortalidade. No total, 15.388 homens e 7.126 mulheres com idade entre 30-89 anos, participantes de 10 estudos europeus de coorte prospectivos, foram acompanhados em média durante 8,8 anos. As análises de regressão multivariada mostraram que a adição da glicemia 2h pós – TOTG, aos critérios que avaliam somente níveis de glicose em jejum, melhorou significativamente a predição para risco de morte por todas as causas ($p < 0,001$) e por DCV ($p < 0,005$). Os autores consideraram a avaliação da glicemia 2h pós-TOTG como um melhor preditor de mortes por todas as causas e por DCV do que em jejum (*DECODE Study group, 2001*).

Na meta-análise realizada por Coutinho et al (1999) foram incluídos 20 estudos que relatavam: glicemia de jejum, 2h 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.

Tradicionalmente diversos estudos utilizaram o TOTG para obtenção dos níveis de glicose pós-prandial. No entanto, evidências indicam que a glicose pós-prandial obtida após uma refeição mista pode refletir melhor as respostas fisiológicas de alterações da glicose do que o TOTG (Vollmer et al., 2008; Rijkkelijkhuizen et al., 2009). O estudo de coorte de Rijkkelijkhuizen 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 75 g de carboidratos e ao teste de tolerância a refeição, que era composta por: 75 g de carboidratos, 50g de gordura e 24 g 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.

1.3.1.1 Mecanismo de ação

Um dos mecanismos propostos para o aumento no risco de DCV associado a elevação da glicemia é o aumento no estresse oxidativo que ocorre após o consumo de refeições que induzem hiperglicemia. O estresse oxidativo é diretamente proporcional ao aumento 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; Ceriello & Genovese, 2016).

A disfunção endotelial desempenha um importante papel no desenvolvimento da aterosclerose e pode ser avaliada pela medida da dilatação fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial durante a hiperemia reativa (Widlansky et al., 2003; Esper et al., 2006; Suzuki et al., 2012). Já foi demonstrado que a atenuação da FMD da artéria braquial pode ser induzida pela hiperglicemia pós-prandial em indivíduos com tolerância normal à glicose, em pré-diabéticos e em diabéticos. Nesses estudos a FMD se correlaciona negativamente com a glicemia após a sobrecarga de glicose (Kawano et al., 1999; Title et al., 2000; Xiang et al., 2008a; Xiang et al., 2008b; Lavi, 2009; Watanabe et al., 2011; Suzuki et al., 2012; Loader et al., 2015).

Suzuki et al (2012) avaliaram as modificações na FMD da artéria braquial induzidas pela hiperglicemia e hiperinsulinemia após a ingestão de refeições com diferentes teores de carboidratos em indivíduos não diabéticos. Os participantes foram divididos em 3 grupos de acordo com a ingestão de carboidratos: refeição teste (carboidratos = 40,7 g; kcal = 400; n=12); sobrecarga oral de glicose

(carboidratos = 75 g; kcal= 300; n=14); e grupo controle (jejum; n=11). A FMD foi avaliada antes da sobrecarga de glicose (FMD0) e em 60 minutos (FMD60) e 120 minutos (FMD120) após sobrecarga de glicose. O percentual de redução da FMD0 para FMD60 foi significativamente maior após a refeição teste (-21,19% \pm 17,90%) e a sobrecarga oral de glicose (-17,59% \pm 26,64%) em comparação com o grupo controle (6,46% \pm 9,17%).

Existem evidências de que a hiperglicemia aguda induz hipercoagulabilidade através da ativação plaquetária e de modificações em vários fatores envolvidos na cascata de coagulação favorecendo a formação de trombos (Ceriello, 2004; Garber, 2012). Gresele et al (2003) avaliaram apenas indivíduos com diabetes *mellitus* tipo 2 e observaram que a ativação plaquetária estava significativamente aumentada na presença de hiperglicemia.

Já foi demonstrado que a hiperglicemia aguda tanto em indivíduos saudáveis como em indivíduos com diabetes é capaz de elevar os níveis circulantes da molécula de adesão intercelular -1 (ICAM-1) (Ceriello et al., 1998; Marfella et al., 2000). As moléculas de adesão regulam a interação entre o endotélio e os leucócitos. Elas participam do processo de aterogênese, pois o aumento na sua expressão indica aumento na adesão de leucócitos (em especial monócitos) ao endotélio e consequente inflamação vascular. Este é um dos estágios precoces da aterogênese (Deanfield et al., 2007; Burger & Touyz, 2012; Xavier et al., 2013).

A inflamação desempenha um importante papel no desenvolvimento da aterosclerose, pois as citocinas inflamatórias podem induzir disfunção endotelial (Bhagat & Vallance, 1997; Burger & Touyz, 2012). A hiperglicemia aguda pode aumentar os níveis plasmáticos de citocinas (Esposito et al., 2002). Festa et al (2002) observaram que os níveis séricos de proteína C-reativa ultra-sensível (PCR-us) se associam diretamente com a glicemia 2 h após o TOTG em indivíduos com tolerância à glicose diminuída.

1.3.2 Dislipidemia pós-prandial e risco de doença cardiovascular

O termo lipemia pós-prandial se refere as modificações dinâmicas nos lipídeos e lipoproteínas séricas que ocorrem após uma refeição ou uma sobrecarga de lipídeos. Essas modificações refletem principalmente elevações nos TG séricos (Bravo et al., 2010; Kolovou & Ooi, 2013; Botham & Wheeler-Jones, 2013).

As diretrizes para tratamento de dislipidemias em geral recomendam que a coleta de sangue para a determinação dos lipídeos séricos seja realizada após um período de 8 - 12h de jejum (European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, 2011; Xavier et al., 2013). Desta forma, tradicionalmente, os TG são avaliados em jejum (após 8 – 12 h de jejum). Existem 2 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 através da fórmula de Friedewald (Kolovou et al., 2011).

Por outro lado, uma medida de TG fora do período de jejum pode ser considerada quando obtida a qualquer momento dentro de até 8h após uma refeição normal. Já a medida pós-prandial dos TG pode ser definida como a obtida a qualquer período de tempo dentro de até 8 h após uma refeição teste padronizada ou um teste de tolerância aos lipídeos (Kolovou et al., 2011; Nordestgaard et al., 2011).

Refeições contendo um teor de lipídeos > 30 g causam elevação significativa da lipemia pós-prandial, que é dose-dependente, até aproximadamente 80g. Considerando-se que o conteúdo médio de lipídeos em refeições ocidentais é de 20 – 40g 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; Jackson et al., 2012; Botham & Wheeler-Jones, 2013). Após um teste oral de tolerância aos lipídeos, no qual em geral são ingeridos 1g de lipídeos/kg peso corporal ou 75 g de lipídeos, o aumento médio nos TG séricos é de 89 - 178 mg/dL (1 – 2 mmol/L). 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, já foi proposto por Kolovou et al (2011) que os níveis desejáveis de TG fora do período de jejum devem ser < 180 mg/dL. Os valores mais elevados de TG após uma refeição ocorrem cerca de 3 a 4 h após o início da refeição (Borén et al., 2014)

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 lipídeos 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). Estudos epidemiológicos prospectivos sugerem que a avaliação dos TG fora do período de jejum pode predizer o risco de ocorrência de DVC de maneira superior ou semelhante à avaliação feita no período de jejum (Eberly et al., 2003; Bansal et al., 2007; Mora et al., 2008).

No *Women's Health Study*, um estudo de coorte prospectivo, foram avaliadas inicialmente 26.509 mulheres norte-americanas saudáveis (20.118 em jejum e 6.391 fora do período de jejum) sendo acompanhadas por um período médio de 11,4 anos. Após ajustes para idade, PA, tabagismo e uso de terapia hormonal, tanto os níveis de TG em jejum, quanto fora do período de jejum, foram preditores de eventos cardiovasculares. Dentre as participantes em jejum, ajustes adicionais para colesterol total, HDL-colesterol e resistência à insulina enfraqueceram a associação: HR para tercis crescentes de TG séricos: 1 (referência), 1,21 (IC 95% 0,96-1,520 e 1,09 (IC 95% 0,85-1,41) ($p=0,90$ para a tendência). Em contraste, os níveis de TG fora de jejum mantiveram uma forte associação independente com eventos cardiovasculares em modelos completamente ajustados, sendo o HR para tercis crescentes: 1 (referência), 1,44 (IC 95% 0,90-2,29) e 1,98 (IC 95% 1,21-3,25) ($p=0,006$ para a tendência). Em análises secundárias estratificadas pelo tempo desde a última refeição dos participantes, os níveis de TG avaliados 2 a 4h após a

última refeição, tiveram associação mais consistente com eventos cardiovasculares, HR completamente ajustado para o maior vs. o menor tercil dos níveis de TG: 4,48 (IC 95% 1,98-10,15) ($p < 0,01$ para a tendência). Esta associação reduziu progressivamente com períodos de jejum mais longos (Bansal et al., 2007).

Alguns estudos prospectivos avaliaram especificamente a relação entre níveis séricos de TG fora do período de jejum e risco de DCV, sem comparar com os valores em jejum. Esses estudos também observaram que níveis séricos elevados de TG fora do jejum se associam com maior risco de AVE isquêmico (Freiberg et al., 2008; Varbo et al., 2011), IAM, doença coronariana isquêmica e mortalidade (Nordestgaard et al., 2007; Langsted et al., 2008; Langsted et al., 2011; Lindman et al., 2010). No estudo epidemiológico prospectivo *Copenhagen City Heart Study* (Nordestgaard et al., 2007), 7.587 mulheres e 6394 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.

Freiber et al (2008) também analisaram os dados do *Copenhagen City Heart Study*, porém com o objetivo de avaliar a associação entre TG fora do período de jejum e o risco de AVE isquêmico. A incidência cumulativa de AVE isquêmico aumentou com valores crescentes de TG fora do período de jejum tanto em homens quanto em mulheres ($p < 0,001$ para a tendência). Nos homens, comparando-se com os indivíduos com valores de TG < 89 mg/dL, o HR de AVE isquêmico, para os indivíduos que possuíam valores de 89 até 176mg/dL foi de 1,3 (IC 95% 0,8-1,9); para 177 a 256 mg/dL foi de 1,6 (IC 95% 1,0-2,5); para 266 a 353 mg/dL foi de 1,5 (IC 95% 0,9-2,7); para 354 a 442 mg/dL foi de 2,2 (IC 95% 1,1-4,2); e para ≥ 443 mg/dl 2,5 (IC 95% 1,3-4,8) ($p < 0,001$ para a tendência). Os valores correspondentes em mulheres foram 1,3 (IC 95% 0,9-1,7); 2,0 (IC 95% 1,3-2,9); 1,4 (IC 95% 0,7-2,9); 2,5 (IC 95% 1,0-6,4); e 3,8 (IC 95% 1,3-11) ($p < 0,001$ para a tendência). Lindman et al (2010) avaliaram os dados de 86.261 participantes do *Norwegian Counties Study*, um estudo prospectivo realizado entre 1974 - 2007. Os resultados demonstraram

que os níveis de TG fora do período de jejum estão associados com aumento de risco de morte por DCV, tanto em homens como em mulheres. Entretanto, após ajustes para colesterol, PA sistólica e tabagismo, e em uma subamostra também para HDL-colesterol, as associações foram atenuadas. Após ajuste para o escore de risco de Framingham, a associação positiva entre TG fora do período de jejum e risco de mortalidade deixou de ser significativa.

1.3.2.1 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). Os TG são carregados nas lipoproteínas ricas em TG que são os quilomícrons (QM) e as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) que são sintetizadas no intestino e no fígado, respectivamente (Borén et al., 2014). Os TG representam a maior parte das gorduras dietéticas e após ingestão, são parcialmente hidrolisados pela lipase pancreática e emulsificados pelos sais biliares, sendo absorvidos pelas células intestinais onde são novamente sintetizados e incorporados nos QM. Os QM são grandes lipoproteínas ricas em TG de origem dietética, que são secretados no sistema linfático e alcançam circulação sanguínea via ducto torácico. Enquanto circulam, seus TG são removidos nos tecidos periféricos pela ação da lipase lipoprotéica (LPL) permitindo o fornecimento de ácidos graxos para o músculo e para o tecido adiposo. À medida que os TG são removidos, os QM se transformam em remanescentes de QM, que são menores, apresentam maior densidade e são enriquecidos em ésteres de colesterol. Os QM remanescentes são removidos da circulação pelo fígado. No fígado, os TG provenientes dos QM remanescentes tanto podem ser utilizados, como podem retornar ao sangue incorporados em uma outra lipoproteína, a 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 LPL

formando os remanescentes de VLDL. Os remanescentes de QM e de VLDL em comparação com as partículas das quais se originaram (QM e VLDL respectivamente) são menores, depletados em TG e enriquecidos em ésteres de colesterol (Borén et al., 2014; Botham & Wheeler-Jones, 2013; Klop et al., 2012; Yu & Cooper, 2001; Xavier et al., 2013; Kolovou & Ooi, 2013).

Cada lipoproteína rica em TG contém uma molécula de apolipoproteína (apo) B. A apo B existe em 2 formas apo B100 e apoB48, que são codificadas pelo mesmo gene. A apo B48 corresponde a 48% da sequência aminoterminal da apo B100 e é formada no intestino, estando presente nos QM e nos remanescentes de QM. Enquanto as VLDL e seus remanescentes contém a apo B100 (Olofsson & Borén, 2005; Xavier et al., 2013; Botham & Wheeler-Jones, 2013).

Os níveis séricos das lipoproteínas ricas em lipídeos aumentam no período pós-prandial e um retardo no seu clareamento resulta na hiperlipidemia (ou dislipidemia) pós-prandial. Níveis elevados de TG no período pós-prandial indicam a presença de remanescentes de lipoproteínas ricas em TG. Durante muitos anos, os QM e os remanescentes de QM foram considerados os principais responsáveis pela hiperlipidemia pós-prandial (Borén et al., 2014). Entretanto, foi demonstrado nas duas últimas décadas que o maior aumento nas lipoproteínas no período pós-prandial ocorre nos remanescentes de VLDL (partículas contendo apoB100) e não nos QM e remanescentes de QM (partículas contendo apoB48). A quantidade de partículas contendo apo B48 nos remanescentes encontrados no período pós-prandial é bem menor do que de partículas contendo apo B100. O tamanho das partículas remanescentes com apoB48 e apo B100 no pós-prandial é similar. Além disto, QM e remanescentes de QM contendo grandes quantidades de TG não foram observados no período pós-prandial (Nakajima et al., 2011). As partículas contendo apo B48 e apo B100 são clareadas da circulação por vias comuns e competem pelo clareamento. Portanto, a maior proporção dos TG que está aumentada no estado pós-prandial é composta por remanescentes de VLDL. Aproximadamente 80% do aumento no número de partículas é devido as partículas de VLDL. A secreção aumentada de VLDL pelo fígado é um importante preditor de acúmulo pós-prandial de QM e remanescentes de QM (Nakajima et al., 2011; Jackson et al., 2012; Borén et al., 2014).

As partículas de VLDL e QM são muito grandes para penetrar na parede arterial, porém os remanescentes dessas lipoproteínas são bem menores, enriquecidos em colesterol, e podem entrar na camada íntima da parede arterial e se ligar aos proteoglicanos da parede da artéria (Borén et al., 2014; Kolovou & Ooi, 2013). Os remanescentes também podem estar envolvidos no desenvolvimento de DCV por outras vias.

Níveis séricos elevados de lipoproteínas ricas em TG promovem modificações pró-aterogênicas na LDL e na HDL. Os QM, as VLDL e seus remanescentes favorecem a transferência de TG das lipoproteínas ricas em TG para a HDL e para a LDL, e a consequente transferência de ésteres de colesterol da HDL e da LDL para as lipoproteínas ricas em TG através da proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP). As lipoproteínas ricas em TG quando enriquecidas com colesterol podem ser captadas pela parede arterial. Enquanto as partículas de HDL e LDL quando enriquecidas em TG apresentam maior afinidade pela LPL e pela lipase hepática, resultando em: 1) partículas de LDL menores e mais densas, que são mais aterogênicas que as partículas de LDL nativas; e 2) partículas de HDL que são mais rapidamente catabolizadas, levando a níveis séricos mais baixos de HDL (Jackson et al., 2012; Kolovou & Ooi, 2013; Borén et al., 2014).

Já foi demonstrado que a hipertrigliceridemia favorece a coagulação através de níveis elevados de fibrinogênio e fatores de coagulação VII e XII e prejuízo na fibrinólise através do aumento dos níveis do inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) (Kolovou & Ooi, 2013).

Existem evidências de que as lipoproteínas ricas em TG podem promover um estado vascular pró-inflamatório, provavelmente induzido pelos produtos lipolíticos dessas lipoproteínas. Dois mecanismos principais ligam a lipólise das lipoproteínas ricas em TG com a inflamação vascular. O primeiro é a que lipólise forma partículas remanescentes parcialmente hidrolisadas que apresentam maior capacidade de entrar na parede vascular do que as partículas ricas em TG nativas (conforme já mencionado anteriormente), a taxa de egresso é substancialmente menor do que a taxa de entrada, e contém 5 – 20 vezes mais colesterol do que as partículas de LDL. Além disto, os remanescentes não requerem oxidação ou outras modificações para serem fagocitados pelos macrófagos, favorecendo a formação das células espumosas. O segundo mecanismo é que os ácidos graxos saturados e os

fosfolipídeos oxidados induzem inflamação por ativação de receptores *Toll-like* do sistema imune inato, via estresse oxidativo, ou por maior amplificação de sinais pró-inflamatórios pré-existentes, via proteína quinase ativada por mitógeno (Schwartz & Reaven, 2012).

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), da ICAM-1 (Rubin et al., 2008; Sun et al., 2012) e da proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1). 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; Dekker et al., 2009).

Os níveis séricos elevados das lipoproteínas ricas em TG no período pós-prandial podem induzir disfunção endotelial, tal como prejuízo na vasodilatação fluxo mediada (Vogel et al., 1997; Bae et al., 2001). O mecanismo responsável por este efeito provavelmente é o aumento no estresse oxidativo e redução na produção de óxido nítrico (Zheng & Liu, 2007; Dalla-Riva et al., 2010; Ceriello & Genovese, 2016).

Alguns estudos avaliaram os efeitos de refeições hiperlipídicas sobre a PA no período pós-prandial e observaram elevação significativa da PA sistólica e da diastólica (Jakulj et al., 2007; Lithander et al., 2013; Esser et al., 2013). No estudo conduzido por Jakulj et al (2007), os participantes saudáveis e normotensos consumiram 2 refeições isocalóricas: refeição rica em gordura (42g) e refeição com baixo teor de gordura (1 g), em 2 ocasiões distintas. Após o consumo da refeição rica em gordura em comparação à refeição de baixo teor de gordura houve elevação significativamente maior da PA sistólica ($p < 0,05$), PA diastólica ($p < 0,01$) e da resistência total periférica ($p = 0,05$).

1.4 Obesidade e período pós-prandial

Atualmente, a obesidade é considerada uma epidemia global ocorrendo em praticamente todas as faixas etárias e grupos socioeconômicos (WHO, 2003; Ng et

al., 2014). No Brasil, assim como no mundo, a prevalência de obesidade e sobrepeso aumentou nas últimas décadas, sendo considerada um problema de saúde pública. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 49% dos adultos de ambos os sexos encontram-se com sobrepeso [índice de massa corporal (IMC) ≥ 25 kg/m²] e 14,8% com obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²) (IBGE, 2010).

Evidências consistentes confirmam o papel da obesidade na patogênese e progressão das DCV (Lavie et al., 2009; Després, 2012; Piepoli et al., 2016). Recentemente, uma análise de 57 estudos prospectivos encontrou que, para cada 5 kg/m² de aumento no IMC, houve um aumento da mortalidade por todas as causas em 30%; da mortalidade por DCV em 40% (Prospective Studies Collaboration, 2009). A adiposidade corporal excessiva está associada com uma série de fatores de risco para DCV incluindo hiperglicemia, dislipidemia, hipertensão arterial, estado inflamatório de baixo grau e disfunção endotelial. Um dos mecanismos pelos quais a obesidade, principalmente a obesidade visceral, pode favorecer a ocorrência desses fatores de risco para DCV é através do desenvolvimento da resistência à insulina (Belfiore et al., 2001; Kahn et al., 2003; Després, 2012; Schmidt & Bergstrom, 2012)

Em relação ao metabolismo pós-prandial, achados recentes apontam que indivíduos obesos apresentam elevação exagerada e prolongada dos níveis de TG, ácidos graxos livres, glicose e insulina após a ingestão de uma refeição com alto teor de lipídeos e carboidratos, quando comparados à indivíduos saudáveis, caracterizando um dismetabolismo pós-prandial (Gill, 2004; van Genugten, 2013; Maranhão et al, 2014). 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; Mangat et al., 2007; Palanivel et al., 2006; Bullo et al., 2002; Bloomer & Fisher-Wellman, 2009).

1.5 Intervenções nutricionais e metabolismo pós-prandial

Estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que uma dieta composta por alimentos minimamente processados, ricos em fibras e alimentos com baixo índice glicêmico, como vegetais, frutas, grãos integrais, leguminosas e nozes atenuam o aumento pós-prandial da glicose e dos TG. Além disso, a restrição de calorias, perda de peso, atividade física moderada, além do consumo de alimentos proteicos com baixo teor de gordura, óleo de peixe e certos tipos de chá parecem impactar positivamente no dismetabolismo pós-prandial (O'Keefe & Bell, 2007).

