



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO BIOMÉDICO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA CLÍNICA E EXPERIMENTAL - FISCLINEX**

Márcia Regina Simas Gonçalves Torres

**Efeitos da dieta rica em cálcio associada à restrição energética
sobre biomarcadores da função endotelial e fatores de risco
cardiovascular em indivíduos obesos**

Rio de Janeiro
2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Márcia Regina Simas Gonçalves Torres

Efeitos da dieta rica em cálcio associada à restrição energética
sobre biomarcadores da função endotelial e fatores de risco
cardiovascular em indivíduos obesos

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Fisiopatologia Clínica e Experimental da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro para
obtenção do título de Doutor em ciências

Orientador: Prof. Dr. Antonio Felipe Sanjuliani

Rio de Janeiro
2010

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

T693 Torres, Márcia Regina Simas Gonçalves.
Efeitos da dieta rica em cálcio associada à restrição energética sobre biomarcadores da função endotelial e fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos / Márcia Regina Simas Gonçalves Torres.- 2010.
xix, 167f. : il.

Orientador : Antonio Felipe Sanjuliani.
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-Graduação Fisiopatologia Clínica e Experimental.
Bibliografia: f. 117-144.

1. Cálcio na dieta - Teses. 2. Endotélio - Teses. 3. Doenças cardiovasculares - Fatores de risco - Teses. 4. Obesidade - Dietoterapia - Teses. 5. Pressão arterial - Teses. . I. Sanjuliani, Antonio Felipe. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.12-008.46-036

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

Assinatura

Data

Márcia Regina Simas Gonçalves Torres

**Efeitos da dieta rica em cálcio associada à restrição energética
sobre biomarcadores da função endotelial e fatores de risco
cardiovascular em indivíduos obesos**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Fisiopatologia Clínica e Experimental da Universidade
do Estado do Rio de Janeiro para obtenção do título de
Doutor em ciências

Aprovado em 03 de fevereiro de 2010.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Antonio Felipe Sanjuliani (Orientador)
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

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

Prof. Dr. Mario Fritsch Neves
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof^a. Dr^a. Eliane de Abreu Soares
Instituto de Nutrição Josué de Castro – UFRJ

Prof. Dr. Eduardo Vera Tibiriçá
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Rio de Janeiro
2010

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Regina e Milton,
ao meu marido, Alvaro,
e ao meu filho, Gustavo, pelo constante apoio
e incentivo ao meu crescimento profissional.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Antonio Felipe Sanjuliani, pela grande oportunidade de tê-lo como orientador no mestrado e no doutorado. Agradeço pela orientação primorosa, pelos conhecimentos transmitidos, pela confiança em mim depositada e especialmente pelo auxílio e compreensão em todos os momentos necessários.

Ao professor Emílio Antonio Francischetti e a professora Virgínia Genelhu, pelos valiosos ensinamentos que muito me auxiliaram na elaboração desta tese.

Às biólogas Maria de Lourdes Guimarães Rodrigues e Débora Cristina Torres Valença, não só pelo auxílio indispensável na realização das análises laboratoriais, como também pela amizade e companheirismo em todos os momentos.

À nutricionista Lívia de Paula Nogueira, pelo grande auxílio na realização do estudo, e pela agradável convivência ao longo de vários anos.

Às bolsistas Luana Todesco, Débora Micelli e Stéphanie de Oliveira pelo auxílio na execução deste trabalho.

À secretária Amélia Gomes, pela grande eficiência e incansável auxílio nas diversas fases do doutorado.

Às secretárias Eliane Soares e Maria de Fátima Costa de Araujo, pela constante disponibilidade em ajudar.

Ao biólogo Vagner Ismerin Lobão, que se empenhou em realizar os exames no Laboratório Central do HUPE.

AGRADECIMENTOS

Ao professor José Firmino Nogueira Neto, pelo auxílio na realização das análises laboratoriais no Laboratório de Lípidos (Lablip) da UERJ.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ, pelo apoio para execução deste trabalho.

Aos professores componentes da banca examinadora, por aceitar o convite para avaliação deste trabalho.

À nutricionista Cristina Fajardo Diestel, pela amizade, incentivo ao crescimento profissional e grande companheirismo, que muito me auxiliaram na realização do doutorado.

À minha chefe, nutricionista Denise Dutra Weiner, por sempre me apoiar, respeitar o meu trabalho e permitir o desenvolvimento desta tese de doutorado.

Às demais chefes da Nutrição, Patrícia Reis, Liv katyuska e Simone Ribas e nutricionistas do HUPE, pelo apoio e compreensão de minhas ausências durante o desenvolvimento desta pós-graduação.

Às nutricionistas Thaís Ferreira e Marcela Knibel e aos médicos Bruno Celoria e Cyro Martins pelo agradável convívio e grande troca de conhecimentos.

Aos pacientes pelo esforço, perseverança e confiança.

RESUMO

TORRES, Márcia Regina Simas Gonçalves. **Efeitos da dieta rica em cálcio associada à restrição energética sobre biomarcadores da função endotelial e fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos.** Rio de Janeiro, 2010. 186f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2010.

1. Contexto: evidências recentes sugerem que dietas ricas em cálcio auxiliam na redução do peso corporal e da obesidade abdominal; no aumento da sensibilidade à insulina; na melhora do perfil lipídico; na modulação da pressão arterial e na redução do estado inflamatório associado à obesidade.

2. Objetivo: avaliar os efeitos da dieta rica em cálcio associada à restrição energética sobre a perda ponderal, gordura corporal, obesidade abdominal, metabolismo glicídico, perfil lipídico, concentrações séricas de leptina, pressão arterial (PA), biomarcadores inflamatórios, fibrinólise, biomarcadores da função endotelial e metabolismo do cálcio em indivíduos obesos.

3. Tipo de estudo: ensaio clínico randomizado. Os participantes foram randomizados para ingerir uma dieta pobre em cálcio (DPC) (<500mg/dia; n=25) ou uma dieta rica em cálcio (DRC) (\pm 1200mg/dia; n=25), suplementada com leite em pó desnatado (60g/dia). Os 2 grupos foram orientados a seguir dieta hipocalórica (-800Kcal/dia) com níveis similares de macronutrientes, durante todo o período do estudo (16 semanas).

4. Casuística: 50 pacientes com obesidade grau 1, de ambos os sexos, com idade entre 22 e 55 anos, apresentando baixa ingestão habitual de cálcio (<500 mg/dia).

5. Local do estudo: Laboratório da Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental – Clinex. Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

6. Variáveis estudadas: peso corporal, altura, índice de massa corporal, dobras cutâneas, gordura corporal, circunferência da cintura, circunferência do quadril, relação cintura quadril, índice de conicidade, glicose, insulina, resistência à insulina (HOMA-IR), colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicerídeos, leptina, PA, proteína C

reativa, fator de necrose tumoral-alfa, inibidor do ativador do plasminogênio – 1 (PAI-1), molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), E-selectina, paratormônio (PTH), calcitriol, cálcio sérico e excreção urinária de cálcio, uréia e sódio.

7. Resultados: Após as 16 semanas de acompanhamento, o déficit energético de 800 Kcal/dia produziu redução significativa de todos os parâmetros antropométricos, da glicemia, insulina, resistência à insulina, colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos, leptina, PA e dos biomarcadores da função endotelial tanto nos participantes alocados na DRC ($p < 0,05$) quanto na DPC ($p < 0,05$). Os participantes da DRC em comparação com os da DPC, apresentaram maior redução no peso ($-5,1 \pm 0,8$ vs. $-3,8 \pm 0,6$ kg) e na gordura corporal ($-4,3 \pm 0,7$ vs. $-3,3 \pm 0,5$ kg), entretanto as diferenças observadas entre as 2 dietas não foram estatisticamente significativas. A análise das modificações nos parâmetros de adiposidade abdominal mostrou que a DRC, comparativamente com a DPC, se associou a uma redução significativamente maior na circunferência da cintura ($-7,7 \pm 0,9$ vs. $-5,4 \pm 0,6$ cm; $p = 0,04$), na relação cintura quadril ($-0,04 \pm 0,0$ vs. $-0,03 \pm 0,0$; $p = 0,009$) e no índice de conicidade ($-0,06 \pm 0,01$ vs. $-0,04 \pm 0,0$; $p = 0,003$). As reduções nos níveis de glicose, insulina, HOMA, colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos, leptina e PA sistólica, foram maiores na DRC do que na DPC, porém sem alcançar significância estatística. A redução na PA diastólica e na PA média foram significativamente maiores na DRC em comparação com a DPC: $-7,0 \pm 1,2$ vs. $-3,2 \pm 1,1$ mmHg; $p = 0,04$ e $-7,5 \pm 1,1$ vs. $-3,4 \pm 0,9$ mmHg, $p = 0,03$, respectivamente. A modificação nas concentrações séricas dos biomarcadores inflamatórios e da função endotelial e do PAI-1 foi semelhante nas duas intervenções dietéticas. Os níveis séricos de PTH e de calcitriol apresentaram reduções significativas, ao final das 16 semanas de acompanhamento, apenas nos participantes da DRC ($p < 0,05$), permanecendo praticamente inalterados na DPC. A concentração sérica e a excreção urinária de cálcio não apresentaram modificações durante o estudo nas 2 dietas. A excreção urinária de uréia e sódio, ao final do acompanhamento foi semelhante nos 2 grupos de estudo.

8. Conclusões: Os resultados do presente estudo sugerem que a dieta rica em cálcio: 1) pode potencializar os efeitos benéficos da restrição energética sobre a obesidade abdominal e os níveis de PA. 2) provavelmente não potencializa os efeitos benéficos da

restrição energética sobre o metabolismo glicídico, o perfil lipídico, o estado inflamatório, a fibrinólise e a função endotelial.

ABSTRACT

TORRES, Márcia Regina Simas Gonçalves. **Effect of a high-calcium energy-reduced diet on biomarkers of endothelial function, and cardiovascular risk factors in obese subjects.** Rio de Janeiro, 2010. 186f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2010.

1. Context: recent clinical evidence suggests that calcium-rich diets help reduce body weight and abdominal obesity; increase insulin sensitivity; enhance lipid profile; modulate blood pressure and reduces the inflammatory state associated with obesity.

2. Objective: to evaluate the effects of dietary calcium during energy restriction on weight loss, body fat, abdominal obesity, glucose metabolism, lipid profile, leptin levels, blood pressure, biomarkers of inflammation, fibrinolysis, biomarkers of endothelial function and calcium metabolism in obese subjects.

3. Type of the study: randomized clinical trial. The participants were randomized into a low calcium diet (LCD) (<500mg/day; n=25) or a high calcium diet (HCD) (\pm 1200mg/day; n=25), supplemented with nonfat powdered milk (60g/day). Both groups were instructed to follow an energy restricted diet (-800Kcal/day) with similar levels of macronutrients, throughout the study (16 weeks).

4. Casuistic: Fifty subjects with grade 1 obesity, both gender, aged 22-55 years, with stable body weight and a low habitual calcium intake (< 500 mg/day).

5. Site of the study: Laboratory of the Discipline of Clinical and Experimental Pathophysiology – Clinex. Rio de Janeiro State University.

6. Variables studied: body weight, height, body mass index, skinfold thickness, body fat, waist circumference, hip circumference, waist hip ratio, conicity index, glucose, insulin, insulin resistance (HOMA), total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, leptin, blood pressure, C reactive protein, tumor necrosis factor- α , plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1), intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1),

vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), E-selectin, parathormone, calcitriol, serum calcium, urinary excretion of calcium, urea and sodium.

7. Results: After 16 weeks of intervention, the energy deficit of 800Kcal/da reduced significantly all the anthropometric parameters, glucose, insulin, insulin resistance, total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, leptin, blood pressure and biomarkers of endothelial function in the participants of the HCD ($p<0.05$) and LCD ($p<0.05$). Subjects in HCD compared with those in LCD exhibited a greater reduction in body weight (-5.1 ± 0.8 vs -3.8 ± 0.6 kg) and fat (-4.3 ± 0.7 vs -3.3 ± 0.5 kg), however the observed differences between the 2 diets were not statistically significant. The analysis of the modifications in abdominal obesity parameters showed that HCD, when compared with LCD, was associated with a significantly higher decrease on waist circumference (-7.7 ± 0.9 vs -5.4 ± 0.6 cm; $p=0.04$), waist-to-hip ratio (-0.04 ± 0.0 vs -0.03 ± 0.0 ; $p=0.009$) and conicity index (-0.06 ± 0.01 vs -0.04 ± 0.0 ; $p=0.03$). The reductions in glucose, insulin, HOMA, total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, leptin and systolic blood pressure were higher in HCD than in LCD, although without reaching statistical significance. The reduction in diastolic and mean blood pressure were significantly higher in HCD than in LCD: -7.0 ± 1.2 vs -3.2 ± 1.1 mmHg; $p=0.04$ and -7.5 ± 1.1 vs -3.4 ± 0.9 mmHg; $p=0.03$, respectively. The changes in serum levels of the biomarkers of inflammation, biomarkers of endothelial function and PAI-1 were similar in both dietetic interventions. Serum parathormone and calcitriol levels had significant reductions, after the 16 weeks, only in the participants of HCD ($p<0.05$), remaining almost without alterations in LCD. Serum levels and urinary excretion of calcium were not altered during the study in both diets. The urinary excretion of urea and sodium, at the end of the intervention was similar in both study groups.

8. Conclusions: The findings of the present study suggest that a high calcium diet: 1) may enhance the beneficial effects of energy restriction on abdominal obesity and blood pressure levels. 2) may not enhance the beneficial effects of energy restriction on glucose metabolism, lipid profile, inflammatory state, fibrinolysis and endothelial function.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Representação esquemática do fluxo de pacientes da avaliação preliminar ao final do estudo.....72
- Figura 2.** Valores médios das variáveis antropométricas durante o estudo, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....75
- Figura 3.** Modificações percentuais ao final do estudo (a) nas variáveis do metabolismo glicídico, (b) no metabolismo lipídico e (c) nos níveis séricos de leptina, de acordo com a intervenção dietética.....77
- Figura 4.** Valores médios da (a) pressão arterial sistólica, (b) pressão arterial diastólica e (c) pressão arterial média durante o estudo, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....79
- Figura 5.** Modificações percentuais ao final do estudo nas concentrações séricas de proteína C-reativa ultra sensível (PCR-US), do fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e do inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1), de acordo com a intervenção dietética.....80
- Figura 6.** Modificações percentuais ao final do estudo nas concentrações séricas da molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), da molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e da E-selectina, de acordo com a intervenção dietética.....81

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Características iniciais dos participantes obesos, de acordo com o grupo de estudo.....71
- Tabela 2.** Ingestão alimentar diária de nutrientes com base em 12 registros alimentares, de acordo com o grupo de estudo.....73
- Tabela 3.** Valores médios das variáveis antropométricas no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....74
- Tabela 4.** Valores médios das variáveis metabólicas no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....76
- Tabela 5.** Valores médios da pressão arterial e da frequência cardíaca no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....78
- Tabela 6.** Valores médios das concentrações séricas dos biomarcadores inflamatórios e do inibidor do ativador do plasminogênio-1 no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....80
- Tabela 7.** Valores médios das concentrações séricas dos biomarcadores da função endotelial no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....81
- Tabela 8.** Valores médios do cálcio sérico, cálcio urinário, paratormônio e calcitriol no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.....82

LISTA DE TABELAS

Tabela 9. Correlações entre as modificações nas variáveis antropométricas e as variações nos níveis de pressão arterial e parâmetros metabólicos ao final do estudo (semana 16 – semana 0) (n=39).....84

Tabela 10. Correlações entre as modificações nos biomarcadores inflamatórios e as variações no perfil metabólico na pressão arterial ao final do estudo (semana 16 – semana 0) (n=39)85

Tabela 11. Correlações entre os biomarcadores da função endotelial e os parâmetros antropométricos, o perfil metabólico, a pressão arterial e os biomarcadores inflamatórios no início do estudo (semana 0) (n=39).....86

Tabela 12. Correlações entre as modificações nos biomarcadores da função endotelial e as variações no perfil metabólico, na pressão arterial e nos biomarcadores inflamatórios ao final do estudo (semana 16 – semana 0) (n=39).....87

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
[Ca²⁺]_i	Concentração intracelular de cálcio
CC	Circunferência da cintura
DASH	<i>Dietary approaches to stop hypertension</i> (medidas dietéticas para controlar a hipertensão)
DPC	Dieta pobre em cálcio
DRC	Dieta rica em cálcio
DRI	<i>Dietary reference intakes</i> (ingestão dietética de referência)
ECA	Enzima conversora da angiotensina
GLUT 4	<i>Glucose transporter protein 4</i> (proteína transportadora de glicose 4)
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	<i>High density lipoprotein</i> (lipoproteína de alta densidade)
HOMA-IR	<i>Homeostasis model assessment</i> (avaliação do modelo homeostático)
11β-HSD-1	11 β -Hidroxiesteróide desidrogenase-1
ICAM-1	<i>Intracellular adhesion molecule 1</i> (molécula de adesão intracelular 1)
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IL-15	Interleucina-15
IMC	Índice de massa corporal
LDL	<i>Low density lipoprotein</i> (lipoproteína de baixa densidade)
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein 1</i> (proteína quimioatraente para monócitos 1)
MIF	<i>Macrophage migration inhibitory factor</i> (fator de inibição da migração de macrófagos)
MSH	<i>Melanocyte-stimulating hormone</i> (hormônio estimulante do melanócito)
1,25DMARRS	<i>Membrane-associated rapid response to steroid</i> (receptor associado a membrana de resposta rápida ao esteróide)

LISTA DE ABREVIATURAS

mVDR	<i>Membrane vitamin D receptor</i> (receptores de membrana para vitamina D)
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
Nox4	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase 4
NFκB	<i>Nuclear factor κ B</i> (fator nuclear κ B)
NHANES	<i>National health and nutrition examination survey</i>
NO	Óxido nítrico
nVDR	Nuclear vitamin D receptor (receptor nuclear de vitamina D)
1,25(OH)₂D	1,25 diidroxivitamina D
PA	Pressão arterial
PAI-1	<i>Plasminogen activator inhibitor1</i> (inibidor do ativador do plasminogênio-1)
PCR	Proteína C reativa
PCR-US	Proteína C reativa – ultra sensível
PPAR	<i>Peroxisome proliferator-activated receptors</i> (receptor ativado por proliferadores de peroxissoma)
PTH	Paratormônio
ROS	Reactive oxygen species (espécies reativas de oxigênio)
Sirt1	<i>Sirtuin 1</i>
TNF-α	<i>Tumor necrosis factor – α</i> (fator de necrose tumoral- α)
UCPs	<i>Uncoupling proteins</i> (proteínas desacopladoras)
UCP2	<i>Uncoupling protein 2</i> (proteína desacopladora 2)
UCP3	<i>Uncoupling protein 3</i> (proteína desacopladora 3)
VCAM-1	<i>Vascular cell adhesion molecule 1</i> (molécula de adesão celular vascular 1)
VET	Valor energético total
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i> (lipoproteína de muito baixa densidade)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Doenças cardiovasculares e obesidade	20
1.1.1	<u>Participação das adipocinas</u>	22
1.1.2	<u>Participação da disfunção endotelial</u>	24
1.2	Ingestão de cálcio e fatores de risco cardiovascular	27
1.2.1	<u>Adiposidade corporal</u>	29
1.2.1.1	Estudos com suplementação de cálcio	30
1.2.1.2	Mecanismo de ação do cálcio sobre a adiposidade corporal	33
1.2.2	<u>Sensibilidade à insulina</u>	39
1.2.3	<u>Metabolismo lipídico</u>	41
1.2.4	<u>Pressão arterial</u>	42
1.2.5	<u>Biomarcadores inflamatórios</u>	45
2	JUSTIFICATIVA	49
3	OBJETIVOS	51
3.1	Objetivos geral	52
3.2	Objetivos específicos	52
4	CASUÍSTICA	53
4.1	Pacientes	54
4.2	CrITÉrios de incluso	54
4.3	CrITÉrios de excluso	55
5	DESENHO DO ESTUDO E PLANO DE TRABALHO	56
5.1	Desenho do estudo	57
5.2	Plano de trabalho	58
6	MÉTODOS	59
6.1	Prescrio dietética	60
6.2	Avaliao antropométrica	61
6.3	Avaliao do metabolismo glicídico	63
6.4	Avaliao do metabolismo lipídico e leptina	64
6.5	Avaliao da presso arterial e freqüência cardíaca	65

