



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia
Clínica e Experimental - CLINEX

EFEITOS DA REDUÇÃO DE PESO SUPERIOR A 5%
SOBRE FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICO
E ESTRESSE OXIDATIVO DE OBESOS GRAU I

MARIA DE LOURDES GUIMARÃES RODRIGUES

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em
Fisiopatologia Clínica e Experimental, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
para a obtenção de título de Mestre em Ciências.

Orientadores:

Prof^a Dra. Virgínia Genelhu de Abreu

Prof^o. Dr. José Ueleres Braga

Prof^o. Dr Adriano Caldeira de Araújo

Rio de Janeiro

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues, Maria de Lourdes Guimarães

Efeitos da redução de peso superior a 5% sobre os fatores de risco cardiometabólico e estresse oxidativo de obesos grau I / Maria de Lourdes Guimarães Rodrigues. – Rio de Janeiro, 2006.

xvi, 84p.

Orientadores: Virgínia Genelhu de Abreu, José Uelers Braga, Adriano Caldeira de Araújo.

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

I. Obesidade. 2. Perfil hemodinâmico. 3. Perfil metabólico. 4. Estresse oxidativo. I. Genelhu de Abreu, Virgínia, Braga, José Uelers, Araújo, Adriano Caldeira. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. Fisiopatologia Clínica e Experimental. III. Título.



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
Curso de Pós-Graduação em Fisiopatologia
Clínica e Experimental - CLINEX

EFEITOS DA REDUÇÃO DE PESO SUPERIOR A 5%
SOBRE FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICO
E ESTRESSE OXIDATIVO DE OBESOS GRAU I

MARIA DE LOURDES GUIMARÃES RODRIGUES

Orientadores:

Prof^a Dra. Virgínia Genelhu de Abreu

Prof^o. Dr. José Ueleres Braga

Prof. Adriano Caldeira de Araújo

Aprovada em _____ de _____ de 2006 pela banca examinadora:

Professor Doutor Milton Ozório Moraes

Professor Doutor Antonio Felipe Sanjuliani

Professor Doutor Emílio Antonio Francischetti

Rio de Janeiro

2006

**À minha amada irmã Perpétua
que sempre me deu força para me
aperfeiçoar na minha profissão.**

**A minha mãe, que me dá exemplo
de força e esperança.**

**Aos meus irmãos que me ajudaram
a completar mais essa etapa na minha vida.**

**Aos meus queridos sobrinhos,
que com muito carinho
torceram para o meu sucesso.**

AGRADECIMENTOS

A Professora Virgínia Genellhu de Abreu , pela sua dedicação, paciência e amizade de sempre.

Ao Professor Emílio Antonio Francischetti, pela oportunidade de poder desenvolver um projeto de pesquisa e assim aprimorar os meus conhecimentos.

Ao Professor José Ueleres Braga, pela sua amizade e pelo seu apoio através de seus conhecimentos estatísticos.

Ao Professor Adriano Caldeira de Araújo, pela sua tranqüilidade e conhecimentos.

Às nutricionistas Rita e Ana Paula e à médica Kelly, pelo trabalho em equipe.

Aos Professores da Biofísica, José Carlos Pelielo de Mattos, Milton Ozório Moraes e Flavio José da Silva Dantas, pela dedicação dispensada.

Aos meus amigos, Sergio, Débora, Amélia, Eliane, Márcia, Rubens, Micheli e Isabel que sempre estiveram presentes nos momentos que precisei.

Ao Professor Antônio Felipe Sanjuliani, pela sua amizade e convivência agradável.

Ao Dr. Vagner Lobão chefe do Laboratório Central do Hospital Pedro Ernesto, pela atenção dispensada nos exames necessários a esse trabalho.

Aos pesquisadores da *Fiocruz*, Professor Hugo Caire de Castro Faria Neto e Adriana Ribeiro Silva, pela ajuda na dosagem de 8-isoprostano.

LISTA DE TABELAS

	<i>Página</i>
Tabela 1: Características dos grupos A e B no início do estudo.	37
Tabela 2: Características antropométricas dos grupos A e B, no início e final da fase II (após 4 meses de estudo)	39
Tabela 3: Comportamento da pressão arterial e frequência cardíaca nos grupos A e B, no início e final da fase II (após 4 meses de estudo).....	39
Tabela 4: Perfil metabólico dos grupos A e B, no início e final da fase II (após 4 meses de estudo)	41
Tabela 5: Estresse oxidativo dos grupos A e B, no início e após 4 meses de estudo.	42

LISTA DE FIGURAS

	<i>Página</i>
Figura 1: Modelo esquemático de contribuição do estresse oxidativo para os componentes da Síndrome Metabólica	17
Figura 2: Fluxograma do estudo	27
Figura 3: Representação esquemática para o teste cometa em sangue total periférico	31
Figura 4: Núcleos celulares com exemplos de lesões das 4 classes referidas no ensaio cometa	32
Figura 5: Diferença percentual da glicose, insulina e HOMA, entre os grupos A e B, ao final do estudo	41

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

HDL	<i>high-density lipoprotein</i>
HOMA	fórmula da avaliação do modelo homeostático, que estima a resistência à insulina
IL-6	interleucina 6
IMC	índice de massa corporal
LDL	<i>low-density lipoprotein</i>
PAI-1	inibidor do ativador de plasminogênio 1
PCR	proteína C reativa
RCQ	relação cintura-quadril
SNS	sistema nervoso simpático
TNF-α	fator de necrose tumoral alfa
VLDL	<i>very low-density lipoprotein</i>
α-MSH	hormônio estimulador de alfa-melanocortinas
MCP-1	proteína quimiotática monocítica.
TBARS	substâncias ácidas reativas tiobarbitúricas

RESUMO

Rodrigues, MLG. EFEITOS DA REDUÇÃO DE PESO SUPERIOR A 5% SOBRE FATORES DE RISCO CARDIOMETABÓLICO E ESTRESSE OXIDATIVO DE OBESOS GRAU I. Rio de Janeiro, 2006. 84p. Tese (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental – Clinex. Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Contexto: A obesidade é doença crônica, multifatorial, de prevalência crescente em países desenvolvidos e em desenvolvimento. A redução do peso corporal intervém favoravelmente minimizando os fatores de risco de doenças cardiovasculares associadas à obesidade.

Objetivo: Avaliar os efeitos da redução de peso superior a 5%, alcançada ao final de 4 meses de mudanças no estilo de vida, incluindo dieta com restrição calórica de 500 a 1000Kcal/dia e atividade física, sobre os índices que avaliam o estresse oxidativo (isoprostano urinário e dano ao DNA pelo ensaio cometa) e fatores de risco cardiometabólico em pacientes com obesidade grau I.

Casuística e métodos: No estudo foram incluídos obesos grau I, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 45 anos, não-tabagistas, normotensos ou portadores de hipertensão arterial estágio 1. Foram excluídos pacientes portadores de outras comorbidades. O desenho do estudo compreendeu 2 fases. A fase I, com duração de 1 mês, avaliou os pacientes quanto à capacidade de perder 2% do peso corporal. Aqueles que obtiveram êxito e preencheram os outros critérios de elegibilidade foram incluídos na fase II, com duração de 4 meses. No total, 100 pacientes participaram da fase I e 53 foram incluídos na fase II. Completaram o estudo 47 pacientes, com média de idade de 33 anos, dos quais 21 alcançaram a meta de perda ponderal de 5%, compondo o grupo A que foi comparado ao grupo B, formado pelos 26 pacientes que não alcançaram a meta. As mensurações da pressão arterial foram feitas pelo método clínico convencional, com o paciente

sentado, utilizando-se manguitos de tamanho apropriado ao diâmetro do braço. A avaliação metabólica, no início e no final da fase II, incluiu as seguintes variáveis (e respectivos métodos): colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol (enzimático), LDL-colesterol (fórmula de Friedwald), glicemia em jejum (enzimático hexoquinase), insulina (radioimunoensaio) e índice de resistência à insulina (HOMA). O estresse oxidativo foi estimado pelo dano oxidativo ao DNA (ensaio cometa) e níveis urinários de 8-isoprostano (ELISA).

Resultados: A avaliação conjunta de todos os pacientes, no início da fase I ao término da fase II, mostrou uma diminuição da pressão sistólica de 5,3mmHg e da pressão diastólica de 4,3mmHg, para uma média de redução de peso de 6,5kg. A redução do peso superior a 5% reduziu de forma significativa, após ajuste para outras variáveis, os níveis de colesterol total (-13mg/dl) e LDL colesterol (-12mg/dl). Além disso, a redução de peso associou-se às diminuições, não significativas, da glicemia, insulina e HOMA. Na avaliação do estresse oxidativo não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Conclusões: As mudanças no estilo de vida que promoveram redução de peso superior a 5% não modificaram significativamente o estresse oxidativo, mas foram acompanhadas de efeitos benéficos em fatores de risco cardiometabólico associados a obesidade.

ABSTRACT

Rodrigues, MLG. THE EFFECTS OF WEIGHT REDUCTION GREATER THAN 5% ON THE CARDIOMETABOLIC RISK FACTORS AND OXIDATIVE STRESS IN GRADE 1 OBESE SUBJECTS. I. Rio de Janeiro, 2006. 84p. Tese (Mestrado) – Curso de Pós graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental – Clinex. Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Background/Aims: Obesity is epidemic throughout the world and negatively affects the cardiovascular morbidity and mortality. The aim of the present study was to evaluate in Brazilian multiethnic obese subjects whether weight reduction greater than 5% have a significant effect on cardiometabolic risk factors.

Methods: In this prospective, controlled study, we recruited 100 grade 1 obese subjects from the Hypertension Clinic, Clinex. The study had 2 phases. In the phase I the ability to lose 2% of basal weight was screened during 1 month. Those patients who successfully achieved this weight reduction (n=53, mean age $33 \pm 6,1$ years old) were enrolled in the phase II, which lasts 4 months. In both phases patients were oriented to consume a diet with caloric deficit between 500 to 1000kcal/day, 30 daily minutes of aerobic exercise, and changes in feeding behavior. 47 patients completed the phase II. The group achieving weight reduction greater than 5% (n=21), was compared with the group that not achieved this goal (n=26). Blood pressure was measured, in the sitting position, by conventional method, and the individual mean systolic and diastolic blood pressures were calculated as the mean of three measurements. Glucose and serum lipids were determined by enzymatic methods. Plasma levels of insulin were estimated by radioimmunoassay. The systemic oxidative stress was determined by comet assay and urinary isoprostanes.

Results: Considering all 47 patients, from the beginning of phase I to the end of phase II, the systolic/diastolic BP decreased 5,1/4,3mmHg, respectively, with a mean weight loss of 6,5kg. After adjustment for other variables, we noticed significant reductions of 13mg/dl in total cholesterol and 12mg/dl in LDL-cholesterol. There was also a non-significant reduction in plasma concentration of glucose, insulin and HOMA. We did not notice significant changes in oxidative stress.

Conclusions: Changes in life style that promote weight reduction greater than 5% were accompanied by improvement of the cardiometabolic risk factors but not oxidative stress associated with obesity.

Key words: obesity; weight loss; adipokines; lipid profile; insulin.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1 – INTRODUÇÃO	01
1.1 Obesidade: um problema global de saúde pública	02
1.2 Repercussões da obesidade	03
1.2.1 Obesidade e hipertensão arterial	06
1.2.2 Obesidade, resistência à insulina e diabetes tipo 2.....	07
1.2.3 Obesidade e dislipidemia aterogênica	08
1.3 O tecido adiposo como um órgão endócrino e metabólico	09
1.3.1 Leptina	09
1.3.2 Insulina	11
1.3.3 Aumento dos ácidos graxos livres e resistência à insulina	12
1.3.4 Adiponectina	13
1.4 Estresse oxidativo e obesidade	14
1.4.1 Ensaio cometa	18
1.5 Perda de peso	18
2. OBJETIVOS	22
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	24
3.1 Pacientes	25
3.2 Desenho do estudo	26
3.3 Avaliação antropométrica	28
3.4 Estresse oxidativo	29
3.4.1 Ensaio cometa	29
3.4.2 Isoprostano urinário	32

3.5 Pressão arterial clínica	33
3.6 Avaliação metabólica	34
3.7 Análise estatística.....	35
4 RESULTADOS	36
4.1 Casuística	37
4.2 Medidas antropométricas.....	38
4.3 Comportamento da pressão arterial.....	38
4.4 Perfil metabólico	40
4.5 Estresse oxidativo	42
5 DISCUSSÃO	43
5.1 Casuística e características antropométrica.....	44
5.2 Efeitos da redução de peso superior a 5% no comportamento da pressão arterial.....	46
5.3 Efeito da redução de peso superior a 5% no perfil metabólico	47
5.4 Efeito da redução de peso superior a 5% no estresse oxidativo.....	49
5.5 Considerações finais	53
6 CONCLUSÕES	55
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

1 – INTRODUÇÃO

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Obesidade: um problema global de saúde pública

Nos últimos anos a prevalência de sobrepeso e obesidade tem aumentado de forma alarmante em todo o mundo. Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que, no mundo como um todo, mais de 1 bilhão de adultos têm excesso de peso, dos quais 300 milhões são obesos (WHO, 2003).

Tanto os países desenvolvidos como os em desenvolvimento são afetados. Dados recentes do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 1999-2002 mostraram que aproximadamente 65% da população adulta do Estados Unidos tem sobrepeso (índice de massa corporal (IMC) $\geq 25\text{kg/m}^2$), sendo 30% obesos (IMC acima de 30kg/m^2) e 4,9% obesos mórbidos (IMC acima de 40kg/m^2). Comparado com dados anteriores, verifica-se que ocorreu um aumento dramático da obesidade, considerando que no NHANES (1988-1994) o sobrepeso era de 56% e a obesidade de 23% (Flegal et al., 2002).

No Brasil, de acordo com a pesquisa de Orçamento Familiar 2002-2003, a frequência do excesso de peso na população supera, em oito vezes o déficit de peso entre as mulheres e em quinze vezes o da população masculina. Em um universo de 95,5 milhões de indivíduos, de 20 anos ou mais de idade, são 3,8 milhões os indivíduos (4,0%) com déficit de peso, e 38,8 milhões (40,6%) os com excesso de peso, dos quais 10,5 milhões são obesos (IBGE 2002-2003). Em 1974, o problema da obesidade era praticamente inexistente na população masculina. Em 2003, duplicou o percentual de

homens com sobrepeso (de 18,6% para 41%) e triplicou o de obesos (de 2,8 para 8,8%). Até 1989, os percentuais de sobrepeso e obesidade, entre os homens, eram bastante inferiores àqueles observados para as mulheres. Em 2003, estes percentuais praticamente se igualaram, observando-se que o sobrepeso afetava 40% das mulheres. Embora o excesso de peso e a obesidade entre as mulheres tenham aumentado cerca de 50% de 1974 a 1989, houve estabilidade ou declínio das taxas, entre 1989 e 2003 em diferentes regiões brasileiras. Contudo, no Nordeste, verifica-se aumento contínuo dos percentuais de sobrepeso e obesidade entre as mulheres (IBGE 2002-2003).

A obesidade é classificada em graus, de acordo com o índice de massa corporal: grau I, para IMC de 30 a 34,9 kg/m²; grau II, entre 35 e 39,9Kg/m² e grau III, para valores acima de 40kg/m² (Flegal et al., 1998).