Em contrapartida, evidências apontam que dietas com alto teor energético, ricas em gordura saturada, carboidratos, alimentos processados e bebidas ricas em carboidratos rapidamente absorvíveis podem favorecer a elevação pós-prandial exagerada nos níveis séricos de glicose e TG (O'Keefe & Bell, 2007; Lopez-Miranda et al., 2007). Além disso, diversos estudos indicam que uma única refeição com alto teor de gordura saturada, mesmo em indivíduos saudáveis, leva ao aumento exacerbado dos níveis de TG, estresse oxidativo, reatividade cardiovascular, inflamação, disfunção endotelial, além de alterações da PA no período pós-prandial (Vogel et al., 1997; Blum et al., 2006; Jakulj et al., 2007; Uetani et al., 2012).

1.6 Cálcio dietético e dismetabolismo pós-prandial

Conforme citado anteriormente, embora estudos observacionais indiquem associação inversa entre o consumo de cálcio dietético (e/ou laticínios) e o risco de DCV (Larsson et al., 2013; Kondo et al., 2013; Patterson et al., 2013), um número reduzido desses estudos avaliou os efeitos sobre fatores de risco para DCV no período pós-prandial (Cummings et al., 2006; Lorenzen et al., 2007; Van Meijl & Mensink, 2013; Ballard et al., 2013; Gonzalez & Stenvenson, 2014; Schmid et al., 2015; Alba et al., 2016; Stanhewicz et al., 2016).

Lorenzen et al (2007) avaliaram os efeitos de uma refeição rica em cálcio dietético sobre a lipemia pós-prandial. Foram testadas quatro refeições isocalóricas

em 18 indivíduos em um desenho randomizado e cruzado. As refeições teste eram: rica em cálcio dietético, moderada em cálcio dietético, pobre em cálcio dietético e rica em cálcio suplementar (carbonato de cálcio). 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 ~17% menor ($p=0,02$) e após a refeição rica em cálcio dietético foi ~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.

Van Meijl & Mensink (2013), investigaram os efeitos do consumo do leite, juntamente com uma refeição hiperlipídica na glicemia e na lipemia pós-prandial em 17 homens com excesso de peso corporal. Os resultados sugeriram que a ingestão de leite com uma refeição hiperlipídica pode atenuar os picos glicêmicos.

Em outro estudo, Gonzalez & Stevenson (2014), avaliaram em dez indivíduos saudáveis o impacto da co-ingestão de cálcio nas concentrações pós-prandiais do peptídeo insulínico dependente de glicose [GIP(1-42)], peptídeo similar ao glucagon 1 (GLP-1), insulina, na sensação de apetite e no metabolismo dos substratos. Foram testadas duas refeições isocalóricas e equivalentes em macronutrientes: refeição controle (3mg cálcio/kg de massa corporal) e refeição rica em cálcio (15 mg de cálcio/kg de massa corporal). A refeição rica em cálcio aumentou a AUC do (GIP 1-42) em 47% ($p<0,05$) e aumentou em 22% da AUC do GLP-1 ($p<0,05$). Além disso, houve um aumento de 19% de insulina ($p<0,05$) nos 120 minutos após o consumo, além de ter suprimido temporariamente as sensações de apetite em 12% ($p=0,034$). No entanto, nenhuma diferença significativa foi observada no metabolismo dos lipídeos e carboidratos.

Recentemente, o estudo de Ballard et al (2013) avaliou a influência da ingestão aguda do leite com pouca gordura na função endotelial em indivíduos obesos com síndrome metabólica. Neste estudo randomizado, duplo cego e cruzado 21 indivíduos receberam em duas visitas distintas: leite desnatado (475 ml) ou uma bebida isocalórica de leite de arroz. Foram avaliados: FMD da artéria braquial, glicemia; malondialdeído (MDA), arginina e dimetilarginina assimétrica (ADMA), a cada 30 minutos durante um período de 3h após a ingestão das bebidas. A FMD pós-prandial não foi afetada pela ingestão de leite desnatado, porém foi reduzida de

forma significativa após a ingestão do leite de arroz ($p < 0,01$) de $6,2 \pm 0,8\%$ (valores iniciais) para $3,3 \pm 0,7\%$ (30 minutos após ingestão) e $3,9 \pm 0,6\%$ (60 minutos após ingestão). Além disso, a glicemia e o MDA apresentaram aumento significativamente maior após o consumo do leite de arroz em comparação com o consumo do leite com baixo teor de gordura ($p < 0,001$). A AUC de 3h pós-prandiais do MDA, foi diretamente correlacionada com a AUC de 3h da glicose ($r = 0,75$, $p < 0,01$) e inversamente relacionado a AUC de 3h da FMD ($r = -0,59$, $p < 0,01$). A partir desses resultados, os autores sugeriram que a ingestão aguda de leite com baixo teor de gordura é capaz de preservar a função endotelial em indivíduos com síndrome metabólica através da diminuição da hiperglicemia pós-prandial e consequentemente redução do estresse oxidativo.

Apesar dos estudos citados anteriormente, dentro do nosso conhecimento, não existem mais estudos publicados avaliando os efeitos do cálcio dietético e/ou laticínios durante o período pós-prandial sobre glicemia, lipemia, inflamação, função vascular e PA não havendo, portanto, um consenso sobre seus efeitos.

2. JUSTIFICATIVA

A maior parte dos indivíduos ingere refeições de forma regular durante todo o dia com intervalos não superiores a 6h. Portanto, 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. As únicas exceções são as poucas horas pela manhã antes do desjejum. O estado pós-prandial quando caracterizado por elevação exacerbada dos níveis séricos de glicose e lipídeos, pode ser denominado de dismetabolismo pós-prandial, sendo considerado um preditor independente de eventos cardiovasculares futuros.

Apesar de diversos estudos observacionais indicarem associação inversa entre o consumo de cálcio dietético e/ou laticínios e o risco de DCV, um número muito reduzido desses estudos avaliou esta associação no período pós-prandial. Desta forma, torna-se relevante avaliar os efeitos pós-prandiais do cálcio dietético sobre fatores de risco para DCV, pois existe a possibilidade de através de modificações relativamente simples na composição de algumas refeições, ser possível auxiliar na redução do risco de DCV.

3. OBEJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos agudos do cálcio dietético sobre o metabolismo dos lipídeos durante o período pós-prandial em mulheres obesas.

3.2 Objetivos específicos

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

- a glicemia e a insulinemia
- as concentrações séricas de colesterol total e frações
- a trigliceridemia
- o metabolismo do cálcio
- a concentração sérica de proteína C reativa
- a reatividade microvascular cutânea
- 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). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes da sua inclusão no estudo (Apêndice A).

4.1 Casuística

Foram incluídas neste estudo mulheres obesas, com IMC ≥ 30 e < 40 Kg/m², sem distinção de etnia, com idade entre 20 e 50 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 12h e abstinência de bebida alcóolica por 3 dias.

4.2 Critérios de inclusão

As participantes incluídas no estudo preencheram os seguintes critérios:

- idade entre 20 e 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 mulheres:

- tabagistas atuais;
- 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,2014), 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 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. Na visita de seleção (V0) as mulheres foram submetidas à 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 12h 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).

Após uma semana da V0, as participantes retornaram ao Laboratório e aquelas cujos exames laboratoriais estavam de acordo com os critérios de elegibilidade foram randomizadas e 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 dietético (RRCD). Após uma ou 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 RRCD. As pacientes que em V1 foram alocadas para receber a RRCD, em V2 receberam a RPC e vice-versa (Figura 1). Nas visitas 1 e 2 as participantes compareceram ao Laboratório após 12h de jejum e inicialmente foram submetidas a avaliação antropométrica, da função microvascular, da PA e laboratorial. Após estas avaliações iniciais, as participantes foram submetidas a intervenção nutricional (ingestão da refeição teste). As participantes 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.

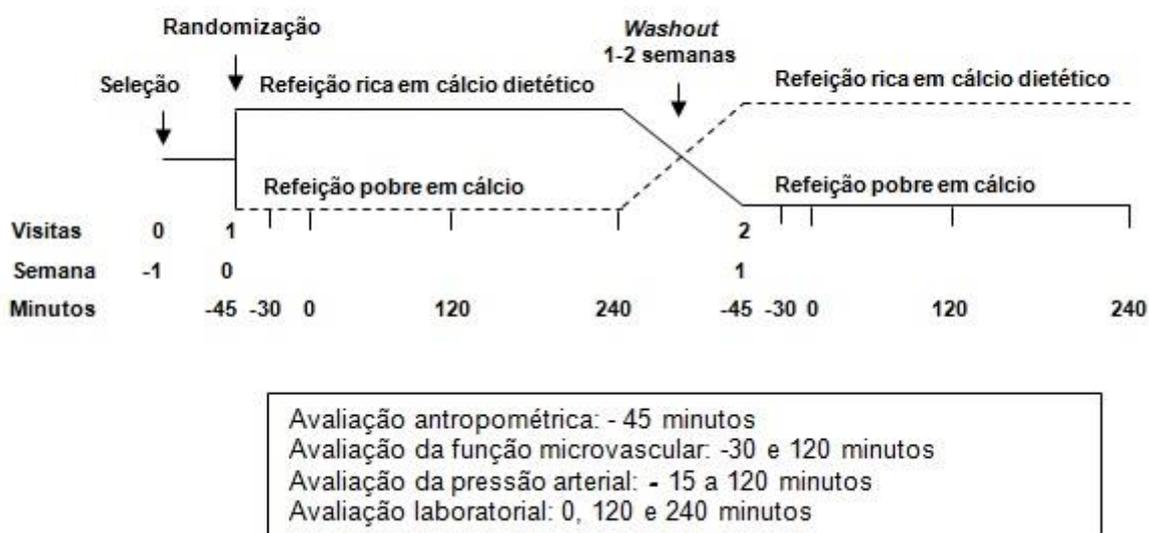
A primeira coleta de sangue, para realização da avaliação bioquímica, foi feita imediatamente antes da ingestão da refeição, sendo assim foi considerada como tendo sido realizada no momento 0. As demais coletas de sangue foram realizadas

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 PCR-us e do metabolismo do cálcio.

As avaliações antropométrica foram realizada no minuto -45. A função microvascular 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



Fonte: Antunes VP, 2017.

4.5 Composição das refeições

As 2 refeições utilizadas no estudo foram elaboradas para fornecer valor energético semelhante (~700 Kcal) e percentuais semelhantes de macronutrientes (proteínas ~8%, carboidratos ~42%, lipídeos ~50% e ácidos graxos saturados ~28% do valor energético total (VET) (Tabela 1). O teor de cálcio da RPC foi de ~40mg e da RRCD foi de ~550mg. A fonte de cálcio da RRCD foi o leite em pó desnatado. O *software Nutwin* foi utilizado para realizar o cálculo das refeições utilizadas no estudo (Tabela 1).

A RPC foi composta por: biscoito salgado (26g) com manteiga com sal (10g) e uma bebida contendo: creme de leite (50g), albumina em pó com aroma de baunilha (15 g), manteiga (15g), maltodextrina (20g) e açúcar (36 g). A RRCD também foi composta por biscoito salgado (26g) com manteiga com sal (10g), porém a bebida foi diferente, sendo composta por leite em pó desnatado (39g) com creme de leite (50g), manteiga (15g), maltodextrina (20g) e açúcar (16g) aromatizada com gotas de essência de baunilha.

Tabela 1 - Composição nutricional das refeições teste

Nutriente	Refeição pobre em Ca	Refeição rica em Ca dietético
Valor energético total (kcal)	695,24	696,69
Proteínas (g)	14,08	15,20
Proteínas (% VET)	8,10	8,73
Carboidratos (g)	73,19	72,43
Carboidratos (% VET)	42,11	41,58
Lipídeos (g)	38,46	38,46
Lipídeos (% VET)	49,79	49,69
AG saturados (g)	21,97	21,97
AG saturados (% VET)	28,44	28,39
Cálcio (mg)	41,5	546,64
Sódio (mg)	449,71	521,62

Legenda: VET = valor energético total, AG = ácidos graxos, Ca= cálcio
 Fonte: Antunes VP, 2017.

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 (m^2) 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 obesidade abdominal foi definida quando a CC era ≥ 80 cm (Alberti et al., 2009). A CQ foi medida na maior circunferência na extensão posterior das nádegas (WHO, 2008).

A razão cintura quadril (RCQ) foi obtida pela divisão da CC (cm) pela CQ (cm). Valores de RCQ foram classificados como estado associados com risco de DCV (SISVAN, 2004). A razão cintura estatura (RCE) foi determinada pela divisão da CC (cm) pela estatura (cm). O ponto de corte de 0,53 foi utilizado para definir risco elevado de doença coronariana (Pitanga & Lessa, 2006).

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 foi posicionada logo abaixo da proeminência laríngea e colocada perpendicularmente ao eixo do pescoço. O ponto de corte ≥ 35 cm foi utilizado para definir risco de desordens metabólicas (Onat et al., 2009).

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 serão expressos em percentual do peso corporal como: gordura corporal total (%). Os pacientes foram orientados a guardar jejum de pelo menos 4h e 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 deveriam estar obrigatoriamente 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 – 105mg/dL. A insulina plasmática de jejum 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 $\mu\text{U/mL}$.

O índice de resistência à insulina foi obtido utilizando-se a fórmula da Avaliação do Modelo Homeostático (HOMA-IR), na qual a resistência é determinada pelo produto da insulinemia de jejum ($\mu\text{U/mL}$) 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). Valores de HOMA-IR > 4,65 foram considerados como indicativos de resistência à insulina (Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), 2015).

4.9 Avaliação do metabolismo lipídico

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

$$\text{Cálcio ionizado} = \frac{6 \times \text{cálcio sérico (mg/dL)} - [\text{albumina (g/dL)} + (0,19 \times \text{proteína total (g/dL)})]}{\text{albumina (g/dL)} + (0,19 \times \text{proteína total (g/dL)}) + 6}$$

As concentrações séricas de proteínas totais e de albumina foram determinadas por método colorimétrico.

Para avaliar o estado de vitamina D, os níveis séricos basais (V0) da 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] foram determinados através do método de *Electrochemiluminescence 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 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

O biomarcador inflamatório utilizado foi a 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 para faixa etária 19 – 49 anos: < 0,33 mg/dL.

4.12 Avaliação da função microvascular

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 PAM (pressão arterial 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 AUC pós-oclusão.

4.13 Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca

A PA e a frequência cardíaca foram mensuradas através da fotopletismografia digital (Finometer Pro, Finapres Medical System, Amsterdam, Holanda) (Langewouters et al., 1998). Após calibração do equipamento, os dados foram registrados continuamente durante 15 minutos antes e durante 120 minutos após a intervenção nutricional. Os 10 primeiros minutos de avaliação da PA antes da refeição foram descartados, sendo utilizados nas análises estatísticas apenas os 5 minutos finais.

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 foi 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 B). 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 padrão. 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.

As comparações intra e inter-refeições das variáveis bioquímicas, da função microvascular e da PA foram realizadas através da análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Os efeitos da RRCD foram considerados significativamente diferentes dos efeitos da RPC com base no valor de p para a interação refeição x tempo no teste ANOVA para medidas repetidas.

A 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.

O teste t foi utilizado para comparar: (1) as variáveis antropométricas obtidas nas visitas V1 e V2; (2) as duas refeições teste em relação aos valores das variáveis obtidos em cada um dos diferentes tempos do estudo (minutos 0, 120 e 240), a variação de cada variável (Δ) durante o estudo (minuto 240 – minuto 0) e a iAUC.

O nível de significância estatística adotado foi $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada com o *software* STATA versão 12.

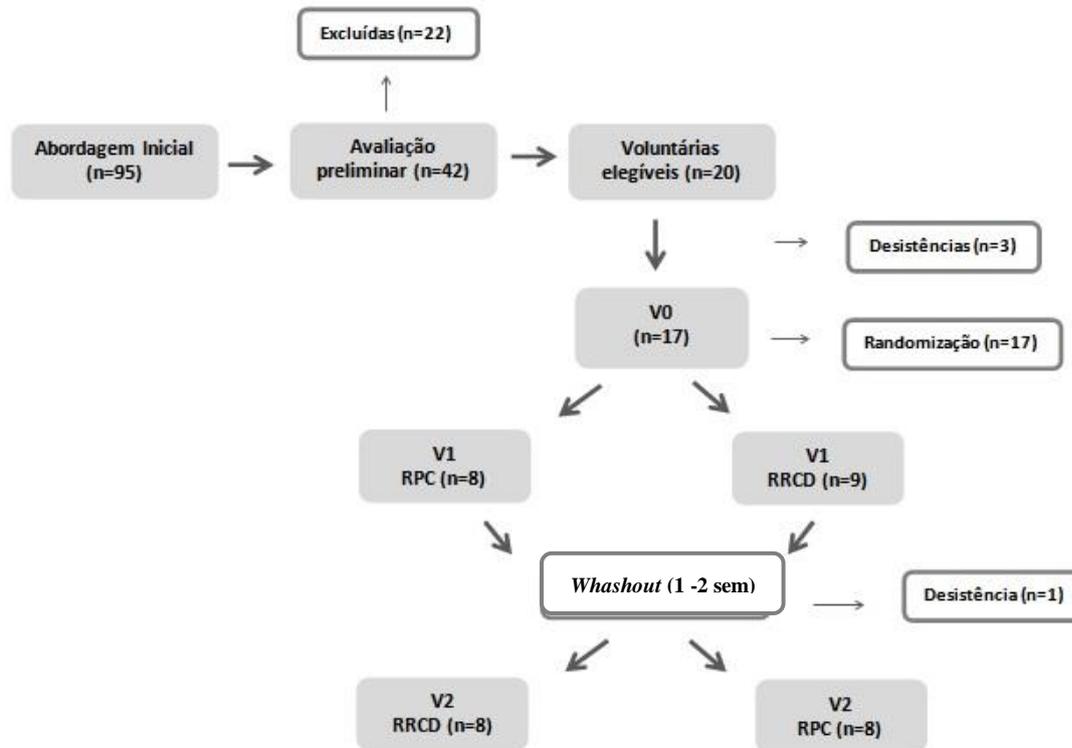
O tamanho da amostra foi calculado com base no estudo realizado por Lorenzen et al (2007), no qual foram observados valores significativamente mais baixos de TG de QM após a refeição rica em cálcio dietético em comparação com a pobre em cálcio. Foram considerados erro tipo I de 0,05 e erro tipo II de 0,20. Nestas condições, o tamanho mínimo da amostra deverá ser de 11 pacientes em cada refeição.

5 RESULTADOS

Noventa e cinco mulheres foram abordadas e convidadas a participar do estudo no período entre janeiro de 2014 e julho de 2015. Deste total, 42 mulheres se interessaram em participar, sendo que 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 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 a randomização apenas 1 voluntária desistiu de continuar no estudo tendo comparecido somente a V1 (Figura 2).

Figura 2 - Representação esquemática do fluxo de participantes da abordagem inicial ao final do estudo



Legenda: V = visita; RPC = refeição pobre em cálcio; RRCD = refeição rica em cálcio dietético;
sem=semanas

Fonte: Antunes VP, 2017.

5.1 Características das participantes do estudo

Na tabela 2 estão apresentadas as características principais das participantes do estudo. As voluntárias apresentavam em média idade de 34,31 anos e o nível de escolaridade da maioria das participantes era o ensino médio completo (63%). A média do IMC encontrava-se dentro da classificação de obesidade grau I, o valor médio da circunferência de cintura se encontrava na classificação de obesidade abdominal e da RCQ era indicativo de risco para doenças cardiovasculares. Da mesma forma, o valor médio da RCE era indicativo de risco para doença coronariana e o valor médio da CP era indicativo de risco para desordens metabólicas.

Todas as participantes apresentavam baixa ingestão diária de cálcio (inferior a 800 mg/dia). O valor médio da concentração sérica da 25(OH)D foi 30,86 ng/mL, caracterizando suficiência de vitamina D. A avaliação do perfil metabólico após 12 h de jejum revelou que as participantes apresentavam valores médios de glicose, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e TG dentro da faixa de normalidade. O valor médio do HOMA-IR indicava resistência à insulina. A PA das participantes, avaliada na visita de seleção, encontrava-se dentro da faixa de normotensão (<140/90mmHg).

Tabela 2 - Características das participantes do estudo, incluindo dados nutricionais e laboratoriais avaliados na visita de seleção (V0)
(Continua)

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

Tabela 2 - Características das participantes do estudo, incluindo dados nutricionais e laboratoriais avaliados na visita de seleção (V0) (Conclusão)

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
Triglicerídeos (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; bpm = batimentos por minuto.

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

Fonte: Antunes VP, 2017.