6.6	Avaliação dos biomarcadores inflamatórios	65
6.7	Avaliação da função endotelial e da fibrinólise	66
6.8	Avaliação do metabolismo do cálcio	66
6.9	Avaliação do consumo alimentar	67
6.10	Análise estatística dos dados	68
6.11	Questões éticas	69
7	RESULTADOS	70
7.1	Caracterização da população do estudo	71
7.2	Características da ingestão dietética	73
7.3	Avaliação antropométrica	74
7.4	Avaliação do metabolismo glicídico, lipídico e leptina	76
7.5	Avaliação da pressão arterial e freqüência cardíaca	78
7.6	Avaliação dos biomarcadores inflamatórios e da fibrinólise	79
7.7	Avaliação da função endotelial	80
7.8	Avaliação do metabolismo do cálcio	82
7.9	Avaliação da excreção urinária de uréia e sódio	83
7.10	Associações entre as modificações nos parâmetros antropométricos e as variações no perfil metabólico, na pressão arterial e nos biomarcadores inflamatórios e da função endotelial	83
7.11	Associações entre as modificações nos biomarcadores inflamatórios e nas variáveis metabólicas e na pressão arterial	84
7.12	Associações entre os biomarcadores da função endotelial e as variáveis antropométricas, o perfil metabólico, os biomarcadores inflamatórios e a pressão arterial	85
8	DISCUSSÃO	88
8.1	Avaliação antropométrica	89
8.2	Metabolismo glicídico, lipídico e leptina	93
8.3	Pressão arterial	96
8.4	Biomarcadores inflamatórios	96
8.5	Avaliação da fibrinólise	103
8.6	Avaliação da função endotelial	104

8.7	Metabolismo do cálcio	108
8.8	Excreção urinária de uréia e sódio	108
8.9	Componentes bioativos adicionais dos laticínios	109
8.10	Considerações finais	113
9	CONCLUSÕES	114
	REFERÊNCIAS	116
	ANEXOS	145

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças cardiovasculares e obesidade

As doenças cardiovasculares permanecem como a principal causa de morte em nações industrializadas, apesar dos avanços no diagnóstico, tratamento e prevenção que ocorreram nos últimos 50 anos (Lau *et al.*, 2005; Sanz & Fayad, 2008). A aterosclerose é a condição patológica subjacente a vários eventos cardiovasculares adversos importantes, incluindo a doença arterial coronariana, o acidente vascular encefálico e a doença arterial periférica sendo, portanto, responsável pela maior parte da morbidade e mortalidade no mundo ocidental atualmente (Libby, 2002; Kharbanda & MacAllister, 2005; Tedgui & Mallat, 2006).

Existem evidências suficientes comprovando a importância da obesidade na patogênese e progressão das doenças cardiovasculares (Lavie *et al.*, 2009). O *Framingham Heart Study* foi o primeiro estudo epidemiológico a demonstrar que a obesidade está relacionada de forma causal com as doenças cardiovasculares (Hubert *et al.*, 1983). Posteriormente, outros estudos prospectivos observaram que a obesidade global e/ou abdominal é um preditor bem estabelecido e importante para as doenças cardiovasculares e mortalidade na população em geral (Rimm *et al.*, 1995; Willett *et al.*, 1995; Huang *et al.*, 1997; Poirer *et al.*, 2006, Koning *et al.*, 2007; Canoy, 2008; Pischon *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2008; Fox *et al.*, 2009). A obesidade abdominal apresentou maior capacidade preditora de desenvolvimento de fatores de risco cardiovascular, doenças cardiovasculares ou mortalidade global em comparação com a obesidade global em vários estudos (Dalton *et al.*, 2003; Yusuf *et al.*, 2005; Canoy *et al.*, 2007; Simpson *et al.*, 2007; Fox *et al.*, 2009).

A prevalência de obesidade está aumentando de forma expressiva em todo o mundo tanto em crianças quanto em adultos de diferentes grupos sócio-econômicos, alcançando proporções epidêmicas (WHO, 2003). Dados do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) mostram que a prevalência de obesidade

(índice de massa corporal [IMC] $\geq 30\text{kg}/\text{m}^2$) nos Estados Unidos, em adultos com idade entre 20 – 74 anos, aumentou de 15% (1976-1980) para 34 % (2005-2006) (CDC, 2009). Tendências similares foram observadas na Europa, onde a prevalência de obesidade triplicou em muitos países desde a década de 1980 (WHO/Europe, 2009). Atualmente, 13,1% das mulheres e 8,9% dos homens adultos brasileiros são obesos e a prevalência de sobrepeso (IMC $\geq 25\text{kg}/\text{m}^2$) atinge uma proporção considerável de mulheres (40%) e homens (41,1%) adultos (IBGE, 2002-2003).

Evidências recentes indicam que a obesidade está associada com maior morbidade do que o tabagismo, alcoolismo e pobreza, e se as tendências atuais continuarem a obesidade pode, em breve, ultrapassar o tabagismo como a principal causa de mortes preveníveis nos Estados Unidos (Lavie & Milani, 2003; Sturm & Well, 2001).

A obesidade predispõe às doenças cardiovasculares, pois está associada com o desenvolvimento de uma série de fatores de risco para estas doenças, tais como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia e estado pró-inflamatório que contribuem para criar um ambiente favorável ao desenvolvimento da aterosclerose (Lau *et al.*, 2005; Mathieu *et al.*, 2009).

1.1.1 Participação das adipocinas

O tecido adiposo que já foi considerado um reservatório inerte de energia, atualmente, é reconhecido como um órgão complexo que participa ativamente na patogênese das complicações da obesidade (Mathieu *et al.*, 2009). O tecido adiposo, em realidade, é um órgão endócrino ativo que libera uma grande quantidade de substâncias bioativas, denominados de adipocinas, que atuam local ou distalmente através de efeitos autócrinos, parácrinos e endócrinos, influenciando não apenas a homeostase do peso corporal, mas também a inflamação, sensibilidade à insulina, metabolismo lipídico, coagulação, fibrinólise, pressão arterial (PA) e aterogênese (Lau

et al., 2005; Fantuzzi, 2005; Lavie *et al.*, 2009; Mathieu *et al.*, 2009; Maury & Brichard, 2009; Ronti *et al.*, 2006).

Várias adipocinas sintetizadas pelo tecido adiposo apresentam atividade pró-inflamatória, como por exemplo, o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1), angiotensinogênio, leptina e resistina (Tedgui & Mallat, 2006; Lau *et al.*, 2005). Por outro lado, uma outra adipocina, a adiponectina, confere proteção contra a inflamação e a resistência à insulina, relacionadas com o excesso de peso corporal (Lau *et al.*, 2005).

Na obesidade, ocorre um aumento na produção das adipocinas pró-inflamatórias e redução na produção de adiponectina pelo tecido adiposo, levando a um estado de inflamação de baixo grau característico da obesidade (Ronti *et al.*, 2006; Tedgui & Mallat, 2006). De fato, biomarcadores inflamatórios, tais como proteína C reativa (PCR), IL-6, TNF- α e a proteína quimioatraente para monócitos-1 (MCP-1), estão aumentados em indivíduos obesos em comparação com indivíduos magros, entretanto não na mesma extensão observada em condições inflamatórias clássicas (Galic *et al.*, 2009; Yudkin *et al.*, 1999; Festa *et al.*, 2001; Bermudez *et al.*, 2002; Rexrode *et al.*, 2003; Forouhi *et al.*, 2001; Pannacciulli *et al.*, 2001; Lemieux *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2005; Saijo *et al.*, 2004; Mohamed-Ali *et al.*, 1997). A perda ponderal está associada com uma redução nos níveis séricos da maioria das adipocinas com exceção da adiponectina, que aumenta (Wajchenberg, 2000; Yamamoto *et al.*, 2002).

Os adipócitos não são a principal fonte de citocinas inflamatórias secretadas pelo tecido adiposo. Células não adiposas, que constituem a fração estroma vascular, incluindo pré-adipócitos, células endoteliais, fibroblastos, leucócitos e macrófagos parecem ser as responsáveis pela resposta inflamatória crônica observada na obesidade (Weisberg *et al.*, 2003). A expansão do tecido adiposo, em obesos, leva ao aumento na infiltração de macrófagos e conseqüente aumento na expressão de citocinas inflamatórias (Lumeng *et al.*, 2007). Os mecanismos celulares responsáveis por este recrutamento de macrófagos permanecem desconhecidos, porém foi sugerido que a produção desregulada de adipocinas e aumento no tamanho do adipócito devem contribuir para este fenômeno em um *cross-talk* entre adipócitos e macrófagos (Neels & Olefsky, 2006).

Recentemente, foi demonstrado que tanto o tecido adiposo visceral quanto o subcutâneo estão associados com a presença de marcadores inflamatórios (Pou *et al.*, 2007). Entretanto, outros estudos demonstraram que os níveis de PCR estão marcadamente aumentados em indivíduos com obesidade abdominal, particularmente nos indivíduos com excesso específico de tecido adiposo visceral (Despres & Lemieux, 2006).

As modificações na liberação das adipocinas e o “estado inflamatório de baixo grau” associados à obesidade favorecem o desenvolvimento da aterosclerose, podendo ser o elo de ligação entre obesidade e doenças cardiovasculares, pois podem induzir: (1) resistência à insulina, (2) alterações no metabolismo lipídico, (3) elevação nos níveis de PA, (4) alterações no sistema de coagulação e (5) disfunção endotelial (Pou *et al.*, 2007; Ronti *et al.*, 2006). Estudos prospectivos demonstraram que a elevação nas concentrações séricas de PCR, IL-6 e TNF- α está associada com aumento no risco de desenvolvimento das doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (Schmidt *et al.*, 1999; Ridker *et al.*, 2000a; Pradhan *et al.*, 2001; Festa *et al.*, 2002; Duncan *et al.*, 2003; Ridker *et al.*, 2005; Fantuzzi, 2005; Everett *et al.*, 2006).

1.1.2 Participação da disfunção endotelial

A aterosclerose é, atualmente, reconhecida como um processo “inflamatório” da parede arterial que se inicia com a disfunção endotelial (Lau *et al.*, 2005; Ronti *et al.*, 2006). A disfunção endotelial é, portanto, um evento inicial precoce na aterogênese, precedendo as evidências angiográficas e ultrassonográficas da placa de ateroma, sendo considerada um preditor de doença cardiovascular (Davignon & Ganz, 2004; Vanhoutte, 2009).

O endotélio consiste em uma camada única e contínua de células que separa o sangue da parede vascular, sendo o principal regulador da homeostase vascular (Bahia *et al.*, 2006; Widlansky *et al.*, 2003; Simionescu, 2007). Este controle da homeostase ocorre porque o endotélio é sensível a uma série de estímulos físicos e químicos, e em

resposta a estes estímulos libera uma grande variedade de fatores que regulam o tônus vascular, a inflamação na parede vascular, a adesão celular, a proliferação das células musculares lisas vasculares e a trombose (Widlansky *et al.*, 2003; Deanfield *et al.*, 2007; Vogel, 2008; Yang & Ming, 2006). Sob condições homeostáticas, o endotélio mantém o tônus vascular normal e a fluidez do sangue, existindo pequena ou nenhuma expressão de fatores pró-inflamatórios. (Widlansky *et al.*, 2003).

Dentre as substâncias liberadas pelo endotélio, o óxido nítrico (NO) desempenha um importante papel anti-aterogênico (Lau *et al.*, 2005; Vogel, 2008). Na fisiologia vascular normal, o NO desempenha um papel principal na manutenção da homeostase da parede vascular prevenindo a aterosclerose por apresentar propriedades: 1) antiinflamatória - inibe a expressão de moléculas de adesão, evitando a adesão e penetração de macrófagos, 2) antimitogênica – inibe a proliferação das células musculares lisas, e 3) antitrombótica – inibe a agregação plaquetária (Deanfield *et al.*, 2007; Vogel, 2008; Vanhoutte, 2009; Davignon e Ganz, 2004). Portanto, o NO desempenha um papel chave na função protetora que o endotélio exerce contra as doenças cardiovasculares (Vanhoutte, 2009).

Exposições prolongadas e/ou repetidas a fatores de risco cardiovascular podem resultar em lesão física ou bioquímica do endotélio, prejudicando a produção e/ou função dos mediadores vaso protetores derivados do endotélio, tais como o NO. (Yang & Ming, 2006; Vanhoutte, 2009). Os fatores de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, incluindo tabagismo, idade, hipercolesterolemia, hipertensão, hiperglicemia, história familiar de doença aterosclerótica prematura, obesidade e inflamação sistêmica crônica estão associados com alterações na função endotelial (Hadi *et al.*, 2005).

A lesão endotelial resulta em um processo inflamatório crônico, caracterizado pela expressão de fatores quimiotáticos para leucócitos, moléculas de adesão e citocinas inflamatórias. Este processo inflamatório é acompanhado pelo aumento na contração vascular em resposta a vasoconstrictores como endotelina-1 e troboxanos, aumento na formação de trombos e proliferação e migração exacerbadas das células musculares lisas (Widlansky *et al.*, 2003; Yang & Ming, 2006; Vanhoutte, 2009).

O processo inflamatório na disfunção endotelial é caracterizado pela síntese e secreção de citocinas tais como interleucinas, TNF- α , fator de crescimento endotelial vascular e a expressão de moléculas de adesão celular: molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), E- e P-selectina e quimiocinas, tais como a MCP-1 (Sima *et al.*, 2009). A liberação destas substâncias leva ao rolamento, adesão e transmigração de leucócitos para o espaço subendotelial, onde são liberados TNF- α , IL-6 e outras citocinas, resultando em recrutamento de células circulantes adicionais e perpetuação da resposta inflamatória. A adesão dos leucócitos, principalmente monócitos ao endotélio é mediada pela ICAM-1 e VCAM-1. A expressão da P- e E-selectinas, estão envolvidas no recrutamento e rolamento de leucócitos. A MCP-1 promove a transmigração, e as integrinas participam da subsequente adesão à íntima, onde os leucócitos transformam-se em macrófagos. A fagocitose das partículas de lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada pelos macrófagos leva a formação das células espumosas e desenvolvimento das estrias lipídicas, assim como a proliferação de células musculares lisas, levando a formação das placas de ateroma. Portanto, a disfunção endotelial é uma característica proeminente em vários estágios da aterogênese, do desenvolvimento das estrias lipídicas subclínicas precoces a placa de ateroma, até a vulnerabilidade e ruptura da placa, vasoespasmo, formação do trombo, e eventualmente oclusão do vaso e ocorrência de um evento cardiovascular (Deanfield *et al.*, 2005; Lau *et al.*, 2005; Ronti *et al.*, 2006).

Sinais intracelulares desempenham um importante papel na disfunção endotelial. O fator nuclear κ B (NF κ B) é um dos mecanismos mais importantes de ativação endotelial. Ele e outros fatores de transcrição podem ser ativados por citocinas inflamatórias, *shear stress* (força de cisalhamento), hiperglicemia, estresse oxidativo, etc. O NF κ B pode regular a expressão de genes que codificam citocinas, moléculas de adesão celular, proteínas de fase aguda, etc; favorecendo o desenvolvimento da aterosclerose (Palomo *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, a avaliação da função endotelial se transformou em uma ferramenta útil na investigação da aterosclerose. Estudos recentes demonstraram que a severidade da disfunção endotelial se relaciona com o risco de evento cardiovascular

(Widlansky *et al.*, 2003). Conforme mencionado anteriormente, a lesão das células endoteliais resulta em aumento na expressão de citocinas inflamatórias e moléculas de adesão celular que favorecem o desenvolvimento da aterosclerose. Uma das formas disponíveis para avaliar a função endotelial é através de moléculas bem caracterizadas que podem ser mensuradas na circulação com imunoensaios comerciais, incluindo E-selectina, VCAM-1, ICAM-1 e P-selectina (Ridker *et al.*, 2004; Rifai & Ridker, 2002; Blake & Ridker, 2001; Barac *et al.*, 2007). As concentrações destas moléculas aumentam em associação com fatores de risco cardiovascular, e foram associadas com medidas estruturais e funcionais de doença aterosclerótica, assim como com prognóstico cardiovascular adverso (Hwang *et al.*, 1997; Ridker *et al.*, 1998; Blankenberg *et al.*, 2001; Brevetti *et al.*, 2006). De forma similar, as conseqüências pró-coagulantes da disfunção endotelial podem ser avaliadas através de modificações no equilíbrio entre o ativador do plasminogênio e seu inibidor endógeno, o PAI-1 (Vaughan, 2005).

As concentrações séricas das moléculas de adesão celular são mais elevadas em obesos do que em não obesos, apresentando correlação positiva com parâmetros de adiposidade (Ziccardi *et al.*, 2002; Miller & Cappuccio, 2006; Mora *et al.*, 2006). A perda ponderal está associada com redução nos níveis circulantes destas moléculas (Ziccardi *et al.*, 2002; Plat *et al.*, 2007; Clifton *et al.*, 2005; Keogh *et al.*, 2008).

1.2 Ingestão de cálcio e fatores de risco cardiovascular

A crescente prevalência de obesidade, aliada a sua forte associação com as doenças cardiovasculares, estimulou um grande interesse na identificação de medidas que possam auxiliar na prevenção do aumento do peso corporal ou na habilidade de se induzir perda ponderal. Estudos realizados na última década sugerem que o consumo de cálcio dietético (e/ou laticínios) possa auxiliar no controle do peso corporal, apresentando significativo efeito “antiobesidade” (Zemel, 2002; Zemel, 2005; Barba &

Russo, 2006), podendo contribuir de forma indireta para o controle de diferentes fatores de risco cardiovascular.

Já foi demonstrado que dietas ricas em cálcio também podem atuar diretamente sobre alguns fatores de risco cardiovascular associados à obesidade, como por exemplo, auxiliando no aumento da sensibilidade à insulina (Ma *et al.*, 2006; Pittas *et al.*, 2006, Choi *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 1997; Pittas *et al.*, 2007a), na melhora do perfil lipídico, (Reid *et al.*, 2002; Jacqmain *et al.*, 2003; Ditscheid *et al.*, 2005; Major *et al.*, 2007), na modulação da PA (Wang *et al.*, 2008; Snijder *et al.*, 2007; Ruidavets *et al.*, 2006; Townsend *et al.*, 2005; Jorde & Bona, 2000; vanMierlo *et al.*, 2006; Griffith *et al.*, 1999), e na inibição do estresse inflamatório (Sun & Zemel, 2007a; Sun & Zemel, 2008; Zemel & Sun, 2008a; Zemel *et al.*, 2009).