1.2 - Repercussões da obesidade

A *World Health Report* (WHR) 2002 estimou que na população mundial 2,5 milhões de mortes por ano estejam relacionadas ao excesso de peso – na Europa ocorreriam, aproximadamente, 220 mil mortes e nos Estados Unidos estas cifras ultrapassariam 300 mil casos (WHR 2002).

Em 2003, a WHO identificou os principais fatores de risco para as doenças atuais, incapacidades e taxas de mortalidade. O somatório dos 10 primeiros fatores de risco são responsáveis por 40% das mortes, enquanto que os 10 fatores de risco subsequentes são responsáveis por menos de 10% da mortalidade global. A obesidade e o sobrepeso ocupam o décimo lugar. Contudo a hipertensão, colesterol elevado e

falta de atividade física que são freqüentemente associados à obesidade, aparecem em terceiro, sétimo e décimo quarto lugares respectivamente (WHO 2003).

O excesso de peso nos Estados Unidos tem sido responsabilizado por 14% de todas as mortes por câncer em homens e 20% em mulheres. Estima-se que a perda de peso seria capaz de prevenir 1 em cada 6 mortes por câncer. Considera-se que 90,000 mortes devidas á câncer poderiam ser evitadas, a cada ano, nos Estados Unidos se homens e mulheres mantivessem o peso normal (Calle et al., 2003).

No estudo de Framingham (Hubert, et al., 1983) no qual 5.209 homens e mulheres foram acompanhados durante 26 anos ficou comprovado que a obesidade é um fator de risco independente para a ocorrência de doença cardiovascular (DCV).

Reaven, em 1988, empregou o termo síndrome X, para referir-se à associação entre obesidade visceral, dislipidemia, hipertensão arterial, resistência à insulina, hiperinsulinemia e intolerância à glicose (Reaven, 1988). Desde então, diferentes termos tem sido usados para definir esta união de fatores cardiometabólicos, incluindo, síndrome da resistência à insulina (De Fronzo,1991), síndrome plurimetabólica e quarteto da morte (Kaplan., 1989). Em 1998, a Organização Mundial de Saúde (OMS) unificou uma definição para esta associação, e escolheu designa-la de síndrome metabólica.

O *Adult Treatment Panel* (ATP III) definiu a síndrome metabólica em indivíduos tendo três ou mais dos seguintes fatores: obesidade abdominal referida pela circunferência de cintura >102cm em homens e >88cm em mulheres; hipertrigliceridemia (>150mg/dl); HDL-colesterol baixo (<40mg/dl em homens e < 50mg/dl em mulheres), pressão arterial elevada (pressão arterial sistólica \geq 130mmHg e pressão arterial

diastólica ≥ 85 mmHg), glicemia em jejum ≥ 110 mg/dl (National Cholesterol Education Program, 2002).

O ATP III identificou seis componentes da síndrome metabólica que estão associados à doença cardiovascular: obesidade abdominal, dislipidemia aterogênica, hipertensão arterial, resistência à insulina com intolerância à glicose, estado pró-inflamatório e estado pró-trombótico. Esses componentes da síndrome metabólica constituem uma combinação especial e poderiam ser considerados em três diferentes categorias: fatores basais, maiores e emergentes de risco cardiovascular. De acordo com o ATP III, a obesidade (especialmente abdominal), a inatividade física e a dieta aterogênica constituem os principais fatores basais de risco; são considerados maiores o tabagismo, a hipertensão arterial, lipoproteínas de baixa densidade (LDL) elevadas, HDL colesterol baixo, história familiar de doença coronariana prematura, e idade; e os fatores emergentes incluem elevação de triglicerídeos, partículas de LDL pequenas e densas, resistência à insulina, intolerância à glicose, estado pró-inflamatórios, e estados pró trombóticos (National Cholesterol Education Program, 2002) .

O excesso de tecido adiposo, principalmente o visceral representa uma ameaça à expectativa de vida. Um grande número de estudo fisiopatológicos e epidemiológicos, tem mostrado que a deposição visceral de tecido adiposo é um fator maior de risco no desenvolvimento de hipertensão arterial (Huang et al., 1998), resistência à insulina, hiperinsulinemia e diabetes mellitus tipo II (Chan et al., 1994; Colditz et al., 1995; Rexrode et al., 1998; Dagenais et al., 2005). Além disso, o excesso de adiposidade visceral se associa a hipertrigliceridemia, diminuição do HDL-C, aumento da Apo-B, e das LDL-pequenas e densas, sendo os níveis de LDL-C normais ou marginalmente

elevados (Lamarche et al., 1998; Lemieux et al., 2000; Brown et al., 2000). Este tipo de dislipidemia, que freqüentemente se associa à resistência à insulina, é um fenótipo muito freqüente nos pacientes obesos com excesso de adiposidade abdominal – obesidade central ou andróide –, aumentando consideravelmente o risco de doença isquêmica miocárdica por coronaroesclerose (Willett et al., 1995; Després et al., 2001; Yusuf et al., 2004), morte súbita (Empana et al., 2004), acidente vascular encefálico (Kurth et al., 2005) e insuficiência cardíaca (Kenchiah et al., 2002).

1.2.1 - Obesidade e hipertensão arterial

Tanto a pressão arterial (PA) sistólica quanto a diastólica aumentam com o IMC e os obesos correm maior risco de desenvolver hipertensão arterial sistêmica (HAS) quando comparados com os indivíduos magros (Stamler et al., 1989; Stamler et al., 1978).

As médias da PA sistólica e diastólica se elevam com o aumento do IMC em homens e mulheres. Através de dados do NHANES III, foram verificados aumentos aproximados de 9mmHg na PA sistólica para homens e 11mmHg para as mulheres, que se encontravam na categoria de IMC mais alto ($>30\text{Kg/m}^2$), comparados aos indivíduos com IMC inferior a 25kg/m^2 ; as diferenças na pressão diastólica foram de, aproximadamente, 7mmHg para homens e 6mmHg para as mulheres, considerando as duas categorias de IMC. Além disso, verificou-se que a prevalência de HAS passou de 15% para 42% em homens e de 15% para 38% em mulheres quando foram analisadas, respectivamente as categorias com IMC inferior a 25 kg/m^2 e IMC acima de 30 kg/m^2 (Brown et al., 2000).

A associação entre HAS e obesidade está muito bem documentada em estudos epidemiológicos. Segundo estimativas do estudo de Framingham, 78% dos casos de HAS em homens e 65% em mulheres podem ser diretamente atribuídos à obesidade (Kannel et al., 1997; Hubert et al., 1983). Tem sido estimado que cada aumento de 1kg/m^2 no IMC esteja associado à elevação de 12% no risco para hipertensão (Huang et al., 1998).

Trabalhos experimentais confirmam a hipótese de que o ganho de peso, ao longo de várias semanas, eleva a pressão arterial e, em contrapartida, sua redução pode controlar os níveis pressóricos (Roocchini et al., 1989, Hall et al., 1993; Salzano et al., 1958; Dobrian et al., 2000).

1.2.2 – Obesidade, resistência à insulina e diabetes tipo 2

A OMS estimou um aumento na prevalência global do diabetes de 2,8% no ano de 2000 para 4,4% em 2030 (King et al., 1998). O número total de diabéticos foi projetado com aumento: de 171 milhões em 2000, para 366 milhões em 2030. Estima-se que essa verdadeira epidemia de diabetes deverá continuar, mesmo se a prevalência de obesidade permanecer sem importantes mudanças. É provável, porém, que estas estimativas subestimem a prevalência futura do diabetes (Wild et al., 2004).

Estudos prospectivos populacionais confirmam a íntima associação entre o aumento de gordura corporal e o diabetes tipo 2. No “*Nurses Cohort Study*”, o IMC foi o preditor predominante de risco para o diabetes, após ajuste para idade (Colditz et al., 1995).

A distribuição de tecido adiposo também está associada, independentemente com o diabetes: uma circunferência de cintura acima de 102cm aumenta o risco de diabetes em 3,5 vezes, após ajuste para o IMC (Lean et al., 1998).

1.2.3 - Obesidade e dislipidemia aterogênica

Como já foi mencionado, a obesidade se associa freqüentemente à dislipidemia caracterizada por triglicerídeos plasmáticos elevados, concentrações de colesterol HDL reduzidas, e níveis de LDL não necessariamente elevados. Este perfil metabólico é usualmente visto em pacientes obesos com grande acúmulo de gordura intra-abdominal e se relaciona a um risco aumentado de doença coronariana (Despres et al., 1990). Lemieux & Després (1994), utilizando tomografia computadorizada, demonstraram que a obesidade visceral se correlaciona, positivamente, com os triglicerídeos e, negativamente, com o HDL colesterol, configurando as alterações que são próprias da síndrome metabólica.

Por outro lado, dados do NHANES III mostraram que a hipercolesterolemia aumentou de 13% para 22% entre os homens e de 13% para 30% entre as mulheres, quando o grupo de indivíduos com IMC inferior a 25 kg/m² foi comparado à categoria com IMC acima de 30 kg/m². A prevalência de níveis baixos de HDL-C aumentou de 9% para 31% em homens e de 17% para 41% em mulheres quando o IMC inferior a 25 kg/m² passou para um IMC acima de 30 kg/m² (Brown et al., 2000).

1.3 – O tecido adiposo como órgão endócrino e metabólico

Recentes progressos na biologia dos adipócitos demonstraram que os mesmos não são, meramente, um reservatório energético celular, mas que secretam uma variedade de hormônios, citocinas, fatores de crescimento, e outras substâncias bioativas. As adipocitocinas que incluem o fator de necrose tumoral α , leptina, ativador do inibidor do plasminogênio-1 e adiponectina, participam da regulação da secreção de importantes mediadores biologicamente ativos (Maeda K et al., 1996; Ouchi et al., 1999). Várias linhas de evidências sugerem que o desequilíbrio na produção de adipocitocinas promova o desenvolvimento de alterações metabólicas que estão envolvidas na gênese das doenças cardiovasculares, associadas à obesidade (Funahashi et al., 1999)

1.3.1 – Leptina

A leptina é uma proteína secretada pelo tecido adiposo, envolvida na regulação da ingestão alimentar, bem como em outros parâmetros metabólicos (Misra & Garg, 1996). A administração aguda de leptina, embora aumente a atividade simpática (Haynes et al., 1997), nem sempre eleva os níveis de PA (Hall, 2000). A explicação para este aparente paradoxo reside no fato de que a leptina também estimularia a produção de óxido nítrico (NO) através da expressão de seus receptores em células endoteliais, explicando seu efeito vasodilatador a curto prazo (Sierra-Honigmann et al., 1998; Frübeck, 1999). Diferentes mecanismos estão envolvidos na ação vasodilatadora

da leptina, dependendo do território vascular: efeitos dependentes da liberação de NO em vasos condutores e pela liberação do fator hiperpolarizante derivado do endotélio em vasos de resistência (Lembo et al., 2000).

Quando há defeito do transporte ou nos receptores de leptina, como ocorre provavelmente, em muitos casos de obesidade humana, a resposta endotelial à administração periférica de leptina não ocorre (Frübeck, 1999). Por outro lado, estudos agudos em roedores mostraram que a inibição da síntese de NO não potencializa os efeitos pressóricos de leptina, sugerindo que seus efeitos vasorelaxadores seriam mediados pelo fator hiperpolarizante derivado do endotélio (Lembo et al., 2000). Em situações em que não se observa o efeito contra-regulador do endotélio, a resposta ao aumento da atividade simpática leptino-induzida surgiria, plenamente, levando a um aumento da PA.

Ratos não obesos, com níveis séricos de leptina elevados pela administração crônica deste peptídeo e comparáveis aos valores encontrados em ratos portadores de obesidade severa, apresentaram elevação significativa da PA e da frequência cardíaca, a despeito de reduzir o consumo calórico (Shek et al., 1998). As repercussões a longo prazo, do peptídeo sobre a PA seriam ajustadas pela ativação simpática, já que são abolidas pelo bloqueio de receptores α e β adrenérgicos, embora isto não altere suas ações sobre o apetite e perda de peso (Shek et al., 1999).

A hiperinsulinemia observada na síndrome de resistência à insulina pode ser o fator chave da hiperleptinemia e das anormalidades metabólicas de obesos (Cigolini et al., 1995; Caprio et al., 1996). A insulina é um importante estímulo para a produção de

leptina. Resistência à ação de ambas as moléculas, leva à hiperinsulinemia e hiperleptinemia, configurando o perfil da maior parte de obesos humanos (Harris, 2000).

Estudos realizados por Barroso et al. (2001) em pacientes obesos e hipertensos, na faixa etária entre 25 e 65 anos de idade, mostraram correlação significativa entre níveis de leptina e área sob a curva de insulina, e entre níveis de leptina e pressão arterial média e diastólica, confirmando a associação entre resistência à insulina, hiperinsulinemia e hipertensão arterial com as concentrações séricas de leptina. Nesse estudo, os aumentos de leptina também se associaram a aumentos do sódio intracelular. Por outro lado, já foi demonstrado que concentrações elevadas de leptina e insulina estimulam a atividade simpática em indivíduos obesos, elevando a pressão arterial e aumentando o risco de doença cardiovascular (Gudbjomsdottir et al., 1996).

1.3.2 – Insulina

A insulina é um regulador crítico de vários aspectos da biologia dos adipócitos, sendo essas células extremamente sensíveis a esse hormônio. A insulina promove aumento da síntese de triglicerídeos pelos adipócitos e estimula a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos e o transporte de glicose por estas células. A insulina também aumenta a captação de ácidos graxos provenientes de lipoproteínas circulantes, por estímulo da lipase lipoprotéica (Kahn & Flier., 2000).

Os efeitos metabólicos da insulina são mediados por um amplo número de ações tecido específicas, envolvendo rápidas mudanças na fosforilação de proteínas (Oleesfsky JM., 2000). O termo resistência à insulina se refere à resistência aos efeitos da insulina na captação, metabolismo ou armazenamento de glicose (Shulman., 2000).

A resistência à insulina na obesidade é manifestada por redução do transporte e metabolismo de glicose, mediada pelo hormônio nos adipócitos e músculos esqueléticos, e pelo comprometimento da supressão da produção de glicose pelo fígado (Reaven., 1995). Adicionalmente, nos adipócitos, haveria uma regulação negativa do principal transportador de glicose, os GLUT-4.

Tanto no músculo, como no tecido adiposo, estão diminuídas a ligação da insulina ao seu receptor, a fosforilação do receptor, a atividade da tirosina-kinase e a fosforilação dos substratos de receptores de insulina (Goldstein et al., 1998)

1.3.3 – Aumento dos ácidos graxos livres e resistência à insulina

Os efeitos deletérios do acúmulo de gordura intra-abdominal sobre a sensibilidade à insulina têm sido atribuídos a duas razões fundamentais. A primeira, relacionada aos ácidos graxos livres liberados pelos adipócitos abdominais no sistema porta, em quantidades exageradas, que acabam exercendo efeitos deletérios na captação de insulina pelo fígado e contribuem para o aumento da gliconeogênese e liberação hepática de glicose (Frayn et al., 1996). A elevação na concentração plasmática dos ácidos graxos livres, particularmente no período pós prandial, quando normalmente são suprimidos pela insulina, induz à manutenção inapropriada da produção de glicose (gluconeogênese) e um prejuízo de sua utilização pelo fígado (intolerância à glicose). A diminuição do *clearance* hepático de insulina determina aumento periférico (sistêmico) em suas concentrações, com posterior regulação negativa de seus receptores (Kolpelman, 2000). A segunda razão, é que o tecido adiposo intra-abdominal por ser metabolicamente mais ativo, contribuiria com uma cota maior de ácidos graxos livres à

circulação sistêmica, e seu depósito subsequente no interior dos miócitos da musculatura esquelética que acabaria por inibir a captação de glicose pelos mesmos.