5.2 Avaliação antropométrica

Ao se comparar os valores das variáveis antropométricas obtidas no dia da ingestão da RPC com os valores obtidos no dia da ingestão da RRCD, não foram observadas diferenças significativas, indicando que as participantes não sofreram alterações 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 dietético (RRCD)

Variáveis	RPC (n=16)	RRCD (n=16)	p
Peso corporal (Kg)	88,89 ± 3,23	88,78 ± 3,20	0,98
Índice de massa corporal (kg/m ²)	34,08 ± 0,87	34,13 ± 0,90	0,97
Circunferência da cintura (cm)	102,26 ± 2,60	101,40 ± 2,57	0,82
Circunferência do quadril (cm)	118,77 ± 2,27	119,01 ± 2,22	0,94
Circunferência do pescoço (cm)	36,34 ± 0,61	36,44 ± 0,65	0,91
Razão cintura quadril	0,86 ± 0,02	0,85 ± 0,02	0,75
Razão cintura altura	0,63 ± 0,01	0,63 ± 0,01	0,80

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

Valor p= RPC vs. RRCD

Fonte: Antunes VP, 2017.

5.3 Metabolismo glicídico

Na tabela 4 estão representados os valores médios da glicemia e da insulinemia antes e aos 120 e 240 minutos após a ingestão da RPC e da RRCD. Não foi observada modificação significativa na glicemia após a ingestão das 2 refeições. Entretanto, a insulina apresentou elevação significativa após a ingestão das duas refeições, atingindo o pico no minuto 120 em ambas as refeições.

Não houve diferenças significativas entre as refeições em relação as modificações no período pós-prandial (efeito refeição x tempo) tanto na glicemia quanto na insulinemia (Figura 3). A iAUC da glicemia e da insulinemia também foi semelhante nas duas refeições (Figura 3).

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

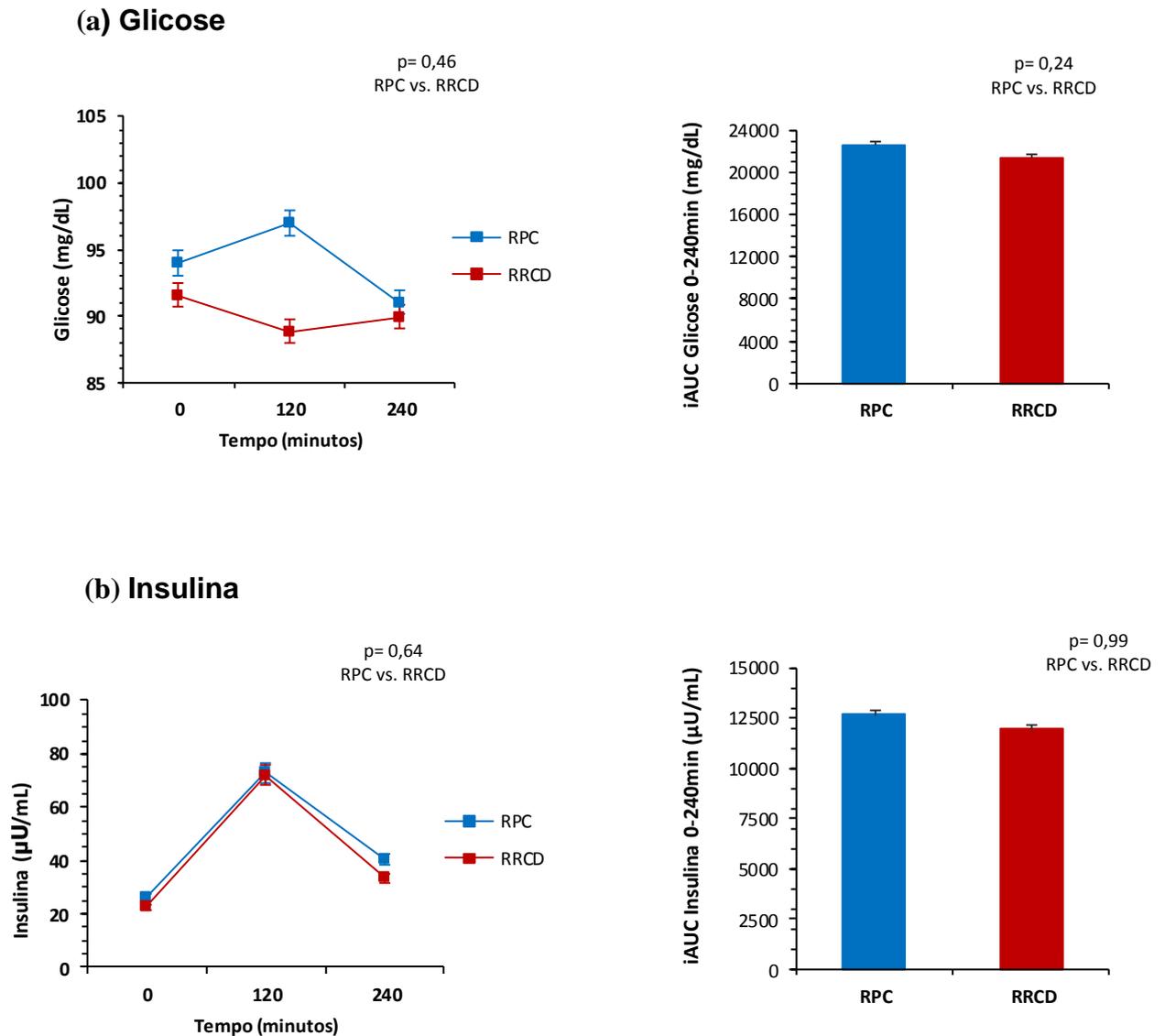
	Tempo (minutos)			Δ	p**
	0	120	240		
Glicose (mg/dL)					
RPC (n=16)	94,38 \pm 2,77	96,75 \pm 5,02	91,31 \pm 3,42	-3,06 \pm 2,98	0,48
RRCD (n=16)	91,56 \pm 2,60	88,88 \pm 3,26	89,94 \pm 3,27	-1,63 \pm 3,20	0,70
p*	0,47	0,20	0,77	0,74	
Insulina (μU/mL)					
RPC (n=16)	26,30 \pm 2,87	72,81 \pm 15,23	40,27 \pm 11,11	13,97 \pm 9,77	<0,0001
RRCD (n=16)	22,54 \pm 1,88	71,92 \pm 12,76	33,32 \pm 4,18	10,79 \pm 3,30	<0,0001
p*	0,43	0,85	0,79	0,76	

Legenda RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCD = Refeição rica em cálcio dietético;
 Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0)
 Valor p* para comparação entre RPC e RRCD 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

Fonte: Antunes VP, 2017.

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



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

Fonte: Antunes VP, 2017.

5.4 Metabolismo lipídico

A concentração sérica de colesterol aumentou de forma estatisticamente significativa após a ingestão das duas refeições. Os TG também aumentaram de forma significativa após as duas refeições enquanto as concentrações séricas de HDL-colesterol e de LDL-colesterol não se modificaram (Tabela 5).

A análise comparativa das duas refeições indicou que as modificações observadas no metabolismo lipídico no período pós-prandial foram semelhantes, não havendo diferenças significativas entre as refeições (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
RRCD (n=16)	172,56 ± 8,15	179,69 ± 8,03	185,38 ± 8,56	12,81 ± 2,32	<0,0001
p*	0,70	0,74	0,42	0,44	
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
RRCD (n=16)	58,28 ± 4,53	56,41 ± 4,93	59,53 ± 5,05	1,25 ± 2,29	0,30
p*	0,79	0,98	0,52	0,77	
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
RRCD (n=16)	95,01 ± 6,47	95,04 ± 6,58	97,31 ± 6,24	2,29 ± 2,53	0,57
p*	0,84	0,52	0,54	0,96	
Triglicerídeos (mg/dL)					
RPC (n=16)	92,88 ± 11,88	151,94 ± 16,56	148,63 ± 19,77	55,75 ± 1,47	<0,0001
RRCD (n=16)	96,25 ± 11,79	141,06 ± 15,64	142,50 ± 19,00	46,25 ± 9,23	<0,0001
p*	0,75	0,71	0,88	1,00	

Legenda: RPC = Refeição pobre em cálcio; RRCD = Refeição rica em cálcio dietético; 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 RRCD nos diferentes tempos do estudo

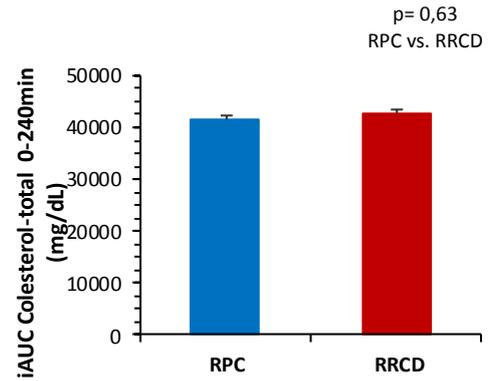
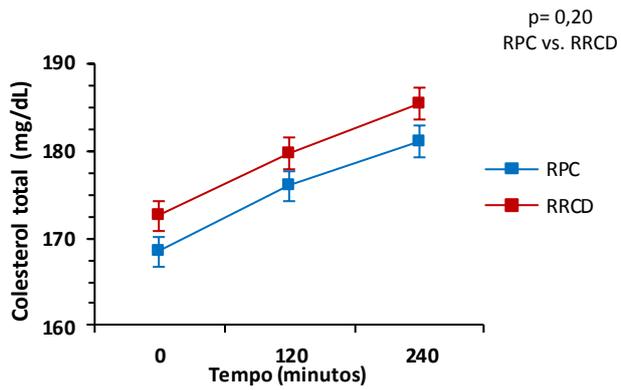
Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

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

Fonte: Antunes VP, 2017.

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. (continua)

(a) Colesterol total



(b) HDL - Colesterol

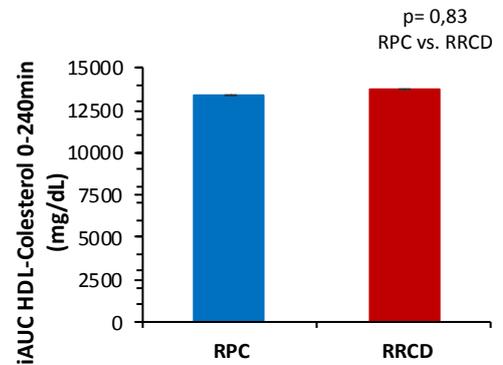
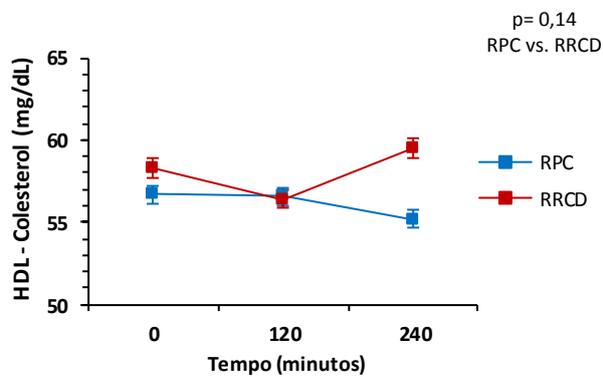
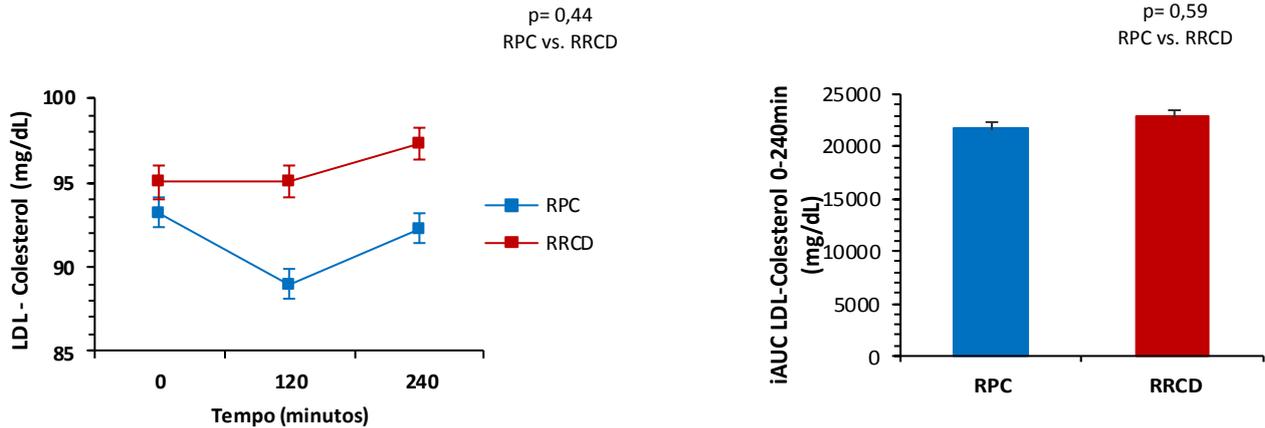
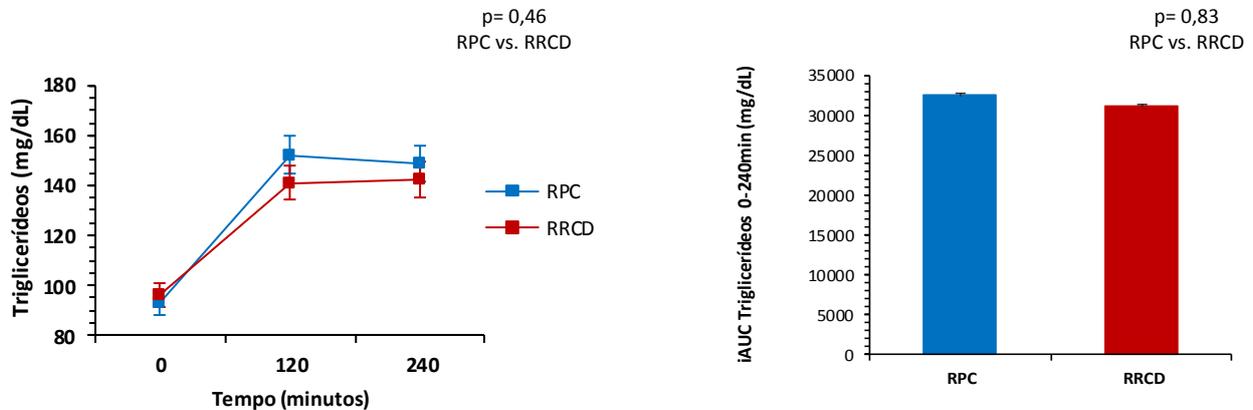


Figura 4 - Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva das variáveis do metabolismo lipídico, de acordo com a refeição teste. (conclusão)

(c) LDL - Colesterol



(d) Triglicerídeos



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

Fonte: Antunes VP, 2017.

5.5 Metabolismo do cálcio

A concentração sérica de cálcio total aumentou de forma significativa apenas após a ingestão da RRCD. Já a concentração de cálcio ionizado não apresentou elevação significativa após as duas refeições. Na RPC tanto o cálcio total quanto o cálcio ionizado apresentaram valores mais elevados aos 120 minutos, enquanto na RRCD os valores mais elevados foram observados aos 240 minutos. Em relação a concentração de PTH, as modificações foram significativas após a ingestão das 2 refeições (Tabela 6). Após as duas refeições a concentração de PTH caiu aos 120 minutos, porém se elevou aos 240 minutos (ficando acima dos valores em jejum na RPC).

Na análise comparativa entre as refeições não foram observadas diferenças significativa nas modificações ao longo do estudo (efeito refeição x tempo) em relação ao cálcio total e cálcio ionizado, porém a redução do PTH foi significativamente maior após a RRCD (Figura 5). Foram observados valores significativamente mais elevados na RRCD em comparação com a RPC em relação aos valores de cálcio total e cálcio ionizado no minuto 240 e em relação ao PTH no minuto 120 (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 ± 0,13	9,03 ± 0,18	8,86 ± 0,15	-0,03 ± 0,09	0,24
RRCD (n=16)	9,16 ± 0,20	9,32 ± 0,20	9,44 ± 0,18	0,28 ± 0,10	0,04
p*	0,24	0,27	0,02	0,03	
Cálcio ionizado (mg/dL)					
RPC (n=16)	4,29 ± 0,05	4,35 ± 0,09	4,24 ± 0,06	-0,06 ± 0,04	0,13
RRCD (n=16)	4,44 ± 0,09	4,48 ± 0,08	4,47 ± 0,08	0,04 ± 0,05	0,73
p*	0,18	0,29	0,03	0,87	
PTH (pg/mL)					
RPC (n=16)	41,27 ± 3,88	33,64 ± 2,52	45,72 ± 4,47	4,46 ± 2,60	0,0003
RRCD (n=16)	37,84 ± 2,35	23,34 ± 1,48	36,40 ± 3,40	-1,44 ± 2,49	< 0,0001
p*	0,46	0,002	0,11	0,11	

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCD = Refeição rica em cálcio dietético; PTH = hormônio da paratireóide.

Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0)

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

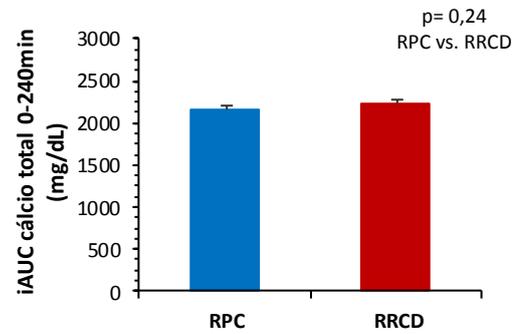
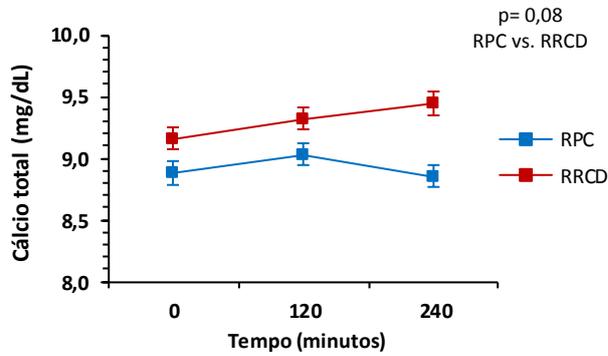
Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

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

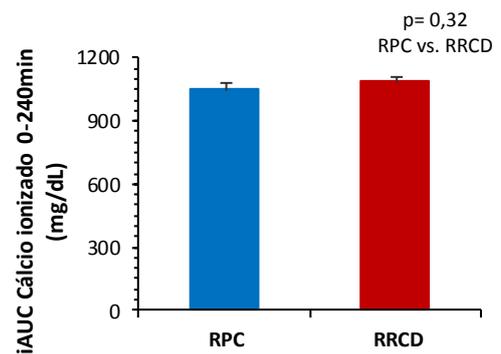
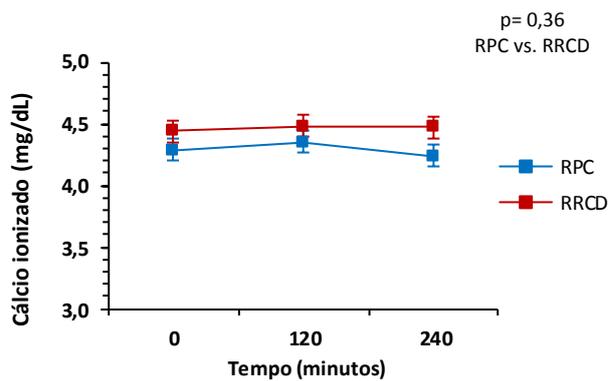
Fonte: Antunes VP, 2017.

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

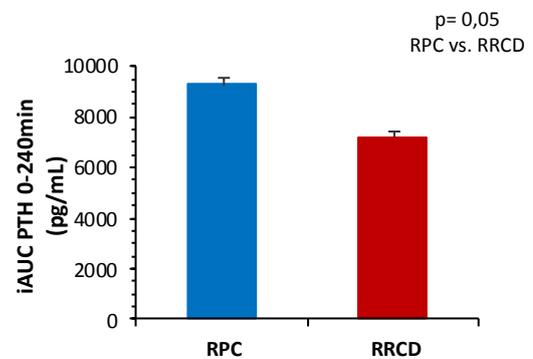
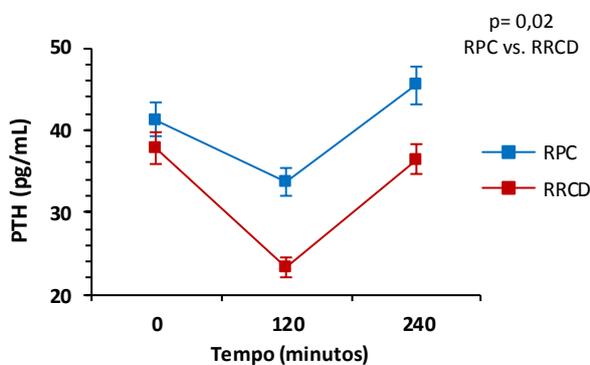
(a) **Cálcio total**



(b) **Cálcio ionizado**



(c) **Hormônio da Paratireóide (PTH)**



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

Fonte: Antunes VP, 2017.

5.6 Biomarcador inflamatório

Não foi encontrada modificação significativa na concentração sérica de PCR-us após nenhuma das refeições (Tabela 7) e não foram observadas diferenças entre as refeições em relação a este biomarcador inflamatório (Figura 6).