O papel potencial do cálcio (e/ou laticínios) sobre diferentes fatores de risco para doença cardiovascular também pode ser fundamentado por alguns estudos indicando que a elevada ingestão de leite e/ou laticínios (principais fontes de cálcio na dieta) está associada com redução no risco relativo de doenças cardiovasculares (Elwood *et al.*, 2008; Elwood *et al.*, 2007; Elwood *et al.*, 2004; Elwood *et al.*, 2005).

Em uma meta-análise recente (Elwood *et al.*, 2008), foi observado que o risco relativo de acidente vascular encefálico e de doença coronariana nos indivíduos com elevada ingestão de leite e laticínios foi de 0,84 (IC 95% 0,76-0,93) e 0,79 (IC95% 0,75-0,82) respectivamente, em comparação com indivíduos apresentando baixo consumo. Em 2004, Elwood e colaboradores publicaram outra meta-análise indicando que a ingestão de leite pode estar associada com uma pequena, porém significativa redução no risco de doença coronariana e acidente vascular encefálico. Outro estudo demonstrou que tanto o consumo de leite como de laticínios se associam com menor prevalência de síndrome metabólica (Elwood *et al.*, 2007).

É importante ressaltar que apesar de alguns laticínios apresentarem um teor considerável de ácidos graxos saturados, o consumo destes alimentos não apresenta associação consistente com risco aumentado de doenças cardiovasculares (German *et al.*, 2009), pelo contrário, como foi abordado nos parágrafos anteriores o consumo destes alimentos parece sim reduzir o risco de eventos cardiovasculares. Portanto, os

prováveis benefícios da ingestão dos laticínios poderiam ser atribuídos aos seus demais componentes, como por exemplo, o cálcio.

1.2.1 Adiposidade corporal

O interesse pelo papel do cálcio no controle do peso corporal foi inicialmente estimulado por uma série de estudos populacionais transversais ou prospectivos, realizados em áreas geograficamente distintas que identificaram associação inversa entre cálcio dietético (e/ou laticínios) e parâmetros de adiposidade, mesmo após ajustes para fatores de confundimento (Parikh & Yanovski, 2003). Estes estudos incluem: NHANES I (Zemel, 2004), NHANES III (Zemel *et al.*, 2000; Barr *et al.*, 2004), NHANES 1999-00 (Albertson *et al.*, 2004), *the Quebec Family Study* (Jacqmain *et al.*, 2003; Drapeau *et al.*, 2004), *the Continuing Survey of Food Intake by Individuals* (CSFII, 1994-96) (Albertson *et al.*, 2003; Albertson *et al.*, 2004), *the CARDIA Study* (Pereira *et al.*, 2002), *the HERITAGE Family Study* (Loss *et al.*, 2004), *the Australian National Survey Confidential Unit Record File* (Soares *et al.*, 2004), *the Tehran Lipid and Glucose Study* (Mirmiran *et al.*, 2005), *the Bell Institute of Health and Nutrition Dietary Intake Study* 1998-00 (Albertson *et al.*, 2004), *the Portuguese Health Interview Survey* (Marques-Vidal *et al.*, 2006) e *the Israeli National Health and Nutrition Study* (Dicker *et al.*, 2008).

Loss e colaboradores (2004) analisaram os dados do *the HERITAGE Family Study*, incluindo 362 homens (109 negros e 253 brancos) e 462 mulheres (201 negras e 261 brancas). Foram encontradas associações inversas entre ingestão de cálcio e parâmetros de adiposidade. Estas associações foram mais consistentes em homens negros e mulheres brancas. Após ajustes para ingestão de energia, os homens negros no maior tercil de ingestão de cálcio em comparação com os do menor tercil apresentavam IMC, percentual de gordura corporal, gordura abdominal (total, visceral e subcutânea) e circunferência da cintura (CC) significativamente menores. Em mulheres brancas, análises de regressão mostraram associações inversas significativas entre

ingestão de cálcio e IMC, percentual de gordura corporal e gordura abdominal (total, visceral e subcutânea).

A relação entre a ingestão de cálcio e a composição corporal em adultos (235 homens e 235 mulheres) que participaram da fase 2 do *The Quebec Family Study* foi examinada por Jacqmain e colaboradores (2003). Nas mulheres, o peso corporal, o percentual de gordura corporal, a gordura corporal, o IMC, a CC e a área total de tecido adiposo abdominal foram significativamente maiores no grupo com menor ingestão de cálcio, mesmo após ajustes para variáveis de confusão. Os dados de 248 voluntários do *the Quebec Family Study*, avaliados em duas ocasiões (visita 1: 1989-1994; visita 2: 1995-2000), revelaram que elevações no consumo de leite desnatado ou semidesnatado se correlacionaram de forma negativa com as modificações no peso corporal (Drapeau *et al.*, 2004).

Outros estudos observacionais transversais e prospectivos realizados com um número menor de participantes também observaram correlação inversa entre obesidade geral ou abdominal e ingestão de cálcio proveniente de laticínios em adultos e idosos (após ajustes para ingestão de energia) (Lin *et al.*, 2000; Buchowski *et al.*, 2002; Rosell *et al.*, 2004; Ilich & Brownbill, 2004; Heiss *et al.*, 2008).

1.2.1.1 Estudos com suplementação de cálcio

Apesar das evidências epidemiológicas sugerirem uma forte associação inversa entre ingestão de cálcio dietético (e/ou laticínios) e peso corporal, existem poucas evidências de que a suplementação de cálcio auxilia na redução do peso corporal e/ou adiposidade. O número de estudos publicados utilizando a suplementação de cálcio como uma variável e avaliando o peso corporal como desfecho é pequeno e seus resultados são divergentes (Zemel *et al.*, 2004a; Zemel *et al.*, 2004b; Harvey-Berino *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005; Wyatt *et al.*, 2008)

Um fator que certamente contribui para os resultados divergentes é a falta de uniformidade nos desenhos destes estudos com suplementação de cálcio. Por

exemplo, a forma de suplementação do cálcio em alguns estudos é o cálcio não dietético, normalmente carbonato ou citrato de cálcio (Shapses *et al.*, 2004; Reid *et al.*, 2005; Caan *et al.*, 2007), enquanto em outros estudos se utiliza a suplementação de cálcio dietético (proveniente de laticínios) (Harvey-Berino *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005; Gunther *et al.*, 2005a; Bowen *et al.*, 2005; Zemel *et al.*, 2005a; Zemel *et al.*, 2005b; Eagan *et al.*, 2006; Shahar *et al.*, 2007). Outra diferença entre os estudos é em relação à ingestão energética, alguns estudos foram realizados com déficit calórico, objetivando induzir a perda ponderal nos pacientes recebendo ou não a suplementação de cálcio (Zemel *et al.*, 2004a; Zemel *et al.*, 2004b; Shapses *et al.*, 2004; Bowen *et al.*, 2005; Zemel *et al.*, 2005b; Harvey-Berino *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005), enquanto outros não restringiram a ingestão energética (Gunther *et al.*, 2005a; Reid *et al.*, 2005; Eagan *et al.*, 2006; Caan *et al.*, 2007).

A ingestão habitual elevada de cálcio foi utilizada apenas em alguns estudos como critério de exclusão, sendo excluídos pacientes com ingestão habitual superior a 500, 600 ou 800mg cálcio/dia (Zemel *et al.*, 2004a; Harvey-Berino *et al.*, 2005; Gunther *et al.*, 2005a; Eagan *et al.*, 2006; Zemel *et al.*, 2005a).

Estudos com restrição energética

Nos ensaios clínicos randomizados com suplementação de cálcio durante restrição energética em indivíduos obesos ou com sobrepeso, os resultados são divergentes. Alguns estudos mostram que a suplementação de cálcio (e/ou laticínios) é capaz de potencializar os efeitos da restrição calórica sobre a perda ponderal e/ou adiposidade global e abdominal (Zemel *et al.*, 2004a; Zemel *et al.*, 2004b; Zemel *et al.*, 2005a; Zemel *et al.*, 2005b), enquanto outros não mostram efeitos benéficos (Shapses *et al.*, 2004; Harvey-Berino *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005; Bowen *et al.*, 2005; Wagner *et al.*, 2007)

Zemel e colaboradores (2004a) realizaram um estudo randomizado e controlado com placebo envolvendo 32 adultos obesos. Os pacientes foram mantidos durante 24 semanas em uma dieta balanceada com déficit energético (-500 Kcal/dia) e randomizados para receber a dieta controle (400 - 500 mg cálcio dietético/dia,

suplementada com placebo), dieta rica em cálcio (dieta controle suplementada com 800mg cálcio/dia), ou dieta rica em laticínios (1200 - 1300 mg cálcio/dia suplementada com placebo). Todos os participantes perderam peso e gordura corporal devido ao déficit energético de 500 Kcal/dia. Entretanto, tanto a perda de peso como de gordura corporal foram significativamente maiores na dieta rica em laticínios, com efeitos intermediários, porém ainda significativos na dieta rica em cálcio em comparação com a dieta controle. Os participantes alocados na dieta rica em laticínios e na dieta rica em cálcio apresentaram perda ponderal, respectivamente 70% e 26% maior do que os participantes alocados na dieta controle.

Zemel e colaboradores (2004b) realizaram um estudo muito semelhante ao anterior, utilizando dieta controle, dieta rica em cálcio e dieta rica em laticínios em 105 indivíduos, submetidos à restrição energética, durante 12 semanas. Neste estudo a dieta rica em cálcio não apresentou benefícios sobre a controle, porém a rica em laticínios resultou em reduções cerca de 2 vezes maiores na perda de gordura corporal total, perda de gordura no tronco e CC.

Shapses e colaboradores (2004), avaliaram os efeitos da suplementação de cálcio não dietético (1g/dia) em 100 mulheres pré e pós menopausa submetidas à dieta com moderada restrição energética durante 25 semanas e não encontraram efeito significativo sobre a perda de peso ou tecido adiposo. Outros 2 estudos (Harvey-Berino *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005) avaliaram os efeitos da suplementação de cálcio proveniente de laticínios em indivíduos com sobrepeso ou obesidade submetidos a déficit calórico de -500 kcal/dia, e não encontraram benefícios sobre o peso ou gordura corporal.

É importante ressaltar que três importantes elementos estavam presentes nos estudos que demonstraram efeito favorável do consumo de cálcio (e/ou laticínios) sobre o peso corporal. Primeiro, todos os indivíduos participantes destes estudos apresentavam sobrepeso ou obesidade. Segundo, a ingestão de cálcio dos indivíduos era habitualmente inadequada (<600 mg/dia) e um grupo controle apropriado (<600 mg/dia) foi usado nos estudos. Terceiro, um déficit calórico moderado (-500Kcal/dia) foi mantido durante todo o estudo (Van Loan, 2009).

Estudos sem restrição energética

Alguns estudos avaliando os efeitos da suplementação de cálcio dietético, associada à dieta sem restrição energética, sobre o peso ou adiposidade corporal mostram efeitos benéficos do cálcio (Zemel *et al.*, 2005a; Eagan *et al.*, 2006; Cann *et al.*, 2007), enquanto outros não mostram benefícios (Barr, 2003; Gunther *et al.*, 2005a).

Zemel e colaboradores (2005a) observaram que uma dieta normocalórica incluindo 3 porções de laticínios por dia resultou em redução significativa na gordura corporal total e na gordura do tronco, além de induzir um aumento na massa corporal magra, enquanto não houveram modificações significativas no grupo com baixa ingestão de laticínios.

Recentemente, Zemel e colaboradores (2008) avaliaram os efeitos de uma dieta rica versus uma dieta pobre em laticínios na manutenção do peso corporal após um programa para perda ponderal. Os autores não observaram diferenças em relação ao peso corporal, IMC ou adiposidade corporal entre os 2 grupos, apesar do grupo com elevada ingestão de laticínios ter apresentado maior ingestão energética que o outro grupo.

1.2.1.2 Mecanismo de ação do cálcio sobre a adiposidade corporal

O mecanismo de ação preciso do cálcio sobre a adiposidade corporal ainda não foi estabelecido. Entretanto, existem alguns mecanismos propostos como a sinalização do cálcio intracelular em adipócitos e a redução na absorção de lipídios no trato gastrointestinal.

Sinalização do cálcio

A concentração intracelular de cálcio ($[Ca^{2+}]_i$) de qualquer célula é extremamente baixa ($\leq 10^{-7}M$), enquanto a concentração do cálcio livre no fluido extracelular é elevada

($\sim 10^{-3}\text{M}$). A concentração do cálcio citosólico livre é fundamental para o controle: (1) da permeabilidade da membrana celular, (2) de várias de reações enzimáticas, (3) da secreção de hormônios endócrinos e (4) da regulação das contrações dos músculos cardíacos e esqueléticos. A baixa $[\text{Ca}^{2+}]_i$ é mantida pela constante saída de cálcio através da cálcio-magnésio ATPase e do mecanismo de troca sódio-cálcio (Alberts *et al.*, 1994 e Rizzoli & Bonjour, 1991, apud Major *et al.*, 2008).

Os dois hormônios que regulam a homeostase do cálcio, o calcitriol (1,25 diidroxivitamina D (1,25(OH)₂D)) e o paratormônio (PTH), controlam de forma precisa as concentrações intracelulares e extracelulares de cálcio. Eles controlam a $[\text{Ca}^{2+}]_i$, estimulando a rápida elevação na $[\text{Ca}^{2+}]_i$ em culturas de adipócitos humanos (Xue *et al.*, 2001; Zemel *et al.*, 2000; Shi *et al.*, 2001). Da mesma forma, a supressão destes hormônios reduz a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (Zemel, 2005). A estimulação do influxo de cálcio mediada pelo calcitriol é um evento rápido que não é mediado pelo receptor nuclear clássico da vitamina D, porém sim por um receptor de membrana para a vitamina D (mVDR), que posteriormente foi identificado como o receptor associado à membrana de resposta rápida ao esteróide (1,25D₃ MARRS) (Zemel & Sun, 2008b). O calcitriol modula a concentração intracelular de cálcio não só nos adipócitos, como em numerosos tipos celulares (Xiaoyu *et al.*, 2007; Picotto, 2001; Capiati *et al.*, 2000; Koster *et al.*, 1995; Gascon-Barre *et al.*, 1994).

Quando há baixa ingestão de cálcio dietético, o cálcio sérico é reduzido, e esta redução estimula a liberação de PTH que ativa a 1 α -hidroxilase renal convertendo a 25 hidroxivitamina D no metabólito ativo 1,25(OH)₂D (calcitriol). O PTH e o calcitriol atuam de forma coordenada sobre o intestino, rins e ossos para aumentar os níveis de cálcio sérico (Teegarden, 2005). A suplementação de cálcio em humanos tem demonstrado causar supressão significativa do PTH intacto, 1,25(OH)₂D e da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ em eritrócitos e plaquetas (Petrov & Lijnen, 1999). Portanto, dietas pobres em cálcio por estimular a elevação dos níveis desses hormônios irão aumentar a $[\text{Ca}^{2+}]_i$, enquanto dietas ricas em cálcio irão suprimir esses hormônios, evitando a elevação na $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (Zemel, 2004).

A alteração na $[\text{Ca}^{2+}]_i$ induzida pelo teor de cálcio na dieta é um mecanismo convincente para o efeito do cálcio dietético na modulação da adiposidade como foi sugerido pelos estudos de Zemel e seu grupo sobre a ação do gene *agouti*, um dos

primeiros genes da obesidade a ser clonado, e que é expresso nos adipócitos humanos, regulando seu metabolismo (Zemel, 2004).

A proteína *agouti* estimula o influxo de cálcio (Kim *et al.*, 1997; Zemel *et al.*, 1995), aumentando a $[Ca^{2+}]_i$ e promovendo o armazenamento de energia em adipócitos humanos pela estimulação coordenada da expressão e da atividade da ácido graxo sintase, uma enzima chave na lipogênese; e pela inibição da lipólise de forma cálcio-dependente (Jones *et al.*, 1996; Xue *et al.*, 1998). A inibição da lipólise mediada pela $[Ca^{2+}]_i$ é mediada pela ativação direta da fosfodiesterase 3B, resultando em redução no AMPc e conseqüentemente diminuição da ativação da lipase hormônio sensível (Major *et al.*, 2008). Essas ações do *agouti* sobre o metabolismo lipídico foram inteiramente reproduzidas por agonistas de canal de cálcio e inibidas por antagonistas de canal de cálcio (Jones *et al.*, 1996; Xue *et al.*, 1998). Portanto, esses estudos demonstram um papel chave para a $[Ca^{2+}]_i$ na regulação do metabolismo do adipócito humano, resultando na modulação das reservas de triglicerídeos nestas células (Zemel *et al.*, 2000; Zemel, 2001; Zemel, 2002). Existem evidências que estão de acordo com este modelo, como por exemplo, a $[Ca^{2+}]_i$ nos adipócitos de indivíduos obesos é mais elevada do que nos adipócitos de indivíduos magros pareados por sexo e idade (Draznin *et al.*, 1988).

Para sustentar o conceito de que os hormônios calcitroíficos (PTH e calcitriol) atuam sobre o metabolismo lipídico no adipócito, já foi demonstrado que o tratamento com calcitriol em adipócitos humanos resulta em uma ativação coordenada da expressão e da atividade da ácido graxo sintase e inibição da lipólise, levando a uma expansão das reservas de triglicerídeos no adipócito (Zemel *et al.*, 2000; Zemel, 2004; Shi *et al.*, 2001).

Receptor nuclear de vitamina D

Além de regular o metabolismo lipídico do adipócito via $1,25D_3$ MARRS, o calcitriol também atua via receptor nuclear “clássico” de vitamina D (nVDR) nos adipócitos, inibindo a expressão da proteína desacopladora 2 (UCP2) (Shi *et al.*, 2002). As proteínas desacopladoras (UCPs) localizam-se na membrana interna da mitocôndria

e já foi demonstrado que são capazes de dissipar o gradiente de prótons, desacoplando a fosforilação oxidativa da molécula de adenosina difosfato (ADP), podendo reduzir a formação do adenosina trifosfato (ATP). As UCPs exibem, portanto, um papel potencial na termogênese e na regulação do metabolismo energético (Ricquier, 2005; Boschini & Garcia Junior, 2005). A UCP2 é expressa no tecido adiposo branco e apesar do seu papel na termogênese não estar completamente comprovado, sua participação na termogênese basal é sustentado pela demonstração de que polimorfismos na UCP2 em humanos estão relacionados com a taxa metabólica de repouso (Brand & Esteves, 2005). A supressão da concentração de calcitriol em camundongos através de uma dieta rica em cálcio resulta em um aumento na expressão da UCP2 e atenuação no declínio da termogênese que normalmente ocorre com a restrição energética (Shi *et al.*, 2001).

A UCP2 também funciona como um mediador do transporte mitocondrial de ácidos graxos e da β -oxidação, sugerindo que a supressão da UCP2 pelo calcitriol também possa contribuir para redução na oxidação e aumento no acúmulo de lipídios na vigência de dietas com baixo teor de cálcio (Zemel, 2004).