Na fase inicial deste processo, o pâncreas responde através da manutenção de um estado de hiperinsulinemia compensatória, prevenindo a hiperglicemia. Com elevações futuras das concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres, o indivíduo resistente à insulina não pode mais manter este estado de hiperinsulinemia compensatória prevalecendo então a hiperglicemia.

Hiperinsulinemia e resistência à insulina contribuem significativamente para as alterações características no perfil lipídico que estão associadas à obesidade: concentrações aumentadas de triglicerídeos em jejum, níveis reduzidos de HDL- colesterol, elevações marginais de colesterol-total e do LDL-c, e aumento do número de lipoproteínas, carreadoras de Apo B (Sniderman & Cainflone, 1995).

1.3.4 – Adiponectina

A adiponectina é um produto do gene apM1 (Maeda et al., 1996) que é expresso exclusivamente pelo tecido adiposo (Arita et al., 1999). As concentrações plasmáticas de adiponectina estão reduzidas em humanos obesos, em pacientes com resistência à insulina e diabéticos tipo II (Arita et al., 1999; Hotta et al., 2000). Além disso, foi constatada uma associação entre hipoadiponectinemia e níveis reduzidos de HDL- colesterol e aumentados de colesterol e triglicerídeos, compatível com o fenótipo de dislipidemia aterogênica, associada ao acúmulo de gordura visceral e resistência à insulina (Nagaretani et al., 2001). Estudos in vitro mostram que adiponectina atenua a expressão de moléculas de adesão na célula endotelial, induzida pelo fator de necrose

tumoral alfa ($TNF\alpha$) e diminui a secreção do $TNF-\alpha$ de macrófagos (Ouchi et al., 2000; 2001). Considerando que a produção hepática de Proteína C-reativa (PCR) é modulada pelo $TNF-\alpha$, a ação inibitória da adiponectina desempenharia importante efeito anti-inflamatório (Ouchi et al., 2003). Esses resultados sugerem que a adiponectina desempenhe importantes funções biológicas, no que concerne ao metabolismo de carboidratos, lipídios e ação anti-inflamatória, podendo atuar portanto como agente anti-aterogênico (Weyer et al., 2001).

1.4 - Estresse oxidativo e obesidade

O estresse oxidativo (EO), que resulta do aumento na produção de radicais livres e/ou espécies reativas de oxigênio, e/ou de um decréscimo na defesa antioxidante (Trevisan et al., 2001), produz danos a moléculas, tais como DNA, proteína, carboidratos e lipídios, provocando roturas nas seqüências de eventos responsáveis pelo metabolismo e fisiologia vascular. O estresse oxidativo surge quando as formas reativas de oxigênio são produzidas tão rapidamente que ultrapassam os limites que poderiam ser seguramente neutralizadas pelos mecanismos antioxidantes. Evidências crescentes têm sugerido que o estresse oxidativo esteja envolvido na patogênese de muitas doenças cardiovasculares, incluindo hipercolesterolemia, aterosclerose, hipertensão, diabetes e insuficiência cardíaca (Cai & Harrison, 2000).

Harangi et al. (2002), demonstraram danos, causados pelo EO, mais importantes no DNA de linfócitos de indivíduos com dislipidemia do que em indivíduos normo-

lipêmicos. Em estudo relacionando os danos no DNA, e a capacidade total antioxidante com a doença arterial coronariana, Demirbag et al (2005) verificaram, através do ensaio cometa, que a doença coronariana se correlacionava positivamente com os níveis de dano ao DNA e inversamente com a capacidade antioxidante total. Os danos do DNA foram significativamente mais altos em diabéticos, fumantes, dislipidêmicos e obesos. Além disso, no *Framingham Study*, observou-se uma forte associação do tabagismo, diabetes e IMC com o estresse oxidativo (Keaney et al., 2003).

Há uma crescente evidência de que o EO contribua para a patogênese da hipertensão. Níveis elevados de superóxido, peróxido de hidrogênio, e peroxidação de lipídios e decréscimo da superóxido dismutase e vitamina E têm sido observados em indivíduos hipertensos, quando comparados com normotensos (Kurmar et al., 1993). O aumento na produção de ânions superóxido tem importante impacto, não só na formação, como na biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) endógeno vascular que, rapidamente, interage com o superóxido levando à formação de peroxinitrito (Squadrito & Pryor, 1995). Esta seqüência de eventos poderia ser a causa provável de disfunção endotelial e do hipovasarrelaxamento em pacientes com hipertensão essencial (Panza et al., 1990).

O estresse oxidativo, tem sido considerado uns dos principais mecanismos responsáveis pela disfunção endotelial em humanos obesos (Perticone et al., 2001). Os obesos não hipertensos, com IMC maior que 30kg/m^2 , apresentam importante peroxidação de lipídeos plasmáticos, expressa pelo aumento nas concentrações plasmáticas de malondialdeído (P-MDA) e depleção de enzimas citoprotetoras como a superóxido dismutase (CuZn-SOD) (Olusi SO, 2002).

Recentemente, demonstrou-se que o estresse oxidativo mediado pela angiotensina II, poderia promover a migração de células musculares lisas de artérias coronárias humanas tendo um papel central na patogenia da arteriosclerose coronariana. (Yasunari et al., 2002). O estresse oxidativo seria então um possível mediador dos efeitos da angiotensina II na regulação da pressão arterial de indivíduos com hipertensão induzida pela obesidade.

O EO também tem sido correlacionado com a resistência à insulina, e investigações clínicas demonstraram melhora da sensibilidade e da resistência à insulina em pacientes diabéticos, tratados com antioxidantes (Evans et al., 2003; Hirashima et al., 2000).

A partir do *clamp* glicêmico e hiperinsulinêmico e dosagem de 8-*isso*-PGF 2α , verificou-se que os níveis de estresse oxidativo e a resistência à insulina são maiores em indivíduos normotensos obesos quando comparados a indivíduos saudáveis com peso normal (Urakawa et al., 2003).

Furukawa et al., demonstraram que a peroxidação de lipídios (TBARS) e os níveis 8-*epi*-prostaglandina-F 2α (8-*epi*-PGF 2α), se correlacionavam direta e significativamente com o IMC e a circunferência de cintura. Mostraram também uma correlação inversa significativa entre adiponectina e TBARS e isoprostano urinário (Furukawa et al., 2004).

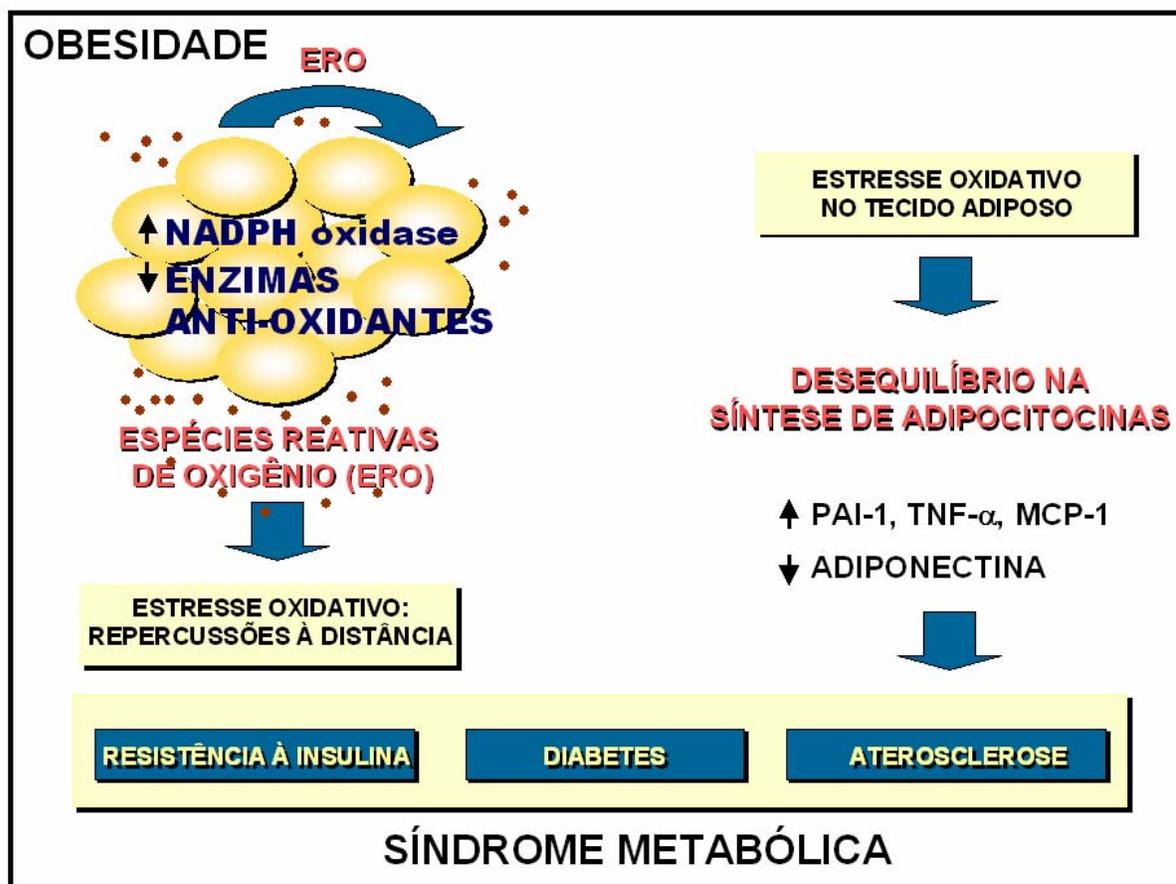


Figura 1 – Modelo esquemático de contribuição do estresse oxidativo para os componentes da Síndrome Metabólica. Adaptado de Furukawa et al., 2004. ERO: espécies reativas de oxigênio; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio 1; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; MCP-1: proteína monocítica quimiotática.

A produção de espécies reativas de oxigênio está seletivamente aumentada no tecido adiposo de ratos obesos, tendo sido associada com aumento da expressão de NADPH oxidase e decréscimo da expressão de enzimas antioxidantes (Furukawa et al., 2004). Os mesmos autores demonstraram, em cultura de adipócitos, que níveis elevados de ácido graxos aumentavam o estresse oxidativo via NADPH oxidase promovendo desregulação da produção de adipocitocinas, PAI-1, IL-6 e MCP-1 (Figura 1).

1.4.1– Ensaio cometa

O ensaio cometa (*single cell gel eletrophoresis ou SCGE*) é um método simples, sensível, confiável e razoavelmente barato para se medir o dano do DNA e a resposta celular a esse dano, e que vem sendo utilizado como teste de genotoxicidade e para monitorizar lesões do DNA em populações humanas (Collins et. al., 1997). O ensaio cometa detecta rupturas em filamentos únicos ou duplos de DNA, sendo que na primeira situação o reparo se faz rapidamente e a lesão não costuma ser mutagênica ou letal. O princípio do ensaio baseia-se no fato de que baixas concentrações de peróxido de hidrogênio causam dano no DNA de linfócitos. Nestas condições os filamentos que apresentam ruptura perdem seu formato circular e desenrolam-se, liberando-se do núcleo e formando uma cauda, semelhante a de cometa, após a eletroforese. A ruptura do DNA é então visualizada podendo ser quantificada por digitalização de imagem e análise computacional ou gradação visual (Noroozi et. al., 1998). O ensaio cometa vem sendo utilizado como marcador direto ou indireto para avaliar, em experimentos *in vivo* e *ex vivo*, o efeito da dieta (rica em flavonóides, por exemplo) nas lesões oxidativas no DNA de leucócitos ou linfócitos (Boyle et al., 2000). Neste caso, a utilização do ensaio pode servir como um excelente marcador prognóstico do estresse oxidativo, associado à obesidade.

1.5- Perda de Peso

Estudos anteriores têm demonstrado que modificações no estilo de vida que promovam perda ponderal possam ter importante impacto na redução de fatores de risco e na morbimortalidade de pacientes portadores de sobrepeso e obesidade.

Gregg et al. (2003), avaliaram as relações entre a perda intencional de peso e a mortalidade em 6391 indivíduos com sobrepeso ou obesos que tivessem uma idade mínima de 35 anos. Ao final de 9 anos de acompanhamento os autores demonstraram que a perda intencional de peso, ainda que modesta, está associada com as menores taxas de mortalidade por todas as causas (Gregg et al., 2003).

Em relação a pressão arterial, vários estudos, realizados na última década, comprovaram que a perda de peso está associada a uma redução dos níveis pressóricos de indivíduos obesos hipertensos e normotensos (Elmer et al., 1995; Wassertheil-Smoller et al., 1992.; Hall, 2000).

Resultados do ensaio clínico *The Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)*, demonstraram que as mudanças no estilo de vida são efetivas em reduzir os níveis tensionais. Especificamente, a intervenção, por 8 semanas, composta pela implementação da dieta *DASH* (rica em frutas, vegetais e laticínios com baixo teor de gordura, privilegiando grãos, peixes e amêndoas e reduzindo carne vermelha e gordura total e saturada), associada a menores ingestões de sódio, perda de peso e exercício aeróbio regular, gerou uma redução de 9,5/5,3mmHg da pressão sistólica e diastólica, respectivamente. Além disso, a intervenção agiu favoravelmente no perfil lipídico e no condicionamento cardiovascular (Appel et al., 1997).

Os mecanismos envolvidos no efeito hipotensor da perda de peso incluem: redução da volemia com diminuição do débito cardíaco, modulação da hiperatividade simpática, aumento da sensibilidade à insulina, adequação da alça renina-aldosterona-sódio, e melhora da função endotelial (Mertens et al., 2000; Avogaro & Kreutzenberg 2005).

Trabalhos clínicos recentes têm demonstrado que a perda de peso e modificações no estilo de vida podem interferir favoravelmente na função endotelial. Hamdy et al., (2003) mostraram que, ao final de seis meses, a redução de peso e atividade física melhoram a função endotelial macrovascular, com redução seletiva de marcadores da ativação endotelial e coagulação em indivíduos obesos com síndrome metabólica, independente do grau de tolerância à glicose; resultados semelhantes foram observados pelo grupo de Sciacqua et al. em 2003. Recentemente, demonstrou-se que a redução de peso, alcançada por dieta com importante restrição calórica, aumentava a vasodilatação fluxo-mediada em indivíduos obesos e que a melhora da função endotelial estaria relacionada à redução na concentração plasmática de glicose (Raitakari et al., 2004).

Os benefícios da perda de peso em relação ao perfil lipídico foram claramente definidos em uma avaliação conjunta de 14 estudos reunindo indivíduos com sobrepeso, submetidos a uma intervenção de mudança de estilo de vida. Demonstrou-se que a perda de peso é eficaz em diminuir os níveis de triglicerídeos e aumentar os de HDL colesterol, promovendo, além disso, redução no colesterol total e LDL colesterol (National Institutes of Health, 1998).