Tabela 7 - Valores médios dos níveis séricos de proteína C reativa ultra sensível (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
RRCD (n=16)	0,30 \pm 0,05	0,32 \pm 0,05	0,33 \pm 0,05	0,027 \pm 0,02	0,12
p*	0,77	0,95	0,87	0,28	

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCD = Refeição rica em cálcio dietético; PCR-us = proteína c

reativa ultra sensível.

Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0)

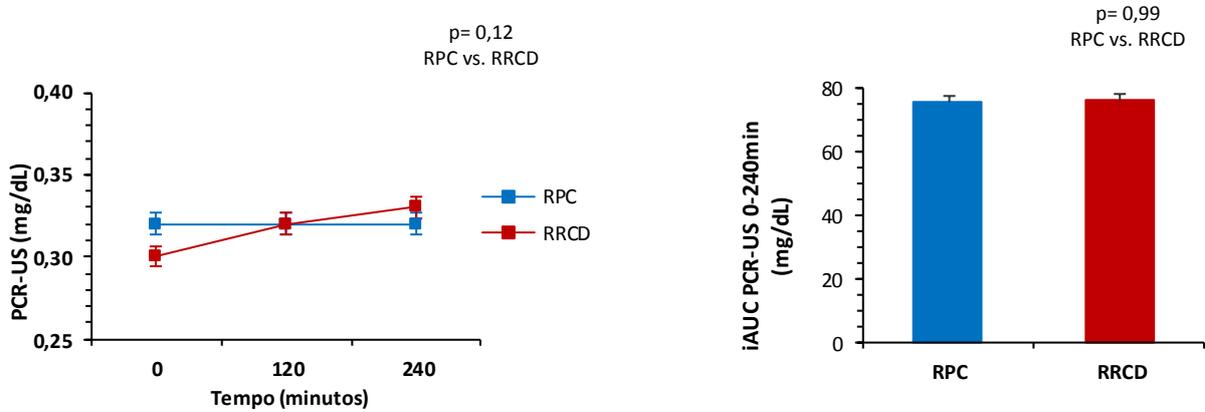
Valor p* para comparação entre RPC e RRCD nos diferentes tempos do estudo

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

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

Fonte: Antunes VP, 2017.

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



Legenda: RPC = Refeição pobre em cálcio; RRCD = Refeição rica em cálcio dietético; iAUC = área incremental sob a curva
 Fonte: Antunes VP, 2017.

5.7 Função microvascular

Foi observada redução significativa do pico da CVC e da amplitude da CVC após a ingestão das duas refeições. Entretanto, a AUC pós-oclusão apresentou redução significativa apenas após a RPC (Tabela 8).

Não foram observadas diferenças significativas comparando-se as duas refeições em relação a nenhuma das variáveis relacionadas com a reatividade microvascular cutânea (Figura 7).

Tabela 8 - Valores médios das variáveis relacionadas a reatividade microvascular 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 ± 0,06	0,74 ± 0,06	-0,13 ± 0,03	0,0007
RRCD (n=16)	0,91 ± 0,05	0,79 ± 0,03	-0,12 ± 0,03	0,0006
p*	0,64	0,48	1,00	
Amplitude CVC (UAP/mmHg)				
RPC (n=16)	0,65 ± 0,04	0,53 ± 0,04	-0,11 ± 0,02	0,0001
RRCD (n=16)	0,62 ± 0,03	0,55 ± 0,03	-0,07 ± 0,03	0,01
p*	0,64	0,78	1,00	
AUC pós oclusão (UAP/segundo)				
RPC (n=16)	2630,85 ± 215,99	2357,83 ± 219,63	-273,03 ± 97,72	0,01
RRCD (n=16)	2820,22 ± 231,23	2608,43 ± 214,28	-174,07 ± 123,64	0,18
p*	0,55	0,42	1,00	

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

Δ = Variação (minuto 240 – minuto 0),

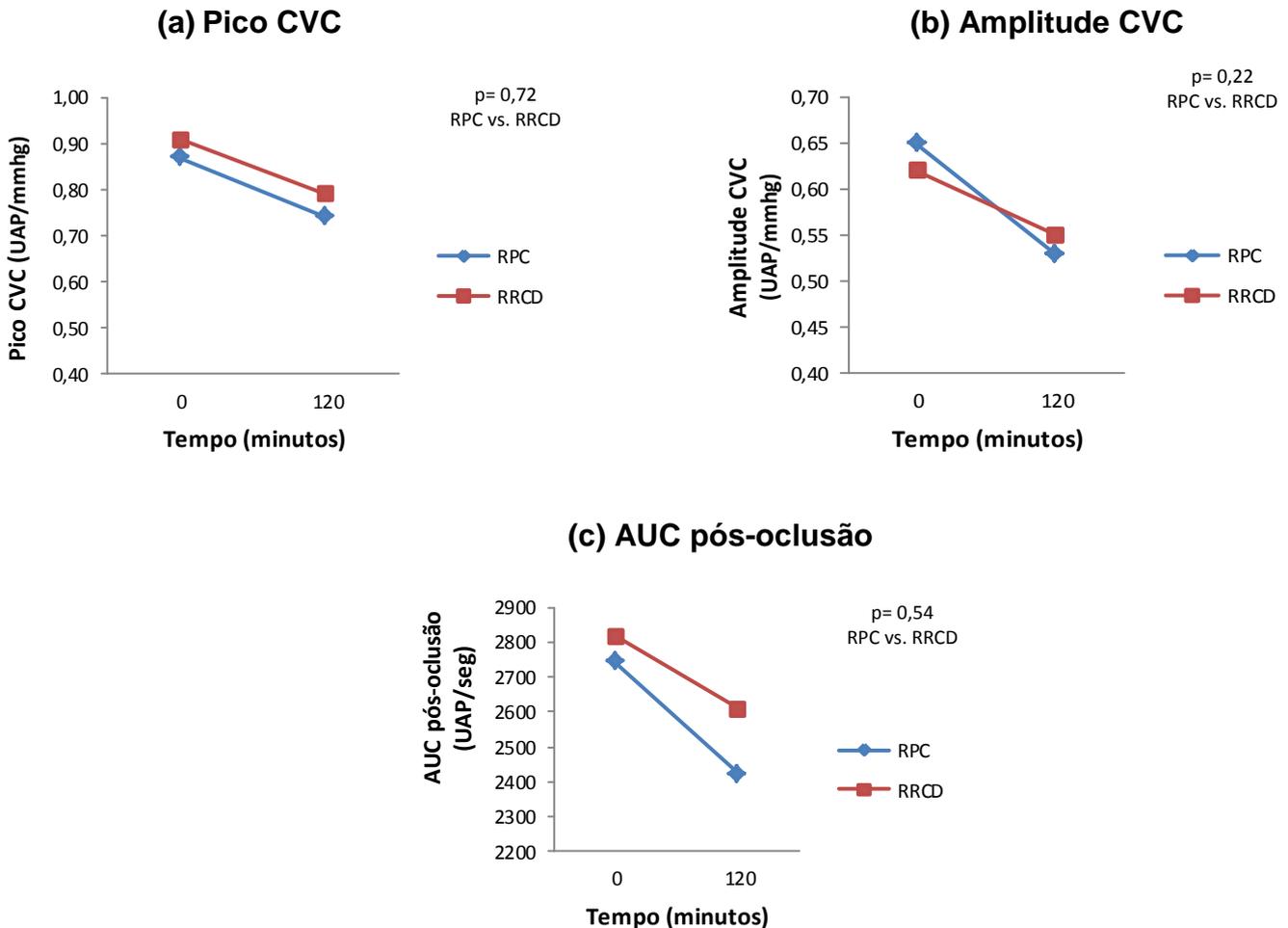
Valor p* para comparação entre RPC e RRCD nos diferentes tempos do estudo

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

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

Fonte: Antunes VP, 2017.

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; RRCD = Refeição rica em cálcio dietético; CVC = condutância vascular cutânea; UAP = unidade arbitrária de perfusão, AUC = área sob a curva
Fonte: Antunes VP, 2017.

5.8 Pressão arterial e frequência cardíaca

Os valores de PA sistólica, diastólica e média aumentaram significativamente após a ingestão das duas refeições. Mesmo achado foi encontrado nos valores de frequência cardíaca (Tabela 9). A comparação entre as refeições, não indicou diferenças significativas nessas variáveis 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
RRCD	129 ± 2,3	135 ± 3,1	132 ± 3,0	133 ± 3,0	133 ± 3,0	132 ± 2,9	131 ± 3,0	130 ± 2,8	131 ± 3,0	133 ± 3,9	132 ± 3,4	131 ± 3,1	130 ± 3,1	0,005
p*	0,25	0,52	0,94	0,98	0,76	0,96	0,84	0,70	0,97	0,76	0,64	0,84	0,88	
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
RRCD	76 ± 1,5	81 ± 1,9	77 ± 2,0	76 ± 1,9	76 ± 2,0	77 ± 1,8	78 ± 1,9	78 ± 1,8	79 ± 2,1	80 ± 2,3	80 ± 2,2	79 ± 2,0	79 ± 2,1	<0,0001
p*	0,77	0,65	0,98	0,91	0,95	0,97	0,97	0,97	0,81	0,85	0,81	0,97	0,64	
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
RRCD	97 ± 1,9	103 ± 2,2	99 ± 2,5	98 ± 2,4	98 ± 2,5	99 ± 2,4	99 ± 2,5	99 ± 2,3	100 ± 2,6	101 ± 3,1	101 ± 3,0	100 ± 2,6	99 ± 2,7	0,0001
p*	0,75	0,90	0,74	0,63	0,94	0,96	0,99	0,83	0,83	0,81	0,75	0,97	0,68	
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	<0,0001
RRCD	66 ± 2,0	68 ± 2,2	70 ± 2,3	72 ± 1,9	72 ± 2,1	72 ± 2,1	73 ± 2,5	74 ± 2,2	73 ± 2,5	74 ± 2,3	73 ± 2,5	72 ± 2,5	73 ± 2,4	<0,0001
p*	0,82	0,64	0,59	0,73	0,63	0,74	0,39	0,88	0,64	0,50	0,78	0,74	0,65	

Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCD= Refeição rica em cálcio dietético; PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica;

PAM = Pressão arterial média; FC = Frequência cardíaca; bpm= batimentos por minuto.

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

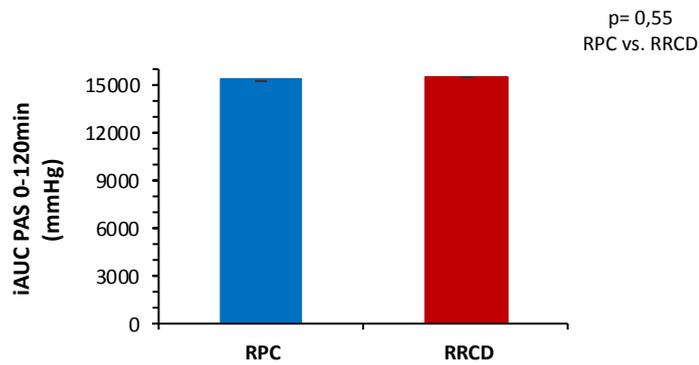
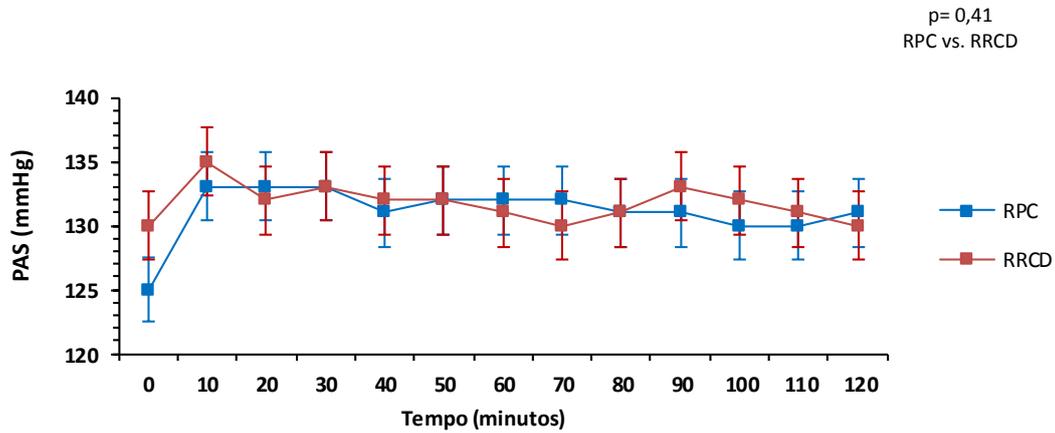
Valor p** para modificação ao longo do estudo em cada refeição teste

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

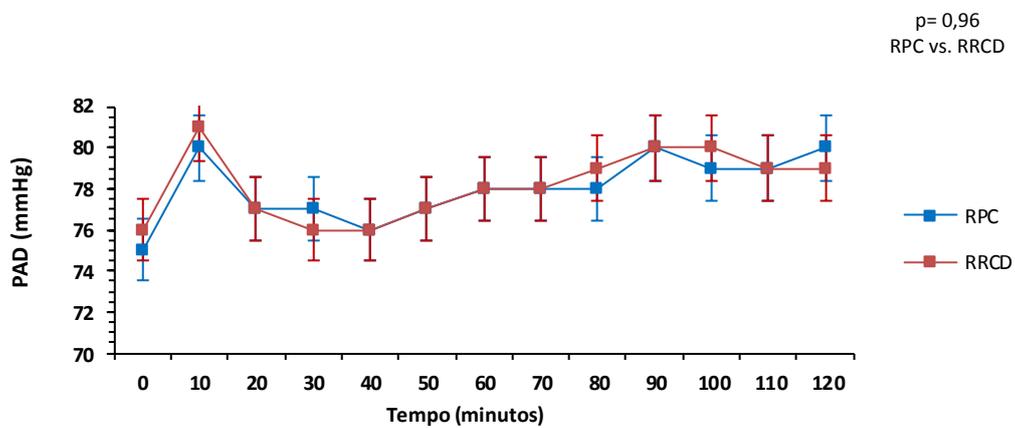
Fonte: Antunes VP, 2017.

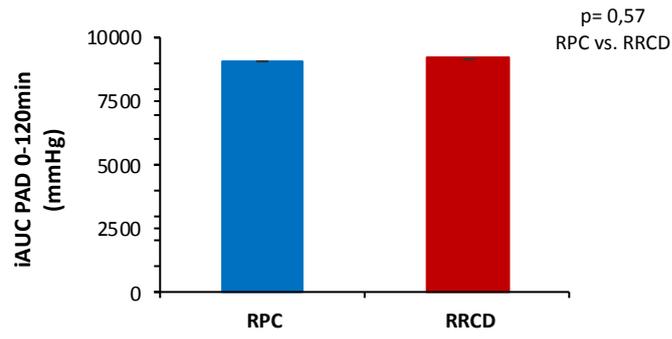
Figura 8 - Valores médios no pré e pós-prandial e a área incremental sob a curva da pressão arterial e da frequência cardíaca de acordo com a refeição teste

(a) Pressão arterial sistólica (PAS)

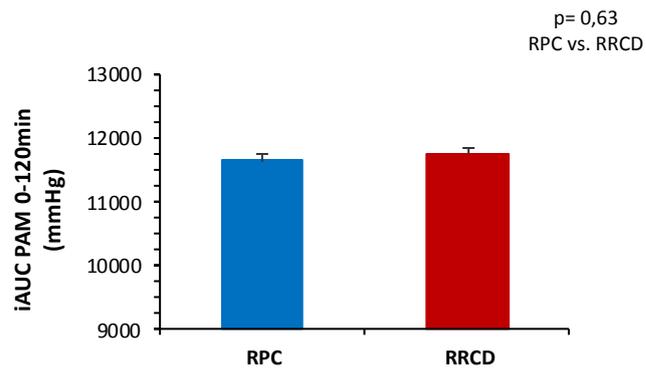
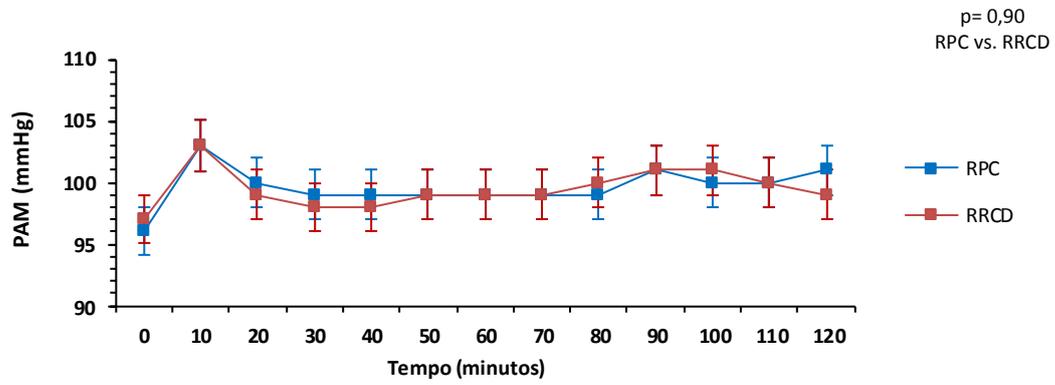


(b) Pressão arterial diastólica (PAD)

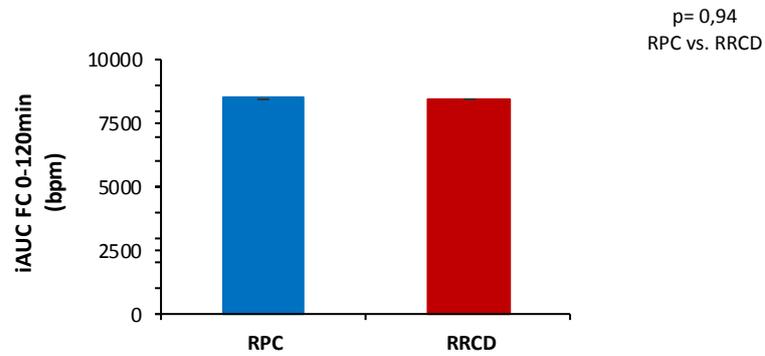
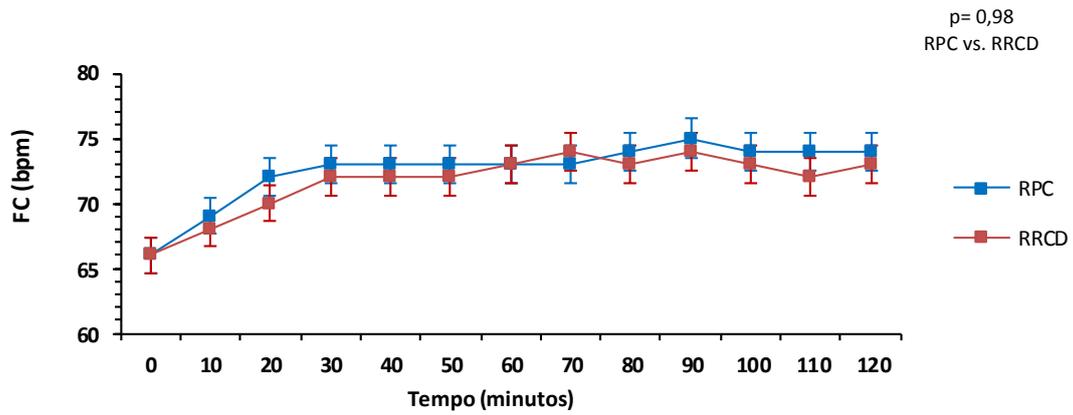




(c) Pressão arterial média (PAM)



(d) Frequência cardíaca (FC)



Legenda: RPC= Refeição pobre em cálcio; RRCD = Refeição rica em cálcio dietético; PAS = Pressão arterial sistólica; PAD = Pressão arterial diastólica; PAM = Pressão arterial média; FC = Frequência cardíaca; iAUC = área incremental sob a curva
Fonte: Antunes VP, 2017.

6 DISCUSSÃO

Os principais achados do presente estudo foram: após a ingestão das duas refeições não houve modificação significativa da glicemia, porém a insulina, o colesterol total e os TG aumentaram significativamente. A concentração sérica de cálcio total aumentou de forma significativa apenas após a RRCD, enquanto a de cálcio ionizado não apresentou elevação significativa após nenhuma das duas refeições. Os valores séricos de PTH sofreram alterações significativas após a ingestão das duas refeições. O pico e a amplitude da CVC apresentaram redução significativa após as duas refeições, porém a AUC pós-oclusão só diminuiu significativamente após a RPC. Os valores de PA sistólica, diastólica e média aumentaram significativamente após a ingestão das duas refeições. A análise comparativa das duas refeições nos diferentes tempos do estudo revelou redução significativamente maior do PTH após a RRCD e ausência de diferenças significativas entre as refeições em relação as demais variáveis avaliadas.