Um papel potencial para o calcitriol na regulação do metabolismo energético também foi sugerido por outros dados. Polimorfismos no nVDR estão associados com susceptibilidade à obesidade em humanos (Ye *et al.*, 2001; Barger-Lux *et al.*, 1995). Várias linhas de evidência demonstram alterações no sistema endócrino da vitamina D em humanos obesos, com alterações nas concentrações circulantes de calcitriol (Andersen *et al.*, 1988; Bell *et al.*, 1985).

Apoptose dos adipócitos

Dados recentes demonstram que a modulação da UCP2 pelo calcitriol também pode reduzir a apoptose do adipócito (Sun & Zemel, 2004), contribuindo para o efeito anti-obesidade do cálcio dietético. Este efeito é mediado em parte, via inibição da expressão da UCP2 e conseqüente aumento no potencial mitocondrial, um regulador chave da apoptose; e em parte pela regulação via calcitriol do cálcio citosólico e do fluxo de cálcio entre o retículo endoplasmático e a mitocôndria (Sun & Zemel, 2004;

Zemel, 2005). Conseqüentemente, a apoptose do adipócito é prejudicada de forma significativa em associação com níveis elevados de calcitriol em camundongos alimentados com dietas pobres em cálcio, enquanto ocorre um aumento acentuado na apoptose do adipócito em camundongos alimentados com dietas ricas em cálcio (e/ou laticínios) (Sun & Zemel, 2004).

Embora, o fato exposto no parágrafo anterior possa parecer contrário a vários estudos que indicam efeito pró-apoptótico para o calcitriol em outros tecidos, esta aparente discrepância é o resultado de diferenças nas dosagens (Major *et al.*, 2008; Zemel & Sun, 2008b). Os dados que indicam um efeito pró-apoptótico para o calcitriol utilizam concentrações supra-fisiológicas ($\geq 100\text{nM}$); similarmente respostas pró-apoptóticas (resultando da sobrecarga mitocondrial de cálcio) a tais doses farmacológicas de calcitriol foram observadas em adipócitos humanos. Em contraste, concentrações fisiológicas (0,1nm – 10nm) exercem efeito anti-apoptótico com inibição da expressão de genes apoptóticos, tais como caspase-1 e caspase-3, além de estimular a expressão de genes anti-apoptóticos (Sun & Zemel, 2004; Zemel & Sun, 2008b). O efeito anti-apoptótico parece ser primariamente devido à supressão da expressão da UCP2 com modificações mínimas ou reduções nas concentrações mitocondriais de cálcio (Sun & Zemel, 2004; Zemel & Sun, 2008b).

Absorção de lipídios no trato gastrointestinal

Dentre os diferentes mecanismos que foram sugeridos como responsáveis pelo efeito da elevada ingestão de cálcio sobre o balanço energético, encontra-se a capacidade do cálcio de formar complexos insolúveis com lipídios (sabões) no trato gastrointestinal, levando a um aumento na excreção fecal de lipídios e a diminuição na absorção dos mesmos, reduzindo a energia disponível para utilização pelo organismo (Parikh & Yanovski, 2003; Teegarden, 2005; Schragar, 2005; Zemel, 2005; Sakhaee & Maalouf, 2005).

Alguns estudos demonstraram que a suplementação de grandes quantidades de cálcio (2 – 4 g) resulta em aumentos estatisticamente significativos, porém modestos na perda de gordura fecal (Welberg *et al.*, 1994; Shahkhalili *et al.*, 2001). Por exemplo, a

suplementação de 2 g de cálcio na forma de carbonato de cálcio aumentou a excreção de gordura fecal de 6,8% para 7,4% da ingestão total de lipídios (Welberg *et al.*, 1994). A suplementação de quantidades menores de cálcio (1 g/dia) não produziu aumento significativo na excreção de lipídios no estudo realizado por Ditscheid e colaboradores (2005).

Para um indivíduo consumindo uma dieta de 2500 Kcal, contendo um terço da energia proveniente de lipídios, pode-se esperar que a suplementação de 2 g de cálcio elementar, na forma de carbonato de cálcio aumente em 1% a excreção da energia proveniente de lipídios diariamente. Desta forma, uma pessoa poderia perder cerca de 3010 kcal/ano nas fezes, o que corresponde a redução de aproximadamente -0,4 kg/ano no peso corporal (Parikh & Yanovski, 2003).

Outros estudos relataram faixas mais elevadas de excreção de gordura fecal. Denke e colaboradores (1993) encontraram um maior efeito do cálcio sobre a excreção de gordura fecal em um estudo que comparou dieta pobre em cálcio (410 mg de cálcio elementar/dia) com dieta rica em cálcio (2200 mg cálcio elementar/dia) usando citrato de cálcio durante 10 dias. A dieta suplementada com cálcio aumentou o percentual de gordura saturada excretada nas fezes de 6% para 13%.

Em contraste, para se alcançar contribuição clinicamente significativa (embora modesta) para perda ponderal, o inibidor da lipase pancreática orlistat, deve produzir inibição de aproximadamente 30% na absorção de gordura alimentar total (Zemel, 2004; Zemel, 2005).

Recentemente, Jacobsen e colaboradores (2005) relataram que a elevação a curto prazo (1 semana) na ingestão de cálcio dietético de 500 para 1800mg/dia, associada a dieta normoprotéica, aumentou a excreção de gordura fecal em aproximadamente 2,5 vezes, de 5,9 para 14,2 g/dia. Entretanto, para tal aumento na perda de gordura fecal contribuir claramente para redução no balanço energético, seria necessária uma quantidade maior de cálcio (1800 mg vs. 1200 mg) do que é normalmente usado nos ensaios clínicos de cálcio e obesidade. Além disto, esta faixa de ingestão de cálcio produziria um efeito quantitativamente pequeno de 8,3 g de gordura fecal adicionais, representando perda de 75 Kcal/dia, o que é insuficiente para

explicar a magnitude dos efeitos observados em alguns ensaios clínicos que avaliam o efeito da suplementação de cálcio sobre o peso corporal (Zemel, 2005).

Em resumo, os estudos disponíveis mostram um pequeno efeito do cálcio sobre a absorção de lipídios. Este mecanismo provavelmente contribui para o efeito anti-obesidade do cálcio, porém não é capaz de explicá-lo completamente. (Zemel, 2004; Zemel, 2005; Schrage, 2005). Entretanto, não deve ser desconsiderado, pois pode auxiliar na manutenção do peso corporal e na promoção da perda ponderal durante um período de tempo prolongado (Major *et al.*, 2008).

1.2.2 Sensibilidade à insulina

A associação entre baixa ingestão de cálcio (e/ou laticínios) e aumento na prevalência de diabetes tipo 2 e/ou de resistência à insulina é relativamente consistente (Pittas *et al.*, 2007a; Tremblay & Gilbert, 2009), tendo sido encontrada em vários estudos observacionais de coorte (Ma *et al.*, 2006; Pittas *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2005; Colditz *et al.*, 1992; Villegas *et al.*, 2009).

Pittas e colaboradores (2006) acompanharam durante 20 anos 83.779 mulheres participantes do *The Nurses' Health Study* e observaram um risco relativo multivariado de diabetes tipo 2 de 0,79 (95%IC 0,70 - 0,90; $p < 0,001$) comparando-se a categoria de maior com a de menor ingestão de cálcio total (dieta + suplemento). Nos dados prospectivos de 41.254 homens participantes do *the Health Professionals Follow-up Study*, acompanhados durante 12 anos, a ingestão de laticínios se associou com um risco modestamente menor de diabetes tipo 2 (Choi *et al.*, 2005).

Existem evidências limitadas sobre o efeito da suplementação de cálcio sobre parâmetros relacionados como a sensibilidade à insulina, provenientes de estudos que examinaram os efeitos do cálcio tanto isoladamente quanto como um componente dos laticínios (Pittas *et al.*, 2007a). Em 20 pacientes não diabéticos com hipertensão arterial primária, a suplementação de 1500 mg/dia de cálcio vs. placebo durante 8 semanas melhorou a sensibilidade à insulina, avaliada pelo *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico

(Sánchez *et al.*, 1997). Estudos com pequeno número de participantes não diabéticos que avaliaram os efeitos da suplementação de cálcio, como um componente dos laticínios, em relação a glicemia ou resistência à insulina encontraram resultados conflitantes, porém a maioria apresentou efeito neutro (Barr *et al.*, 2000; Bowen *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005; Zemel *et al.*, 2004a; Zemel *et al.*, 2005a).

Um estudo recente (Pittas *et al.*, 2007b) avaliou o efeito da suplementação diária combinada de vitamina D (700 UI) + cálcio (500mg), não sendo observados efeitos sobre a glicemia ou resistência à insulina nos pacientes com tolerância normal a glicose no início do estudo. Entretanto, entre os participantes com intolerância à glicose no início do estudo, que receberam a suplementação de cálcio + vitamina D durante 3 anos, houve aumento significativamente menor na glicemia de jejum e na resistência à insulina em comparação com os participantes que receberam placebo (Pittas *et al.*, 2007b).

Mecanismo de ação

Os mecanismos exatos pelos quais o cálcio dietético pode interferir na resistência à insulina não são completamente conhecidos (Pittas *et al.*, 2007a). Existem evidências de que o aumento na $[Ca^{2+}]_i$ pode afetar o transporte de glicose mediado pela insulina e a secreção de insulina (Tremblay & Gilbert, 2009). Inclusive, já foi demonstrado um aumento na $[Ca^{2+}]_i$ em diferentes tipos celulares de pacientes com diabetes tipo 2, como também com hipertensão e obesidade (Resnick, 1992; Barbagallo *et al.*, 1999). Portanto, um provável mecanismo de ação do cálcio sobre a sensibilidade à insulina, envolve a modificação na $[Ca^{2+}]_i$ que pode ocorrer em diferentes tipos celulares devido a baixa ingestão de cálcio.

A $[Ca^{2+}]_i$ é essencial para a secreção de insulina pelas células β pancreáticas e para os processos intracelulares mediados pela insulina nos tecidos insulino responsivos, como o músculo esquelético e o tecido adiposo, com uma faixa muito estreita da $[Ca^{2+}]_i$ necessária para a realização adequada das funções insulino-mediadas. Modificações na $[Ca^{2+}]_i$ em tecidos alvo da insulina podem contribuir para alterações na sua ação (Pittas *et al.*, 2007a).

Elevações na $[Ca^{2+}]_i$ podem em parte resultar em resistência à insulina, nos adipócitos e em outras células alvo da insulina, por afetar a fosforilação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) e outros substratos sensíveis à insulina, tornando a captação de glicose mediada pela insulina menos eficiente e podendo promover resistência à insulina sistêmica (Zemel, 1995; McCarty *et al.*, 2002; Begum *et al.*, 1993; Reusch *et al.*, 1991).

Estudos experimentais, utilizando adipócitos de ratos e humanos, indicam que a $[Ca^{2+}]_i$ elevada reduz o transporte de glicose mediado pela insulina (Draznin *et al.*, 1987; Draznin *et al.*, 1988). Já foi demonstrado que a presença de um antagonista de cálcio (nitrendipina) no meio de cultura dos adipócitos previne o aumento na concentração de cálcio citosólico livre e melhora a resistência a insulina induzida por vários mecanismos (Draznin, 1993).

Em um estudo recente (Pikilidou *et al.*, 2009), envolvendo pacientes apresentando diabetes tipo 2 e hipertensão, a suplementação oral de cálcio (1500mg/dia) durante 8 semanas vs. nenhum tratamento, resultou em redução na $[Ca^{2+}]_i$ e aumento na sensibilidade à insulina. Os autores também observaram uma associação negativa e significativa entre a modificação da $[Ca^{2+}]_i$ e da sensibilidade à insulina durante o período do estudo (Pikilidou *et al.*, 2009).

1.2.3 Metabolismo lipídico

Tanto os estudos observacionais quanto os de intervenção que avaliaram os efeitos do cálcio (e/ou laticínios) sobre o perfil lipídico, não produziram resultados consistentes. Alguns estudos encontraram efeitos benéficos (Jacqmain *et al.*, 2003; Bell *et al.*, 1992; Denke *et al.*, 1993; Reid *et al.*, 2002; Ditscheid *et al.*, 2005; Major *et al.*, 2007; Lorenzen *et al.*, 2007), enquanto outros não observaram tais benefícios (Snijder *et al.*, 2007; Karanja *et al.*, 1994; Bostick *et al.*, 2000; Zemel *et al.*, 2004a; Daly & Nowson, 2009).

Mecanismo de ação

A saponificação, ocasionada pela ligação iônica do cálcio com ácidos graxos, com conseqüente redução na absorção de lipídios é um mecanismo que pode explicar os efeitos da suplementação de cálcio sobre o perfil lipídico (Ditscheid *et al.*, 2005; Reid, 2004). Esta redução na absorção de lipídios, principalmente saturados, poderia reduzir o colesterol sérico via redução na produção da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e por aumentar a captação de LDL pelo fígado (Vaskonen, 2003).

O cálcio dietético também pode se ligar a ácidos biliares, aumentando sua excreção fecal (Van der Meer *et al.*, 1990), a conversão de colesterol em ácidos biliares no fígado e portanto, a excreção de colesterol (Vaskonen *et al.*, 2002). O catabolismo do colesterol a ácidos biliares é uma rota importante de eliminação do colesterol do organismo, sendo responsável por aproximadamente 50% do colesterol eliminado diariamente (St-Pierre *et al.*, 2001). Um aumento na excreção fecal de ácidos biliares resulta inicialmente em redução na absorção de lipídios e colesterol e secundariamente no aumento da conversão do colesterol a sais biliares no fígado. Mesmo se a síntese endógena de colesterol for aumentada, pode não ser suficiente para repor a síntese de ácidos biliares, e o colesterol deve ser captado da circulação via receptores de LDL, o que leva a redução do colesterol LDL sérico (Vaskonen, 2003).

1.2.4 Pressão arterial

O efeito hipotensor atribuído ao cálcio parece ser amplamente aceito (McCarron & Reusser, 1999). A relação inversa entre ingestão de cálcio e níveis de PA foi sugerida pela primeira vez na década de 1980, com base em estudos epidemiológicos, nos quais a ingestão reduzida de cálcio dietético/laticínios foi associada com níveis mais elevados de PA e/ou maior risco de desenvolvimento de HAS (Ackley *et al.*, 1983; McCarron *et al.*, 1984; Harlan *et al.*, 1984; Garcia-Palmieri *et al.*, 1984; Reed *et al.*, 1985; Joffres *et al.*, 1987; Witteman *et al.*, 1989). Esses achados observacionais foram

consistentes em diferentes faixas etárias, grupos étnicos, áreas geográficas e em ambos os sexos; além de demonstrarem que indivíduos hipertensos apresentam ingestão inadequada de cálcio (McCarron & Reusser, 1999; Miller *et al.*, 2000). Uma meta-análise desses estudos populacionais publicados entre 1983 e 1993, forneceu um efeito estimado modesto de redução na PA sistólica de -0,39 mmHg (IC 95% -0,47 a -0,31) e na diastólica de -0,35 mmHg (IC 95% -0,67 a -0,02) para cada elevação de 100 mg na ingestão de cálcio (Birkett, 1998).

Estudos populacionais mais recentes também confirmam uma contribuição independente da ingestão de cálcio dietético/laticínios sobre os níveis de PA (Jorde & Bønaa, 2000; Townsend *et al.*, 2005; Ruidavets *et al.*, 2006; Snijder *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Engberink *et al.*, 2009). Na análise dos dados do *the Tromsø study* (Jorde & Bønaa, 2000) observou-se que após correção para idade, IMC, consumo de álcool e cafeína, atividade física, tabagismo e ingestão de vitamina D, havia uma redução linear significativa na PA sistólica e diastólica com a ingestão crescente de cálcio dietético. Entretanto, a diferença na PA entre os indivíduos com as maiores e as menores ingestões de cálcio também foi modesta, sendo $\leq 1 - 3$ mmHg (Jorde & Bønaa, 2000).

Os resultados dos ensaios clínicos randomizados avaliando os efeitos do cálcio sobre os níveis de PA também mostram resultados modestos. vanMierlo e colaboradores (2006) realizaram uma meta-análise de 40 ensaios clínicos randomizados e controlados avaliando os efeitos da suplementação de cálcio (dose diária média: 1200 mg) sobre os níveis de PA e encontraram reduções significativas na PA sistólica de -1,86 mmHg (IC 95% - 2,91 a - 0,81) e na diastólica de - 0,99 mmHg (IC 95% -1,61 a -0,37). Uma meta-análise realizada por Griffith e colaboradores (1999) encontrou resultados semelhantes na redução da PA sistólica de -1,44mmHg (IC 95% - 2,20 a -0,68) e na diastólica de - 0,84 mmHg (IC 95% -1,44 a -0,24).

A análise individual dos estudos utilizados nessas meta-análises mostra resultados heterogêneos com alguns estudos demonstrando um forte efeito benéfico e outros pouco ou até mesmo nenhum efeito (Griffith *et al.*, 1999). Esta heterogeneidade pode ser explicada por uma série de fatores incluindo em primeiro lugar um efeito de limiar de 600 – 700 mg cálcio/dia (Zemel, 2001). Segundo, a ingestão basal de cálcio: em indivíduos consumindo regularmente pequenas quantidades de cálcio, a

suplementação de cálcio apresenta maior efeito hipotensor (vanMierlo *et al.*, 2006). Terceiro, níveis basais de PA no grupo estudado, a redução é maior nos indivíduos hipertensos ou em grupos com maior risco de desenvolvimento de HAS, como negros, pessoas sensíveis ao sal e mulheres grávidas (Allender *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 2000). Na meta-análise de Griffith e colaboradores (1999) a redução na PA sistólica com a suplementação de cálcio foi de -3,86 mmHg nos pacientes hipertensos vs. -0,15 mmHg nos indivíduos normotensos. Um quarto fator que pode contribuir para a heterogeneidade dos resultados dos ensaios clínicos é a fonte de cálcio, quando o cálcio é suplementado através de fontes alimentares a redução da PA é maior (Griffith *et al.*, 1999). Na meta-análise de Griffith e colaboradores (1999), os estudos utilizando fontes alimentares de cálcio apresentam redução duas vezes maior e mais consistente dos níveis de PA em comparação com aqueles estudos utilizando suplementação medicamentosa. (Griffith *et al.*, 1999).

Mecanismo de ação

As evidências disponíveis, até o presente momento, indicam que o efeito protetor do cálcio sobre a PA pode ser explicado em parte pela influência dos hormônios calcitíricos sobre a $[Ca^{2+}]_i$ (Zemel, 2001; Kris-Etherton *et al.*, 2009; Hilpert *et al.*, 2009; van Meijl *et al.*, 2008), conforme exposto anteriormente.

O aumento na $[Ca^{2+}]_i$ nas células do músculo liso vascular pode resultar em um aumento na vaso reatividade, vasoconstrição e conseqüente elevação na PA (Buhler & Resink, 1988; Brickman *et al.*, 1991). A $[Ca^{2+}]_i$ também é importante para o estado funcional de outras células envolvidas na regulação da PA (ex.: células adrenais secretoras de aldosterona, células justaglomerulares secretoras de renina e terminações adrenérgicas) (Rasmussen, 1981, apud Lechi *et al.*, 1987). Estudos experimentais demonstraram que o calcitriol estimula o influxo de cálcio nas células da musculatura lisa vascular (Bukoski *et al.*, 1987; Xue *et al.*, 1991) e que o PTH estimula o influxo de cálcio livre em miócitos cardíacos (Smogorzewski *et al.*, 1993; Bogin *et al.*, 1981).