Em relação ao estresse oxidativo, Dandona et al. (2001) demonstraram que os índices de peroxidação de lipídios, assim como aqueles de lesão oxidativa de proteínas e aminoácidos, estão elevados em indivíduos obesos e que a restrição dietética, promovendo a perda de peso, é capaz de reduzir, de forma significativa, esses mesmos parâmetros. Corroborando esses resultados, Daví et al. (2002), demonstraram que a perda de peso, alcançada com a instituição de dieta hipocalórica, revertia,

parcialmente, o aumento na peroxidação de lipídeos e a ativação plaquetária persistente, observados em mulheres portadoras de obesidade andróide.

2 - OBJETIVOS

2 – OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da redução de peso superior a 5%, alcançada ao final de 4 meses de mudanças no estilo de vida, incluindo dieta com restrição calórica de 500 a 1000Kcal/dia e atividade física, sobre os índices que avaliam o estresse oxidativo e fatores de risco cardiometabólico em pacientes com obesidade grau I.

2.2 - Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da perda ponderal superior a 5% sobre o:

- comportamento da pressão arterial;
- perfil metabólico: glicose e insulina de jejum, resistência à insulina (HOMA) e lipidograma;
- estresse oxidativo: danos ao DNA celular pelo ensaio cometa e níveis de isoprastano urinário.

CASUÍSTICA

3.1 - Pacientes

A seleção dos pacientes obesos grau I que foram convidados a participar do estudo foi feita na Clínica de Hipertensão, CLINEX. Os pacientes elegíveis, de acordo com os critérios estabelecidos pelo estudo, foram acompanhados mensalmente com consultas clínicas, além de avaliação nutricional, orientação dietética realizadas por nutricionistas integrantes da equipe de pesquisa. As avaliações laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental, CLINEX. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Pedro Ernesto.

Critérios de inclusão

Os pacientes incluídos no estudo preencheram os seguintes critérios:

- homens ou mulheres entre 18 e 45 anos de idade;
- obesos grau I, com IMC entre 30 e 34,9kg/m²;
- normotensos ou portadores de hipertensão arterial estágio I (pressão arterial sistólica \leq 159mmHg e pressão arterial diastólica \leq 99mmHg);
- terem assinado o termo de consentimento livre e esclarecido;
- terem demonstrado, adesão ao programa, estimada pela perda mínima de 2% do peso no período de 1 mês (fase I).

Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes portadores de:

- diabetes mellitus;

- infarto do miocárdio ou acidente vascular encefálico recente (nos últimos 6 meses);
- doença isquêmica miocárdica;
- insuficiência cardíaca;
- comprometimento da função renal (creatinina sérica > 2mg/dl);
- doença hepática (transaminases com aumento superior a 2 vezes os valores de referência);
- doenças psiquiátricas;
- e aqueles tabagistas ou que tinham deixado de fumar há menos de 1 ano antes da visita de seleção.

3.2 - Desenho do estudo

Trata-se de um estudo prospectivo e controlado, com período de intervenção de 5 meses. O desenho do estudo compreendeu 2 fases: a fase I com duração de 1 mês, avaliou os pacientes quanto à capacidade de perder 2% do peso corporal; aqueles que obtiveram êxito e preencheram os outros critérios de elegibilidade foram incluídos na fase II, com duração de 4 meses. No total, 100 pacientes participaram da fase I e 53 foram incluídos na fase II. Completaram o estudo 47 pacientes sendo que 21 alcançaram a meta de perda ponderal > 5%, compondo o grupo A que foi comparado ao grupo B, formado pelos 26 pacientes que não atingiram a meta (Figura 2). Durante a fase II do estudo ocorreram seis perdas de pacientes, sendo três devidas a intercorrências clínicas e três por retirada de consentimento.

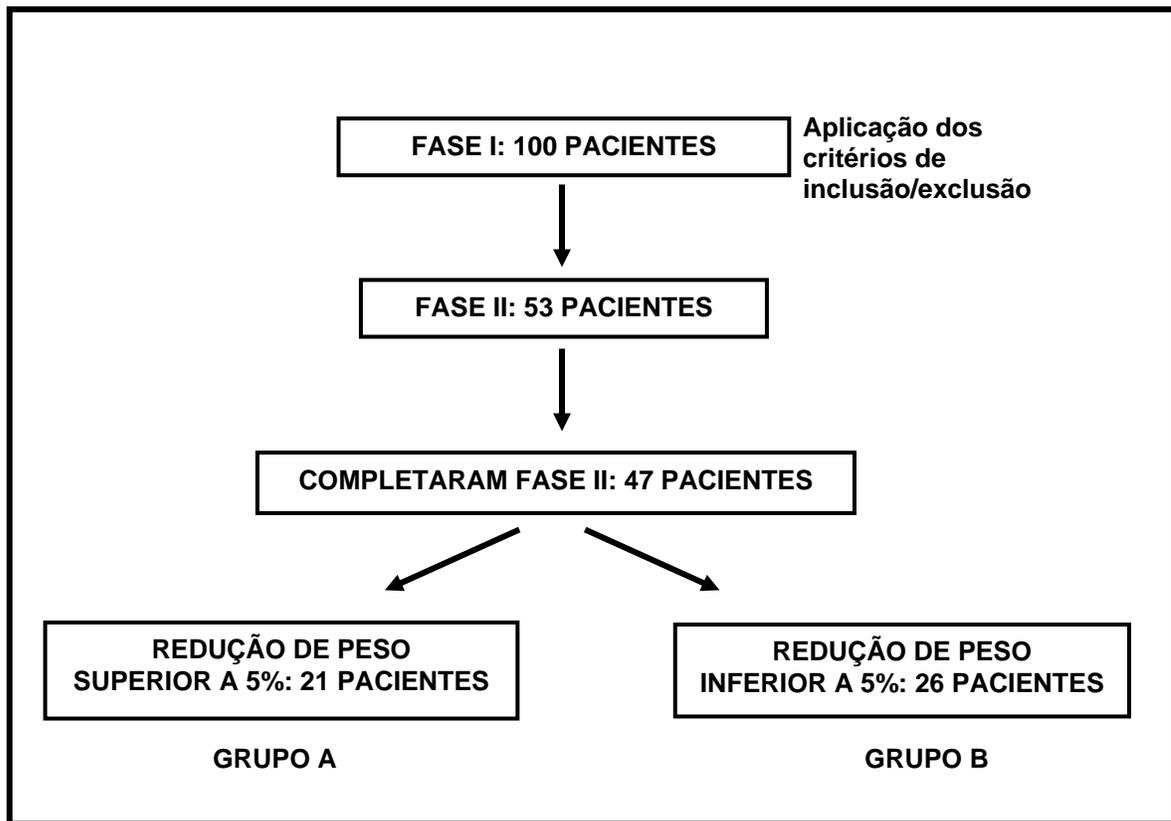


Figura 2: Fluxograma do estudo.

O acompanhamento nutricional incluiu uma avaliação da dieta habitual dos pacientes através de um questionário de frequência alimentar e um recordatório do consumo de 24 horas. Para todos os pacientes foi instituída uma dieta hipocalórica, com restrição diária de 500 a 1000kg/cal, tendo a seguinte composição: carboidratos 50 a 55%, proteínas 15 a 25% e lipídeos 25 a 30%.

Além da orientação nutricional os pacientes foram motivados a realizar durante 30 minutos exercício físico, principalmente aeróbico, de moderada intensidade, na maioria dos dias da semana.

Os pacientes também receberam orientações para mudança no comportamento alimentar e motivação para atingirem perda ponderal, superior a 5%, no período.

No decorrer da fase I os pacientes foram submetidos a uma avaliação laboratorial para aplicação dos critérios de exclusão e suspensão de hipotensores, no caso de pacientes hipertensos, até a reavaliação ao final deste período de 1 mês.

No início e final da fase II foram realizadas as avaliações clínicas, nutricionais e laboratoriais para determinação das variáveis estabelecidas pelo protocolo do estudo.

MÉTODOS

3.3 - Avaliação antropométrica

3.3.1 - Índice de massa corporal

Este índice foi calculado através da divisão do peso (em kg) pela estatura ao quadrado (em m²).

As mensurações de peso (precisão de 0,1 kg) e estatura (precisão de 0,5 cm) foram realizadas em balança antropométrica eletrônica da marca Toledo, aferida pelo INMETRO, com os pacientes em jejum, sem sapatos e vestindo roupas leves.

3.3.2 - Circunferências de cintura (CC) e de quadril (CQ) e relação cintura-quadril (RCQ)

As circunferências de cintura (CC) e de quadril (CQ) foram medidas em centímetros, nos pacientes de pé, com o auxílio de uma fita métrica metálica. A circunferência de cintura foi determinada no ponto médio entre a crista ilíaca e a borda inferior

do último arco costal. A circunferência de quadril foi medida na maior extensão posterior das nádegas.

A relação cintura-quadril (RCQ) foi obtida pela divisão entre a circunferência de cintura e a circunferência de quadril.

3.4 – Estresse oxidativo

3.4.1 - Ensaio Cometa

Este teste vem sendo utilizado em estudos de toxicogenética para detectar lesões genômicas e em estudos de reparação de DNA, fornecendo informações sobre a cinética de reparo. Seu protocolo original foi modificado por Singh et al. (1988) e Olive et al. (1999), possibilitando a identificação de quebras de fita simples e sítios álcali lábeis no DNA, além das quebras de dupla fita, já visualizadas com os protocolos de Östling e Johanson (1984; 1987)

Preparo das Lâminas

A partir de amostra de 100 μ L de sangue retirada de cada indivíduo, três alíquotas contendo 10 μ L eram misturadas com agarose LMP 0,5% (*low melting point*) e colocadas sobre três lâminas distintas preparadas previamente com agarose NMA (*normal melting agarose*) 1,5% em PBS (*phosphate buffered saline* - tampão fosfato). Após colocação de laminulas as lâminas eram acondicionadas em geladeira por 10 minutos e, em seguida, eram retiradas as laminulas sendo as lâminas imersas em

solução de lise (0,01x TRITON X-100, 0,1x DMSO, 2,5M NaCl, 100mM EDTA, 10mM Tris) por, no mínimo, 1 hora.

Eletroforese

As lâminas eram retiradas da solução de lise e colocadas em uma cuba horizontal (Horizon 20.25 - Life Technologies), com tampão alcalino (300mM NaOH, 1mM EDTA, pH > 13), aguardando-se um intervalo de 25 minutos para o desenovelamento do DNA e expressão das diferentes classes de lesões álcali-lábeis. Posteriormente, as lâminas eram submetidas a eletroforese (25 volts, 300mA, 25 minutos) em tampão alcalino. Após esta etapa, as lâminas eram lavadas três vezes com tampão de neutralização (Tris 0,4 M, pH 7,5), com intervalo de 5 minutos. Em seguida, rinsava-se com etanol absoluto por 10 minutos e, por último, com água mili-Q. As lâminas eram, então, mantidas inclinadas, à temperatura ambiente, por 24 horas.

Coloração e Avaliação das Lesões em DNA

Para análise dos resultados, as lâminas eram coradas com 30 μ L de brometo de etídio (20 μ g/mL), agente intercalante de DNA. Caso existissem quebras, elas causariam um relaxamento do genoma, formando *loops* no DNA que, ao migrar em direção ao ânodo, formaria uma imagem semelhante a uma “cauda de cometa”, podendo, então, ser visualizada em um microscópio de fluorescência, equipado com um filtro de excitação de 515-560nm (normalmente utiliza-se 550nm) e um filtro de barreira de

590nm, dotado de lentes com aumento de 100x ou 400x. Em cada lâmina, cinquenta células escolhidas aleatoriamente eram analisadas quanto à intensidade e o tamanho da cauda, sendo estas, classificadas em uma das quatro classes (desde 0, não lesado, até o máximo de lesão, 3). Assim, o total dos cometas variava de 0 (todos sem lesão) a 150 (todos com lesão e ao máximo), uma vez que, o número de células encontradas em cada classe, era multiplicado pelo número da classe à qual pertencesse.

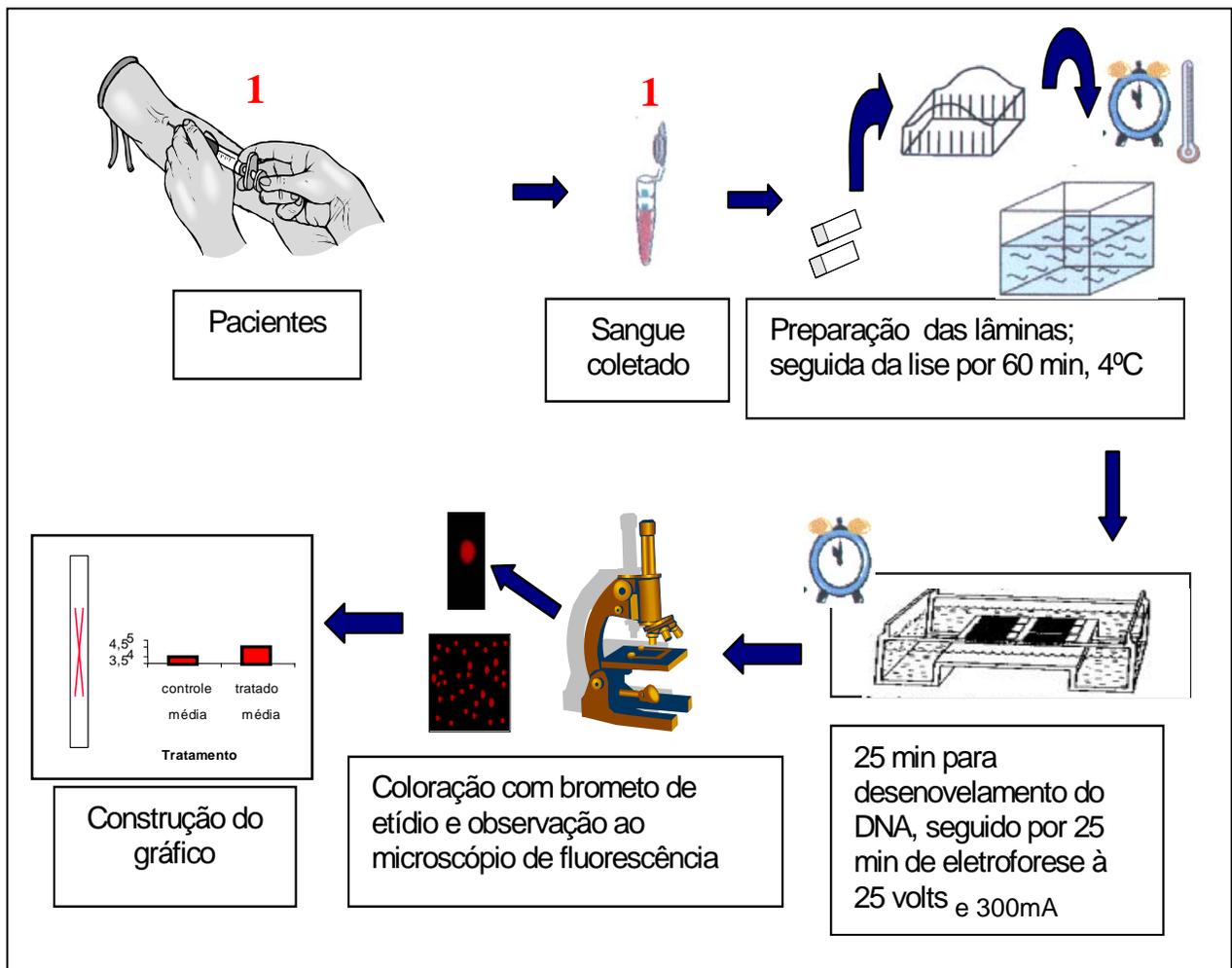


Figura 3 - Representação esquemática para o teste cometa em sangue total periférico

A figura 3 apresenta um esquema das etapas do ensaio cometa em humanos e a figura 4 mostra núcleos celulares com exemplos de lesões das quatro classes existentes no teste.