6.1 Metabolismo da glicose

Os carboidratos são os nutrientes que mais afetam a glicemia, quase 100% são convertidos em glicose em um tempo que pode variar de 15 minutos a 2h (SBD, 2009). O consumo de alimentos contendo carboidratos induzem graus variados de elevação pós-prandial da glicemia (Alssema et al., 2015). Já foi demonstrado que a adição de lipídeos a uma refeição contendo apenas carboidratos reduz a glicemia pós-prandial em adultos não diabéticos (Gannon et al., 1993), provavelmente devido ao efeito sobre o esvaziamento gástrico (Gupta & Jensen, 2012). Em um estudo realizado com meninos obesos pré-púberes foram comparados os efeitos de 2 refeições com o mesmo teor de energia e proteína, porém com uma razão diferente entre carboidratos para lipídeos: (1) moderada em lipídeos (61% carboidratos e 27% lipídeos); (2) rica em lipídeos (37% carboidratos e 52% lipídeos). A AUC da glicose

e da insulina foram significativamente menores após a refeição rica em lipídeos (Maffeis et al., 2012).

No presente estudo, as duas refeições teste (RRCD e RPC) apesar de conterem quantidade de carboidratos (73g) semelhante a quantidade de glicose utilizada no TOTG (75g) (ADA, 2015), eram hiperlipídicas (48% VET) e continham tanto carboidratos simples quanto complexos. Tais diferenças entre as refeições teste e o TOTG podem ter contribuído para a ausência de elevação significativa da glicemia durante o período pós-prandial. Por outro lado, a insulina que é principal hormônio hipoglicemiante do organismo humano (Gilon et al., 2014) aumentou de forma significativa após a duas refeições.

A primeira coleta de sangue no período pós-prandial foi realizada 2h após a ingestão da refeição teste no presente estudo. Este intervalo entre a ingestão e a primeira coleta de sangue pode ter sido muito longo para se observar modificações na glicemia. No estudo realizado por van Meijl & Mensink (2013) a elevação máxima na concentração da glicose ocorreu aos 15 e 30 minutos após diferentes refeições teste. Entretanto, no presente estudo a glicemia não era o único parâmetro a ser avaliado e desta forma os momentos da coleta de sangue foram determinados com base em todas as variáveis que seriam avaliadas. Além disto, no estudo piloto realizado para estruturar o presente estudo a primeira coleta de sangue foi realizada 1h após a ingestão das refeições teste e também não foram evidenciadas modificações significativas na glicemia.

No presente estudo não foram observadas diferenças significativas entre as 2 refeições em relação a glicemia e a insulinemia. Um número muito reduzido de estudos avaliou o possível efeito agudo do cálcio dietético/latícínios sobre a glicemia/insulinemia pós-prandial (Cummings et al., 2006; Lorenzen et al., 2007; van Meijl & Mensink et al., 2013; Ballard et al., 2013; Gonzalez & Stevenson, 2014; Schmid et al., 2015). Alguns estudos observaram efeitos benéficos (Ballard et al., 2013; van Meijl & Mensink, 2013; Gonzalez & Stevenson, 2014) enquanto outros obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo, ou seja, não observaram tal benefício (Cummings et al., 2006; Lorenzen et al., 2007; Schmid et al., 2015).

Um fator que pode contribuir de forma significativa para esta divergência nos resultado dos estudos publicados até o presente momento é a grande variabilidade nos desenhos dos estudos, principalmente em relação as refeições teste. Por

exemplo, no estudo conduzido por Ballard et al (2013) o grupo teste recebeu apenas 1 copo (475 ml) de leite desnatado (205 Kcal, 24 g carboidratos e 610 mg cálcio) enquanto no estudo realizado por Lorenzen et al (2007) as refeições teste continham teor muito maior de energia, carboidratos e cálcio. O teor de calorias era de 50% das necessidades energéticas diárias e refeição rica em cálcio proveniente de laticínios continha 45,8 % do valor energético na forma de carboidratos 172 mg cálcio / 239 Kcal.

No estudo randomizado e cruzado realizado por van Meijl & Mensink (2013) foram investigados os efeitos agudos do leite desnatado e também dos seus constituintes (cálcio e proteína), associados a uma refeição hiperlipídica. Dezesesseis indivíduos com excesso de peso corporal ($IMC > 27 \text{ kg/m}^2$) consumiram 4 refeições diferentes que continham 44 g de lipídeos e 109 g de carboidratos, sendo mono e dissacarídeos (74g) dos quais 30g eram lactose. A refeição controle continha 864 kcal, 8 g proteínas e 49 mg de cálcio; a refeição contendo leite desnatado possuía 948 Kcal, 29 g proteínas e 697 mg de cálcio; enquanto a refeição contendo proteína do leite possuía 948 Kcal, 29 g proteínas e 703 mg de cálcio e a refeição contendo cálcio do leite continha 864 Kcal, 8 g proteínas e 699 mg de cálcio. Em comparação com os valores em jejum, todas as refeições elevaram a concentração de glicose, havendo redução abaixo dos valores de jejum após cerca de 180 minutos. O aumento máximo na concentração de glicose foi significativamente diferente entre as refeições ($p=0,004$). Em comparação com a refeição controle, na refeição contendo proteína o valor máximo da glicose foi 24% ($p= 0,021$) menor e na refeição com leite foi 18% menor ($p=0,111$). A concentração máxima de insulina foi observada aos 45 minutos e retornou aos valores de jejum após 240 minutos. A iAUC da insulina foi diferente entre as refeições, a iAUC foi 52% maior após a refeição com leite em comparação com a refeição controle ($p=0,035$) e em comparação com a refeição com proteína ($p < 0,005$). Os resultados deste estudo sugerem que a ingestão de leite com uma refeição contendo lipídeos, melhora a resposta pós-prandial de insulina, além de atenuar os picos glicêmicos (van Meijl & Mensink, 2013).

Com base na análise do estudo descrito acima (Van Meijl & Mensink, 2013) pode-se gerar a hipótese de que no presente estudo não foi observado efeito significativo da RRCD sobre a glicemia/insulinemia, pois as refeições teste apresentavam menor valor energético e menor teor de carboidratos. Tais fatores

realmente podem ter contribuído, porém no estudo realizado por Ballard et al (2013) foram observados efeitos benéficos sobre o metabolismo da glicose e o teor de energia e carboidratos foi bem menor do que no presente estudo. Da mesma forma, Schmid et al (2015) utilizaram valor energético maior e teor semelhante de carboidratos, em comparação com o presente estudo, e não encontraram benefícios. Lorenzen et al (2007) também utilizaram maior valor energético e de carboidratos, em comparação com o presente estudo e não observaram benefícios.

Em outro ensaio clínico randomizado (Gonzalez & Stevenson, 2014) foi avaliado o impacto da ingestão de cálcio dietético junto a uma refeição em 10 indivíduos saudáveis. A refeição controle (CON) consistia em aveia instantânea, leite integral e água fornecendo em média 248 mg de cálcio (3 mg/kg), 299 Kcal, 11 g proteínas, 41 g carboidratos e 10 g de lipídeos. Na refeição rica em cálcio (CAL) foi aumentado apenas o teor de cálcio para 15 mg/kg (\pm 1.329 mg) usando um concentrado de leite em pó rico em cálcio (Capolac®, *Arla Food Ingredients amla, Denmark*). Apesar de não terem sido encontradas diferenças significativa em relação a AUC da glicose, a AUC da insulina nos 120 minutos após o consumo da refeição CAL foi 19% maior do que após a refeição CON ($p=0,03$). A elevação nas concentrações de GIP₁₋₄₂ e do GLP-1 também foram mais acentuadas após a refeição rica em cálcio dietético (Gonzalez & Stevenson, 2014).

No estudo descrito no parágrafo anterior (Gonzalez & Stevenson, 2014), a quantidade de cálcio foi muito maior do que no presente estudo (e também maior do que de outros estudos) e pode-se suspeitar que este fato tenha favorecido a observação de efeitos benéficos sobre o metabolismo da glicose. Entretanto, dentre os estudos que também observaram efeitos benéficos, o realizado por van Meijl & Mensink (2013) também utilizou teor mais elevado de cálcio, porém o de Ballard et al (2013) utilizou quantidade bem menor do que no presente estudo. Os estudos que não observaram efeitos positivos apresentavam um teor de cálcio maior (Lorenzen et al., 2007; Schmid et al., 2015) ou semelhante (Cummings et al., 2006) ao teor de cálcio do presente estudo.

Schmid et al (2015) realizaram um estudo cruzado envolvendo 19 homens saudáveis para avaliar os efeitos de 3 refeições hiperlipídicas sendo uma rica em laticínios (*HFD meal*; 1.000 Kcal, 55 g carboidratos, 924 mg cálcio), uma pobre em laticínios suplementada com leite (*HFM meal*; 1.277 Kcal, 74 g carboidratos, 525 mg

cálcio) e uma refeição controle sem laticínios (HFC *meal*; 1.005 Kcal; 55 g carboidratos, 73 mg cálcio). A HFD *meal* continha queijos e manteiga e a HFM *meal* continha leite integral. Amostras de sangue foram coletadas antes e 1, 2, 4 e 6h após o consumo das refeições teste. Não foram observadas diferenças significativas entre as 3 refeições em relação a glicemia e a insulinemia.

Outro aspecto relacionado ao desenho dos diferentes estudos e que pode contribuir para a heterogeneidade dos resultados é a inclusão de indivíduos com diferentes graus de adiposidade e conseqüentemente diferentes graus de resistência à insulina. Em indivíduos sem resistência à insulina, a elevação da glicemia/insulinemia no período pós-prandial pode ser menor tornando mais difícil a observação dos possíveis efeitos benéficos do cálcio dietético/laticínios. Nos estudos que não observaram efeitos benéficos (Cummings et al., 2006; Lorenzen et al., 2007; Schmid et al., 2015) foram incluídos indivíduos com IMC dentro da faixa da normalidade, enquanto nos estudos que observaram efeitos benéficos (Ballard et al., 2013; Van Meijl & Mensink, 2013; Gonzalez & Stevenson, 2014) foram incluídos apenas indivíduos com excesso de peso corporal (IMC > 27 kg/m²).

O presente estudo não segue este padrão, pois não foram observados benefícios no metabolismo da glicose mesmo tendo sido incluídas apenas participantes obesas (segundo IMC), com obesidade abdominal (segundo a CC) e apresentando valores médios de CP (36,33 cm) que podem ser considerados indicativos de resistência à insulina (> 36,1 cm), segundo Stabe et al(2013). Além disto, o valor médio dos níveis de insulina em jejum das participantes do estudo na V0 foi igual a 25,01 ± 2,74 µU/mL, indicando ligeira hiperinsulinemia de jejum (valor de referência adotado: 2,6-24,9 µU/mL). Foi observado valor médio do HOMA-IR de 5,79 ± 0,59, sendo indicativo da presença de resistência à insulina (HOMA-IR > 4,65) (SBD, 2015). Apenas 4 participantes apresentavam HOMA-IR < 4,65.

O momento da primeira coleta de sangue (2h após a ingestão das refeições) também pode ter contribuído para a ausência de demonstração de efeitos benéficos no presente estudo. Em todos os estudos que avaliaram os efeitos do cálcio dietético/laticínios sobre o metabolismo dos carboidratos a primeira coleta de sangue no período pós-prandial foi realizada com intervalo de no máximo 1h (SH et al., 2006; Lorenzen et al., 2007; Van Meijl & Mensink et al., 2013; Ballard et al.; 2013; Gonzalez & Stevenson, 2014; Schmid et al., 2015).

6.2 Metabolismo Lipídico

O teor de lipídeos em uma refeição é um fator fundamental na determinação da trigliceridemia pós-prandial. Refeições hiperlipídicas, contendo > 30 g de lipídeos, produzem aumento significativo na lipemia pós-prandial de forma dose dependente até aproximadamente 80 g (Bravo et al., 2010; Klop et al., 2012). Outro fator extremamente importante para se avaliar a lipemia pós-prandial é o período de tempo durante o qual se realiza a coleta de sangue após a ingestão alimentar. Os níveis séricos de TG aumentam de forma gradual após a refeição, alcançando um pico 3 – 4h após, e em seguida, de forma gradativa, retornam aos níveis basais dentro de 6 – 8h (Pirillo et al., 2014; Nakamura et al., 2016). No presente estudo, como um dos objetivos era avaliar o efeito agudo do cálcio dietético sobre a lipemia pós-prandial, optou-se pela utilização de refeições hiperlipídicas contendo mais de 30 g de lipídeos (38,4 g) e pela avaliação da lipemia durante 4h. Desta forma, no corrente estudo o consumo das duas refeições teste resultou em aumento significativo dos TG no período pós-prandial.

A elevação dos triglicerídeos 4h após a ingestão da RPC e da RRCD foi de aproximadamente 56 e 46 mg/dL, respectivamente. Esta elevação, conforme esperado, foi inferior a observada após a realização do teste oral de tolerância aos lipídeos, no qual são ingeridos 75g de lipídeos e em geral observa-se um aumento médio nos TG de 89-178 mg/dL (1 – 2 mmol/L) (Borén et al., 2014). Os níveis séricos de TG durante o jejum também interferem na magnitude da lipemia pós-prandial, sendo observadas elevações mais acentuadas naqueles indivíduos com valores mais elevados de TG em jejum (Perez-Martinez et al., 2016). No presente estudo, os valores médios de TG em jejum eram baixos (< 100 mg/dL) e tal fato pode ter contribuído para a elevação relativamente pequena tendo sido observado níveis médios inferiores a 150 mg/dL após as duas refeições (tanto 2h quanto 4h após as refeições). Apesar de ainda não haver um consenso, já foi proposto que as concentrações desejáveis de TG fora do período de jejum são <180 mg/dL (Kolovou et al., 2011). Em nosso estudo os valores médios de TG 2 h e 4 h após a ingestão das duas refeições foram inferiores a 180 mg/dL, podendo ser considerados adequados.

A análise comparativa das duas refeições em relação a trigliceridemia pós-prandial revelou ausência de diferenças significativas. O efeito agudo do cálcio dietético e/ou laticínios sobre a lipemia pós-prandial foi avaliado, até o presente momento, em um número muito reduzido de estudos que apresentam desenhos e achados extremamente variados (Lorenzen et al., 2007; Van Meijl & Mensink, 2013; Ballard et al., 2013; Schmid et al., 2015).

No estudo de Lorenzen et al (2007), 18 indivíduos com sobrepeso ou obesidade receberam quatro refeições isocalóricas, com valor energético individualizado, fornecendo a cada paciente 50% das suas necessidades energéticas diárias. Essas refeições possuíam 39,3% da energia na forma de lipídeos e diferiam no teor e na fonte de cálcio: rica em cálcio dietético (172 mg/MJ), moderada em cálcio dietético (84 mg/MJ), pobre em cálcio dietético (15 mg/MJ) e rica em cálcio suplementar (carbonato de cálcio) (183 mg/MJ). A iAUC para os TG de QM foi significativamente menor após as refeições moderada e rica em cálcio dietético em comparação com a refeição pobre em cálcio (Lorenzen et al., 2007). Os autores atribuíram a redução dos TG de QM a diminuição na absorção intestinal de lipídeos. Este foi o primeiro estudo a demonstrar que um aumento na ingestão de cálcio proveniente de laticínios é capaz de reduzir a lipemia pós-prandial. Os autores também sugeriram a existência de um valor que pode ser considerado um valor de platô acima do qual um aumento na ingestão de cálcio não apresentaria efeitos adicionais, pois tanto a refeição rica quanto a moderada em cálcio dietético reduziram a lipemia.

No estudo de Lorenzen et al (2007) apesar da redução significativa nos TG de QM, não houve redução nos TG séricos totais. Uma possível explicação é o fato dos TG carregados pelos QM refletirem especificamente os TG proveniente da dieta (exógenos), enquanto os TG totais do plasma refletem não só os exógenos como também os endógenos, “diluindo” o potencial efeito benéfico do cálcio sobre a absorção de lipídeos. Se considerarmos apenas a avaliação dos TG totais no estudo do Lorenzen et al (2007) podemos inferir que seus resultados se assemelham aos nossos.

Van Meijl & Mensink (2013), realizaram ensaio clínico com 16 homens com excesso de peso corporal, visando avaliar os efeitos do leite e dos 2 principais componentes do leite (proteína do leite e cálcio) sobre o metabolismo pós-prandial.

Foram testadas quatro refeições que continham 44g de gordura e quantidades diferentes de calorias, proteínas e cálcio: a refeição controle continha 864 kcal, 8 g proteínas e 49 mg de cálcio; a refeição contendo leite desnatado possuía 948 Kcal, 29 g proteínas e 697 mg de cálcio; enquanto a refeição contendo proteína do leite possuía 948 Kcal, 29 g proteínas e 703 mg de cálcio e a refeição contendo cálcio do leite continha 864 Kcal, 8 g proteínas e 699 mg de cálcio. As modificações nas concentrações de TG durante o período pós-prandial (0, 60, 120, 180, 240 e 360 minutos) não variaram de forma significativa entre as refeições. Entretanto, em comparação com a refeição controle, a refeição com proteína do leite aumentou de forma significativa a iAUC dos TG (44%). Tanto a refeição contendo leite quanto a contendo cálcio não alteraram a iAUC em comparação com a refeição controle. Os resultados deste ensaio clínico conduzido por van Meijl & Mensink (2013) se assemelham aos nossos, se considerarmos apenas a refeição controle e a refeição com leite desnatado, ou seja, ausência de demonstração de efeitos benéficos sobre a trigliceridemia pós-prandial.

Schmid et al (2015) realizaram um estudo randomizado e cruzado com 19 homens saudáveis, onde foram testadas três refeições hiperlipídicas com quantidades diferentes de cálcio dietético: refeição rica em laticínios, contendo queijo e manteiga (*HFD meal*; 1.000 Kcal, 67g gordura, 924 mg cálcio), refeição pobre em laticínios suplementada com leite integral (*HFM meal*; 1.277 Kcal, 84g gordura, 525 mg cálcio) e refeição controle sem laticínios (*HFC meal*; 1.005 Kcal; 67g gordura, 73 mg cálcio). Neste ensaio clínico, a iAUC dos TG foi significativamente maior na *HFM meal* do que na *HFD meal*, porém não foi maior do que na *HFC meal*. Os autores atribuíram este achado ao fato da quantidade de gordura ingerida interferir na concentração pós-prandial de TG (o teor de lipídeos na *HFM meal* era maior do que nas outras duas refeições). Um fator adicional mencionado pelos autores é o teor de cálcio das refeições, o que pode promover excreção fecal de lipídeos por meio da ligação com ácidos graxos no intestino (Lorenzen et al., 2014) e a *HFD meal* apresentava o maior teor de cálcio dentre as 3 refeições. Além disto, a *HFD meal* continha gordura de laticínios que apresenta quantidade substancial de ácidos graxos de cadeia curta e de cadeia média, que possuem menor efeito sobre a concentração pós-prandial de TG. Esses 2 fatores podem explicar a iAUC marginalmente menor dos TG comparando a *HFD meal* com

a HFC *meal*, eventualmente contribuindo para a diferença significativa em comparação com a HFM *meal* (Schmid et al.,2015). A comparação dos achados do estudo realizado por Schmid com os achados do presente estudo é difícil de ser realizada, pois o teor de gordura nas duas refeições utilizadas no atual estudo era semelhante, enquanto no estudo de Schmid et al (2015), as refeições apresentavam teor bem diferente de lipídeos.

No estudo randomizado, duplo cego e cruzado conduzido por Ballard et al (2013), diferentemente do nosso estudo e dos estudos citados anteriormente, não foram utilizadas refeições ricas em lipídeos. Neste estudo, as refeições usadas foram um copo (475 ml) de leite desnatado (205 Kcal, 5 g lipídeos, 24 g carboidratos, 16g proteínas, 610 mg cálcio) e um copo (435 ml) de leite de arroz (206 Kcal, 4 g lipídeos, 40 g carboidratos, 1 g proteínas e 518 mg de cálcio). Devido ao teor muito reduzido de lipídeos nas 2 refeições não foi observada elevação significativa na concentração sérica de TG com nenhuma das duas intervenções, não sendo possível avaliar o efeito do leite sobre esta variável.

Com base nos resultados do presente estudo e dos estudos realizados por Lorenzen et al (2007), Van Meijl & Mensink (2013) e Schmid et al (2015), pode-se gerar a hipótese de que apesar das evidências disponíveis atualmente indicarem que a ingestão de cálcio dietético é capaz de reduzir a absorção intestinal de lipídeos, tal efeito pode apresentar pequena magnitude sobre a trigliceridemia pós-prandial. Provavelmente os efeitos agudos benéficos do cálcio dietético sobre a trigliceridemia pos-prandial só podem ser observados após a ingestão de quantidades muito elevadas de lipídeos.

6.3 Metabolismo do cálcio

Ao avaliar o metabolismo do cálcio no corrente estudo, foi observado que a concentração sérica de cálcio total aumentou de forma significativa apenas após a ingestão da RRCD. Em relação ao cálcio ionizado, não houve elevação significativa após a ingestão das duas refeições teste (RPC e RRCD). Na RRCD, tanto o cálcio total quanto o cálcio ionizado apresentaram valores mais elevados aos 240 minutos.

Enquanto que na RPC, os valores mais elevados foram aos 120 minutos. Em contrapartida, a análise comparativa entre as refeições não demonstrou diferenças significativa em relação ao cálcio total e cálcio ionizado ao longo do estudo (efeito refeição x tempo).