Várias investigações relatam que o cálcio citosólico de plaquetas encontra-se elevado em indivíduos com HAS primária, havendo correlação positiva e significativa entre a concentração de cálcio intraplaquetário e os níveis de PA em hipertensos e normotensos (Erne *et al.*, 1984; Cooper *et al.*, 1987; Lechi *et al.*, 1987; Le Quan-Sang *et al.*, 1987; Brickman *et al.*, 1990; Brickman *et al.*, 1991). A elevação na $[Ca^{2+}]_i$ de plaquetas na HAS primária pode refletir a $[Ca^{2+}]_i$ em outros tecidos, incluindo o músculo liso vascular, pois as plaquetas possuem muitas propriedades bioquímicas e fisiológicas semelhantes a das células do músculo liso vascular (Buhler & Resink, 1988; Erne *et al.*, 1984).

1.2.5 Biomarcadores inflamatórios

Nos últimos anos, foram publicados estudos, realizados principalmente com animais, demonstrando que o cálcio dietético suprime o estado inflamatório associado à obesidade, através da modulação da expressão de fatores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios (Sun & Zemel, 2007a; Sun & Zemel, 2008; Zemel & Sun, 2008a; Zemel *et al.*, 2009)

Sun e Zemel (2007a) publicaram um estudo realizado com ratos alimentados com dieta obesigênica pobre ou rica em cálcio. Os autores observaram que a dieta rica em cálcio em comparação com a pobre em cálcio: 1) reduziu de forma significativa a expressão de fatores pró-inflamatórios: TNF- α e IL-6 em 64% e 51%, respectivamente no tecido adiposo visceral; 2) Estimulou a expressão de fatores anti-inflamatórios: interleucina-15 (IL-15) e adiponectina em 52% e 54% ($p=0,025$), respectivamente no tecido adiposo visceral; e 3) induziu um aumento de 2 vezes na expressão da IL-15 no músculo soleus ($p=0,01$).

Além dos estudos com suplementação de cálcio em animais, Zemel e Sun (2008a) avaliaram os efeitos dos laticínios sobre marcadores inflamatórios em ratos, pois os laticínios possuem fatores adicionais, tais como inibidores da enzima conversora da angiotensina, que também podem suprimir o estresse inflamatório. Este

estudo foi desenhado para avaliar os efeitos a curto prazo (3 semanas) sobre o estresse inflamatório de 3 dietas: pobre em cálcio (0,4%), rica em cálcio (1,2% proveniente de CaCO_3), e rica em laticínios (1,2% de cálcio proveniente de leite). As dietas ricas em cálcio e em laticínios resultaram em supressão significativa do TNF- α , da IL-6 e MCP-1 em comparação com a dieta pobre em cálcio, enquanto um padrão inverso foi notado para a adiponectina e IL-15 ($p = 0,002$) (Zemel & Sun, 2008a).

Em seres humanos foram avaliadas as concentrações de PCR e adiponectina em uma análise secundária de 2 estudos conduzidos em indivíduos obesos. Após 24 semanas de alimentação com dieta rica em laticínios normocalórica e hipocalórica houve redução significativa de 11% e 29% na PCR, respectivamente (pós-teste vs. pré-teste), enquanto não houveram modificações significativas nos grupos com dieta pobre em laticínios. A adiponectina aumentou de forma significativa, em 8% nos indivíduos alimentados com dieta rica em laticínios normocalóricas ($p = 0,003$) e 18% naqueles alimentados com dieta hipocalórica (Zemel & Sun, 2008a).

Conforme exposto anteriormente, dietas ricas em cálcio podem auxiliar na redução da adiposidade. Portanto, pode-se acreditar que o efeito do cálcio dietético sobre o estresse inflamatório seja, em parte, mediado pela redução da adiposidade corporal. Sendo assim, foi realizado um estudo para avaliar os efeitos agudos de uma dieta rica em laticínios sobre o estresse oxidativo e inflamatório em indivíduos obesos e com sobrepeso na ausência de modificações na adiposidade. Neste estudo randomizado, cego e cruzado com dietas normocalórica suplementadas com laticínios ou soja, foram incluídos 20 indivíduos (10 obesos e 10 com sobrepeso). Dois períodos dietéticos de 28 dias foram separados por um período de *washout* de 28 dias. A dieta suplementada com laticínios resultou em supressão significativa do estresse oxidativo e níveis significativamente mais baixos de marcadores inflamatórios (TNF- α , 15%, IL-6, 13%, MCP-1, 10%,) além de aumento significativo na adiponectina (20%), enquanto a soja não exerceu efeitos significativos. Neste estudo foi concluído que o aumento na ingestão de laticínios produz supressão significativa e substancial do estresse inflamatório associado com o sobrepeso e obesidade, na ausência de modificações na adiposidade corporal (Zemel *et al.*, 2009).

Mecanismo de ação

É provável a modulação do estresse inflamatório pelo cálcio seja mediada pela supressão do calcitriol. Esta hipótese se baseia no fato de que o calcitriol: (1) regula a sinalização intracelular do Ca^{++} ; (2) controla a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), através da modulação da desacoplação mitocondrial e sinalização do cálcio intracelular. Estes 2 mecanismos modulam a produção e liberação de citocinas (Sun *et al.*, 2008; Zemel *et al.*, 2009; Sun & Zemel, 2007a).

A ingestão excessiva de nutrientes e a obesidade aumentam a geração de ROS e o estresse oxidativo, enquanto a restrição calórica e a perda ponderal estão associadas com redução no estresse oxidativo (Mohanty *et al.*, 2000; Dandona *et al.*, 2001). O estresse oxidativo desempenha um papel significativo na regulação do estado inflamatório no tecido adiposo, já tendo sido demonstrado que a adição de oxidantes suprime a expressão da adiponectina e aumenta a expressão de fatores inflamatórios (Furukawa *et al.*, 2004). Isto sugere que um aumento local do estresse oxidativo no tecido adiposo resulta em desregulação na produção de adipocinas (Zemel *et al.*, 2009).

O acúmulo de tecido adiposo estimula a expressão da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase 4 (Nox4), que é um fator chave na produção enzimática celular de ROS (Sun & Zemel, 2006; Sun & Zemel, 2004; Inoguchi *et al.*, 2000). A infiltração de macrófagos no tecido adiposo é estimulada pelas ROS via produção de MCP-1, favorecendo a liberação de adipocinas inflamatórias e promovendo ainda mais a expressão local da Nox4 e a produção de ROS (Weisberg *et al.*, 2003; Sun & Zemel, 2007a; Xu *et al.*, 2003).

Na publicação de Sun e Zemel (2007a), citada anteriormente, também foi avaliado o efeito do calcitriol sobre a produção de adipocinas, sendo relatado que em culturas de adipócitos, o calcitriol estimulou de forma significativa a expressão do TNF- α , IL-6 e interleucina-8 (IL-8). Esses efeitos foram bloqueados por antagonistas de canal de cálcio.

O papel do calcitriol na modulação da produção de citocinas pelos adipócitos e macrófagos e no *cross-talk* entre adipócitos e macrófagos também foi investigado por

Sun & Zemel (2008a) em um estudo com cultura de adipócitos e macrófagos, demonstrando que o calcitriol estimula a produção de adipocinas associadas com a função dos macrófagos e aumenta a expressão de citocinas inflamatórias em macrófagos e adipócitos; incluindo o fator de inibição da migração de macrófagos (MIF), TNF- α , IL-6 e MCP-1 em adipócitos assim como TNF- α e IL-6 em macrófagos. Além disto, o calcitriol também regulou o *cross-talk* entre macrófagos e adipócitos, como evidenciado pelo aumento na expressão e produção de citocinas inflamatórias a partir de adipócitos e macrófagos em co-culturas versus culturas individuais (Sun & Zemel, 2008a).

2 JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

A obesidade está relacionada de forma causal com as doenças cardiovasculares, predispondo o desenvolvimento de uma série de fatores de risco para estas doenças, tais como resistência à insulina, HAS, dislipidemia e estado pró-inflamatório e pró-trombótico. Esses fatores de risco isoladamente ou agregados podem favorecer a disfunção endotelial, com conseqüente aterogênese.

A perda ponderal é capaz de melhorar as alterações metabólicas associadas à obesidade reduzindo o risco de disfunção endotelial e de doenças cardiovasculares. No tratamento da obesidade, a intervenção dietética desempenha um importante papel e seu principal aspecto é o controle da ingestão energética. Entretanto, alguns estudos realizados na última década sugerem que o consumo de cálcio dietético pode ter efeitos benéficos sobre a adiposidade corporal, a sensibilidade à insulina, o perfil lipídico, a PA e o estado inflamatório.

Desta forma, considerando-se 1) a ausência de consenso sobre os efeitos da dieta rica em cálcio, associada à restrição energética, sobre a adiposidade e os fatores de risco cardiovascular, 2) o fato de todos estes fatores poderem induzir disfunção endotelial e 3) a ausência de estudos avaliando os efeitos desta modalidade de intervenção nutricional sobre a função endotelial, justifica-se o propósito do presente estudo.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar em obesos, submetidos à restrição energética, os efeitos da dieta rica em cálcio sobre os biomarcadores da função endotelial e fatores de risco cardiovascular.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar em obesos, submetidos à restrição energética, os efeitos da dieta rica em cálcio sobre:

- o peso corporal
- a gordura corporal
- a obesidade abdominal
- a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina
- o perfil lipídico
- as concentrações séricas de leptina
- a pressão arterial
- os biomarcadores inflamatórios
- a fibrinólise
- os biomarcadores da função endotelial
- o metabolismo do cálcio

Avaliar em obesos, submetidos à restrição energética, as associações entre as modificações nos parâmetros antropométricos, perfil metabólico, níveis de pressão arterial e biomarcadores inflamatórios e da função endotelial.

4 CASUÍSTICA

4 CASUÍSTICA

4.1 Pacientes

Participaram deste estudo 50 indivíduos com obesidade grau 1, sem distinção de raça ou sexo, com 22 a 55 anos de idade, apresentando baixa ingestão habitual de cálcio (< 500 mg/dia). A principal fonte de seleção dos participantes foi o ambulatório de cirurgia plástica do Hospital Universitário Pedro Ernesto, sendo selecionados principalmente os candidatos a mamoplastia redutora ou abdominoplastia. A abordagem inicial consistiu no convite para participação no estudo, com esclarecimento das principais características do mesmo. Os indivíduos que aceitaram participar do estudo foram submetidos a uma avaliação preliminar consistindo na determinação do peso corporal e da altura, para cálculo do IMC, além da realização de uma entrevista abordando diferentes critérios de inclusão e exclusão (anexo 1).

Todos os indivíduos potencialmente elegíveis para o estudo foram agendados para a visita de seleção do estudo (V-1), na qual foram submetidos a avaliação laboratorial e dos níveis de pressão arterial, com o objetivo de aplicar outros critérios de exclusão (anexo 2)

4.2 Critérios de inclusão

Os pacientes incluídos no estudo preencheram os seguintes critérios:

- homens ou mulheres entre 20 e 60 anos
- obesos, apresentando índice de massa corporal entre 30 – 34,9 kg/m²
- terem assinado o termo de consentimento livre e esclarecido

4.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes:

- apresentando ingestão habitual de cálcio ≥ 500 mg/dia
- em uso de suplementos de cálcio, vitamina D, calcitonina ou outras drogas que possam interferir no metabolismo do cálcio ou no controle do peso corporal
- em uso de suplementos nutricionais
- gestantes ou lactantes
- tabagistas
- apresentando modificações recentes (3 meses) no peso corporal e na intensidade ou na frequência de exercícios físicos
- com diagnóstico de diabetes mellitus; hipotireoidismo; intolerância à lactose; depressão; infarto agudo do miocárdio ou acidente vascular encefálico nos últimos 6 meses; angina instável; insuficiência cardíaca grave (classe III ou IV NYHA); má absorção intestinal; insuficiência hepática; níveis de creatinina sérica superiores a 1,3 mg/dl ou clearance de creatinina ≤ 60 ml/min; hipertensão arterial sistêmica ou dislipidemia em uso de drogas.

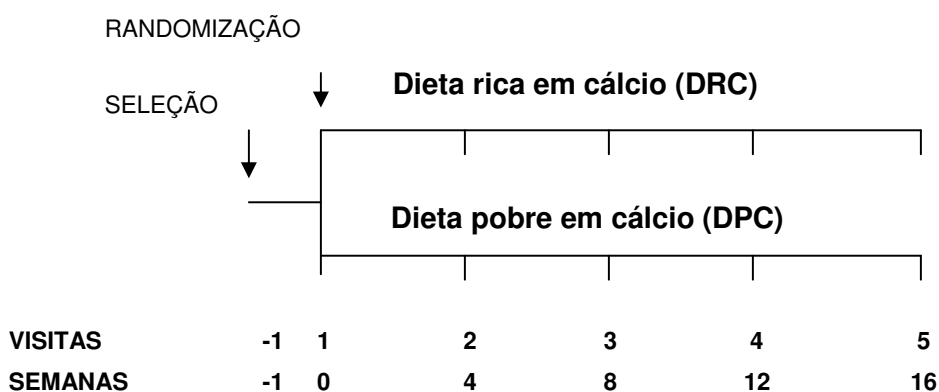
5 DESENHO DO ESTUDO E PLANO DE TRABALHO

5 DESENHO DO ESTUDO E PLANO DE TRABALHO

O ensaio clínico foi randomizado, aberto e paralelo, com duração de 16 semanas. Os pacientes selecionados foram alocados aleatoriamente em 2 grupos (25 em cada grupo). Os 2 grupos foram orientados a ingerir uma dieta hipocalórica, com déficit energético similar (redução de 800Kcal/dia) e distribuição semelhante de macronutrientes. Um grupo de pacientes recebeu orientações para ingerir uma dieta rica em cálcio (DRC), com suplementação diária de 800mg cálcio dietético, proveniente de laticínios (60g de leite em pó desnatado), totalizando aproximadamente 1200mg cálcio dietético/dia. O outro grupo permaneceu ingerindo uma dieta pobre em cálcio (DPC), apresentando quantidade de cálcio < 500mg/dia.

O acompanhamento dos pacientes durante todo o período do estudo foi realizado através de visitas com intervalos de 4 semanas. Em cada visita o valor energético da dieta foi ajustado de acordo com o peso corporal atual do paciente, objetivando a continuidade da perda ponderal.

5.1 Desenho do estudo



Avaliação do consumo alimentar, antropométrica e da pressão arterial: semanas 0, 4, 8, 12 e 16

Avaliação laboratorial: semanas 0 e 16

5.2 Plano de trabalho

Os participantes do estudo foram avaliados em todas as visitas (V-1 a V5) no Laboratório de Pesquisa Clínica do CLINEX. Na visita V-1, além da realização de exames laboratoriais e avaliação da PA com o objetivo de aplicar os critérios de exclusão, os pacientes foram orientados em relação à coleta da urina de 24h e ao preenchimento do formulário de avaliação do consumo alimentar que foi entregue nas semanas 0, 4, 8, 12 e 16. Na semana 0 a avaliação do consumo alimentar foi utilizada para estimar a ingestão habitual de cálcio e nas semanas 4, 8, 12 e 16 serviu para avaliar a adesão à dieta.

As avaliações antropométrica e da PA foram realizadas nas semanas 0, 4, 8, 12 e 16. Nas semanas 0 e 16, os pacientes também foram submetidos à avaliação laboratorial para mensuração dos níveis séricos de glicose, insulina, leptina, colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos, PTH, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, cálcio, albumina, PCR, TNF- α , PAI-1, ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina; além da determinação da excreção urinária de sódio, cálcio e uréia a partir da urina de 24 horas. As amostras de sangue, utilizadas na avaliação laboratorial, foram coletadas após jejum de 12 horas e após 72h sem consumo de bebidas alcoólicas (IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, 2007).

6 MÉTODOS

6 MÉTODOS

6.1 Prescrição dietética

O valor energético total (VET) da dieta prescrita para cada participante na semana 0, foi obtido subtraindo-se 800 Kcal/dia do seu gasto energético total diário, que foi determinado utilizando-se e as equações da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2001) com base no peso corporal atual. O gasto energético total diário foi calculado através das seguintes fórmulas:

Gasto Energético Total Diário = Taxa Metabólica Basal x Nível de Atividade Física

Taxa Metabólica Basal

Homens: 18 – 30 anos = $15,1 \times \text{Peso (kg)} + 692$
 30 – 60 anos = $11,5 \times \text{Peso (kg)} + 873$
Mulheres: 18 – 30 anos = $14,8 \times \text{Peso (kg)} + 487$
 30 – 60 anos = $8,1 \times \text{Peso (kg)} + 846$

Nível de Atividade Física

Sedentário = 1,40 – 1,69
Ativo = 1,70 – 1,99
Vigoroso = 2,00 – 2,40

Nas semanas 4, 8 e 12 o VET da dieta foi novamente calculado, com um déficit de 800 Kcal/dia usando-se as mesmas equações e o novo valor de peso corporal atual, objetivando a continuidade da perda ponderal.

As 2 dietas utilizadas no estudo (DRC e DPC) foram elaboradas para fornecer percentuais semelhantes de macronutrientes (proteínas ~22%, lipídios ~28%, ácidos graxos saturados ~ 5,5% e carboidratos ~50% do VET) e fibras (~19g/dia) (anexo 3). Foram confeccionadas dietas com valor energético variando de 1300 até 2100 Kcal/dia

para cada um dos grupos de estudo (anexo 4). As dietas foram elaboradas com base em lista de trocas de alimentos (anexo 5). O *software Nutwin* foi utilizado para realizar o cálculo das dietas utilizadas no estudo.

Os 2 grupos de estudo foram orientados a ingerir 1 porção de laticínios/dia (lista de trocas). Os participantes da DRC receberam a suplementação diária de ~ 800 mg cálcio dietético, na forma de 60g de leite em pó desnatado (Molico® da Nestlé Brasil LTDA) que foi fornecido aos pacientes nas visitas realizadas a cada 4 semanas (semana 0 a semana 12). O teor de cálcio nas dietas do estudo variou conforme a ingestão energética ficando na DRC entre 1156 e 1228 mg/dia e na DPC entre 419 e 493 mg/dia (anexo 3).

Todos os participantes do estudo receberam uma balança da marca Plenna com precisão de 5g e capacidade total de 250g para pesagem dos alimentos e uma colher medida, com o objetivo de tornar o mais fidedigna possível a quantificação dos alimentos prescritos na dieta, incluindo o leite em pó.

6.2 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica foi realizada através das seguintes medidas: peso corporal (quilogramas); altura (centímetros); circunferências da cintura e do quadril (centímetros); dobras cutâneas do tríceps, subescapular, supra-ílica e da coxa (milímetros).

Peso, altura e índice de massa corporal

As mensurações de peso (precisão de 0,1 kg) e altura (precisão de 0,5 cm) foram realizadas em balança antropométrica da marca Filizola, estando os pacientes em jejum, sem sapatos e vestindo roupas leves. O IMC foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela altura ao quadrado (m^2) (WHO, 2000).