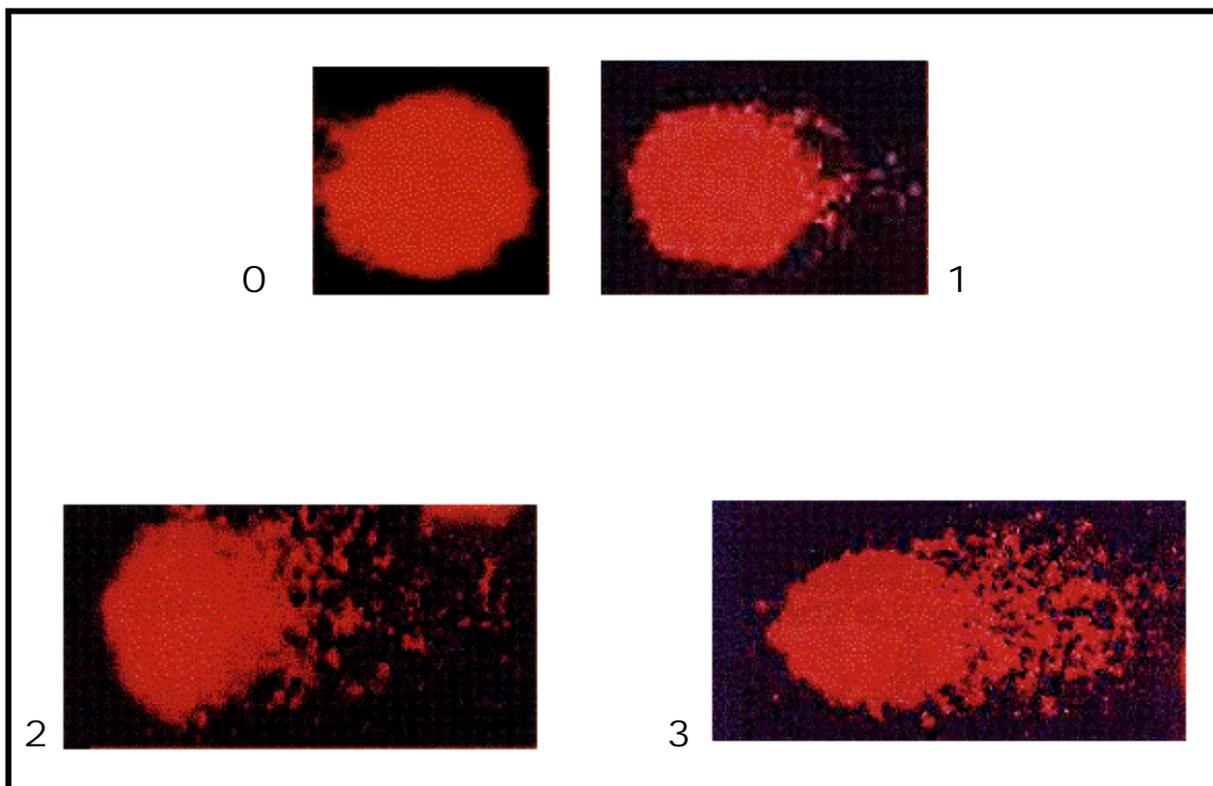


Figura 4 – Núcleos celulares com exemplos de lesões das 4 classes referidas no ensaio cometa.

3.4.2 – Isoprostano urinário

As concentrações de isoprostano, em amostras de urina colhidas pela manhã e estocadas no freezer a -80°C até o dia do ensaio, foram determinadas pelo imunoen-saio enzimático (Elisa) (Kit 8-Isoprostane EIA. Cayaman chemical Company, Ann Arbor, MI. Este é baseado na competição entre 8-isoprostano e 8-isoprostano-acetilco-linestirase (AchE) conjugado para um número limitado de 8-isoprostano específico anti-soro do coelho em um sitio específico de ligação. Por causa da concentração do

traçador 8-isoprostano ser mantido constante enquanto a concentração de 8-isoprostano varia, será inversamente proporcional às concentrações 8-isoprostano do coelho (tanto livre ou traçador), específico para a IgG do coelho – anti-corpo monoclonal do rato – que tem sido previamente anexado ao poço. A placa é levada para remover alguns reagentes não ligados e depois o reagente Ellman (que contém substrato AchE) é adicionado ao poço. O produto da reação enzimática tem um deferente tom da cor amarela e absorve fortemente 412nm. A intensidade dessa cor, determinada pelo método espectrofotometria é proporcional ao total de traçador específico 8-isoprostano ligados ao poço, que é inversamente proporcional ao total de isoprostano livre presente no poço durante a incubação.

3.5 - Pressão arterial clínica

A pressão arterial foi verificada pelo método auscultatório, com esfigmomanômetro de coluna de mercúrio e estetoscópio, no membro superior não-dominante, com o paciente sentado, após pelo menos 5 minutos de repouso, utilizando-se sempre manguitos adequados ao diâmetro do braço.

Durante a consulta clínica mensal, eram realizadas várias medidas, com intervalos de 1 a 2 minutos entre as aferições, até que não houvesse diferença maior que 5 mmHg entre os valores consecutivos de pressão sistólica ou diastólica, sendo utilizada a média entre as duas últimas medidas.

A pressão arterial média foi calculada como o dobro da pressão arterial diastólica, somado à pressão arterial sistólica, dividido o resultado por 3.

3.6 - Avaliação metabólica

3.6.1 - Metabolismo lipídico

Colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicerídeos.

O colesterol total foi dosado pelo método de Huang modificado, o HDL-colesterol pelo sistema enzimático COD-ANA, Lab Test e os triglicerídeos, após saponificação, pela reação de Hantzch, usando o método de Soloni modificado.

O LDL-colesterol foi estimado usando-se a fórmula de Friedwald, válida quando os valores de triglicerídeos são inferiores a 400 mg/dl: $\text{Colesterol total} - (\text{HDL-colesterol} + \text{triglicerídeos} / 5)$.

Os valores foram expressos em mg/dl.

3.6.2 - Metabolismo glicídico

3.6.2.1 - Glicemia de jejum

As amostras foram coletadas após 12 horas de jejum, em tubo sem anticoagulante, com centrifugação após 30 minutos e dosagem por método enzimático-hexoquinase, no mesmo dia da coleta. Os valores estão expressos em mg/dl.

3.6.2.2 – Insulina

As concentrações séricas de insulina de jejum foram determinadas por radioimunoensaio usando reagentes da LINCO Research, St Louis, USA, específicos para insulina humana. Neste ensaio a reatividade cruzada com a pro-insulina humana é inferior a 0,2% (Morgan & Lazarow, 1965).

O índice de resistência à insulina foi obtido utilizando-se a Fórmula da Avaliação do Modelo Homeostático (HOMA), em que 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 é altamente correlacionado com o *clamping* euglicêmico hiperinsulinêmico (Matthews et al., 1985; Avignon et al., 1999).

3.7 - Análise estatística

Para a descrição das variáveis contínuas utilizou-se a média aritmética, com seu respectivo desvio-padrão e, para variáveis categóricas, número absoluto e frequência relativa. Para a comparação das médias dos desfechos entre os grupos, empregou-se o teste *t* de *student*, não-pareado, e o qui-quadrado para a comparação das proporções. Foi calculada a correlação entre variáveis contínuas, sendo apresentadas principalmente as correlações fortes, com coeficiente de correlação linear de Pearson $r > 0,5$.

Em seguida à análise univariada dos desfechos do estudo, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) e a regressão linear múltipla para identificar as associações entre as exposições e os desfechos de interesse. Também foram utilizadas a diferença de média e a diferença de redução média como medida de associação e seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Todas as análises estatísticas usaram 5% para nível de significância.

Os dados foram armazenados no *software* de domínio público EpiData 3.0 e a análise estatística realizada no STATA 8.0.

4 – RESULTADOS

4.1 - Casuística

As características iniciais dos 47 pacientes que completaram a fase II estão apresentadas na tabela 1, de acordo com os grupos de estudo. O grupo A que alcançou perda de peso superior a 5% e o grupo B que não atingiu essa meta.

Tabela 1: Características dos grupos A e B no início do estudo.

	Grupo A(n=21)	Grupo B(n=26)	Valor de
	Média (dp)	Média (dp)	p
Idade (anos)	33 (6,1)	32 (6,9)	0,61
Peso (kg)	89,6 (9,6)	88,6 (10,2)	0,75
Índice de massa corporal (kg/m ²)	32,9 (1,5)	32,7 (1,6)	0,75
Circunferência de cintura (cm)	100,7 (8,3)	101,7 (8,1)	0,67
Circunferência de quadril (cm)	116,1 (7,6)	116,5 (6,0)	0,81
Relação cintura-quadril	0,87 (0,1)	0,88 (0,1)	0,86
Pressão arterial sistólica (mm Hg)	113 (9,0)	115 (13,4)	0,55
Pressão arterial diastólica (mm Hg)	80 (7,7)	82 (9,8)	0,53
Frequência cardíaca (bpm)	71 (9,2)	72 (7,8)	0,73
Glicose (mg/dl)	88 (10,9)	89 (9,8)	0,92
Colesterol (mg/dl)	163 (27,4)	172 (31,9)	0,30
Triglicerídeos (mg/dl)	81 (43,9)	111 (57,3)	0,06
HDL-colesterol (mg/dl)	41 (8,0)	41 (9,3)	0,88
LDL-colesterol (mg/dl)	106 (22,3)	109 (31,7)	0,74
Insulina (μU/ml)	22,3 (8,5)	24,0 (7,5)	0,49
HOMA (índice de resistência à insulina)	5,1 (2,4)	5,3 (1,7)	0,81
Cometa (n° de lesões)	9,0 (8,3)	10,7(11,4)	0,46
Isoprostano urinário* (pg/ml)	0,3 (0,4)	0,2 (0,1)	0,32

*Isoprostano urinário: Grupo A (n=11) e Grupo B (n= 12) dp: desvio padrão

Entre os dois grupos estudados, não observou-se diferenças significativas na avaliação basal em relação à idade, sexo, índice de massa corpórea, circunferência da cintura e do quadril, relação cintura quadril, como também nos perfis hemodinâmico, metabólico e nos índices de estresse oxidativo (Tabela 1). Em relação ao sexo, foram incluídas 16 mulheres no grupo A (76%) e 19 no grupo B (73%), $p=0,81$.

4.2 Medidas Antropométricas

Verificou-se diferença significativa na redução do IMC entre os dois grupos. No grupo A o IMC passou de 32,9 no início para 30,1 Kg/m^2 no final do estudo, e de 32,7 para 32,6 Kg/m^2 no grupo B. O grupo A perdeu, em média, 7,8kg ao final da fase 2, enquanto o grupo B perdeu apenas 0,3kg, correspondendo, respectivamente, a uma redução de 8,5% e 0,4% do peso inicial (Tabela 2).

Em relação a circunferência de cintura, a diminuição média no grupo A foi de 10,1cm e no grupo B 2,8cm, o que corresponde a uma redução percentual de 9,8% e 2,6%, respectivamente. Verificou-se ainda redução de circunferência de quadril mais acentuada no grupo A (Tabela 2).

4.3 Comportamento da pressão arterial

Observou-se um decréscimo nos valores, da pressão arterial sistólica e diastólica ao final da fase II em ambos os grupos não havendo, contudo, diferença estatística significativa na comparação entre os grupos A e B. Em relação a pressão arterial diastólica, a redução média no grupo A foi o dobro da observada no grupo B: 4,0 e

1,9mmHg respectivamente; entretanto essa diferença não alcançou significância estatística (Tabela 3).

Tabela 2: Características antropométricas dos grupos A e B, no início e final da fase II (após 4 meses de estudo).

	Grupo A (n=21)			Grupo B (n=26)			Valor de p
	Início	Final	Diferença	Início	Final	Diferença	
	média (dp)	média (dp)	média (dp)	média (dp)	média (dp)	Média (dp)	
Peso (kg)	89,6 (9,6)	81,8 (8,1)	-7,8 (3,0)	88,6 (10,2)	88,3 (10,6)	-0,3 (2,9)	0,00
Índice de massa corporal (kg/m ²)	32,9 (1,5)	30,1 (1,7)	-2,8 (0,9)	32,7 (1,6)	32,6 (1,6)	-0,1 (1,1)	0,00
Circunferência de cintura (cm)	100,7 (8,3)	90,6 (6,1)	-10,1 (5,0)	101,7 (8,1)	98,9 (7,9)	-2,8 (5,0)	0,00
Circunferência de quadril (cm)	116,1 (7,6)	108,0 (7,0)	-8,1 (3,7)	116,4 (6,0)	114,7 (6,2)	-1,7 (3,2)	0,00
Relação cintura-quadril	0,87 (0,08)	0,84 (0,07)	-0,03 (0,03)	0,88 (0,09)	0,86 (0,07)	-0,01 (0,04)	0,17

Tabela 3: Comportamento da pressão arterial e frequência cardíaca nos grupos A e B, no início e final da fase II (após 4 meses de estudo). dp: desvio padrão

	Grupo A (n=21)			Grupo B (n=26)			Valor de p
	Início	Final	Diferença	Início	Final	Diferença	
	Média (dp)	Média (dp)	média (dp)	média (dp)	Média (dp)	Média (dp)	
Pressão arterial sistólica (mm Hg)	113 (9,0)	112 (10,9)	-1,1 (6,5)	115 (13,4)	114 (12,8)	-0,8 (9,9)	0,91
Pressão arterial diastólica (mm Hg)	80 (7,7)	76 (11,1)	-4,0 (7,4)	82 (9,8)	80 (10,5)	-1,9 (7,5)	0,34
Frequência cardíaca (bpm)	71 (9,2)	69 (9,1)	-2,4 (11,3)	72 (7,8)	72 (8,4)	0,1 (8,4)	0,38

4.4 Perfil Metabólico

Na tabela 4 estão apresentadas as características do perfil metabólico dos pacientes do grupo A e do grupo B.

Na comparação entre os dois grupos não foram encontradas diferenças significativas nas médias de redução dos valores da glicemia em jejum: grupo A redução de 3,4% e grupo B de 1,1% ($p=0,28$).

Da mesma maneira, encontramos diminuição não significativa das médias da insulina sérica em ambos os grupos, sendo esta redução média também maior no grupo A, que diminuiu 4,2 $\mu\text{U/ml}$ (-18,7%) ao final do estudo, enquanto que o grupo B apresentou redução de 1,3 $\mu\text{U/ml}$ (-5,3%) (Figura 5).