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). A quantidade total de cálcio absorvido depende da quantidade consumida, do estado de cálcio do indivíduo, 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). 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). Outro fator importante para a absorção deste mineral é a forma de ingestão do cálcio: dietético vs. suplementar (proveniente de suplementos de cálcio). Apesar da quantidade total de cálcio absorvido através dessas duas fontes ser semelhante, variando de 30 – 40% (Cozzolino, 2005; Weaver & Heaney, 2006; Pereira et al., 2009), a velocidade de absorção do cálcio proveniente dos laticínios é bem menor do que nos suplementos (Green et al., 2003; Kruger et al., 2014; Bristow et al., 2015). A absorção do cálcio ocorre principalmente nas primeiras horas após a ingestão. A do cálcio dietético se completa cerca de 7h após a ingestão, enquanto a absorção do cálcio suplementar é mais rápida (Burckhardt, 2013). Portanto, o cálcio suplementar e não o dietético, parece promover uma elevação aguda mais pronunciada na concentração sérica de cálcio, que persiste por mais de 8h após a sua ingestão (Reid et al., 2011; Bolland & Grey, 2013).

O ensaio clínico cruzado e randomizado de Kruger et al (2014) avaliou em 28 mulheres os padrões de absorção de cálcio após a ingestão de 3 bebidas experimentais: 200 ml de leite desnatado contendo 250, 500 ou 1000 mg de cálcio respectivamente. Além disso, um subgrupo de sete voluntários também recebeu uma bebida com cálcio suplementar (gluconato de cálcio / sal de carbonato)

contendo 1000mg de cálcio em 200 ml de água. Neste ensaio, assim como no presente estudo, os valores de cálcio sérico aumentaram após a ingestão de todas as bebidas enriquecidas com cálcio dietético (leite) nas 3h pós-prandiais. Em relação ao cálcio ionizado, não houve diferença significativa em nenhum momento entre as mesmas (Kruger et al., 2014).

Bristow et al (2015) examinaram os efeitos agudos de diferentes fontes de cálcio sobre o cálcio sérico, em um estudo cruzado e randomizado, onde participaram 10 mulheres. As participantes receberam em jejum 500 mg de citrato de cálcio, 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 6h, o cálcio total e 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 (Bristow *et al.*, 2015).

No presente estudo, apesar do aumento significativo na concentração do cálcio total após a ingestão da RRCD (546,64 mg) e do discreto aumento, sem significância estatística, do cálcio ionizado no minuto 120, seus valores médios permaneceram dentro da faixa de normalidade, que varia entre 8,6 a 10,3 mg/dL e 4,4 – 5,4mg/dL para o cálcio total e ionizado, respectivamente (Peacock, 2010). Resultado semelhante foi observado no estudo descrito acima (Bristow et al., 2015), onde apesar da elevação significativa do cálcio sérico promovida por todas as refeições testadas, a refeição com alto teor de cálcio dietético (580 mg) promoveu o menor incremento quando comparada às refeições contendo cálcio suplementar (citrato de cálcio) e os valores séricos de cálcio também se mantiveram dentro da faixa de normalidade.

Os resultados do presente estudo demonstraram uma redução significativa do PTH após a ingestão das duas refeições teste, sendo este declínio significativamente maior após a RRCD do que após a RPC. Além disso, em ambas as refeições, a concentração de PTH caiu aos 120 minutos e se elevou aos 240 minutos, ficando acima dos valores em jejum na RPC. Achado semelhante em relação a queda do PTH no período pós-prandial foi observado em alguns estudos com a administração aguda de cálcio dietético e/ou suplementar, sendo este efeito dose-dependente (Green et al., 2003; Karp et al., 2009; Wang et al., 2014; Kruguer et al., 2014; Bristow et al., 2014).

O metabolismo do cálcio é regulado por três mecanismos principais: absorção intestinal, reabsorção renal e *turnover* ósseo. Estes, por sua vez, são mediados por uma série de interações hormonais, que incluem o PTH, a 1,25 (OH)₂D, o cálcio ionizado em si, e seus receptores correspondentes no intestino, rim e ossos (Peacock, 2010). A supressão do PTH mediante 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 (Kruger et al., 2014).

A redução significativa da concentração sérica de PTH após a RPC foi um resultado não esperado do corrente estudo. Algumas considerações podem justificar tal achado. Foi utilizado o ANOVA para medidas repetidas para a observação da significância estatística. Este teste leva em consideração as medidas realizadas em todos os tempos durante o estudo e não apenas a modificação no início e no final 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: 41,27 pg/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, mesmo que em quantidade muito pequena (± 40 mg), podendo ter influenciado tal achado.

6.4 Biomarcador inflamatório

Um dos mecanismos propostos para explicar o aumento no risco de DCV associada com o aumento na glicemia e na lipemia após uma refeição envolve a produção de radicais livres, com aumento no estresse oxidativo, podendo desencadear inflamação. A presença simultânea de hiperglicemia e hipertrigliceridemia no período pós-prandial apresenta efeito aditivo na piora da inflamação (O'Keefe & Bell, 2007; Lacroix et al., 2012; Ceriello & Genovese, 2016).

No presente estudo, não foi observada elevação significativa da PCR-us após a ingestão de nenhuma das duas refeições teste hiperlipídicas. A PCR-us e as demais proteínas de fase aguda são liberadas pelo fígado em resposta à detecção

de citocinas pró-inflamatórias circulantes, como interleucina (IL)-1, IL-6 e TNF- α (Pepys & Hirschfield, 2003; Herieka & Erridge., 2014).

Os efeitos das refeições hiperlipídicas sobre os marcadores inflamatórios durante o período pós-prandial já foram avaliados. Os resultados de alguns estudos sugerem que após uma sobrecarga lipídica ocorra uma elevação significativa de citocinas inflamatórias, tais como IL-6, TNF- α e PCR-us (Derosa et al., 2009; Dekker et al., 2009; Herieka & Erridge, 2014). Herieka & Erridge (2014) revisaram 57 estudos nos quais refeições ricas em lipídeos induziram inflamação aguda pós-prandial. Dos 57 estudos, 30 avaliaram IL-6 e desses, 22 (73%) relataram aumento na concentração sérica no período pós-prandial, tipicamente alcançando um pico entre 2 – 4h. Em contraste, dos 30 estudos que avaliaram PCR, apenas um relatou aumento no período pós-prandial. Esses resultados foram considerados surpreendentes, pois a IL-6 é um importante estímulo para a liberação de PCR. Uma possível explicação é que o aumento na concentração sérica de PCR após um estímulo ocorra de forma lenta, podendo ser detectável em especial 5h após o estímulo, com um pico cerca de 24h após, e um declínio para os valores basais nos dias subsequentes. Em contrapartida, a IL-6 e o TNF- α , que são as citocinas mais comumente avaliadas, atingem um pico de concentração 2 e 3h respectivamente após o estímulo e rapidamente retornam aos valores basais (Herieka & Erridge, 2014).

Portanto, os resultados do presente estudo estão de acordo com a revisão realizada por Herieka & Erridge (2014), pois avaliamos o período pós-prandial durante apenas as primeiras 4h e não detectamos elevação significativa da PCR-us. Outro aspecto que pode ter contribuído para ausência de elevação significativa da PCR-us é o fato de que indivíduos com hipertrigliceridemia em jejum apresentam aumento mais acentuado na inflamação pós-prandial (Dekker et al., 2009) e as participantes do presente estudo apresentavam valores médios de TG em jejum dentro da faixa da normalidade. Além disto, a glicemia e a lipemia pós-prandiais são consideradas determinantes da inflamação neste período (Derosa et al., 2009; Derosa et al., 2010; Ceriello & Genovese, 2016). No presente estudo, não observamos elevação significativa da glicemia enquanto a lipemia aumentou, porém este aumento não foi tão acentuado quanto em outros estudos como, por exemplo, no estudo de Derosa et al (2009). Na RPC os TG aumentaram 63,59% e 60,02%

após 2h e 4h, respectivamente; enquanto na RRCD os TG apresentaram elevação de 46,55% e 48,05% após 2h e 4h, respectivamente e mesmo assim os valores da PCR-us permaneceram dentro da faixa de normalidade.

O efeito do cálcio dietético e/ou laticínios sobre marcadores inflamatórios após a ingestão de uma refeição hiperlipídica foi avaliado em pouquíssimos estudos (Schmid et al., 2015; Demmer et al., 2016) que apresentaram desenhos bem diferentes do presente estudo, dificultando a comparação com os nossos achados.

Demmer et al (2016) compararam os efeitos de uma refeição contendo ácidos graxos saturados provenientes do queijo com uma refeição contendo ácidos graxos saturados provenientes de uma fonte alternativa vegana. Este ensaio clínico cruzado, randomizado e controlado foi conduzido com 20 adultos com sobrepeso ou obesidade. A refeição contendo queijo possuía 1.002 Kcal, 56,6 g lipídeos, 19,2 g ácidos graxos saturados e 487,11 mg cálcio, enquanto a refeição vegana continha 1.002 Kcal, 57,9 g lipídeos, 19,7g ácidos graxos saturados e 129,71mg de cálcio. As coletas de sangue foram realizadas 1, 3 e 6h após a ingestão das refeições e foram analisados os seguintes marcadores inflamatórios: IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α , proteína quimioatraente para monócitos (MCP-1), PCR e amiloide sérico A. A iAUC para a PCR foi significativamente menor em resposta a refeição contendo queijo em comparação com a refeição vegana. Não foram observadas diferenças entre as refeições em relação aos demais marcadores inflamatórios avaliados. Apesar da comparação dos resultados do presente estudo com os obtidos por Demmer et al (2016) ser difícil de ser feita, pois os desenhos dos estudos são diferentes, pode-se considerar que nossos resultados são divergentes, pois o estudo de Demmer et al (2016) sugere efeitos benéficos dos laticínios. Tal diferença pode ser atribuída ao maior teor de lipídeos e ao maior período de tempo de coleta de sangue no estudo realizado por Demmer et al (2016), o que pode ter favorecido a elevação da PCR e possibilitado a observação do efeito dos laticínios.

No estudo cruzado de Schmid et al (2015), já descrito previamente, os participantes (19 indivíduos saudáveis) receberam 3 refeições hiperlipídicas, sendo uma refeição rica em laticínios, contendo queijo e manteiga (HFD *meal*; 1.000 Kcal, 67g gordura, 924 mg cálcio), uma pobre em laticínios suplementada com leite integral (HFM *meal*; 1.277 Kcal, 84g gordura, 525 mg cálcio) e uma refeição controle sem laticínios (HFC *meal*; 1.005 Kcal; 67g gordura, 73 mg cálcio). Não foram

encontradas diferenças significativas entre as três refeições em relação aos biomarcadores inflamatórios avaliados: TNF- α , IL-6 e PCR nos diferentes tempos no período pós-prandial. Entretanto, os resultados intra-refeição (dentro de cada refeição) sugerem que o leite integral pode ter efeito benéfico sobre a inflamação pós-prandial induzida por uma refeição hiperlipídica, uma vez que em contraste com as refeições contendo queijo e manteiga (HFD *meal*), a refeição contendo leite integral (HFM *meal*) foi a única onde nenhum dos marcadores inflamatórios avaliados aumentaram de forma significativa, mesmo tendo um valor energético 30% maior que a refeição controle (HFC *meal*). Além disto a iAUC da PCR foi significativamente menor após o consumo da HFM *meal* em comparação com a HFD *meal*. Conforme abordado previamente este estudo apresenta desenho bem diferente do corrente estudo dificultando a comparação, porém seus resultados divergem dos nossos, pois não observamos modificações significativas da PCR-us após as 2 refeições. A possível explicação é o maior teor de gordura no estudo realizado por Schmid et al (2015).

6.5 Função microvascular

Após 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 RRCD também foi observado prejuízo na função vascular, porém só foi alcançada significância estatística no pico da CVC e na amplitude da CVC.

As arteríolas, os capilares e as vênulas compõem a microcirculação sendo vasos que apresentam diâmetro menor do que 150 μ m. A disfunção microvascular pode preceder o prejuízo na função endotelial nas grandes artérias. Nas DCV alguns leitos microvasculares como da retina e do rim podem estar alterados (Hellman et al., 2015). Nos últimos anos, a microcirculação da pele tem sido considerada um leito vascular facilmente acessível e potencialmente representativo para se avaliar e compreender os mecanismos da função e disfunção microvascular (Mahé et al., 2012; Hellman et al., 2015). A disfunção microvascular foi descrita em diferentes

condições fisiológicas e patologias (Roustit & Cracowski, 2013). Por exemplo, prejuízos na reatividade microvascular cutânea se associaram com a doença coronariana (Ijzerman et al., 2003; Borges et al., 2016). A função microvascular cutânea foi um marcador independente de DCV 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 DCV (Roustit & Cracowski, 2013).

Técnicas tanto invasivas quanto não invasivas podem ser utilizadas para realizar a avaliação da função microvascular. Dentre as técnicas não invasivas, os sistemas de *laser* são os mais utilizados. A técnica de *laser speckle contrast imaging* (LSCI) (fluxometria *laser speckle*), desenvolvida recentemente, para monitorização da função microvascular da pele permite monitorar as modificações no fluxo sanguíneo cutâneo em tempo real. Evidências 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 foram desenvolvidos para avaliar a microcirculação com o LSCI. Os testes podem ser sem intervenção farmacológica ou 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 HRPO. Este teste de reatividade se refere ao aumento agudo no fluxo sanguíneo dentro do tecido observado imediatamente após a liberação da oclusão local arterial. Ele é realizado colocando um manguito na parte superior do braço e aumentando a pressão acima da PA 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 & Roustit, 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 & Roustit, 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 função microvascular (Roustit et al., 2010).

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 já foram observados (Lithander et al., 2013).

Através de abrangente busca bibliográfica foi possível identificar apenas três estudos avaliando o efeito do cálcio dietético e/ou laticínios sobre a função endotelial durante o período pós-prandial (Ballard et al., 2013; Alba et al., 2016; Stanhewicz et al., 2016).

No estudo conduzido por Stanhewicz et al (2016) o consumo de queijo foi capaz de reduzir a disfunção microvascular cutânea induzida pela ingestão de sódio em indivíduos saudáveis. Enquanto no estudo de Alba et al (2016), o consumo de leite não melhorou a vasodilatação dependente de óxido nítrico na microcirculação cutânea em comparação com uma bebida de arroz. Esses 2 estudos foram realizados pelos mesmos pesquisadores e avaliaram a microcirculação através da LDF. Entretanto encontraram resultados que podem ser considerados divergentes. Esta divergência pode ser atribuída a diferença nos alimentos testados (queijo vs. leite), além do teor de cálcio e sódio.

Ballard et al (2013) avaliaram se a ingestão aguda de leite desnatado pode limitar o prejuízo pós-prandial da função endotelial. Neste estudo duplo-cego, randomizado e cruzado, adultos apresentando síndrome metabólica ingeriram leite desnatado (475 ml) ou um volume isocalórico de leite de arroz após uma noite de jejum. A função endotelial foi avaliada através da FMD e não se modificou pela ingestão do leite, mas reduziu de forma significativa após o consumo de leite de

arroz. Os autores concluíram que o leite desnatado mantém a função endotelial em indivíduos com síndrome metabólica por limitar a hiperglicemia que por sua vez favorece a peroxidação lipídica reduzindo a biodisponibilidade de óxido nítrico.

Com base nos poucos estudos disponíveis até o presente momento não é possível se chegar a um consenso em relação ao efeito agudo do cálcio dietético / laticínios sobre a função vascular.

6.6 Pressão arterial e frequência cardíaca

Após a ingestão das duas refeições teste, os valores de PA sistólica, diastólica e média, assim como os valores de frequência cardíaca, aumentaram significativamente no presente estudo. Essa elevação foi observada nos 10 minutos iniciais do período pós-prandial e se manteve até o final dos 120 minutos.

A grande maioria dos artigos (originais e de revisão) que abordam as modificações da PA durante o período pós-prandial se referem a hipotensão pós-prandial que é frequentemente observada em idosos. O mecanismo responsável pela hipotensão pós-prandial não é completamente conhecido. Após uma refeição ocorre um aumento no volume sanguíneo intestinal e a redução da PA é evitada através da interação de vários mecanismos incluindo o aumento na atividade simpática. A ativação inadequada do sistema nervoso simpático parece contribuir para a hipotensão pós-prandial (O'Mara & Lyons, 2002; Luciano et al., 2010; Uetani et al., 2012).

Em contrapartida alguns estudos recentes, de forma similar ao nosso, observaram elevação da PA após a ingestão de uma refeição hiperlipídica (Jakulj et al., 2007; Esser et al., 2013; Lithander et al., 2013). A elevação significativa da PA também foi observada após sobrecarga oral ou mesmo venosa de lipídeos (não associada a refeição) (Gosmanov et al., 2010; Umpierrez et al., 2009).

No ensaio clínico, randomizado, duplo-cego realizado por Esser et al (2013) 20 indivíduos jovens e saudáveis ingeriram duas refeições teste: refeição hiperlipídica/hipercalórica (954 Kcal , 6g proteínas, 95 g lipídeos e 22 g carboidratos) e refeição equilibrada em macronutrientes (400 Kcal, 17 g proteínas, 14,5 g lipídeos

e 49,5 g carboidratos). A PA foi avaliada com o equipamento Dinamap® PRO tendo sido observado aumento significativo da PA sistólica após as duas refeições, sendo a elevação da PA sistólica mais acentuada em resposta a refeição hiperlipídica/hipercalórica, enquanto a PA diastólica não apresentou modificações significativas, tendo sido semelhante após as refeições (Esser et al., 2013).

Lithander et al (2013) avaliaram em um estudo cruzado e randomizado 20 participantes saudáveis que receberam em duas ocasiões, refeições isoenergéticas e hiperlipídicas (3MJ= ~716 kcal, ~56g de gordura) com diferentes fontes de lipídeos. A PA foi avaliada a cada 30 minutos, até 4h após a ingestão das refeições teste, usando um monitor de PA *digital A & D Medical UA-767 Plus* (Tóquio, Japão). Neste ensaio clínico, houve um aumento significativo da PAM e da frequência cardíaca após a ingestão das duas refeições hiperlipídicas não havendo diferenças entre as mesmas (Lithander et al., 2013).

Existem evidências de que o mecanismo responsável pela elevação da PA após uma refeição hiperlipídica seja a consequente hipertrigliceridemia e elevação na concentração de ácidos graxos livres o que pode aumentar o estresse oxidativo, levando a disfunção endotelial e consequente elevação da PA (Lithander et al., 2013).

Uetani et al (2012) conduziram um estudo com 1.339 pessoas de meia idade e idosos e observaram que a hipertensão pós-prandial foi um determinante independente da espessura média intimal da carótida e da velocidade da onda de pulso. Esses autores sugeriram que a hipertensão pós-prandial pode ser considerada um marcador de aterosclerose.

O estudo de Murray et al (2015) apresentou resultados divergentes dos nossos e dos estudos descritos acima. Neste estudo piloto, 19 adultos jovens receberam uma refeição mista rica em gorduras saturadas: 450 Kcal; 27g de gordura total (56%) (10 gramas de gordura saturada), 30g de carboidrato (18%), 21g de proteína (27%). A PA sistólica e a diastólica foram significativamente mais baixas no período pós-prandial (Murray et al., 2015).

A divergência encontrada nos poucos estudos que avaliaram o efeito de refeições hiperlipídicas sobre a PA sugerem que no período pós-prandial a PA pode ter sido determinada pela influência de inúmeros fatores como por exemplo, os micro e macronutrientes presentes na refeição, o teor e a qualidade de lipídeos das

refeições testes, assim como as características dos participantes incluídos nos estudos. Alguns componentes da dieta, como compostos antioxidantes incluindo os polifenóis presentes, por exemplo, em frutas, chá verde e chocolate amargo podem conferir efeitos benéficos sobre a função endotelial e conseqüentemente favorecer a redução da PA (Lekakis et al., 2005; Vlachopoulos et al., 2005; Alexopoulos et al., 2008). Existem evidências de que a presença de carboidratos nas refeições também pode contribuir para a redução da PA no período pós-prandial, uma vez que os carboidratos induzem a liberação de insulina, que apresenta um efeito vasodilatador (Kearney et al., 1995).

No corrente estudo, a obtenção dos valores de PA foi realizada através do equipamento Finometer, que fornece de forma não invasiva e contínua os valores de PA, sendo considerado sensível para avaliar pequenas alterações na função cardiovascular decorrentes de intervenções dietéticas (Schutte et al., 2003; Cao & Pilowsky, 2014).

A elevação da PA observada no presente estudo não apresentou diferenças entre as 2 refeições. Dentro do nosso conhecimento, não existem até o presente momento estudos que avaliaram o efeito agudo do cálcio dietético e/ou laticínios sobre a PA, o que dificulta a comparação dos nossos resultados.

6.7 Limitações do estudo

Algumas limitações do presente estudo podem ser citadas, dentre elas as características das participantes, que podem ter influenciado nos resultados encontrados, uma vez que as voluntárias apresentavam um perfil metabólico dentro dos valores de normalidade (glicemia em jejum e lipidograma), enquanto que na maioria dos estudos onde foi avaliado o dismetabolismo pós-prandial, os participantes apresentavam pelo menos algum tipo de alteração nesses parâmetros.

A avaliação de outros marcadores metabólicos, inflamatórios e de estresse oxidativo poderia contribuir para novos achados significativos. Entretanto, não se pode diminuir a importância dos resultados do presente estudo.