Gordura corporal

A gordura corporal foi estimada a partir da avaliação das dobras cutâneas do tríceps, subescapular, supra-ílica e da coxa que foram determinadas com a utilização de um plicômetro tipo *Lange Skinfold Caliper*.

A dobra cutânea do tríceps foi mensurada verticalmente no aspecto posterior do braço sobre o tríceps, no ponto médio entre o processo acromial da escápula e o processo olecraniano da ulna. A dobra cutânea subescapular foi avaliada na diagonal ao longo da linha natural da pele, logo abaixo do ângulo inferior da escápula. A dobra cutânea supra-ílica foi determinada obliquamente sobre a crista ílica, ao longo da linha natural da pele. A dobra cutânea da coxa foi mensurada verticalmente (linha média) na face anterior da coxa, no ponto médio entre a linha inguinal e a borda proximal da patela (Lohman *et al.*, 1988).

Os valores dessas dobras cutâneas foram somados e juntamente com dados referentes a idade e altura, foram utilizados para estimar o percentual de gordura corpórea através das seguintes fórmulas (Peterson *et al.*, 2003):

$$\text{Homens: \%GC} = 20,94878 + (\text{idade} \times 0,1166) - (\text{altura} \times 0,11666) \\ + (\text{soma } 4 \times 0,42696) - (\text{soma } 4^2 \times 0,00159)$$

$$\text{Mulheres: \%GC} = 22,18945 + (\text{idade} \times 0,06368) + (\text{IMC} \times 0,60404) \\ - (\text{altura} \times 0,14520) + (\text{soma } 4 \times 0,30919) \\ - (\text{soma } 4^2 \times 0,00099562)$$

GC = gordura corporal, altura em cm, soma 4 = soma das dobras cutâneas do tríceps, subescapular, supra-ílica e da coxa.

Estas fórmulas para determinação do percentual de gordura corporal foram validadas com um modelo de 4 compartimentos e na validação destas equações também foram incluídos indivíduos obesos (Peterson *et al.*, 2003).

A determinação da gordura corporal (kg) foi baseada no percentual de gordura corporal obtido com a fórmula acima e o peso corporal do paciente.

Circunferência da cintura, circunferência do quadril e relação cintura quadril

As circunferências da cintura e do quadril foram mensuradas estando os pacientes em pé e com o auxílio de uma fita métrica inextensível. A CC foi determinada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, mantendo a fita paralela ao chão, sem comprimir a pele, ao final de uma expiração normal, com o abdômen relaxado (WHO, 2000). A circunferência do quadril foi medida na maior circunferência na extensão posterior das nádegas. A relação cintura quadril (RCQ) foi obtida pela divisão da CC pela circunferência do quadril.

Índice de conicidade

O índice de conicidade, avalia a CC em relação a altura e o peso, tendo sido determinado através da seguinte fórmula (Valdez *et al.*, 1993):

$$\text{Índice de conicidade} = \frac{\text{Circunferência da cintura (m)}}{0,109 \times \sqrt{(\text{Peso corporal (kg)} / \text{Altura (m)})}}$$

6.3 Avaliação do metabolismo glicídico

Glicemia de jejum

A glicemia de jejum foi determinada por técnica automatizada.

Insulina plasmática de jejum

A insulina plasmática de jejum foi medida por radioimunoensaio usando o *Kit* comercial *LINCO Research, St Louis, USA*, específico para insulina humana. Neste

ensaio a reatividade cruzada com a pró-insulina humana é inferior a 0,2% (Morgan & Lazarow, 1963). Os valores foram expressos em $\mu\text{U/ml}$.

Índice de resistência à insulina (HOMA-IR)

O índice de resistência à insulina foi obtido utilizando-se a fórmula da Avaliação do Modelo Homeostático (HOMA-IR), na qual a resistência é determinada pelo produto da insulinemia de jejum ($\mu\text{U/ml}$) e da glicemia de jejum (mmol/L) dividido por 22,5. Este índice apresenta alta correlação com o “clamping” euglicêmico hiperinsulinêmico (Mathews *et al.*, 1985; Avignon *et al.*, 1999).

6.4 Avaliação do metabolismo lipídico e leptina

Colesterol total, HDL-colesterol e os triglicerídeos

O Colesterol total, HDL-colesterol e os triglicerídeos foram dosados por técnica automatizada.

LDL-colesterol

O LDL-colesterol foi estimado usando-se a fórmula de Friedwald, quando os valores dos triglicerídeos séricos eram inferiores a 400 mg/dl: Colesterol total – (HDL-colesterol + triglicerídeos/5) (Friedewald *et al.*, 1972).

Leptina

A leptina sérica de jejum foi medida por radioimunoensaio usando reagentes da LINCO Research, St Louis, USA, específicos para leptina humana (Zhongmin, 1996). Os valores foram expressos em ng/ml.

6.5 Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca

A PA e a frequência cardíaca foram mensuradas após 5 minutos de repouso por equipamento automático DINAMAP™ – *Vital Signs Monitor* 1846. Os valores utilizados representam a média aritmética de 3 medidas com intervalos de 3 minutos, obtidas com o paciente sentado no braço não dominante, após pelo menos 5 minutos de repouso.

6.6 Avaliação dos biomarcadores inflamatórios

Proteína C-reativa ultra-sensível

A determinação da concentração sérica da Proteína C-reativa ultra sensível (PCR-US) foi realizada por método de turbidimetria, utilizando o Kit da BioSystems e o aparelho Analisador Automático A15 marca BioSystems. Os valores foram expressos em mg/l.

Fator de necrose tumoral - α

Os níveis séricos do TNF- α foram determinados por ensaio imunométrico enzimático usando o Kit comercial TiterZyme® EIA da *Assay Designs, Michigan, USA*, específico para TNF- α humano (Catálogo nº 900-099). Os valores foram expressos em pg/ml.

6.7 Avaliação da função endotelial e da fibrinólise

ICAM-1, VCAM-1, sE-Selectina e PAI-1

A determinação das concentrações séricas de ICAM-1, VCAM-1, E-Selectina e PAI-1 foi realizada através de método enzimático-imunonefelométrico-imunoensaio, utilizando-se o Kit comercial de dosagens múltiplas: *Human Cardiovascular Disease Panel 1 Lincoplex (Cat. HCVD1-67AK)*, da LINCO Research, St Louis, USA. Os valores foram expressos em ng/ml.

6.8 Avaliação do metabolismo do cálcio

Cálcio sérico e urinário

Os níveis séricos e a excreção urinária de cálcio foram determinados por complexometria automatizada. O cálcio sérico ionizado foi determinado utilizando-se os valores séricos de proteínas totais, dosadas por método colorimétrico (Miller, 1999).

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

Paratormônio

Os níveis séricos de PTH (molécula intacta) foram determinados através de eletroquimioluminescência com Kit comercial da Roche Brasil, Rio de Janeiro, Brasil (Hackeng *et al.*, 1986; Parnham *et al.*, 1986). Os valores foram expressos em pg/ml.

1,25 diidroxivitamina D

As concentrações séricas de 1,25(OH)₂D foram avaliadas por radioimunoensaio utilizando o Kit comercial da DiaSorin Ltda, São Paulo, Brasil (DeLuca, 1981; Hollis, 1986). Os valores foram expressos em pg/ml.

6.9 Avaliação do consumo alimentar

Consumo alimentar habitual de cálcio

A avaliação do consumo alimentar habitual de cálcio (antes do início do estudo) foi realizada na semana 0, através do registro alimentar de 3 dias (anexo 6). O consumo habitual de cálcio foi avaliado com o objetivo de excluir os pacientes com ingestão ≥ 500 mg/dia.

O registro alimentar é um método de avaliação dietética que documenta a ingestão alimentar à medida que ela ocorre; os pacientes informaram por escrito a qualidade e a quantidade de todos os alimentos ingeridos durante 3 dias (incluindo 2 dias durante a semana e 1 dia de final de semana). O registro alimentar foi avaliado utilizando-se o *software* Nutwin.

Consumo alimentar durante a realização do estudo

A avaliação do consumo alimentar durante a realização do estudo foi realizada através do registro alimentar de 3 dias (anexo 6), entregue nas semanas 4, 8, 12 e 16. O consumo alimentar de cada paciente foi avaliado através da média dos 12 dias de registro alimentar ao longo de todo o estudo.

Consumo alimentar de proteínas e sódio

O consumo alimentar de proteínas e sódio foi estimado através da excreção urinária de uréia e sódio respectivamente, determinados na urina de 24h na semana 0 e semana 16. Os pacientes receberam informações detalhadas sobre a coleta da urina de 24h, entretanto este procedimento é sujeito a inúmeros erros, sendo assim só foram consideradas as excreções urinárias de sódio e uréia quando o clearance de creatinina era ≥ 70 ml/min, pois todos os pacientes apresentavam níveis séricos de creatinina dentro da normalidade.

A uréia urinária foi avaliada por método cinético e o sódio por técnica automatizada.

6.10 Análise estatística dos dados

Foram utilizadas para a descrição das variáveis contínuas, as médias aritméticas e seus respectivos erros padrões. O teste t para amostras independentes foi usado para avaliar as diferenças nas variáveis contínuas entre os 2 grupos no início do estudo (semana 0), e entre os participantes que completaram e não completaram o estudo. A apreciação estatística da comparação de proporções foi baseada no teste Qui-quadrado.

As comparações intra (semana 0 vs. semana 16) e inter (DRC vs DPC) grupo das variáveis bioquímicas foram realizadas através do teste t. Para os parâmetros antropométricos e os níveis de PA (que foram avaliados nas semanas 0, 4, 8, 12 e 16), as comparações intra e inter grupo foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas.

Os valores de triglicerídeos, insulina, leptina, PTH, HOMA-IR, PCR-US, PAI-1, ICAM-1 e E-selectina não apresentavam distribuição normal, portanto o logaritmo natural dessas variáveis foi utilizado nas análises.

A correlação entre variáveis contínuas foi determinada através do coeficiente de correlação de Pearson. O nível de significância estatística adotado foi $p < 0,05$. Todas

as análises foram realizadas usando o software STATA (v.8.2, StataCorp, College Station, TX, USA).

Cálculo do tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi calculado para detectar-se uma diferença mínima de peso de 5% entre os grupos de tratamento, com erro tipo I de 0,05 e erro tipo II de 0,20. Nestas condições, o tamanho mínimo da amostra poderia assumir valores entre 20 e 25 indivíduos para cada grupo.

Randomização

Foi utilizado o aplicativo estatístico STATA 8.2 para realizar a alocação nos grupos “DRC” e “DPC”. Procedeu-se a uma randomização em blocos descrita por Ryan (2000).

6.11 Questões éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (1152-CEP/HUPE – CAAE: 0027.0.228.000-05), antes do início de sua realização. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 7), após esclarecimento sobre os objetivos e métodos do estudo, e antes de qualquer procedimento do mesmo.

7 RESULTADOS

7 RESULTADOS

7.1 Caracterização da população do estudo

Foram randomizados 50 indivíduos obesos para participação no presente estudo, sendo alocados 25 participantes no grupo da DRC e 25 no grupo da DPC. As características principais dos participantes no início do estudo (semana 0) estão apresentadas na Tabela 1, segundo o grupo de tratamento. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as características iniciais dos 2 grupos em relação a todos os parâmetros avaliados.

Tabela 1. Características iniciais dos participantes obesos, de acordo com o grupo de estudo.

Característica	Dieta rica em cálcio (n = 25)	Dieta pobre em cálcio (n=25)	p
Idade (anos)	37,92 ± 1,99	42,92 ± 1,96	0,08
Raça (não branco/branco)	24/1	21/4	0,15
Sexo (feminino/masculino)	23/2	22/3	0,64
Peso corporal (kg)	85,52 ± 1,80	82,08 ± 1,89	0,19
Índice de massa corporal (kg/m ²)	32,43 ± 0,28	32,02 ± 0,27	0,31
Gordura corporal (kg)	36,56 ± 0,77	34,59 ± 0,80	0,08
Gordura corporal (%)	42,92 ± 0,73	42,41 ± 0,93	0,67
Circunferência da cintura (cm)	100,18 ± 1,04	98,4 ± 1,14	0,26
Circunferência do quadril (cm)	113,39 ± 1,16	111,30 ± 1,34	0,24
Relação cintura quadril	0,88 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,92
Índice de conicidade	1,27 ± 0,01	1,26 ± 0,01	0,73
Pressão arterial sistólica (mmHg)	115,73 ± 2,17	113,60 ± 1,57	0,43
Pressão arterial diastólica (mmHg)	75,23 ± 1,75	71,48 ± 1,72	0,13
Frequência cardíaca (bpm)	72,42 ± 3,36	72,38 ± 1,67	0,95
Glicose (mg/dl)	98,04 ± 1,67	95,00 ± 2,54	0,32
Colesterol total (mg/dl)	197,58 ± 7,59	214,04 ± 10,20	0,20
HDL-colesterol (mg/dl)	50,09 ± 3,14	50,96 ± 1,80	0,80
LDL-colesterol (mg/dl)	120,53 ± 6,38	133,48 ± 8,59	0,24
Triglicérides (mg/dl)	142,72 ± 16,02	146,64 ± 13,28	0,85
Cálcio sérico total (mg/dl)	9,38 ± 0,08	9,54 ± 0,09	0,19
Cálcio sérico ionizado (mg/dl)	5,28 ± 0,04	5,38 ± 0,05	0,12
Cálcio urinário (mg/24h)	199,46 ± 22,98	162,41 ± 20,00	0,23
Uréia urinária (g/24h)	21,15 ± 1,37	20,72 ± 1,26	0,82
Sódio urinário (mEq/24h)	234,52 ± 21,28	205,10 ± 17,60	0,29

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média.

HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade

Dos 198 participantes da avaliação preliminar, 50 foram randomizados e 39 completaram as 16 semanas de acompanhamento (19 na DRC e 20 na DPC) (Figura 1). Após a randomização, houve 22% de perdas, que foram semelhantes nos 2 grupos. Os motivos para as perdas de paciente incluíram mudança de domicílio para área distante (n=1), mudança de emprego e/ou horário de trabalho (n=4), doença ou morte de familiar (n=2), desistência voluntária do estudo (n=2) e falta de interesse (n=2).

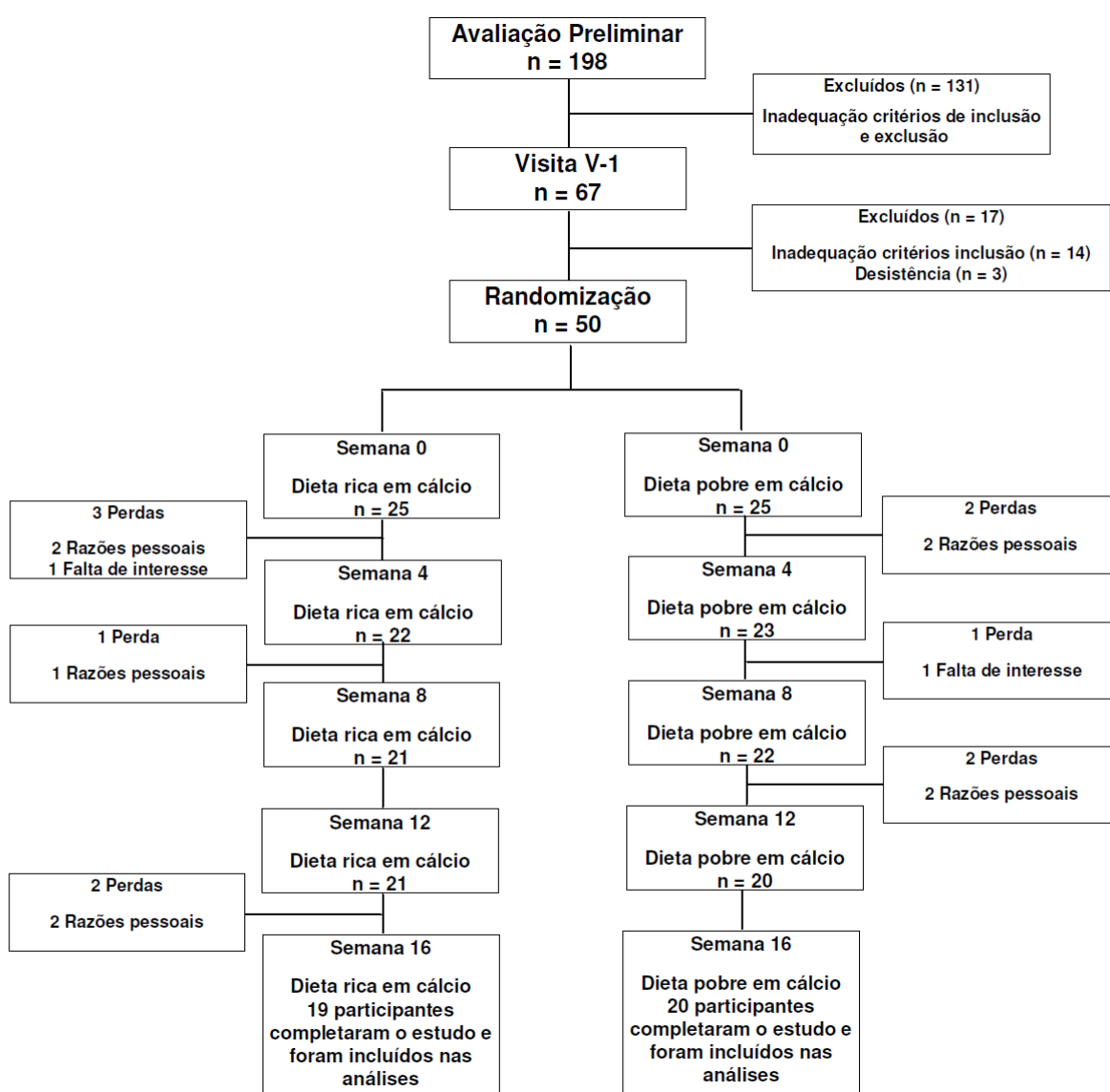


Figura 1. Representação esquemática do fluxo de pacientes da avaliação preliminar ao final do estudo

Não foram observadas diferenças significativas em relação a maioria das características iniciais dos participantes que descontinuaram o protocolo de estudo e os indivíduos que permaneceram na intervenção. A única exceção foi em relação a raça, pois todos os participantes que não completaram o estudo eram não brancos.

7.2 Características da ingestão dietética

A ingestão alimentar dos 2 grupos de pacientes (avaliada através do registro alimentar de 3 dias, entregue nas semanas 4, 8, 12 e 16) foi similar em relação ao VET e ao teor de macronutrientes, fibras e vitamina C. Apenas a ingestão de cálcio foi significativamente maior nos participantes alocados na DRC em comparação com os participantes da DPC ($p < 0,001$).

Tabela 2. Ingestão alimentar diária de nutrientes com base em 12 registros alimentares, de acordo com o grupo de estudo.