Em relação ao HOMA, notamos diminuição não-significativa de suas médias ao final do estudo, passando de 5,1 para 3,9 no grupo A, e de 5,3 para 4,9 no grupo B, o que corresponde a reduções percentuais de 24,5% e 8,1%, respectivamente (Figura 5).

Na avaliação do lipidograma verificou-se redução significativa dos níveis de colesterol total no grupo A, que passou de 163 para 156 mg/dl, enquanto que no grupo B a média de colesterol total aumentou de 172 para 176mg/dl. O mesmo se verificou em relação ao LDL colesterol, sendo a diferença significativa entre os grupos, verificando-se redução acentuada no grupo A e manutenção dos níveis no grupo B. Na comparação entre os grupos não foram encontradas diferenças significativas quando foram comparados os valores de triglicérides e HDL colesterol, no início e no final da fase dois. Observou-se, contudo, redução dos níveis de triglicérides e aumento de HDL colesterol, no final da fase II, em ambos os grupos.

Tabela 4: Perfil metabólico dos grupos A e B, no início e final da fase II (após 4 meses de estudo).

	Grupo A (n=21)			Grupo B (n=26)			Valor de p
	Início	Final	Diferença	Início	final	diferença	
	média (DP)	média (DP)	Média (DP)	média (DP)	média (DP)	média (DP)	
Glicose (mg/dl)	88 (10,9)	85 (10,8)	-3,3 (9,5)	89 (9,8)	88 (12,2)	-0,8 (6,8)	0,28
Insulina (µU/ml)	22,3 (8,5)	18,2 (5,8)	-4,2 (6,3)	24,0 (7,5)	22,7 (6,8)	-1,3 (8,6)	0,20
HOMA	5,1 (2,4)	3,9 (1,6)	-1,3 (1,8)	5,3 (1,7)	4,9 (1,6)	-0,4 (1,9)	0,13
Colesterol (mg/dl)	163 (27,4)	156 (29,5)	-7,4 (18,0)	172 (31,9)	176 (31,3)	3,7 (19,6)	0,05
Triglicerídeos (mg/dl)	81 (43,9)	77 (31,0)	-4,4 (25,6)	111 (57,3)	98 (42,6)	-12,6 (27,1)	0,28
HDL-colesterol (mg/dl)	41 (8,0)	45 (10,6)	3,9 (5,8)	41 (9,3)	47 (9,2)	6,2 (7,3)	0,25
LDL-colesterol (mg/dl)	106 (22,3)	95 (24,9)	-11,4 (16,5)	109 (31,7)	109 (31,7)	0,1 (15,8)	0,02

HOMA: índice de resistência à insulina; DP: desvio padrão.

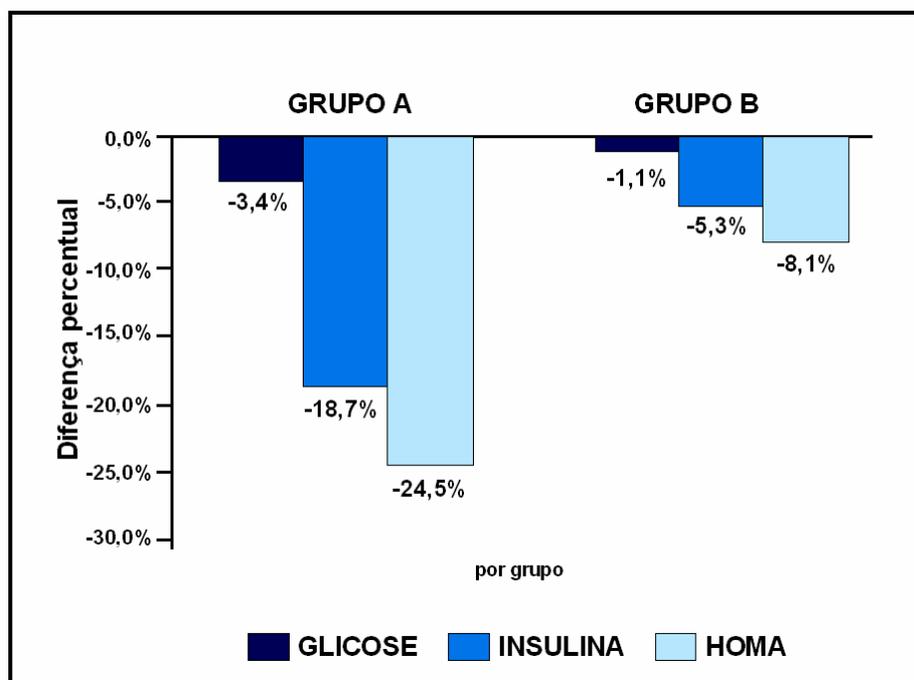


Figura 5: Diferença percentual de glicose, insulina e HOMA, entre os grupos A e B, ao final do estudo.

4.5 Estresse oxidativo (ensaio cometa e isoprostano urinário)

Os níveis de dano ao DNA, medidos pelo ensaio cometa, diminuíram nos dois grupos do estudo, não existindo diferença, estatisticamente significativa, entre os grupos A e B.

Em relação à excreção urinária de isoprostano, verificamos redução de 28,6% no grupo A ao final da fase II. Por outro lado, no grupo B, os valores médios de isoprostano urinário passaram de $0,22 \pm 0,10$ para $0,23 \pm 0,06$ pg/ml, representando um aumento percentual de 4,4%. Contudo, essas diferenças não foram significativas.

Tabela 5 – Estresse oxidativo dos grupos A e B, no início e após 4 meses de estudo

	Grupo A (n=21)			Grupo B (n=26)			Valor de p
	Início	Final	Diferença	Início	Final	Diferença	
	média (dp)	Média (dp)	média (dp)	Média (dp)	Média (dp)	média (dp)	
Cometa (número de lesões)	9 (8,34)	7 (5,74)	-1,5 (10,73)	11 (11,44)	5 (4,78)	-5,6 (12,75)	0,243
Isoprostano(pg/ml)*	0,35(0,41)	0,25(0,14)	-0,10(0,42)	0,22(0,10)	0,23(0,06)	0,01(0,12)	0,388

*n= 11e12, respectivamente dp:desvio padrão

5 - DISCUSSÃO

5.1 – Casuística e características antropométricas

A partir de uma seleção inicial de 100 indivíduos portadores de obesidade grau I, 53 iniciaram o estudo propriamente dito, dos quais 47 completaram a fase II, cumprindo as avaliações previstas no período basal e após 4 meses de uma intervenção pautada em mudanças do estilo de vida.

Os dois grupos de estudo - os que alcançaram (grupo A), ou não (grupo B), a meta de perda de peso superior a 5% - foram constituídos por uma maioria de mulheres. Em relação a distribuição de gordura, os nossos pacientes apresentavam, no início do estudo, uma média de circunferência de cintura que caracterizava obesidade visceral.

Quanto à faixa etária, foram excluídos adolescentes e mulheres na menopausa, de forma a minimizar os efeitos dos hormônios sexuais. Excluiu-se, também, os tabagistas devido à possível influência do hábito de fumar nos resultados de avaliação do dano oxidativo ao DNA (Moller et al., 2000). Teve-se o cuidado, ainda, de incluir apenas hipertensos em estágio I de sua doença, excluindo-se os diabéticos, admitindo-se, contudo, os intolerantes à glicose. Considerando que o presente estudo previa mudanças no estilo de vida – orientação nutricional e atividade física regular e supervisionada – selecionamos os obesos grau I, mais aptos ao cumprimento da atividade física prescrita. Ademais, isto atendeu aos preceitos éticos vigentes, que recomendam como conduta inicial a implementação de medidas não-farmacológicas

antecedendo de 3 a 6 meses a instituição de intervenção farmacológica (Chobanian et al., 2003).

A fase II do estudo foi concluída com boa taxa de observância. Ressalte-se, porém, que apenas 45% dos pacientes atingiram perda ponderal superior a 5%, ao final desta fase, o que revela a grande dificuldade de se instituir redução ponderal nesses pacientes, o que coincide com a realidade da prática clínica. Isto não exclui, por outro lado, as vantagens de se diminuir o peso, mesmo quando um percentual desejável não for alcançado (Yanovski & Yanovski, 2002).

Os pacientes que constituíram o grupo A atingiram em 4 meses uma média de perda ponderal de 8,5%. Se levamos em conta a fase I do estudo, esse percentual se eleva para 12%, em cinco meses de mudanças no estilo de vida. Consideramos esses resultados, bastante consistentes principalmente quando comparados àqueles em que se instituiu intervenção farmacológica, com a sibutramina, por exemplo, quando a perda de peso foi de 7,4% na vigência de doses plenas da medicação (15mg) (Bray et al., 1999). Avaliando-se de forma retrospectiva o comportamento dos grupos na fase I do nosso estudo, constatamos que a perda ponderal alcançada neste período inicial de 1 mês foi significativamente maior no grupo A ($p=0,02$), que reduziu 3,6% do peso inicial no período, em contrapartida ao grupo B, que reduziu 2,6%.

No presente estudo a redução da circunferência da cintura se correlacionou fortemente com a perda de peso nos pacientes do grupo A. Esta tendência não foi observada nos pacientes do grupo B, nos quais a diminuição da circunferência abdominal não se acompanhou de redução do peso que se manteve estável. Quando os valores finais de circunferência abdominal e circunferência do quadril foram comparados aos valores do início do estudo, observou-se, no grupo B, redução signi-

ficativa de ambas variáveis ($p=0,009$; $p=0,012$, respectivamente). Este dado pode se revestir de alguma importância visto que os pacientes desse grupo embora não tivessem perdido peso, mostraram redistribuição da sua gordura corporal.

5.2 – Efeitos da redução de peso superior a 5% no comportamento da pressão arterial

Vários estudos epidemiológicos têm mostrado que a obesidade está frequentemente associada à hipertensão arterial (Hubert et al., 1983; Kannel et al., 1967). Nos dias atuais essa associação – obesidade e hipertensão arterial – é tida como parceria de alto risco, levando alguns autores a admitir que os hipertensos obesos são portadores de formas secundárias (à obesidade) de hipertensão (Sharma et al., 2001). Essa associação vai além dos valores que caracterizam o sobrepeso, já que a partir de um IMC de $20\text{kg}/\text{m}^2$ o risco de hipertensão começa a aumentar, chegando a ser 6 vezes maior quando o IMC for superior a $30\text{kg}/\text{m}^2$ (Huang et al., 1998).

No presente estudo, embora a média dos níveis pressóricos dos pacientes estivessem dentro dos critérios de normalidade, a redução do peso diminuiu tanto a pressão sistólica quanto a diastólica. Nos 47 pacientes do nosso estudo, a redução dos níveis pressóricos foi de $0,9/2,8$ mmHg, com média de perda de peso aos 4 meses de $3,6$ kg, do início ao final da fase II do estudo. Como os pacientes para serem incluídos nesta fase, precisavam ter obrigatoriamente perdido pelo menos 2% do peso inicial da fase I, quando se avaliou a diferença dos níveis pressóricos do início da fase I ao término da fase II, encontrou-se redução muito mais consistentes dos mesmos: diminuição de $5,1/4,3$ mmHg, para as pressões sistólica e diastólica, respectivamente,

para uma média de perda de peso de 6,5 kg. Esses dados coincidem com as duas etapas do *Trial of Hypertension Prevention* - TOHP que também mostraram redução nos níveis pressóricos sistólico/diastólico, medidos no 6^o mês de intervenção, com redução de 3,8/2,5mmHg na etapa I do estudo, e de 3,7/2,7mmHg na etapa II. A média de perda de peso aos 6 meses de ambas as etapas do estudo foi de 5,7 kg (*The Trials of Hypertension Prevention Collaborative Research Group, 1997*).

Se levarmos em conta projeções feitas pelo estudo de Cook et al (1995), realizado na população norte-americana (entre 35 e 64 anos de idade), a redução encontrada nos 5 meses do nosso estudo de 4,3mmHg na pressão arterial diastólica, poderia, em tese, diminuir em mais de 17% a prevalência futura de hipertensão diastólica, e reduzir em mais de 15% a incidência de acidente vascular-encefálico ou um episódio isquêmico cerebral transitório, e em mais de 6% o risco para doença coronariana.

5.3 – Efeitos da redução de peso superior a 5% no perfil metabólico

Uma característica que precisa ser levada em conta de nossos pacientes quanto ao seu perfil lipídico é que a maior parte dos mesmos apesar de serem obesos exibia um perfil lipídico normal quando avaliados pelos parâmetros estabelecidos pelo National Cholesterol Education Program (2002). Em que pese essa característica houve redução dos triglicerídeos e aumento do HDL-colesterol em ambos os grupos, embora sem diferença significativa entre eles. Quando, agora, foram analisados os valores iniciais e finais de cada grupo, registrou-se redução significativa de triglicerídeos apenas no grupo B ($p=0,025$) e aumento significativo de HDL-colesterol nos grupos A ($p=0,005$) e B ($p<0,001$). Os resultados de ensaios clínicos em que se

praticou mudanças no estilo de vida mostraram que, indivíduos com sobrepeso, a perda ponderal foi eficaz para diminuir o nível de triglicérides, aumentar o HDL-colesterol e reduzir o colesterol total e LDL-colesterol (National Institutes of Health, 1998). É possível, que tais efeitos favoráveis não teriam sido observados em nosso estudo em virtude do fato de que ambos os grupos receberam orientação nutricional adequada. Ainda que o grupo B não tivesse apresentado perda ponderal importante, registrou-se redistribuição da gordura corporal por conta de uma seleção mais adequada no consumo dos alimentos. Além disso, os níveis normais de triglicérides no início do estudo podem ter diminuído o impacto da redução do peso sobre a trigliceridemia.

Recentemente o estudo DEW-IT mostrou que a redução de 4,9kg após 9 semanas de mudanças no estilo de vida realizadas em condições de estrito controle, diminuiu em 25mg/dl os níveis de colesterol total, em relação ao grupo controle (Miller et al., 2002). Não pudemos, porém, comparar os nossos dados com os do *DEW-IT*, pois expressamos a perda ponderal em percentuais e não pelo peso absoluto perdido, que pode omitir a heterogeneidade da amostra, freqüentemente presente nessas casuísticas.

Quanto ao metabolismo da glicose, a redução de peso superior a 5% não logrou causar nenhum efeito significativo sobre as variáveis: glicemia de jejum, insulina sérica de jejum e índice de resistência à insulina (HOMA). Quando, porém, se comparou os valores do início e final do estudo, observou-se no grupo A, redução significativa nos valores da insulina ($p=0,006$) e HOMA ($p=0,004$). Isto é particularmente importante pelo fato de que apenas 4 pacientes apresentavam intolerância à glicose no início da fase II, mostrando que nem todos os obesos são resistentes à insulina ou intolerantes à

glicose. Isto está de acordo com a afirmação de Reaven (2002) de que apenas 25% dos obesos são resistentes à insulina. Nos 4 pacientes que mostravam intolerância à glicose no início do estudo, 2 alcançaram diminuição do peso superior a 5%, que se acompanhou de redução na glicemia de 16% e 23% ao final do estudo, em comparação à diminuição média de 3,4% do grupo A.