Apesar de não terem sido observados efeitos benéficos da RRCD, caso tais benefícios tivessem sido observados, não seria possível atribuí-los exclusivamente ao cálcio dietético, pois outros componentes bioativos encontrados no leite podem contribuir para melhora de diferentes fatores de risco para DCV como por exemplo o potássio, o magnésio e as proteínas de elevada qualidade (Forouhi, 2015; Astrup, 2014). Existem evidências de que o leite apresenta baixo índice glicêmico devido as suas proteínas, em especial a caseína, que apresenta propriedades insulínogênicas e facilitam o controle da glicemia através de mecanismos envolvendo a elevação de certos aminoácidos plasmáticos e o estímulo de incretinas (Gunnerud et al., 2012). O leite é uma importante fonte de leucina e de peptídeos que podem inibir a enzima conversora da angiotensina. Existem evidências de que a elevada concentração de leucina nos laticínios pode favorecer a síntese de proteína muscular, inibir a degradação muscular e reduzir o armazenamento de energia no tecido adiposo. Os peptídeos que inibem a enzima conversora da angiotensina podem apresentar efeitos benéficos sobre adiposidade, PA e inflamação (Zemel, 2005; Zemel et al., 2009; Sun & Zemel, 2007).

Os laticínios têm sido uma parte importante da dieta humana por cerca de 8.000 anos e fazem parte das recomendações nutricionais oficiais em muitos países ao redor do mundo. Eles fornecem um pacote de nutrientes chaves que dificilmente são obtidos em dietas que apresentam quantidades limitadas de laticínios ou que não possuem esses alimentos, tais como as dietas veganas ou restritivas em laticínios. Eles contribuem com aproximadamente 52-65% da ingestão dietética recomendada de cálcio e 20 – 28% das necessidades de proteínas, dependendo da idade do consumidor. A contribuição dos laticínios para o fornecimento da ingestão diária recomendada de cálcio é a principal responsável pela recomendação dietética para se incluir a ingestão de laticínios na maioria das Diretrizes. Até 2/3 da ingestão de cálcio nas populações de países ocidentais é fornecida pelos laticínios, enquanto ao mesmo tempo os laticínios representam apenas 9-12% do consumo total de energia (Rozenberg et al., 2016).

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo realizado em mulheres obesas sugerem que o cálcio dietético é capaz de promover redução aguda do PTH, porém não apresenta efeitos agudos sobre a glicemia, a lipemia, os níveis séricos de cálcio, a concentração plasmática de proteína C reativa, a reatividade microvascular cutânea e a pressão arterial no período pós-prandial.

REFERÊNCIAS

Alba BK, Stanhewicz AE, Kenney WL, Alexander LM. Acute dairy milk ingestion does not improve nitric oxide-dependent vasodilation in the cutaneous microcirculation. *Br J Nutr.* 2016;116(2):204-10.

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.

Al-Delaimy WK, Rimm E, Willett WC, Stampfer, MJ, Hu FB. A prospective study of calcium intake from diet and supplements and risk of ischemic heart disease among men. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(4):814–8.

Alexander DD, Bylsma LC, Vargas AJ, Cohen SS, Doucette A, Mohamed M, et al. Dairy consumption and CVD: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 2016; 115(4):737-50.

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.

Alssema M, Boers HM, Ceriello A, Kilpatrick ES, Mela DJ, Priebe MG, et al. Diet and glycaemia: the markers and their meaning. A report of the Unilever Nutrition Workshop. *Br J Nutr.* 2015;113(2):239-48.

American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2014;37(1):S81-S90.

Artinian NT, Fletcher GF, Mozaffarian D, Kris-Etherton P, Van Horn L, Lichtenstein AH, et al. Interventions to promote physical activity and dietary lifestyle changes for cardiovascular risk factor reduction in adults. A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2010;122(4):406-41.

Astrup A. Yogurt and dairy product consumption to prevent cardiometabolic diseases: epidemiologic and experimental studies. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(5 Suppl):1235S-42S.

Aune D, Norat T, Romudstad P, Vatten LJ. Dairy products and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies 1–3. *Am J Clin Nutr* 2013;98:1066–83.

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.

Babos L, Járαι Z, Nemcsik J. Evaluation of microvascular reactivity with laser Doppler flowmetry in chronic kidney disease. *World J Nephrol.* 2013;2(3):77-83.

Bae JH, Bassenge E, Kim KB, Kim YN, Kim KS, Lee HJ, et al. Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Atherosclerosis.* 2001;155(2):517-23.

Ballard KD, Mah E, Guo Y, Pei R, Volek JS, Bruno RS. Low-fat milk ingestion prevents postprandial hyperglycemia-mediated impairments in vascular endothelial function in obese individuals with metabolic syndrome. *J Nutr.* 2013;143(10):1602-10.

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

Barac A, Campia U, Panza JA. Methods for evaluating endothelial function in humans. *Hypertension.* 2007;49:748-60.

Barboza GD, Guizzardi S, Talamoni NT. Molecular aspects of intestinal calcium absorption. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(23):7142-54.

Belfiore F, Iannello S, Camuto M, Fagone S, Cavaleri A. Insulin sensitivity of blood glucose versus insulin sensitivity of blood free fatty acids in normal, obese, and obese-diabetic subjects. *Metabolism.* 2001;50:573–82.

Benatar JR, Sidhu K, Stewart RA. Effects of high and low fat dairy food on cardio-metabolic risk factors: a meta-analysis of randomized studies. *PLoS One.* 2013;8(10):e76480.

Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation.* 1997;96(9):3042-7.

Bloomer RJ and 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.

Blum S, Aviram M, Ben-Amotz A, Levy Y. Effect of a Mediterranean meal on post-prandial carotenoids, paraoxonase activity and C-reactive protein levels. *Ann Nutr Metab* 2006;50:20–4.

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.

Bonetti PO, Barsness GW, Keelan PC, Schnell TI, Pumper GM, Kuvin JT, et al. Enhanced external counterpulsation improves endothelial function in patients with symptomatic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:1761-8.

Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR.Jr, Kuvin, JT, Lerman A. Non invasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:2137–41.

Borén J, Matikainen M, Adiels M, Taskinen M. Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clin Chim Acta*. 2014;431:131–42.

Borges JP, Lopes GO, Verri V, Coelho MP, Nascimento PM, Kopiler DA, et al. A novel effective method for the assessment of microvascular function in male patients with coronary artery disease: a pilot study using laser speckle contrast imaging. *Braz J Med Biol Res*. 2016;49(10):e5541.

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, Botham KM. 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, 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*. 2015;113(10):1585-94.

Bristow SMM, Gamble GD, Stewart A, Horne L, House ME, 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.

Bullo M, Garcia-Lorda P, Peinado-Onsurbe J, Hernandez M, Del Castillo D, Argiles JM, et al. TNF α 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.

Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cell. *J Am Soc Hypertens*. 2012;6(2):85-99.

Cao L, Pilowsky PM. Quiet standing after carbohydrate ingestion induces sympathoexcitatory and pressor responses in young healthy males. *Auton Neurosci*. 2014;185:112-9.

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, Bonoma 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. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91:813–819. 9

Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992;340:1111–5.

Ceriello A, Falletti E, Motz E, Taboga C, Tonutti L, Ezsol Z, et al. Hyperglycemia-induced circulating ICAM-1 increase in diabetes mellitus: the possible role of oxidative stress. *Horm Metab Res.* 1998;(3):146-9.

Ceriello A, Genovese S. Atherogenicity of postprandial hyperglycemia and lipotoxicity. *Rev Endocr Metab Disord.* 2016;17(1):111-6.

Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, Quagliaro 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.

Ceriello A. Impaired glucose tolerance and cardiovascular disease: the possible role of post-prandial hyperglycemia. *Am Heart J.* 2004;147(5):803-7.

Ceriello A. The post-prandial state and cardiovascular disease: relevance to diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev.* 2000;16:125–32.

Chan R, Leung J, Woo J. A Prospective Cohort Study Examining the Associations of Dietary Calcium Intake with All-Cause and Cardiovascular Mortality in Older Chinese Community-Dwelling People. *PLoS ONE.* 2013;8(11):e80895.

Choi HK, Willett WC, Stampfer MJ, Rimm E, Hu FB. Dairy consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in men. *Arch Intern Med.* 2005;165:997-1003.

Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257–65.

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;22:233-240.

Cozzolino S MF. Biodisponibilidade de nutrientes. Barueri: Manole, 2005. 878p.

Cracowski JL, Roustiti M. Current methods to assess human cutaneous blood flow: an updated focus on laser-based-techniques. *Microcirculation.* 2016; 23(5):337-44.

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.

Dalla-Riva J, Garonna E, Elliott J, Botham KM, Wheeler-Jones CP. Endothelial cells as targets for chylomicron remnants. *Atheroscler Suppl.* 2010;11(1):31-7.

- Dalmeijer GW, Struijk EA, van der Schouw YT, Soedamah-Muthu SS, Verschuren WM, Boer JM, et al. Dairy intake and coronary heart disease or stroke--a population-based cohort study. *Int J Cardiol.* 2013;167(3):925-9.
- de Goede J, Soedamah-Muthu SS, Pan A, Gijsbers L, Geleijnse JM. Dairy Consumption and Risk of Stroke: A Systematic Review and Updated Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(5).
- de Vegt F, Dekker JM, Ruhé HG, Stehouwer CD, Nijpels G, Bouter LM, et al. Hyperglycaemia is associated with all-cause and cardiovascular mortality in the Hoorn population: the Hoorn Study. *Diabetologia.* 1999(8):926-31.
- Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115(10):1285-95.
- 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.
- 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.
- Dekker MJ, Wright AJ, Mazurak VC, Marangoni AG, Rush JW, Graham TE, et al. Fasting triacylglycerol status, but not polyunsaturated/saturated fatty acid ratio, influences the postprandial response to a series of oral fat tolerance tests. *J Nutr Biochem.* 2009;20(9):694-704.
- Demmer E, Van Loan MD, Rivera N, Rogers TS, Gertz ER, German JB, et al. Consumption of a high-fat meal containing cheese compared with a vegan alternative lowers postprandial C-reactive protein in overweight and obese individuals with metabolic abnormalities: a randomised controlled cross-over study. *J Nutr Sci.* 2016; 5: e9.
- 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.
- Després JP. Abdominal obesity and cardiovascular disease: is inflammation the missing link? *Can J Cardiol.* 2012;28(6):642-52.
- Díaz-López A, Bulló M, Martínez-González MA, Corella D, Estruch R, Fitó M, et al. Dairy product consumption and risk of type 2 diabetes in an elderly Spanish Mediterranean population at high cardiovascular risk. *Eur J Nutr.* 2016;55(1):349-60.

Ditscheid B, Keller S, Jahreis G. Cholesterol metabolism is affected by calcium phosphate supplementation in humans. *J Nutr.* 2005;135(7):1678-82.

Donahue RP, Abbott RD, Reed DM, Yano K. Postchallenge glucose concentration and coronary heart disease in men of Japanese ancestry. *Honolulu Heart Program. Diabetes.* 1987;36(6):689-92.

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.

Drehmer M, Pereira MA, Schmidt MI, Del Carmen B, Molina M, Alvim S, et al. Associations of dairy intake with glycemia and insulinemia, independent of obesity, in Brazilian adults: the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Am J Clin Nutr.* 2015;101(4):775-82.

Eberly LE, Stamler J, Neaton JD. Relation of triglyceride levels, fasting and nonfasting, to fatal and nonfatal coronary heart disease. *Arch Intern Med.* 2003;163:1077-83.

Elwood PC, Givens DI, Beswick AD, Fehily AM, Pickering JE, Gallacher J. The survival advantage of milk and dairy consumption: an overview of evidence from cohort studies of vascular diseases, diabetes and cancer. *J Am Coll Nutr.* 2008;27(6):723S-34S.

Elwood PC, Pickering J, Givens DI, Gallacher J. The consumption of milk and dairy foods and the incidence of vascular disease and diabetes: an overview of the evidence. *Lipids* 2010;45:925-39.

Engberink MF, Hendriksen MAH, Schouten EG, van Rooij FJA, Hofman A, Witteman JCM, et al. Inverse association between dairy intake and hypertension: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr.* 2009;89(6):1877-83.

Esmailzadeh A, Azadbakht L. Dairy consumption and circulating levels of inflammatory markers among Iranian women. *Public Health Nutr.* 2010 Sep;13(9):1395-402.

Esper RJ, Nordaby RA, Vilarino JO, Paragano A, Cacharrón JL, Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol.* 2006;5:4.

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;106:2067-72.

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.

European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al.; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J*. 2011;32(14):1769-818.

European Heart Network. Diet, Physical Activity and Cardiovascular Disease Prevention in Europe. 2011. Acesso em : 25 março 2014. Disponível em: <http://www.ehnheart.org/publications/publications/publication/521-diet-physical-activity-and-cardiovascular-disease-prevention.html>

Eussen SJ, van Dongen MC, Wijckmans N, den Biggelaar L, Oude Elferink SJ, Singh-Povel CM, et al. Consumption of dairy foods in relation to impaired glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus: the Maastricht Study. *Br J Nutr*. 2016;24:1-9.

Ferreira TS, Torres MR, Sanjuliani AF. Dietary calcium intake is associated with adiposity, metabolic profile, inflammatory state and blood pressure, but not with erythrocyte intracellular calcium and endothelial function in healthy pre-menopausal women. *Br J Nutr*. 2013;15:1-10.

Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. C-reactive protein is more strongly related to post-glucose load glucose than to fasting glucose in non-diabetic subjects: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabet Med* 2002;19:939-43.

Frouhi NG. Association between consumption of dairy products and incident type 2 diabetes--insights from the European Prospective Investigation into Cancer study. *Nutr Rev*. 2015;73 Suppl 1:15-22.

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

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.

Fumeron F, Lamri A, Khalil AC, Jaziri R, Porchay-Balde'relli I, Lantieri O, et al. Dairy consumption and the incidence of hyperglycemia and the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2011;34(4):813-7.

Gannon MC, Nuttall FQ, Westphal SA, Seaquist ER. The effect of fat and carbohydrate on plasma glucose, insulin, C-peptide, and triglycerides in normal malesubjects. *J Am Coll Nutr*. 1993;12(1):36-41.

Gao D, Ning N, Wang C, Wang Y, Li Q, Meng Z, et al. Dairy products consumption and risk of type 2 diabetes: systematic review and dose-response meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(9):e73965.

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.

Gerich JE. Clinical significance, pathogenesis and management of postprandial hyperglycemia. *Arch Intern Med*. 2003; 163:1306–16.

Gijssbers L, Ding EL, Malik VS, de Goede J, Geleijnse JM, Soedamah-Muthu SS. Consumption of dairy foods and diabetes incidence: a dose-response meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(4):1111-24.

Gill JM, Al-Mamari A, Ferrell WR, Cleland SJ, Packard CJ, Sattar N, et al. Effects of prior moderate exercise on postprandial metabolism and vascular function in lean and centrally obese men. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(12):2375-82.

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

Gonzalez JT, Stevenson EJ. Calcium co-ingestion augments postprandial glucose-dependent insulinotropic peptide(1-42), glucagon-like peptide-1 and insulin concentrations in humans. *Eur J Nutr*. 2014;53(2):375-85.

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.

Green JH, Booth C, Bunning R. Postprandial metabolic responses to milk enriched with milk calcium are different from responses to milk enriched with calcium carbonate. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2003;12(1):109-19.

Gresele P, Guglielmini G, De Angelis M, Ciferri S, Ciofetta M, Falcinelli E, et al. Acute, short-term hyperglycemia enhances shear stress-induced platelet activation in patients with type II diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41(6):1013-20.

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):143-51.

Gunnerud U, Holst JJ, Östman E, Björck I. The glycemic, insulinemic and plasma amino acid responses to equi-carbohydrate milk meals, a pilot- study of bovine and human milk. *Nutr J*. 2012;11:83.

Gupta N, Jensen MD. Clinical effects of high-fat meals and weight gain due to high-fat feeding. *Int J Obes Suppl.* 2012;2(Suppl 2):S51-5.

Haffner SM. The importance of hyperglycemia in the nonfasting state to the development of cardiovascular disease. *Endocr Rev* 1998;19:583–92.

Hellman M, Roustit M, Cracowski JL. Skin microvascular endothelial function as a biomarker in cardiovascular diseases? *Pharmacol Rep.* 2015;67(4):803-10.

Herieka M, Erridge C. High-fat meal induced postprandial inflammation. *Mol. Nutr. Food Res.* 2014; 58:136–46.

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.

Hu D, Huang J, Wang Y, Langsted D, Qu Y. Dairy foods and risk of stroke: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24(5):460-9.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Rio de Janeiro, 2010.

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.

Jackson KG, Poppitt SD, Minihane AM. Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: Interrelationships between dietary, physiological and genetic

Jacqmain M, Doucet E, Despre´s JP, Bouchard C, Tremblay A. Calcium intake, body composition, and lipoprotein-lipid concentrations in adults. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(6):1448-52.

Jakulj F, Zernicke K, Bacon S, van Wielingen LE, Key BL, West SG, et al. A high fat meal increases cardiovascular reactivity to psychological stress in healthy young adults. *J Nutr* 2007;137:935–9.

Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2003;46:3–19.

Kaluza J, Orsini N, Levitan EB, Brzozowska A, Roszkowski W, Wolk A. Dietary Calcium and Magnesium Intake and Mortality: A Prospective Study of Men. *Am J Epidemiol.* 2010;171:801–7.

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. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J Intern Med* 1999;246:341–55.

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.

Klop B, Proctor SD, Mamo, JC, Botham KM, Cabezas MC. Understanding Postprandial Inflammation and Its Relationship to Lifestyle Behaviour and Metabolic Diseases. *Int J Vasc Med.* 2012;2012:947417.

Kolovou G, Ooi TC. Postprandial lipaemia and vascular disease. *Curr Opin Cardiol.* 2013;28(4):446-51.

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.

Kondo I, Ojima T, Nakamura M, Hayasaka S, Hozawa A, Saitoh S, et al. Consumption of Dairy Products and Death From Cardiovascular Disease in the Japanese General Population: The NIPPON DATA80. *J Epidemiol* 2013;23(1):47-54.

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.

Labonté MÈ, Couture P, Richard C, Desroches S, Lamarche B. Impact of dairy products on biomarkers of inflammation: a systematic review of randomized controlled nutritional intervention studies in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(4):706-17.

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.

Lambert JE, Parks EJ. Postprandial metabolism of meal triglyceride in humans. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1821(5):721-6.

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 SC, Orsini N, Wolk A. Dietary calcium intake and risk of stroke: a dose-response meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2013;97:951-7.

Lavi T, Karasik A, Koren-Morag N, Kanety H, Feinberg MS, Shechter M. The acute effect of various glycemic index dietary carbohydrates on endothelial function in nondiabetic overweight and obese subjects. *J Am Coll Cardiol*. 2009 16;53(24):2283-7.

Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO. Obesity and cardiovascular disease: Risk factor, paradox, and impact of weight loss. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:1925-32.

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.

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.

Lin HJ, Lee BC, Ho YL, Lin YH, Chen CY, Hsu HC, et al. Postprandial glucose improves the risk prediction of cardiovascular death beyond the metabolic syndrome in the nondiabetic population. *Diabetes Care*. 2009;32(9):1721-6.

Lindman AS, Veierod MB, Tverdal A, Pedersen JI, Selmer R. Nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular death in men and women from the Norwegian counties study. *Eur J Epidemiol*. 2010;25:789–98

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.

Loader J, Montero D, Lorenzen C, Watts R, Méziat C, Reboul C, et al. Acute Hyperglycemia Impairs Vascular Function in Healthy and Cardiometabolic Diseased Subjects: Systematic Review and Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(9):2060-72.

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, Astrup A. Dairy calcium intake modifies responsiveness of fat metabolism and blood lipids to a high-fat diet. *Br J Nutr.* 2011;31:1-10.

Lorenzen JK, Jensen SK, Astrup A. Milk minerals modify the effect of fat intake on serum lipid profile: results from an animal and a human short-term study. *Br J Nutr.* 2014;111(8):1412-20.

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.

Lowe LP, Liu K, Greenland P, Metzger BE, Dyer AR, Stamler JF. Diabetes, asymptomatic hyperglycemia, and 22-year mortality in black and white men. The Chicago Heart Association Detection Project in Industry Study. *Diabetes Care.* 1997;20(2):163-9.

Luciano GL, Brennan MJ, Rothberg MB. Postprandial hypotension. *Am J Med.* 2010;123(3):281.e1-6.

Maffeis C, Pinelli L, Surano MG, Fornari E, Cordioli S, Gasperotti S, et al. Pro-atherogenic postprandial profile: meal-induced changes of lipoprotein sub-fractions and inflammation markers in obese boys. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012; 22(11):959-65.

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):54-9.

Mangat R, Su J, Scott PG, Russell JC, Vine DF, Proctor SD. Chylomicron and apoB48 metabolism in the JCR:LA corpulent rat, a model for the metabolic syndrome. *Biochem Soc Trans.* 2007; 35:477-81.