Nutriente	Dieta rica em cálcio (n = 19)	Dieta pobre em cálcio (n=20)	p
Valor energético total (Kcal/dia)	1741,8 ± 44,8	1708,0 ± 50,7	0,62
Proteínas (% VET)	21,5 ± 0,5	20,9 ± 0,4	0,28
Lipídeos (% VET)	28,3 ± 0,5	27,8 ± 0,7	0,55
AG saturados (% VET)	6,4 ± 0,03	7,0 ± 0,04	0,36
Colesterol (mg/dia)	240,3 ± 1,2	254,3 ± 1,1	0,19
Carboidratos (% VET)	50,2 ± 0,5	51,4 ± 0,6	0,14
Fibras (g/dia)	15,4 ± 0,4	16,9 ± 0,4	0,32
Cálcio (mg/dia)	1233,9 ± 19,2	462,8 ± 13,6	<0,001
Vitamina C (mg/dia)	128,4 ± 0,9	140,3 ± 0,8	0,53

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média.

VET = valor energético total, AG = ácidos graxos

7.3 Avaliação antropométrica

Durante as 16 semanas de acompanhamento, o déficit energético de 800Kcal/dia produziu redução significativa de todos os parâmetros antropométricos avaliados no estudo, tanto nos participantes alocados na DRC ($p < 0,001$) quanto na DPC ($p < 0,001$) (Tabela 3).

A análise comparativa das 2 dietas evidenciou que a DRC em comparação com a DPC induziu maior redução em todas as variáveis antropométricas, havendo diferença estatisticamente significativa em relação aos parâmetros de adiposidade abdominal (CC, RCQ e índice de conicidade) (Tabela 3 e Figura 2). Na Figura 2 encontram-se os valores médios das variáveis antropométricas em todas as visitas do estudo.

Tabela 3. Valores médios das variáveis antropométricas no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

	Dieta rica em cálcio (n = 19)			Dieta pobre em cálcio (n = 20)			p **
	Semana 0	Semana 16	Δ	Semana 0	Semana 16	Δ	
PC (kg)	83,7 \pm 2,0	78,6 \pm 2,1	-5,1 \pm 0,8*	82,2 \pm 2,3	78,3 \pm 2,5	- 3,8 \pm 0,6*	0,24
IMC (kg/m ²)	32,2 \pm 0,3	30,2 \pm 0,4	-2,0 \pm 0,3*	32,1 \pm 0,3	30,6 \pm 0,5	- 1,5 \pm 0,3*	0,32
GC (kg)	36,1 \pm 0,9	31,8 \pm 1,1	-4,3 \pm 0,7*	34,4 \pm 1,0	31,2 \pm 1,2	- 3,2 \pm 0,5*	0,22
GC (%)	43,2 \pm 0,7	40,5 \pm 0,8	-2,7 \pm 0,4*	42,2 \pm 1,2	40,0 \pm 1,2	- 2,2 \pm 0,4*	0,41
CC (cm)	98,8 \pm 1,2	91,2 \pm 1,26	-7,7 \pm 0,9*	98,8 \pm 1,3	93,4 \pm 1,45	- 5,4 \pm 0,6*	0,04
CQ (cm)	113,5 \pm 1,6	109,1 \pm 1,6	-4,4 \pm 0,8*	111,4 \pm 1,6	108,4 \pm 1,8	-3,0 \pm 0,5*	0,11
RCQ	0,88 \pm 0,01	0,83 \pm 0,01	-0,04 \pm 0,00*	0,89 \pm 0,02	0,86 \pm 0,02	-0,03 \pm 0,00*	0,009
IC	1,26 \pm 0,01	1,20 \pm 0,01	-0,06 \pm 0,01*	1,2 \pm 0,01	1,22 \pm 0,13	-0,04 \pm 0,00*	0,003

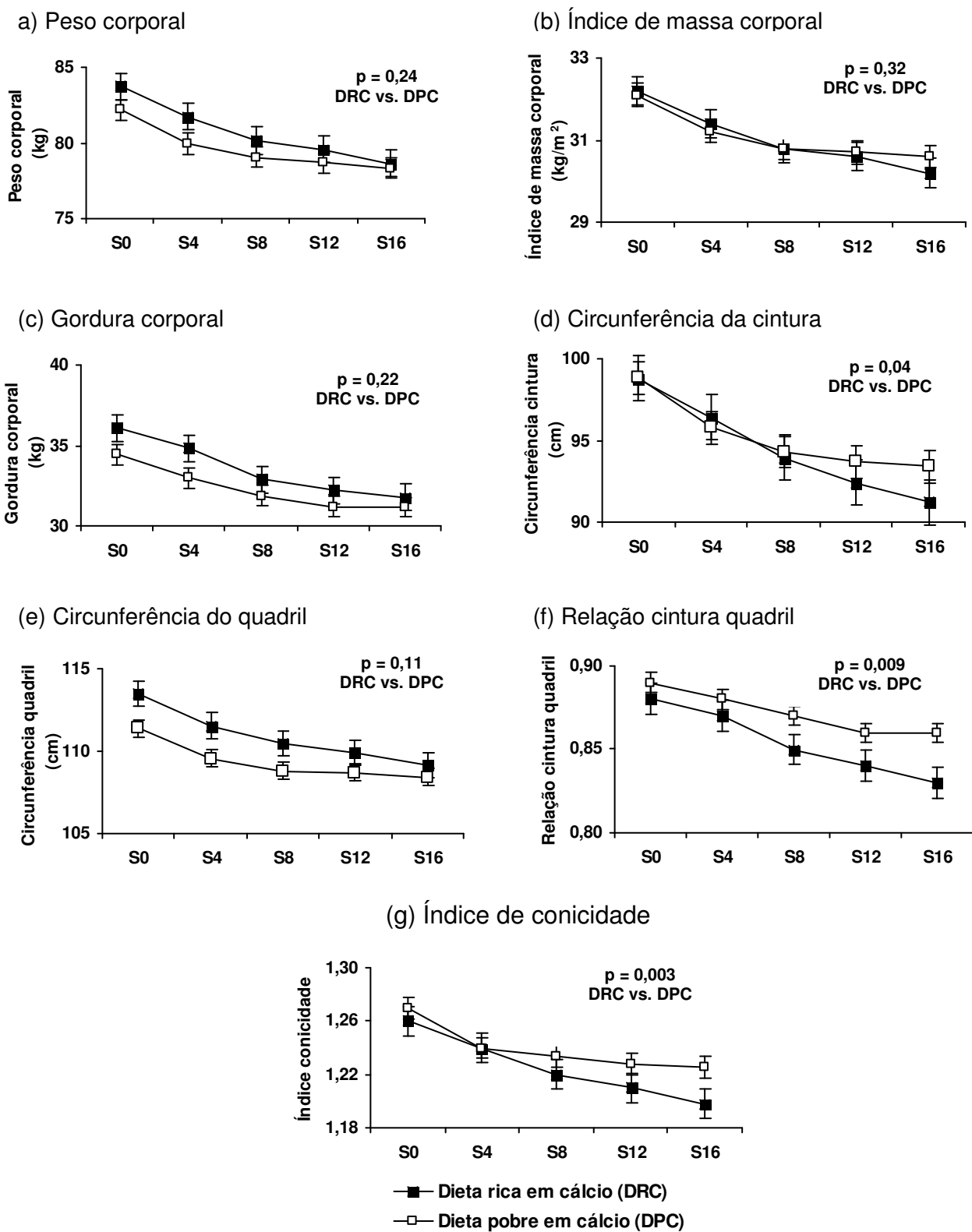
Os valores são expressos como média \pm erro padrão da média

Δ = semana 16 – semana 0, PC = peso corporal, IMC = índice de massa corporal, GC = gordura corporal, CC = circunferência da cintura, CQ = circunferência do quadril, RCQ = relação cintura quadril e IC = índice de conicidade

* Valor p <0,001 para modificação ao longo do tempo do estudo (semanas 0, 4, 8, 12 e 16) em cada intervenção dietética

** Valor p para dieta rica em cálcio vs. dieta pobre em cálcio

Os dados foram analisados utilizando ANOVA para medidas repetidas



S = semana

Figura 2. Valores médios das variáveis antropométricas durante o estudo, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

7.4 Avaliação do metabolismo glicídico, lipídico e leptina

As concentrações séricas em jejum de glicose, colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos e leptina apresentaram reduções significativas nos 2 grupos de estudo após as 16 semanas de acompanhamento (Tabela 4). A resistência à insulina, avaliada pelo HOMA-IR também apresentou redução significativa nos 2 grupos (Tabela 4). Entretanto, só foi observada redução significativa nos níveis séricos de insulina na DRC. Na DPC a redução na insulina apresentou tendência para ser significativa ($p = 0,06$). As concentrações séricas de HDL-colesterol se mantiveram sem alterações significativas durante todo o estudo, nos 2 grupos (Tabela 4).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas, entre os 2 grupos de estudo, em relação as modificações nas variáveis do metabolismo glicídico, do metabolismo lipídico e na leptina sérica (Tabela 4 e Figura 3).

Tabela 4. Valores médios das variáveis metabólicas no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

	Dieta rica em cálcio (n = 19)			Dieta pobre em cálcio (n = 20)			p ***
	Semana 0	Semana 16	Δ	Semana 0	Semana 16	Δ	
Glicose (mg/dl)	99,2±2,0	93,8±2,2	-5,4±1,8**	96,7±3,0	93,2±2,5	-3,5±1,3**	0,40
Insulina (μ U/ml)	20,8±1,5	17,0±1,5	-3,8±1,2**	21,8±2,5	18,3±2,2	-3,5±1,7	0,96
HOMA-IR	5,0±0,3	3,9±0,3	-1,1±0,3**	5,4±0,7	4,2±0,6	-1,2±0,4*	0,99
C-total (mg/dl)	206,7±8,8	190,9±9,1	-15,8±4,8**	211,3±11,4	198,2±9,9	-13,1±4,7**	0,69
HDL-C (mg/dl)	52,2±3,3	51,3±3,1	-0,9±1,4	49,6±2,0	50,0±2,3	0,4±1,4	0,53
LDL-C (mg/dl)	125,1±7,2	117,4±7,9	-7,7±4,4*	132,6±9,0	124,5±7,7	-8,1±4,0*	0,95
TG (mg/dl)	153,1±20,9	113,6±14,4	-39,5±12,1*	143,7±13,8	118,2±10,1	-25,5±6,8**	0,30
Leptina (ng/ml)	29,8±3,7	23,8±3,4	-6,0±2,3**	27,4±3,0	24,0±3,8	-3,4±2,0*	0,42

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

Δ = semana 16 – semana 0, HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade, C = colesterol, TG = triglicerídeos

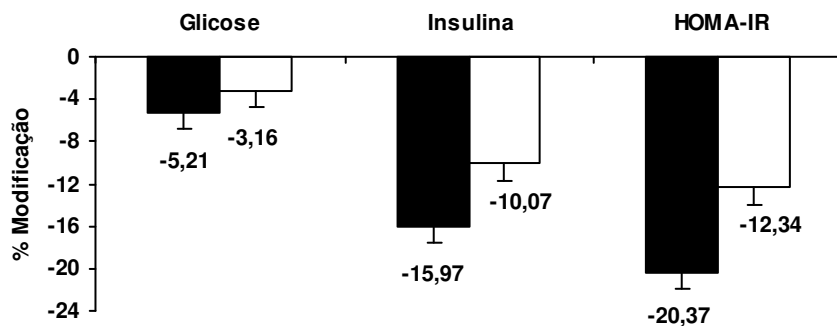
* Valor $p < 0,05$ para diferenças entre o início e o final do estudo (semanas 0 vs. semana 16) em cada intervenção dietética

** Valor $p < 0,01$ para diferenças entre o início e o final do estudo (semanas 0 vs. semana 16) em cada intervenção dietética

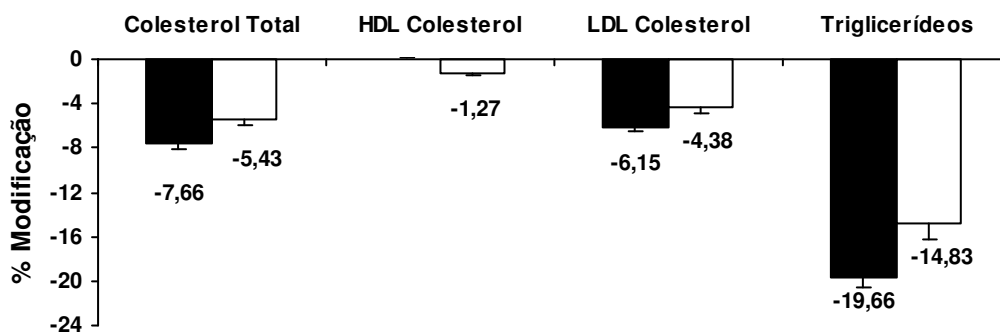
*** Valor p para dieta rica em cálcio vs. dieta pobre em cálcio

Os dados foram analisados utilizando o teste t

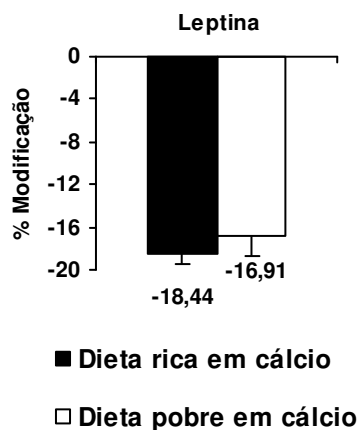
(a) Metabolismo glicídico



(b) Metabolismo lipídico



(c) Leptina



HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade

Figura 3. Modificações percentuais ao final do estudo (a) nas variáveis do metabolismo glicídico, (b) no metabolismo lipídico e (c) nas concentrações séricas de leptina, de acordo com a intervenção dietética.

7.5 Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca

Foram observadas reduções significativas na PA sistólica, diastólica e média, nos dois grupos de estudo, ao longo das 16 semanas de acompanhamento (Tabela 5). Os valores de frequência cardíaca permaneceram inalterados durante todo o período do estudo tanto na DRC quanto na DPC (Tabela 5).

As comparações das mudanças na PA entre os 2 grupos evidenciou redução significativamente maior nos valores da PA diastólica e média na DRC (Tabela 5 e Figura 4).

Tabela 5. Valores médios da pressão arterial e da frequência cardíaca no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

	Dieta rica em cálcio (n = 19)			Dieta pobre em cálcio (n = 20)			p ***
	Semana 0	Semana 16	Δ	Semana 0	Semana 16	Δ	
PAS (mmHg)	117,5±2,6	108,9±2,5	-8,6±1,5**	113,8±1,9	109,8±1,9	- 4,0±1,1**	0,13
PAD (mmHg)	76,0±2,0	68,9±2,1	-7,0±1,2**	71,0±1,8	67,8±1,3	- 3,2±1,1*	0,04
PAM (mmHg)	90,4±2,1	82,2±2,2	-7,5±1,1**	85,8±1,8	81,7±1,4	-3,4±0,9**	0,03
FC (bpm)	73,5±4,5	74,5±2,1	1,0±3,8	71,7±20,6	72,6±2,1	0,9±1,6	0,99

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

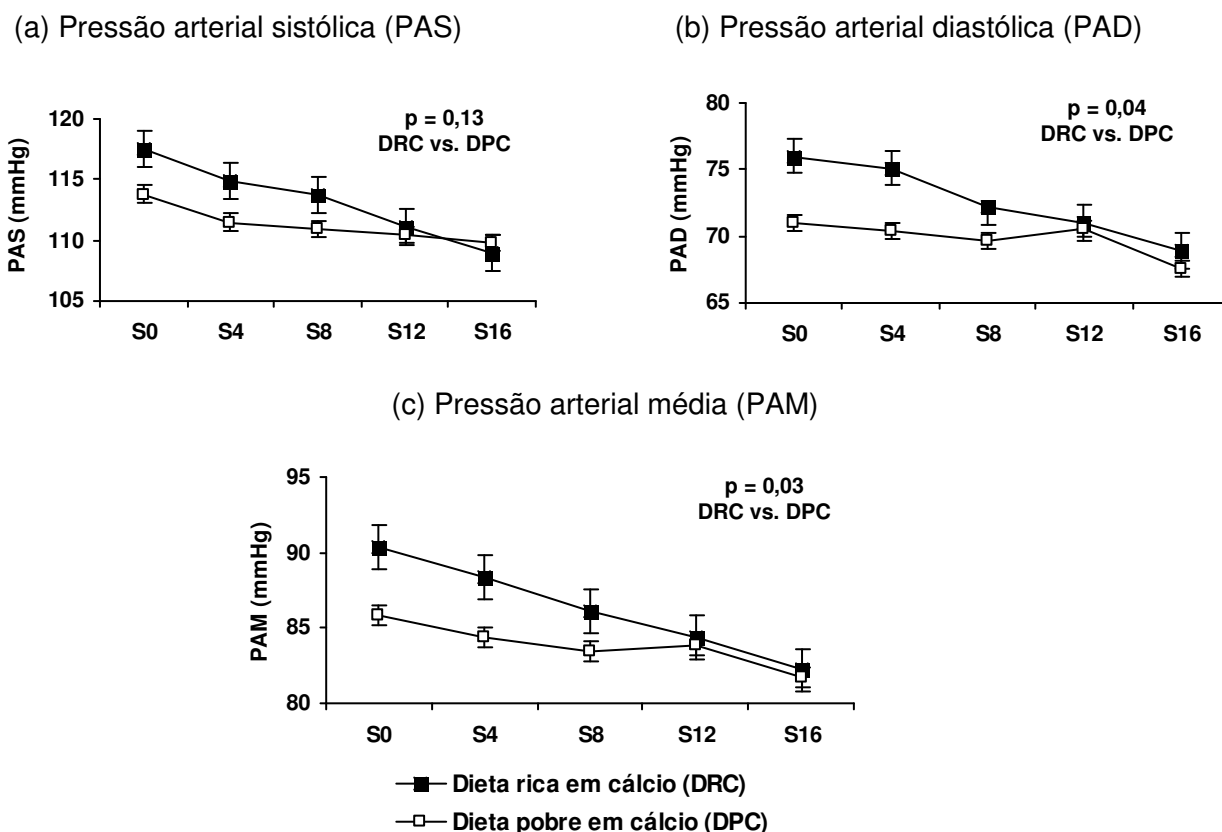
Δ = semana 16 – semana 0, PAS = pressão arterial sistólica, PAD = pressão arterial diastólica, PAM = pressão arterial média

* Valor p < 0,05 para modificação ao longo do tempo do estudo (semanas 0, 4, 8, 12 e 16) em cada intervenção dietética

** Valor p < 0,01 para modificação ao longo do tempo do estudo (semanas 0, 4, 8, 12 e 16) em cada intervenção dietética

*** Valor p para dieta rica em cálcio vs. dieta pobre em cálcio

Os dados foram analisados utilizando ANOVA para medidas repetidas



S = Semana

Figura 4. Valores médios da (a) pressão arterial sistólica, (b) pressão arterial diastólica e (c) pressão arterial média durante o estudo, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

7.6 Avaliação dos biomarcadores inflamatórios e da fibrinólise

Os participantes tanto da DRC quanto da DPC apresentaram reduções nas concentrações séricas dos biomarcadores inflamatórios (PCR-US e TNF- α) e do PAI-1 durante a realização do estudo, porém sem alcançar significância estatística (Tabela 6). Não foram observadas diferenças significativas entre as 2 intervenções dietéticas em relação as modificações nesses biomarcadores (Tabela 6 e Figura 5).