A análise de um subgrupo de 9 pacientes do grupo A que apresentou perda de peso superior a 8%, comparada ao grupo B, mostrou redução significativa nos valores de insulina, com diminuição percentual, ao final do estudo de 32,8% acima do observado no grupo B ($p=0,045$). Os prováveis benefícios desses resultados estão claramente demonstrados em trabalhos como o de Tuomilehto et al. (2001) que apontou uma diminuição de mais de 50% na incidência de diabetes, em pacientes com redução de peso superior a 5%, após 6 anos de acompanhamento.

5.4 Efeitos da redução de peso superior a 5% no estresse oxidativo

O estresse oxidativo se refere às alterações provocadas por radicais livres, derivados do oxigênio, em substâncias biológicas como lípidos, DNA e proteínas (Droge, 2002). Estes radicais livres são também denominados espécies reativas de oxigênio e incluem o anion superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila (Locatelli et al., 2003).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) atuam em vários processos fisiológicos e celulares. Como um exemplo, o peróxido de hidrogênio é convertido, nos neutrófilos, via a enzima mieloperoxidase, em um componente ácido ativo que é importante no processo de fagocitose bacteriana (Droge, 2002; Locatelli et al, 2003).

Por outro lado, quantidades excessivas de ERO, geradas por um aumento sustentado na produção ou por uma função inadequada dos mecanismos antioxidantes, têm sido implicadas na patogênese de câncer, aterosclerose, diabetes mellitus, doenças neurodegenerativas, artrite reumatóide, lesões vistas na reperfusão após isquemia, e apnéia obstrutiva do sono (Droge, 2002).

Alem disso, os radicais livres têm sido relacionados ao envelhecimento; o processo de senescência seria devido, pelo menos em parte, a modificações progressivas, mediadas pelos radicais livres, em mecanismos que resultariam em alterações da expressão gênica (Droge, 2002).

O estresse oxidativo é, atualmente, considerado um fator emergente de risco cardiovascular. Em estudo publicado em 2004, Demirbag e cols analisaram as relações entre dano oxidativo ao DNA, capacidade antioxidante total e doença arterial coronariana. Os autores demonstraram que o dano oxidativo ao DNA (avaliado pelo ensaio cometa), é maior em pacientes com diabetes mellitus, fumantes, dislipidêmicos, obesos e portadores de doença coronariana; o dano ao DNA se correlacionou negativamente com a capacidade antioxidante plasmática total. Os autores verificaram ainda uma relação estreita entre o nível de lesão ao DNA, a severidade da doença coronariana e o grau de obesidade.

A obesidade é, presentemente, reconhecida, como o principal fator de risco de aterosclerose. O aumento na geração de espécies reativas de oxigênio pelos leucócitos de pacientes obesos pode ser responsável pelo aumento da lesão oxidativa de lípidos e proteínas e, portanto, pela aterosclerose, desde que, a peroxidação de lipídios representa um evento cardinal para a aterogênese (Ross, 1999).

Os efeitos benéficos de intervenções que promovem perda de peso e resultam em redução dos índices que avaliam o estresse oxidativo têm sido demonstrados em estudos clínicos previamente publicados (Roberts et al, 2002; Dandona et al, 2001).

No nosso estudo, os índices que expressam o dano oxidativo ao DNA não mostraram diferenças significativas entre o grupo A (com perda de peso superior a 5%) e o grupo B que não atingiu esta meta. As diferenças entre os grupos também não foram significativas quando o estresse oxidativo foi avaliado através da dosagem de isoprostano urinário.

O fato de nossos resultados não corroborarem os dados da literatura não se devem, certamente, aos métodos. O dano ao DNA é um dos marcadores biológicos mais sensíveis para avaliação do estresse oxidativo causado pelo desequilíbrio entre a geração excessiva de radicais livres e a deficiência na ação do sistema antioxidante (Gutteridge, 1995; Anderson, 1996; Donnelly, 1999). Isoprostanos são uma família de eicosanóides produzidos principalmente por oxidação não enzimática do ácido araquidônico pelas espécies reativas de oxigênio. Conseqüentemente, a produção de isoprostanos está aumentada na presença de estresse oxidativo (Roberts et al., 2002).

Uma justificativa, a ser considerada, refere-se ao fato de termos incluído, principalmente, mulheres com idade inferior a 45 anos. Mendoza-Núñez e cols demonstraram claramente que a percentagem de dano ao DNA é maior em pacientes acima de 70 anos e que a probabilidade de apresentar lesão oxidativa no DNA é duas vezes maior entre os homens quando comparados às mulheres (Mendoza-Núñez et al., 2001).

Outra explicação plausível para os nossos resultados, pode estar relacionada ao protocolo de estudo no que se refere ao intervalo de 4 meses entre as avaliações,

basal e final, e à prescrição de dieta hipocalórica, com composição de carboidratos, proteínas e lipídeos de 50 a 55%, 15 a 25%, e 25 a 30%, respectivamente. Roberts et al (2002), mostraram que uma intervenção de curto prazo (3 semanas), em homens obesos, baseada em uma dieta livre em calorias, com a composição de 10% de lipídeos, 15 a 20% de proteína e 70 a 75% de carboidrato primariamente não refinado, com alto teor de fibras, associada a exercício físico, foi capaz de promover significativa redução do estresse oxidativo, aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico e diminuição da pressão arterial. Os autores apontaram ainda que a perda de peso *per se* não contribuiu, de forma importante, para os resultados desde que não houve associação entre as modificações do índice de massa corporal e o comportamento da pressão arterial.

Além disso, Dandona et al., (2001) avaliando os efeitos da perda de peso, induzida por dieta de 1000 calorias, prescrita para pacientes obesos, por um período de 4 semanas, verificaram significativa redução na geração de espécies reativas de oxigênio. Embora os autores não tenham distinguido os efeitos entre perda de peso e restrição dietética, consideraram que os resultados eram mais consistentes com a ingestão alimentar como o principal modulador na geração de radicais livres – o efeito máximo de redução do estresse oxidativo foi observado dentro de 1 semana de restrição dietética, quando ainda não era importante a perda de peso, e deixou de ser observado após suspensão da restrição, apesar do peso não ter ainda retornado ao basal. Baseados nesses dados consideram que não está claramente definido se o estresse oxidativo é devido à obesidade *per se*, ou aos excessos alimentares praticados pelos obesos. Esta questão foi parcialmente respondida pela observação de que pacientes obesos e indivíduos normais, respondem, igualmente, a uma sobrecarga

de glicose, com aumento na geração de radicais livres derivados do oxigênio (Mohanty et al., 2000).

Os nossos resultados, mostrando apenas uma tendência à redução do estresse oxidativo no grupo que alcançou perda de peso superior a 5%, podem ser devidos ao fato de ambos os grupos terem recebido, indistintamente, a mesma orientação nutricional, durante período relativamente longo, de 5 meses (incluindo a fase I), que caracteriza mais, propriamente, uma mudança de hábitos alimentares do que uma restrição dietética de curto prazo como relatadas nos trabalhos anteriores.

5.4 – Considerações finais

O presente estudo demonstrou que a implementação de mudanças no estilo de vida por um período de 5 meses, com orientação mensal em relação à dieta hipocalórica (restrição de 500 a 1000kg/cal/dia), exercício físico aeróbico e modificações no comportamento alimentar, é capaz de promover reduções de peso significativas e redistribuição da gordura corporal. Considerando a epidemia mundial de obesidade e seus altos custos sociais, estas medidas não-farmacológicas devem ser priorizadas, especialmente em países em desenvolvimento como o Brasil.

O nosso estudo apresenta algumas limitações que podem ter reduzido a magnitude dos efeitos observados: 1) a inclusão de pacientes com obesidade grau I; 2) a inclusão de pacientes, principalmente de mulheres, com idade inferior a 45 anos; 3) a inclusão de pacientes com valores médios da pressão arterial, lipidograma e glicemia dentro das faixas de normalidade; 5) o desenho de estudo que estabelecia, obrigatoriamente uma perda de pelo menos 2% do peso corporal na fase I, quando não

estavam ainda sendo analisadas os possíveis efeitos da redução de peso; 6) o número de pacientes analisados e a composição dietética em relação a excreção urinária de isoprostano e a lesão oxidativa ao DNA.

6 - CONCLUSÕES

6 – CONCLUSÕES

1 - A redução de peso superior a 5% não promoveu diminuição significativa da pressão arterial de indivíduos obesos grau I. Contudo, ao se analisar o grupo como um todo, de 47 indivíduos, verificou-se decréscimo da pressão sistólica de 5,1mmHg e da pressão diastólica de 4,3mmHg, do início da fase I ao término da fase II, que compreendeu um período de 5 meses, com perda média de peso de 6,5kg.

2 – A perda ponderal superior a 5% promoveu redução significativa dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol. Observou-se ainda redução nos níveis de triglicerídeos e elevação de HDL-colesterol, mas as diferenças entre os grupos não foram significativas.

3 – As reduções da glicemia, insulina e HOMA foram mais evidentes no grupo A que perdeu peso acima de 5%. Entretanto, as diferenças não foram significativas em relação ao grupo B que não atingiu essa meta.

4 – As diferenças na redução do peso que distinguiram o grupo A do grupo B, não influenciaram significativamente o estresse oxidativo estimado pelo ensaio cometa e isoprostano urinário.

Referências bibliográficas:

Anderson, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutat Res* 1996; 350: 103-108.

Appel, L.J., Moore, T.J., Obarzanek, E., Vollmer, W.M., Svetkey, L.P., Sacks, F.M., Bray, G.A., Vogt, T.M., Cutler, J.A., Windhauser, M.M., Lin, P.H. e Karanja, N. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1997; 336: 1117-1124.

Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K., Kuriyama, H., Nishida, M., Yamashita, S., Okubo, K., Matsubara, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T. e Matsuzawa, Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257: 79-83.

Avignon, A., Boegner, C., Mariano-Goulart, D., Colette, C. e Monnier, L. Assessment of insulin sensitivity from plasma insulin and glucose in the fasting or post oral glucose-load state. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 512-517.

Avogaro, A. e De Kreutzenberg, S.V. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. *Clin Chim Acta* 2005; 360: 9-26.

Barroso SG, Genelhu Fagundes V, Sanjuliani AF, et al. Association of leptin/BMI^{1/2} with the metabolic syndrome independent of BMI in obese hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2001;14:A225.

Boyle, S.P., Dobson, V.L., Duthie, S.J., Hinselwood, D.C., Kyle, J.A. e Collins, A.R. Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54: 774-782.

Bray, G.A., Blackburn, G.L., Ferguson, J.M., Greenway, F.L., Jain, A.K., Mendel, C.M., Mendels, J., Ryan, D.H., Schwartz, S.L., Scheinbaum, M.L. e Seaton, T.B. Sibutramine produces dose-related weight loss. *Obes Res* 1999; 7: 189-198.

Brown, C.D., Higgins, M., Donato, K.A., Rohde, F.C., Garrison, R., Obarzanek, E., Ernst, N.D. e Horan, M. Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia. *Obes Res* 2000; 8: 605-619.

Cai, H. e Harrison, D.G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87: 840-844.

Calle, E.E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K. e Thun, M.J. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348: 1625-1638.

Caprio, S., Tamborlane, W.V., Silver, D., Robinson, C., Leibel, R., Mccarthy, S., Grozman, A., Belous, A., Maggs, D. e Sherwin, R.S. Hyperleptinemia: an early sign of juvenile obesity. Relations to body fat depots and insulin concentrations. *Am J Physiol* 1996; 271: E626-630.

Chan, J.M., Rimm, E.B., Colditz, G.A., Stampfer, M.J. e Willett, W.C. Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care* 1994; 17: 961-969.

Chobanian, A.V., Bakris, G.L., Black, H.R., Cushman, W.C., Green, L.A., Izzo, J.L., Jr., Jones, D.W., Materson, B.J., Oparil, S., Wright, J.T., Jr. e Roccella, E.J. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama* 2003; 289: 2560-2572.

Cigolini, M., Seidell, J.C., Targher, G., Deslypere, J.P., Ellsinger, B.M., Charzewska, J., Cruz, A. e Bjorntorp, P. Fasting serum insulin in relation to components of the metabolic syndrome in European healthy men: the European Fat Distribution Study. *Metabolism* 1995; 44: 35-40.

Colditz, G.A., Willett, W.C., Rotnitzky, A. e Manson, J.E. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med* 1995; 122: 481-486.

Collins, A.R., Dobson, V.L., Dusinska, M., Kennedy, G. e Stetina, R. The comet assay: what can it really tell us? *Mutat Res* 1997; 375: 183-193.

Cook, N.R., Cohen, J., Hebert, P.R., Taylor, J.O. e Hennekens, C.H. Implications of small reductions in diastolic blood pressure for primary prevention. *Arch Intern Med* 1995; 155: 701-709.

Dagenais, G.R., Yi, Q., Mann, J.F., Bosch, J., Pogue, J. e Yusuf, S. Prognostic impact of body weight and abdominal obesity in women and men with cardiovascular disease. *Am Heart J* 2005; 149: 54-60.

Dandona, P., Mohanty, P., Ghanim, H., Aljada, A., Browne, R., Hamouda, W., Prabhala, A., Afzal, A. e Garg, R. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 355-362.

Davi, G., Guagnano, M.T., Ciabattini, G., Basili, S., Falco, A., Marinopicolli, M., Nutini, M., Sensi, S. e Patrono, C. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *Jama* 2002; 288: 2008-2014.

DeFronzo, R.A. e Ferrannini, E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 173-194.

Demirbag, R., Yilmaz, R. e Kocyigit, A. Relationship between DNA damage, total antioxidant capacity and coronary artery disease. *Mutat Res* 2005; 570: 197-203.

Despres, J.P., Lemieux, I. e Prud'homme, D. Treatment of obesity: need to focus on high risk abdominally obese patients. *BMJ* 2001; 322: 716-720.

Despres, J.P., Moorjani, S., Lupien, P.J., Tremblay, A., Nadeau, A. e Bouchard, C. Regional distribution of body fat, plasma lipoproteins, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 497-511.

Dobrian, A.D., Davies, M.J., Prewitt, R.L. e Lauterio, T.J. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension* 2000; 35: 1009-1015.

Donnelly, E.T., McClure, N. e Lewis, S.E. The effect of ascorbate and alpha-tocopherol supplementation in vitro on DNA integrity and hydrogen peroxide-induced DNA damage in human spermatozoa. *Mutagenesis* 1999; 14: 505-512.

Droge, W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.

Elmer, P.J., Grimm, R., Jr., Laing, B., Grandits, G., Svendsen, K., Van Heel, N., Betz, E., Raines, J., Link, M., Stamler, J. e Et Al. Lifestyle intervention: results of the Treatment of Mild Hypertension Study (TOMHS). *Prev Med* 1995; 24: 378-388.

Empana, J.P., Ducimetiere, P., Charles, M.A. e Jouven, X. Sagittal abdominal diameter and risk of sudden death in asymptomatic middle-aged men: the Paris Prospective Study I. *Circulation* 2004; 110: 2781-2785.

Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A. e Grodsky, G.M. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003; 52: 1-8.

Flegal, K.M., Carroll, M.D., Kuczmarski, R.J. e Johnson, C.L. Overweight and obesity in the United States: prevalence and trends, 1960-1994. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 39-47.

Flegal, K.M., Carroll, M.D., Ogden, C.L. e Johnson, C.L. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *Jama* 2002; 288: 1723-1727.

Frayn, K.N., Williams, C.M. e Arner, P. Are increased plasma non-esterified fatty acid concentrations a risk marker for coronary heart disease and other chronic diseases? *Clin Sci (Lond)* 1996; 90: 243-253.