Maranhão PA, Bouskela E, Aguiar LGK. Lipemia pós-prandial e incretinas na reatividade endotelial. *Revista HUPE,* 2014;13(1):80-86

Marfella R, Esposito K, Giunta R, Coppola G, De Angelis L, Farzati B, et al. Circulating adhesion molecules in humans: role of hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Circulation.* 2000;101(19):2247-51.

Marniemi J, Alanen E, Impivaara O, Seppanen R, Hakala P, Rajala T, et al. Dietary and serum vitamins and minerals as predictors of myocardial infarction and stroke in elderly subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005;15(3):188–97.

Mathews DR, Hosker JP, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-9.

Meigs JB, Nathan DM, D'Agostino RB Sr, Wilson PW; Framingham Offspring Study. Fasting and postchallenge glycemia and cardiovascular disease risk: the Framingham Offspring Study. *Diabetes Care.* 2002;25(10):1845-50.

Michaëlsson K, Melhus H, Lemming EW, Wolk A, Byberg L. Long term calcium intake and rates of all cause and cardiovascular mortality: community based prospective longitudinal cohort study. *BMJ* 2013;346:f228.

Miller GD, DiRienzo DD, Reusser ME, McCarron DA. Benefits of dairy product consumption on blood pressure in humans: a summary of the biomedical literature. *J Am Coll Nutr.* 2000;19(suppl):147S-64S.

Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM,. Fasting Compared With Nonfasting Lipids and Apolipoproteins for Predicting Incident Cardiovascular Events. *Circulation.* 2008;118:993-1001.

Murray T, Yang EY, Brunner G, Kumar A, Lakkis N, Misra A, et al. Postprandial effects on arterial stiffness parameters in healthy young adults. *Vasc Med.*2015; 20(6):501-8.

Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, Inazu A, Kobayashi J, et al. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clin Chim Acta.* 2011; 412(15-16):1306-18.

Nakamura K, Miyoshi T, Yunoki K, Ito H. Postprandial hyperlipidemia as a potential residual risk factor. *J Cardiol.* 2016;67(4):335-9.

Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden. *Lancet.* 2014;384(9945):766-81.

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;298:299-308.

Nordestgaard BG, Freiberg JJ. Clinical Relevance of Non-Fasting and Postprandial Hypertriglyceridemia and Remnant Cholesterol. *Current Vascular Pharmacology,* 2011;9, 281-86.

Nordestgaard BG, Langsted A, Freiberg JJ. Nonfasting hyperlipidemia and cardiovascular disease. *Curr Drug Targets.* 2009 ;10(4):328-35.

Nordestgaard BG, Ooi TC. Assessment and Clinical Relevance of Non-Fasting and Postprandial Triglycerides: An Expert Panel Statement. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011;9, 258-70.

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;51:249–55.

O'Connor LM, Lentjes MA, Luben RN, Khaw KT, Wareham NJ, Forouhi NG. Dietary dairy product intake and incident type 2 diabetes: a prospective study using dietary data from a 7-day food diary. *Diabetologia*. 2014;57(5):909-17.

O'Keefe JH, Bell DS. Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 2007;100(5):899-904.

Olofsson SO, Boren J. Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *J Intern Med*. 2005; 258: 395–410.

O'Mara G, Lyons D. Postprandial hypotension. *Clin Geriatr Med*. 2002;18(2):307-21.

Onat A, Hergenç G, Yüksel H, Can G, Ayhan E, Kaya Z, Dursunoğlu D. Neck circumference as a measure of central obesity: associations with metabolic syndrome and obstructive sleep apnea syndrome beyond waist circumference. *Clin Nutr*. 2009;28(1):46-51.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Cardiovascular Diseases (CVDs). Fact Sheet nº 317; 2011. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>. Acesso em 08 set. 2016.

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.

Panagiotakos DB, Pitsavos CH, Zampelas AD, Chrysohoou CA, Stefanadis CI. Dairy products consumption is associated with decreased levels of inflammatory markers related to cardiovascular disease in apparently healthy adults: the ATTICA study. *J Am Coll Nutr* 2010;29(4):357-64.

Park KM, Cifelli CJ. Dairy and blood pressure: a fresh look at the evidence *Nutrition Reviews* 2013; 71(3):149–157.

Patterson E, Larsson SC, Wolk A, Akesson A. Association between Dairy Food Consumption and Risk of Myocardial Infarction in Women Differs by Type of Dairy Food. *J Nutr*. 2013;143:74-9.

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, Kabagambe EK, García-Ríos A, Tsai MY4, Delgado-Lista J, et al. Assessment of postprandial triglycerides in clinical practice: Validation in a general population and coronary heart disease patients. *J Clin Lipidol.* 2016;10(5):1163-71.

Perk J, Backer GD, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren W M M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). *Eur Heart J.* 2012;33:1635–701

Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice: The sixth joint task force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis.* 2016;252:207-74.

Pikilidou MI, Lazaridis 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.* 200;26(3):211-9.

Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. Postprandial lipemia as a cardiometabolic risk factor. *Curr Med Res Opin.* 2014;30(8):1489-503.

Pitanga FJ, Lessa .Waist-to-height ratio as a coronary risk predictor among adults. *Rev Assoc Med Bras.* 2006;52(3):157-61

Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li Tricia, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* 2006;29(3):650-6.

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.* 2007;92(6):2017-29.

Prospective Studies Collaboration. Body mass index and cause specific mortality in 900.000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet.* 2009;373:1083–96.

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.

Qin LQ, Xu JY, Han SF, Zhang ZL, Zhao YY, Szeto IM. Dairy consumption and risk of cardiovascular disease: an updated meta-analysis of prospective cohort studies. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2015;24(1):90-100.

Rajpathak SN, Xue X, Wassertheil-Smoller S, Horn LV, Robinson JG, Liu S, et al. Effect of 5 y of calcium plus vitamin D supplementation on change in circulating lipids. *Am J Clin Nutr*. 2010;91(4):894-9.

Ralston RA, Lee JH, Truby H, Palermo CE, Walker KZ. A systematic review and meta-analysis of elevated blood pressure and consumption of dairy foods. *J Hum Hypertens*. 2012;26(1):3-13.

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*. 2010;91(1):131-9.

Reid IR, Bolland MJ, Avenell A, Grey A. Cardiovascular effects of calcium supplementation. *Osteoporos Int*. 2011; 22(6):1649-58.

Rijkelijhuizen 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;83:280–8.

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.

Rozenberg S, Body JJ, Bruyère O, Bergmann P, Brandi ML, Cooper C, et al. Effects of dairy products consumption on health: benefits and beliefs – A commentary from the Belgian Bone Club and the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculo Skeletal Diseases. *Calcif Tissue Int*. 2016;98(1):1-17.

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 Health Dis*. 2008; 7:32.

Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Nelson RE, Pumper GM, et al. Assessment of endothelial function by peripheral arterial tonometry predicts cardiovascular events beyond the Framingham Risk Score. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 53:331-3.

Ruidavets J-B, Bongard V, Simon C, Dallongeville J, Ducimetie`re P, Arveiler D, et al. Independent contribution of dairy products and calcium intake to blood pressure variations at a population level. *J Hypertens*. 2006;24(4):671-81.

Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414:799-806.

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.

Sarwar N, Aspelund T, Eiriksdottir G, Gobin R, Seshasai SR, Forouhi NG, et al. Markers of dysglycaemia and risk of coronary heart disease in people without diabetes: Reykjavik prospective study and systematic review. *PLoS Med*. 2010; 7(5):e1000278.

Saydah SH, Miret M, Sung J, Varas C, Gause D, Brancati FL. Postchallenge hyperglycemia and mortality in a national sample of U.S. adults. *Diabetes Care*. 2001;24(8):1397-402.

SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2015. Disponível em: www.diabetes.org.br. Acesso em 08 jul. 2016.

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.

Schmid A, Petry N, Walther B, Bütikofer U, Luginbühl W, Gille D, et al. Inflammatory and metabolic responses to high-fat meals with and without dairy products in men. *Br J Nutr*. 2015;113(12):1853-61.

Schmidt C, Bergström GM. The metabolic syndrome predicts cardiovascular events: results of a 13-year follow-up in initially healthy 58-year-old men. *Metab Syndr Relat Disord*. 2012;10(6):394-9.

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.

Schwartz EA, Reaven PD. Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins, vascular inflammation, and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(5):858-66.

Sela S, Shurtz-Swirski R, Farah R, Levy R, Shapiro G, Chezlar 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.

Sichieri R, Everhart. Validity of a Brazilian frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. *Nutr Res*. 1998;8(10):1649-59.

SISVAN - Vigilância Alimentar e Nutricional. Orientações básicas para a coleta, o processamento, a análise de dados e a informação em serviços de saúde. 2004. Disponível em: http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/orientacoes_basicas_sisvan.pdf Acessado em: 04/09/2016.

Snijder MB, van der Heijden AAWA, van Dam RM, Stehouwer CDA, Hiddink GJ, Nijpels G, et al. Is higher dairy consumption associated with lower body weight and fewer metabolic disturbances? The Horn Study. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(4):989-95.

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

Soedamah-Muthu SS, Ding EL, Al-Delaimy WK, Hu FB, Engberink MF, Willett WC, et al. Milk and dairy consumption and incidence of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr* 2011;93:158–71.

Sonestedt E, Wirfält E, Wallström P, Gullberg B, Orho-Melander M, Hedblad B. Dairy products and its association with incidence of cardiovascular disease: the Malmö diet and cancercohort. *Eur J Epidemiol.* 2011;26(8):609-18.

Stancliffe RA, Thorpe T, Zemel MB. Dairy attenuates oxidative and inflammatory stress in metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(2):422-30.

Stanhewicz AE, Alba BK, Kenney WL, Alexander LM. Dairy cheese consumption ameliorates single-meal sodium-induced cutaneous microvascular dysfunction by reducing ascorbate-sensitive oxidants in healthy older adults. *Br J Nutr.* 2016;116(4):658-65.

Struijk EA, Heraclides A, Witte DR, Soedamah-Muthu SS, Geleijnse JM, Toft U, et al. Dairy product intake in relation to glucose regulation indices and risk of type 2diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013;23(9):822-8.

Sun C, Alkhoury K, Wang YI, Foster GA, Radecke CE, Tam K, Edwards CM, et al. IRF-1 and miRNA126 modulate VCAM-1 expression in response to a high-fat meal. *Circ Res.* 2012;111(8):1054-64.

Sun X, Zemel MB. Calcium and 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Regulation of Adipokine Expression. *Obesity.* 2007;15(2):340-8.

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; 14;11:98

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl. 2011. 161 p.

Teegarden D. The influence of dairy product consumption on body composition. *J Nutr.* 2005;135(12):2749-52.

Title LM, Cummings PM, Giddens K, Nassar BA. Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. *J AM Coll Cardiol.* 2003;36(7):2185-91.

Tominaga M, Eguchi H, Manaka H, Igarashi K, Kato T, Sekikawa A. Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata Diabetes Study. *Diabetes Care*. 1999;22(6):920-4.

Torres MRSG, Francischetti EA, Genelhu V, Sanjuliani AF. Effect of a high-calcium energy-reduced diet on abdominal obesity and cardiometabolic risk factors in obese Brazilian subjects. *Int J Clin Pract*.2010;64(8):1076-83.

Torres MRSG, Sanjuliani AF. Does calcium intake affect cardiovascular risk factors and/or events? *CLINICS* 2012;67(7):839-44.

Torres MRSG, Sanjuliani AF. Effects of weight loss from a high-calcium energy-reduced diet on biomarkers of inflammatory stress, fibrinolysis, and endothelial function in obese subjects. *Nutrition*. 2013;29(1):143-51.

Tsuda K, Kinoshita Y, Nishio I, Masuyama Y. Role of insulin in the regulation of membrane fluidity of erythrocytes in essential hypertension: an electron paramagnetic 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.

Uetani E, Tabara Y, Igase M, Guo H, Kido T, Ochi N, et al. Postprandial hypertension, an overlooked risk marker for arteriosclerosis. *Atherosclerosis*. 2012 ; 224(2):500-5.

Umesawa M, Iso H, Date C, Yamamoto A, Toyoshima H, Watanabe Y, et al. Dietary intake of calcium in relation to mortality from cardiovascular disease: the JACC Study. *Stroke*. 2006 ;37:20–6.

Umesawa M, Iso H, Ishihara J, Saito I, Kokubo Y, Inoue M, et al. Dietary calcium intake and risks of stroke, its subtypes, and coronary heart disease in Japanese: the JPHC Study Cohort I. *Stroke*.2008; 39(9):2449–56.

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.

van de Pols JC, Gunnell D, Williams GM, Holly JM, Bain C, Martin RM. Childhood dairy and calcium intake and cardiovascular mortality in adulthood: 65-year follow-up of the Boyd Orr cohort. *Heart*. 2009;95(19):1600-6.

van Genugten RE, Serne EH, Heymans MW, van Raalte DH, Diamant M. Postprandial microvascular function deteriorates in parallel with gradual worsening of insulin sensitivity and glucose tolerance in men with the metabolic syndrome or type 2 diabetes *Diabetologia*. 2013;56(3):583-7

Van Hemelrijck M, Michaelsson K, Linseisen J, Rohrmann S. Calcium Intake and Serum Concentration in Relation to Risk of Cardiovascular Death in NHANES III.2013. *PLoS ONE* 8(4): e61037.

- Van Loan MD, Keim NL, Adams SH, Souza E, Woodhouse LR, Thomas A, et al. Dairy Foods in a Moderate Energy Restricted Diet Do Not Enhance Central Fat, Weight, and Intra-Abdominal Adipose Tissue Losses nor Reduce Adipocyte Size or Inflammatory Markers in Overweight and Obese Adults: A Controlled Feeding Study. *J Obes.* 2011;2011:989657.
- van Meijl LEC, Mensink RP. Effects of low-fat dairy consumption on markers of low-grade systemic inflammation and endothelial function in overweight and obese subjects: an intervention study. *Br J Nutr.* 2010;104:1523–7.
- van Meijl, Mensink RP. Effects of milk and milk constituents on postprandial lipid and glucose metabolism in overweight and obese men. *Br J Nutr.* 2013;110(3):413-9.
- vanMierlo LA, Arends LR, Streppel MT, Zeegers MP, Kok FJ, Grobbee DE, et al. Blood pressure response to calcium supplementation: a metanalysis of randomized controlled trials. *J Hum Hypertens.* 2006;20(8):571-80.
- 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;69(4):628-34.
- Vaskonen T. Dietary minerals and modification of cardiovascular risk factors. *J Nutr Biochem.* 2003;14(9):492-506.
- Villegas R, Gao YT, Dai Q, Yang G, Cai H, Li H, et al. Dietary calcium and magnesium intakes and the risk of type 2 diabetes: the Shanghai Women's Health Study. *Am J Clin Nutr.* 2009;89:1059–67.
- 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.
- Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol.* 1997; 79(3):350-4.
- Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, Nauck MA, Schmidt WE, Meier JJ. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes.* 2008;57(3):678-87.
- 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 H, Fox CS, Troy LM, Mckeown NM, Jacques PF. Longitudinal association of dairy consumption with the changes in blood pressure and the risk of incident hypertension: the Framingham Heart Study. *Br J Nutr.* 2015;114(11):1887-99.
- Wang L, Manson JE, Buring JE, Lee IM, Sesso HD. Dietary intake of dairy products, calcium, and vitamin D and the risk of hypertension in middle aged and older women. *Hypertension.* 2008;51:1-7.

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.

Wennergren MH, Smedman A, Turpeinen AM, Retterstøl K, Tengblad S, Lipre E, et al. Dairy products and metabolic effects in overweight men and women: results from a 6-mo intervention study. *Am J Clin Nutr*. 2009;90:960–8.

WHO - World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series (894)*. Geneva, 2000.

WHO - World Health Organization. *Global strategy on diet, physical activity and health: Obesity and overweight*. 2003. Disponível em <http://www.who.int>. Acesso em 20 janeiro de 2014.

WHO STEP wise approach to surveillance (STEPS). [homepage na Internet] Geneva: World Health Organization (WHO), 2008. Acesso em 1 Nov 2013. Disponível em: <http://www.who.int/chp/steps/manual/en/index>

Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(7):1149-60.

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.

Xiang GD, Sun HL, Zhao LS, Hou J, Yue L, Xu L. The antioxidant alpha-lipoic acid improves endothelial dysfunction induced by acute hyperglycaemia during OGTT in impaired glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008a ;68(5):716-23.

Xiang GD, Sun HL, Zhao LS, Hou J, Yue L, Xu L. Acute hyperglycemia rapidly suppresses endothelium-dependent arterial dilation in first-degree relatives of type 2 diabetic patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2008b;116(2):112-7.

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 Doppler flowmetry. *Diabet Med*. 2009;26(1):83-8.

Yu KC, Cooper AD. Postprandial lipoproteins and atherosclerosis. *Front Biosci.* 2001;6:D332-54.

Zemel MB. The role of dairy foods in weight management. *J Am Coll Nutr.* 2005;24:537S-46S.

Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo D, Zemel PC. Regulation of adiposity by dietary calcium. *FASEB J.* 2000;14(9):1132-8.

Zemel MB, Sun X, Sobhani T, Wilson B. Effects of dairy compared with soy on oxidative and inflammatory stress in overweight and obese subjects. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(1):16-22.

Zemel MB. Calcium modulation of hypertension and obesity: Mechanisms and implications. *J Am Coll Nutr.* 2001;20(suppl):428S-35S.

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-43S.

Zemel MB. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(5):907S-912S.

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.

Zheng XY, Liu L. Remnant-like lipoprotein particles impair endothelium function: direct and indirect effects on nitric oxide synthase. *J Lipid Res.* 2007;48(8):1673-80.

Zhou J, Ge H, Zhu M, Wang L, Chen L, Tan Y, et al. Neck circumference as an independent predictive contributor to cardio-metabolic syndrome. *Cardiovasc Diabetol.* 2013; 12: 76.

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 – 3º 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	Desconhec e
Idade < 25 anos ou > 50 anos			
IMC < 30 ou > 40,0 kg/m ²			
Fuma			
Menopausa			
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 (%)				

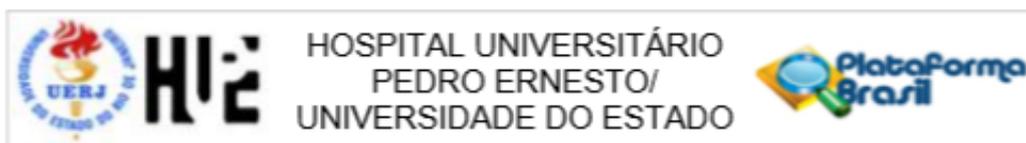
Visita 0 (____ / ____ / ____)			
Hemácias (milhões/mm ³)		Glicose (mg/dl)	
Hemoglobina (g/dl)		Creatinina (mg/dl)	
Hematócrito (%)		Uréia (mg/dl)	
VGM (fl)		Ácido úrico (mg/dl)	
HGM (pg)		Colesterol total (mg/dl)	
CHGM (g/dl)		HDL-colesterol (mg/dl)	
Índice de anisocitose (RDW)		Triglicerídeos (mg/dl)	
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)	

2. Avaliação Laboratorial

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-oclusão		
TOI 2 pico		
Pós-prandial		
TOI 1 basal		
TOI 3 pós-oclusão		
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

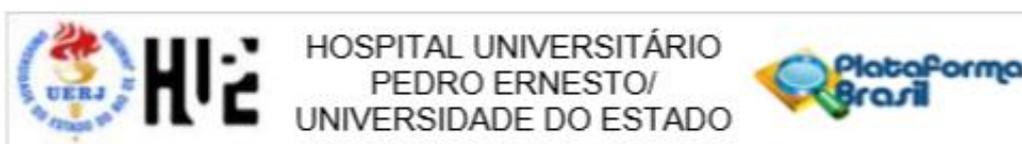
Número do Parecer: 339.112

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)2868-8253 **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 triglicérides 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.

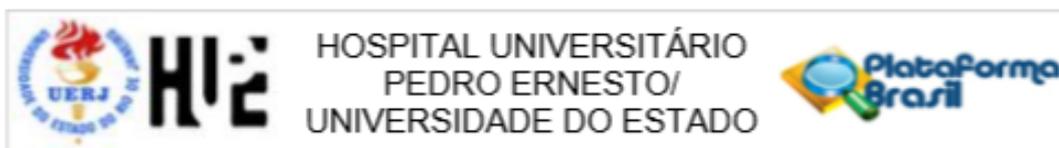
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

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	nunca ou quase nunca
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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<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"/>	<input type="radio"/>

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	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 Alcoólicas	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 frequência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Alimentos enlatados: ervilha, azeitona, palmito, etc.				Anote só a frequência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Frios como mortadela, salame, presuntada				Anote só a frequência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Churrasco				Anote só a frequência			<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

01. Utiliza com maior frequência:

- Manteiga Margarina Ambas Não utiliza

02. Se utiliza margarina, ela é light?

- Não Sim Não Sei Não utiliza

03. Utiliza com maior frequência:

- Leite desnatado Leite semidesnatado Leite integral Não utiliza

04. Utiliza com maior frequência, Queijo, Requeijão ouiogurte:

- Diet / Light Normal Ambos Não utiliza

05. Utiliza com maior frequência Refrigerante:

- Diet / Light Normal Ambos Não utiliza

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

- Nunca Prova e coloca, se necessário Quase sempre

07. Com que frequência 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