Fruhbeck, G. Pivotal role of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration. *Diabetes* 1999; 48: 903-908.

Funahashi, T., Nakamura, T., Shimomura, I., Maeda, K., Kuriyama, H., Takahashi, M., Arita, Y., Kihara, S. e Matsuzawa, Y. Role of adipocytokines on the pathogenesis of atherosclerosis in visceral obesity. *Intern Med* 1999; 38: 202-206.

Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M. e Shimomura, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114: 1752-1761.

Goldstein, B.J., Ahmad, F., Ding, W., Li, P.M. e Zhang, W.R. Regulation of the insulin signalling pathway by cellular protein-tyrosine phosphatases. *Mol Cell Biochem* 1998; 182: 91-99.

Gregg, E.W., Gerzoff, R.B., Thompson, T.J. e Williamson, D.F. Intentional weight loss and death in overweight and obese U.S. adults 35 years of age and older. *Ann Intern Med* 2003; 138: 383-389.

Gudbjornsdottir, S., Lonroth, P., Sverrisdottir, Y.B., Wallin, B.G. e Elam, M. Sympathetic nerve activity and insulin in obese normotensive and hypertensive men. *Hypertension* 1996; 27: 276-280.

Gutteridge, J.M. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.

- Hall, J.E. Pathophysiology of obesity hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2000; 2: 139-147.
- Hall, J.E., Brands, M.W., Dixon, W.N. e Smith, M.J., Jr. Obesity-induced hypertension. Renal function and systemic hemodynamics. *Hypertension* 1993; 22: 292-299.
- Hamdy, O., Ledbury, S., Mullooly, C., Jarema, C., Porter, S., Ovalle, K., Moussa, A., Caselli, A., Caballero, A.E., Economides, P.A., Veves, A. e Horton, E.S. Lifestyle modification improves endothelial function in obese subjects with the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 2003; 26: 2119-2125.
- Harangi, M., Remenyik, E.E., Seres, I., Varga, Z., Katona, E. e Paragh, G. Determination of DNA damage induced by oxidative stress in hyperlipidemic patients. *Mutat Res* 2002; 513: 17-25.
- Harris, R.B. Leptin--much more than a satiety signal. *Annu Rev Nutr* 2000; 20: 45-75.
- Haynes, W.G., Morgan, D.A., Walsh, S.A., Mark, A.L. e Sivitz, W.I. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest* 1997; 100: 270-278.
- Hirashima, O., Kawano, H., Motoyama, T., Hirai, N., Ohgushi, M., Kugiyama, K., Ogawa, H. e Yasue, H. Improvement of endothelial function and insulin sensitivity with vitamin C in patients with coronary spastic angina: possible role of reactive oxygen species. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1860-1866.

Hotta, K., Funahashi, T., Arita, Y., Takahashi, M., Matsuda, M., Okamoto, Y., Iwahashi, H., Kuriyama, H., Ouchi, N., Maeda, K., Nishida, M., Kihara, S., Sakai, N., Nakajima, T., Hasegawa, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Nakamura, T., Yamashita, S., Hanafusa, T. e Matsuzawa, Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1595-1599.

Huang, Z., Willett, W.C., Manson, J.E., Rosner, B., Stampfer, M.J., Speizer, F.E. e Colditz, G.A. Body weight, weight change, and risk for hypertension in women. *Ann Intern Med* 1998; 128: 81-88.

Hubert, H.B., Feinleib, M., Mcnamara, P.M. e Castelli, W.P. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67: 968-977.

IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Índice de Preços, *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003*.

Kahn, B.B. e Flier, J.S. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106: 473-481.

Kannel, W.B., Brand, N., Skinner, J.J., Jr., Dawber, T.R. e Mcnamara, P.M. The relation of adiposity to blood pressure and development of hypertension. The Framingham study. *Ann Intern Med* 1967; 67: 48-59.

Kaplan, N.M. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; 149: 1514-1520.

Keaney, J.F., Jr., Larson, M.G., Vasan, R.S., Wilson, P.W., Lipinska, I., Corey, D., Massaro, J.M., Sutherland, P., Vita, J.A. e Benjamin, E.J. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 434-439.

Kenchiah, S., Evans, J.C., Levy, D., Wilson, P.W., Benjamin, E.J., Larson, M.G., Kannel, W.B. e Vasan, R.S. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 305-313.

King, H., Aubert, R.E. e Herman, W.H. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414-1431.

Kopelman, P.G. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000; 404: 635-643.

Kurmar KV, DAS UN. Are Free radicals involved in the pathobiology of human a essential hypertension? *Free Radic- Res commum* 1993;19:59-66.

Kurth, T., Gaziano, J.M., Rexrode, K.M., Kase, C.S., Cook, N.R., Manson, J.E. e Buring, J.E. Prospective study of body mass index and risk of stroke in apparently healthy women. *Circulation* 2005; 111: 1992-1998.

Lamarche, B., Tchernof, A., Mauriege, P., Cantin, B., Dagenais, G.R., Lupien, P.J. e Despres, J.P. Fasting insulin and apolipoprotein B levels and low-density lipoprotein particle size as risk factors for ischemic heart disease. *Jama* 1998; 279: 1955-1961.

Lean, M.E., Han, T.S. e Seidell, J.C. Impairment of health and quality of life in people with large waist circumference. *Lancet* 1998; 351: 853-856.

Lembo, G., Vecchione, C., Fratta, L., Marino, G., Trimarco, V., D'amati, G. e Trimarco, B. Leptin induces direct vasodilation through distinct endothelial mechanisms. *Diabetes* 2000; 49: 293-297.

Lemieux, I., Pascot, A., Couillard, C., Lamarche, B., Tchernof, A., Almeras, N., Bergeron, J., Gaudet, D., Tremblay, G., Prud'homme, D., Nadeau, A. e Despres, J.P. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation* 2000; 102: 179-184.

Lemieux, S. e Despres, J.P. Metabolic complications of visceral obesity: contribution to the aetiology of type 2 diabetes and implications for prevention and treatment. *Diabete Metab* 1994; 20: 375-393.

Locatelli, F., Canaud, B., Eckardt, K.U., Stenvinkel, P., Wanner, C. e Zoccali, C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1272-1280.

Maeda, K., Okubo, K., Shimomura, I., Funahashi, T., Matsuzawa, Y. e Matsubara, K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221: 286-289.

Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F. e Turner, R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.

Mendoza-Nunez, V.M., Sanchez-Rodriguez, M.A., Retana-Ugalde, R., Vargas-Guadarrama, L.A. e Altamirano-Lozano, M.A. Total antioxidant levels, gender, and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the elderly. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 835-847.

Mertens, I.L. e Van Gaal, L.F. Overweight, obesity, and blood pressure: the effects of modest weight reduction. *Obes Res* 2000; 8: 270-278.

Miller, E.R., 3rd, Erlinger, T.P., Young, D.R., Jehn, M., Charleston, J., Rhodes, D., Wasan, S.K. e Appel, L.J. Results of the Diet, Exercise, and Weight Loss Intervention Trial (DEW-IT). *Hypertension* 2002; 40: 612-618.

Misra, A. e Garg, A. Leptin, its receptor and obesity. *J Investig Med* 1996; 44: 540-548.

Mohanty, P., Hamouda, W., Garg, R., Aljada, A., Ghanim, H. e Dandona, P. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2970-2973.

Moller, P., Knudsen, L.E., Loft, S. e Wallin, H. The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 1005-1015.

Morgan, C.R. e Lazarow, A. Immunoassay of pancreatic and plasma insulin following alloxan injection of rats. *Diabetes* 1965; 14: 669-671.

Nagaretani, H., Nakamura, T., Funahashi, T., Kotani, K., Miyanaga, M., Tokunaga, K., Takahashi, M., Nishizawa, H., Kishida, K., Kuriyama, H., Hotta, K., Yamashita, S. e Matsuzawa, Y. Visceral fat is a major contributor for multiple risk factor clustering in Japanese men with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 2001; 24: 2127-2133.

National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-3421.

National Institutes of Health. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The *Evidence Report*. *Obes Res* 1998;6:51S-209S.

Noroozi, M., Angerson, W.J. e Lean, M.E. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 1210-1218.

Olefsky, J.M. Treatment of insulin resistance with peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Clin Invest* 2000; 106: 467-472.

Olive, P.L. DNA damage and repair in individual cells: applications of the comet assay in radiobiology. *Int J Radiat Biol* 1999; 75: 395-405.

Olusi, S.O. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 1159-1164.

Ostling, O. e Johanson, K.J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123: 291-298.

Ostling, O. Bleomycin, in contrast to gamma irradiation, induces extreme variation of DNA strand breakage from cell to cell. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1987; 52: 683-691.

Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T. e Matsuzawa, Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999; 100: 2473-2476.

Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Nishida, M., Matsuyama, A., Okamoto, Y., Ishigami, M., Kuriyama, H., Kishida, K., Nishizawa, H., Hotta, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Yamashita, S., Funahashi, T. e Matsuzawa, Y. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103: 1057-1063.

Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Okamoto, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T. e Matsuzawa, Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000; 102: 1296-1301.

Ouchi, N., Kihara, S., Funahashi, T., Nakamura, T., Nishida, M., Kumada, M., Okamoto, Y., Ohashi, K., Nagaretani, H., Kishida, K., Nishizawa, H., Maeda, N., Kobayashi, H., Hiraoka, H. e Matsuzawa, Y. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003; 107: 671-674.

Panza, J.A., Quyyumi, A.A., Brush, J.E., Jr. e Epstein, S.E. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-27.

Perticone, F., Ceravolo, R., Candigliota, M., Ventura, G., Iacopino, S., Sinopoli, F. e Mattioli, P.L. Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress: protective effect of vitamin C. *Diabetes* 2001; 50: 159-165.

Raitakari, M., Ilvonen, T., Ahotupa, M., Lehtimäki, T., Harmoinen, A., Suominen, P., Elo, J., Hartiala, J. e Raitakari, O.T. Weight reduction with very-low-caloric diet and endothelial function in overweight adults: role of plasma glucose. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 124-128.

Reaven, G.M. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation* 2002; 106: 286-288.

Reaven, G.M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.

Reaven, G.M. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 1995; 75: 473-486.

Rexrode, K.M., Carey, V.J., Hennekens, C.H., Walters, E.E., Colditz, G.A., Stampfer, M.J., Willett, W.C. e Manson, J.E. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. *Jama* 1998; 280: 1843-1848.

Roberts, C.K., Vaziri, N.D. e Barnard, R.J. Effect of diet and exercise intervention on blood pressure, insulin, oxidative stress, and nitric oxide availability. *Circulation* 2002; 106: 2530-2532.

Rocchini, A.P., Moorehead, C.P., Deremer, S. e Bondie, D. Pathogenesis of weight-related changes in blood pressure in dogs. *Hypertension* 1989; 13: 922-928.

Ross, R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.

Salzano, J.V., Gunning, R.V., Mastopaulo, T.N. e Tuttle, W.W. Effect of weight loss on blood pressure. *J Am Diet Assoc* 1958; 34: 1309-1312.

Sciacqua, A., Candigliota, M., Ceravolo, R., Scozzafava, A., Sinopoli, F., Corsonello, A., Sesti, G. e Perticone, F. Weight loss in combination with physical activity improves endothelial dysfunction in human obesity. *Diabetes Care* 2003; 26: 1673-1678.

Sharma, A.M. e Grassi, G. Obesity and hypertension: cause or consequence? *J Hypertens* 2001; 19: 2125-2126.

Shek, E.W., Brands, M.W. e Hall, J.E. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension* 1998; 31: 409-414.

Shek EW, Kim PK, Hall JE. Adrenergic blockade prevents leptin-induced hypertension. *Fed Proc* 1999;13:A456.

Shulman, G.I. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106: 171-176.

Sierra-Honigmann, M.R., Nath, A.K., Murakami, C., Garcia-Cardena, G., Papapetropoulos, A., Sessa, W.C., Madge, L.A., Schechner, J.S., Schwabb, M.B., Polverini, P.J. e Flores-Riveros, J.R. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281: 1683-1686.

Singh, N.P., Mccoy, M.T., Tice, R.R. e Schneider, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988; 175: 184-191.

Sniderman, A.D. e Cianflone, K. Metabolic disruptions in the adipocyte-hepatocyte fatty acid axis as causes of HyperapoB. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19 Suppl 1: S27-33.

Squadrito, G.L. e Pryor, W.A. The formation of peroxynitrite in vivo from nitric oxide and superoxide. *Chem Biol Interact* 1995; 96: 203-206.

Stamler, J., Neaton, J.D. e Wentworth, D.N. Blood pressure (systolic and diastolic) and risk of fatal coronary heart disease. *Hypertension* 1989; 13: 12-12.

Stamler, R., Stamler, J., Riedlinger, W.F., Algera, G. e Roberts, R.H. Weight and blood pressure. Findings in hypertension screening of 1 million Americans. *Jama* 1978; 240: 1607-1610.

The Trials of Hypertension Prevention Collaborative Research Group. Effects of weight loss and sodium reduction intervention on blood pressure and hypertension incidence in overweight people with high-normal blood pressure. The Trials of Hypertension Prevention, phase II. *Arch Intern Med* 1997;157:657-667.

Trevisan, M., Browne, R., Ram, M., Muti, P., Freudenheim, J., Carosella, A.M. e Armstrong, D. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 348-356.

Tuomilehto, J., Lindstrom, J., Eriksson, J.G., Valle, T.T., Hamalainen, H., Ilanne-Parikka, P., Keinanen-Kiukaanniemi, S., Laakso, M., Louheranta, A., Rastas, M., Salminen, V. e Uusitupa, M. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344: 1343-1350.

Urakawa, H., Katsuki, A., Sumida, Y., Gabazza, E.C., Murashima, S., Morioka, K., Maruyama, N., Kitagawa, N., Tanaka, T., Hori, Y., Nakatani, K., Yano, Y. e Adachi, Y.

Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4673-4676.

Wassertheil-Smoller, S., Oberman, A., Blafox, M.D., Davis, B. e Langford, H. The Trial of Antihypertensive Interventions and Management (TAIM) Study. Final results with regard to blood pressure, cardiovascular risk, and quality of life. *Am J Hypertens* 1992; 5: 37-44.

Weyer, C., Funahashi, T., Tanaka, S., Hotta, K., Matsuzawa, Y., Pratley, R.E. e Tataranni, P.A. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1930-1935.

Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. e King, H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-1053.

Willett, W.C., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Rosner, B., Speizer, F.E. e Hennekens, C.H. Weight, weight change, and coronary heart disease in women. Risk within the 'normal' weight range. *Jama* 1995; 273: 461-465.

World Health Organization. *Global Burden of Disease Project, April 25, 2003.*

World Health Report 2002. www.who.int/peh/burden/globalestim.htm

Yanovski, S.Z. e Yanovski, J.A. Obesity. *N Engl J Med* 2002; 346: 591-602.

Yasunari, K., Maeda, K., Nakamura, M. e Yoshikawa, J. Pressure promotes angiotensin II-mediated migration of human coronary smooth muscle cells through increase in oxidative stress. *Hypertension* 2002; 39: 433-437.

Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., McQueen, M., Budaj, A., Pais, P., Varigos, J. e Lisheng, L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937-952.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)