Tabela 6. Valores médios das concentrações séricas dos biomarcadores inflamatórios e do inibidor do ativador do plasminogênio-1 no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

	Dieta rica em cálcio (n = 19)			Dieta pobre em cálcio (n = 20)			p *
	Semana 0	Semana 16	Δ	Semana 0	Semana 16	Δ	
PCR-US (mg/l)	2,58±0,20	2,53±0,25	-0,05±0,18	3,48±0,45	3,42±0,45	-0,06±0,41	0,76
TNF-α (pg/ml)	3,12±0,62	3,01±0,40	-0,10±0,77	4,09±0,82	3,43±0,68	-0,65±0,87	0,64
PAI-1 (pg/dl)	106,35±8,2	101,45±9,3	-4,90±6,78	101,85±14,6	89,20±9,36	-12,65±0,1	0,95

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média

Δ = semana 16 – semana 0, PCR-US = proteína C reativa ultra sensível, TNF-α = fator de necrose tumoral-α, PAI-1 = inibidor do ativador do plasminogênio-1

* Valor p para dieta rica em cálcio vs. dieta pobre em cálcio

Os dados foram analisados utilizando o teste t

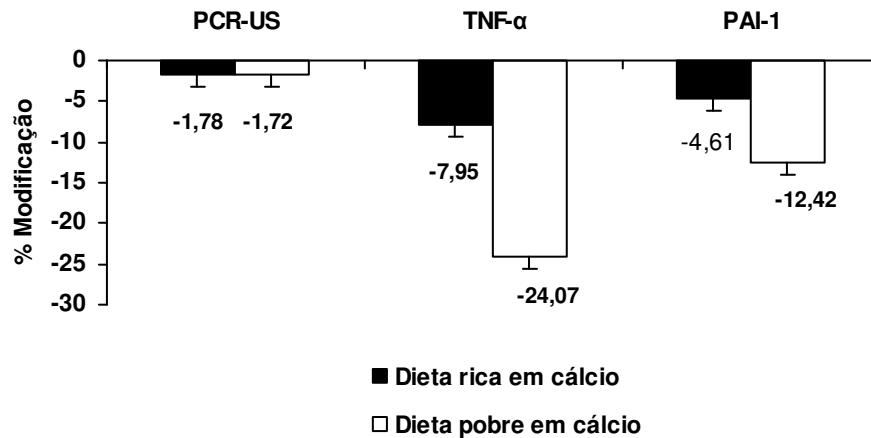


Figura 5. Modificações percentuais ao final do estudo nas concentrações séricas da proteína C-reativa ultra sensível (PCR-US), do fator de necrose tumoral-α (TNF-α) e do inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1), de acordo com a intervenção dietética.

7.7 Avaliação da função endotelial

Após as 16 semanas de restrição energética houve redução nas concentrações séricas das moléculas de adesão celular (ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina) nas 2

intervenções dietéticas, alcançado significância estatística na DRC em relação a ICAM-1 e a E-selectina e na DPC em relação a ICAM-1 (Tabela 7). Houve uma tendência para redução significativa nas concentrações séricas da VCAM-1 na DRC ($p = 0,06$) e da E-selectina na DPC ($p = 0,06$).

As modificações séricas nesses biomarcadores da função endotelial foram semelhantes nas 2 dietas (Tabela 7).

Tabela 7. Valores médios das concentrações séricas dos biomarcadores da função endotelial no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

	Dieta rica em cálcio (n = 19)			Dieta pobre em cálcio (n = 20)			p ^{***}
	Semana 0	Semana 16	Δ	Semana 0	Semana 16	Δ	
ICAM-1 (pg/dl)	156,3±25,7	140,9±24,8	-15,4±5,9**	182,2±37,2	158,7±29,2	-23,6±10,0*	0,87
VCAM-1 (pg/dl)	899,2±53,3	783,7±55,3	-115,4±57,3	982,0±87,4	930,2±93,4	-51,8±81,0	0,53
E-selectina (pg/dl)	32,2±3,1	29,0±3,0	-3,2±0,78*	32,7±3,2	30,3±3,3	-2,4±1,2	0,55

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

Δ = semana 16 – semana 0, ICAM-1 = molécula de adesão intracelular-1, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular-1

* Valor $p < 0,01$ para diferenças entre o início e o final do estudo (semanas 0 vs. semana 16) em cada intervenção dietética

** Valor $p < 0,001$ para diferenças entre o início e o final do estudo (semana 0 vs. semana 16) em cada intervenção dietética

*** Valor p para dieta rica em cálcio vs. dieta pobre em cálcio

Os dados foram analisados utilizando o teste t

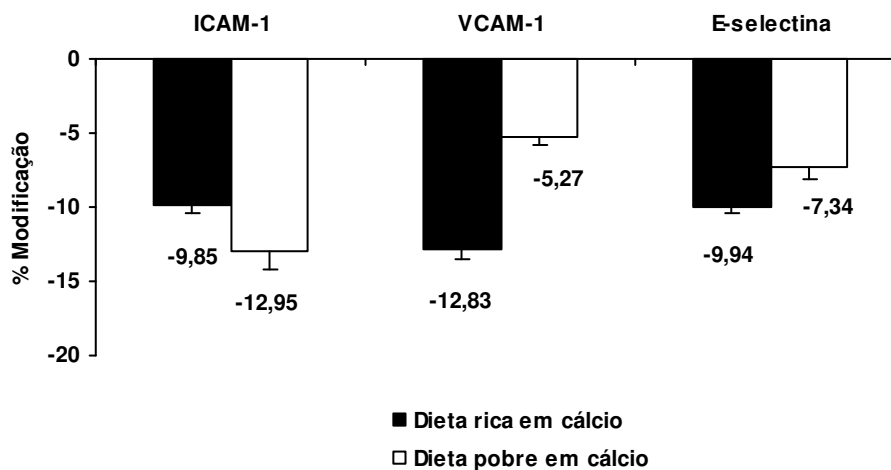


Figura 6. Modificações percentuais ao final do estudo nas concentrações séricas da molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), da molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e da E-selectina, de acordo com a intervenção dietética.

7.8 Avaliação do metabolismo do cálcio

As concentrações séricas de cálcio total e de cálcio ionizado não apresentaram modificações significativas, comparando-se os valores iniciais (semana 0) e finais (semana 16) nas duas intervenções dietéticas (Tabela 8). A excreção urinária de cálcio também se manteve constante durante todo o estudo nos 2 grupos (Tabela 8). Os níveis séricos do PTH e do calcitriol apresentaram reduções significativas ao final das 16 semanas de acompanhamento apenas nos participantes da DRC, permanecendo praticamente inalterados na DPC (Tabela 8). A redução nos níveis séricos do PTH foi significativamente maior na DRC em comparação com a DPC (Tabela 8)

Tabela 8. Valores médios cálcio sérico, cálcio urinário, paratormônio e calcitriol no início do estudo e após 16 semanas, nos diferentes grupos de ingestão de cálcio.

	Dieta rica em cálcio (n = 19)			Dieta pobre em cálcio (n = 20)			p ***
	Semana 0	Semana 16	Δ	Semana 0	Semana 16	Δ	
Ca ⁺⁺ S T (mg/dl)	9,34±0,09	9,50±0,10	0,16±0,13	9,46±0,1	9,40±0,09	-0,06±0,13	0,23
Ca ⁺⁺ S I (mg/dl)	5,25±0,04	5,29±0,06	0,04±0,08	5,41±0,05	5,36±0,06	-0,05±0,08	0,42
Ca ⁺⁺ U (mg/24h)	186,8±28,1	195,5±57,4	8,76±36,92	162,2±25,1	149,7±14,9	-12,5±24,7	0,99
Ca ⁺⁺ /Cr U 24h	0,13±0,02	0,16±0,02	-0,03±0,02	0,12±0,01	0,12±0,01	-0,00±0,01	0,25
PTH (pg/ml)	34,20±2,98	29,3±2,69	-4,90±1,27**	31,05±2,17	31,40±2,19	0,5±2,09	0,04
Calcitriol (pg/ml)	82,67±3,97	71,51±3,74	-11,2±5,06*	64,08±3,87	64,04±3,72	-0,03±4,86	0,12

Os valores são expressos como média ± erro padrão da média

Δ = semana 16 – semana 0, S = sérico, T = total, I = ionizado, U = urina, Cr = creatinina, PTH = paratormônio

* Valor p < 0,05 para diferenças entre o início e o final do estudo (semanas 0 vs. semana 16) em cada intervenção dietética

** Valor p < 0,01 para diferenças entre o início e o final do estudo (semanas 0 vs. semana 16) em cada intervenção dietética

*** Valor p para dieta rica em cálcio vs. dieta pobre em cálcio

Os dados foram analisados utilizando o teste t

7.9 Avaliação da excreção urinária de uréia e sódio

Ao final do estudo (semana 16) a excreção urinária de uréia foi semelhante na DRC e na DPC ($22,07 \pm 1,94$ vs. $21,47 \pm 1,15$ g/dia, $p=0,78$). Da mesma forma, a excreção urinária de sódio na semana 16 foi semelhante na DRC e na DPC ($193,24 \pm 18,19$ vs. $233,81 \pm 17,98$ mEq/dia, $p=0,13$).

7.10 Associações entre as modificações nos parâmetros antropométricos e as variações no perfil metabólico, na pressão arterial e nos biomarcadores inflamatórios e da função endotelial

As modificações em diferentes parâmetros de adiposidade global e de adiposidade abdominal durante a realização do estudo apresentaram associações significativas com as alterações em diferentes variáveis metabólicas, valores de PA e biomarcadores inflamatórios. Estas análises foram realizadas considerando-se todos os participantes do estudo ($n=39$) (Tabela 9).

A correlação entre as modificações nas concentrações séricas da E-selectina e as variações no IMC apresentou uma tendência para ser significativa ($p = 0,05$), da mesma forma que a correlação entre as modificações neste biomarcador e as variações na CC ($p = 0,08$).

Tabela 9. Correlações entre as modificações nas variáveis antropométricas e as variações nos níveis de pressão arterial e parâmetros metabólicos ao final do estudo (semana 16 – semana 0) (n=39)

	Δ IMC (Kg/m ²)		Δ Gordura corporal (%)		Δ Circunferência cintura (cm)		Δ Relação cintura quadril		Δ Índice de conicidade	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Δ Glicose (mg/dl)	0,25	0,12	0,23	0,16	0,38	0,02	0,22	0,20	0,35	0,03
Δ Insulina (μ U/ml)	0,59	<0,001	0,56	<0,001	0,41	0,01	0,12	0,49	0,15	0,38
Δ HOMA-IR	0,61	<0,001	0,58	<0,001	0,46	0,003	0,16	0,36	0,21	0,20
Δ C total (mg/dl)	0,21	0,20	0,19	0,24	0,28	0,09	0,16	0,34	0,22	0,18
Δ TG (mg/dl)	0,35	0,03	0,32	0,05	0,51	0,001	0,35	0,04	0,46	0,004
Δ HDL-C (mg/dl)	0,27	0,10	0,28	0,09	0,29	0,08	0,14	0,40	0,20	0,21
Δ LDL-C (mg/dl)	0,06	0,73	0,04	0,79	0,10	0,56	0,10	0,58	0,09	0,58
Δ Leptina (ng/ml)	0,67	<0,001	0,71	<0,001	0,54	<0,001	0,20	0,24	0,36	0,02
Δ PA sistólica (mmHg)	0,43	0,007	0,41	0,01	0,31	0,05	0,15	0,39	0,12	0,49
Δ PA diastólica (mmHg)	0,38	0,02	0,28	0,09	0,49	0,002	0,23	0,20	0,43	0,008
Δ PCR-US (mg/l)	0,19	0,31	0,18	0,34	0,35	0,04	0,26	0,17	0,33	0,06
Δ TNF- α (pg/ml)	-0,01	0,96	-0,05	0,79	0,01	0,99	0,14	0,45	0,02	0,89
Δ PAI-1 (pg/dl)	0,01	0,96	0,07	0,71	-0,12	0,52	-0,23	0,29	-0,26	0,17
Δ ICAM-1 (pg/dl)	0,18	0,30	0,08	0,66	0,10	0,58	0,10	0,58	0,02	0,90
Δ VCAM-1 (pg/dl)	0,01	0,94	0,05	0,77	-0,05	0,80	-0,10	0,59	-0,11	0,55
Δ E-selectina (pg/dl)	0,31	0,05	0,29	0,08	0,17	0,33	0,11	0,52	-0,02	0,99

Δ = Variação (semana 16 – semana 0), IMC = índice de massa corporal, C = colesterol TG = triglicerídeos, HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade, PA = pressão arterial, PCR-US = proteína C-reativa ultra sensível, TNF- α = fator de necrose tumoral- α , PAI-1 = inibidor do ativador do plasminogênio 1, ICAM-1 = molécula de adesão intracelular-1, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular-1

7.11 Associações entre as modificações nos biomarcadores inflamatórios e as variações nas variáveis metabólicas e na pressão arterial

Na tabela 10 encontram-se os resultados das análises de correlação entre as modificações durante o estudo (semana 16 – semana 0) nos biomarcadores inflamatórios e as variações no perfil metabólico e na PA. As modificações nas concentrações séricas da PCR-US se associaram de forma positiva e significativa com as alterações nos valores séricos de insulina e no HOMA-IR (Tabela 10).

Tabela 10. Correlações entre as modificações nos biomarcadores inflamatórios e as variações no perfil metabólico e na pressão arterial ao final do estudo (semana 16 – semana 0) (n=39).

	Δ PCR-US (mg/l)		Δ TNF- α (pg/ml)	
	r	p	r	p
Δ Glicose (mg/dl)	0,06	0,76	-0,28	0,12
Δ Insulina (μ U/ml)	0,38	0,03	0,32	0,07
Δ HOMA-IR	0,36	0,04	0,26	0,16
Δ C total (mg/dl)	0,24	0,22	-0,01	0,98
Δ TG (mg/dl)	0,20	0,32	-0,07	0,73
Δ HDL-C (mg/dl)	0,25	0,18	0,02	0,91
Δ LDL-C (mg/dl)	0,15	0,44	0,01	0,96
Δ Leptina (ng/ml)	-0,07	0,70	0,07	0,70
Δ PA sistólica (mmHg)	-0,12	0,52	-0,07	0,71
Δ PA diastólica (mmHg)	0,34	0,05	-0,13	0,50
Δ PA média (mmHg)	-0,19	0,31	0,12	0,52
Δ PAI-1 (pg/dl)	-0,13	0,50	-0,15	0,45

Δ = Variação (semana 16 – semana 0), PCR-US = proteína C-reativa ultra sensível, TNF- α = fator de necrose tumoral- α , C = colesterol, TG = triglicerídeos, HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade, PA = pressão arterial, PAI-1 = inibidor do ativador do plasminogênio 1.

7.12 Associações entre os biomarcadores da função endotelial e as variáveis antropométricas, o perfil metabólico, os biomarcadores inflamatórios e a pressão arterial

No início do estudo (semana 0) foram observadas associações positivas e significativas entre: 1) as concentrações séricas da ICAM-1 e os valores da CC, 2) os níveis séricos da VCAM-1 e a glicemia e os valores do PAI-1, 3) as concentrações séricas da E-selectina e a glicemia e as concentrações séricas de PAI-1 (Tabela 11). Estas análises foram realizadas considerando-se todos os participantes do estudo (n=39).

As análises de correlação entre as modificações nas concentrações séricas das moléculas de adesão celular (semana 16 – semana 0) e as variações em algumas variáveis metabólicas, PA e biomarcadores inflamatórios encontram-se na Tabela 12.

As modificações na VCAM-1 apresentaram associação positiva e significativa com as variações nos valores séricos do PAI-1 e houve uma tendência para alcançar a significância estatística com as variações na insulina ($p = 0,05$) e no HOMA-IR ($p = 0,06$) (Tabela 12).

Tabela 11. Correlações entre os biomarcadores da função endotelial e os parâmetros antropométricos, o perfil metabólico, a pressão arterial e os biomarcadores inflamatórios no início do estudo (semana 0) (n=39).

	ICAM-1 (pg/dl)		VCAM-1 (pg/dl)		E-selectina (pg/dl)	
	r	p	r	p	r	p
IMC (Kg/m ²)	0,21	0,22	0,19	0,29	0,26	0,12
CC (cm)	0,39	0,02	0,12	0,50	0,18	0,29
Glicose (mg/dl)	0,15	0,40	0,43	0,01	0,40	0,01
Insulina (μU/ml)	0,26	0,13	-0,12	0,52	0,13	0,44
HOMA-IR	0,28	0,12	-0,02	0,93	0,22	0,21
C total (mg/dl)	-0,06	0,71	0,20	0,26	0,16	0,35
TG (mg/dl)	0,12	0,52	-0,05	0,76	0,12	0,48
HDL-C (mg/dl)	-0,04	0,82	0,15	0,40	0,10	0,55
LDL-C (mg/dl)	-0,15	0,40	0,24	0,18	0,09	0,60
Leptina (ng/ml)	0,10	0,56	0,03	0,87	0,07	0,66
PA sistólica (mmHg)	0,07	0,67	0,09	0,62	0,29	0,08
PA diastólica (mmHg)	0,06	0,73	-0,02	0,92	0,06	0,70
PA média (mmHg)	0,07	0,69	0,02	0,90	0,15	0,37
PCR-US (mg/l)	0,16	0,43	0,12	0,58	-0,01	0,97
TNF-α (pg/ml)	0,26	0,14	-0,17	0,53	-0,01	0,95
PAI-1 (pg/dl)	0,20	0,29	0,37	0,04	0,43	0,02

IMC = índice de massa corporal, CC = circunferência da cintura, C = colesterol, TG = triglicerídeos, HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade, PA = pressão arterial, PCR = Proteína C-reativa, PAI-1 = Inibidor do ativador do plasminogênio 1, ICAM = molécula de adesão intracelular-1, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular-1

Tabela 12. Correlações entre as modificações nos biomarcadores da função endotelial e as variações no perfil metabólico, na pressão arterial e nos biomarcadores inflamatórios ao final do estudo (semana 16 – semana 0) (n=39).

	Δ ICAM-1 (pg/dl)		Δ VCAM-1 (pg/dl)		Δ E-selectina (pg/dl)	
	r	p	r	p	r	p
Δ Glicose (mg/dl)	-0,16	0,35	0,05	0,78	-0,04	0,81
Δ Insulina (μ U/ml)	0,02	0,90	0,35	0,05	0,24	0,16
Δ HOMA-IR	-0,02	0,93	0,34	0,06	0,20	0,23
Δ C total (mg/dl)	0,19	0,28	-0,12	0,54	0,06	0,74
Δ TG (mg/dl)	-0,26	0,35	-0,04	0,84	0,14	0,43
Δ HDL-C (mg/dl)	0,26	0,13	0,15	0,42	0,18	0,28
Δ LDL-C (mg/dl)	0,26	0,15	-0,23	0,23	-0,04	0,80
Δ Leptina (ng/ml)	-0,01	0,92	0,24	0,28	0,24	0,15
Δ PA sistólica (mmHg)	-0,18	0,32	0,02	0,50	-0,06	0,72
Δ PA diastólica (mmHg)	0,03	0,85	-0,07	0,70	0,10	0,56
Δ PA média (mmHg)	0,05	0,76	0,04	0,84	-0,04	0,80
Δ PCR-US (mg/l)	0,10	0,61	0,19	0,31	0,19	0,33
Δ TNF- α (pg/ml)	-0,11	0,54	-0,11	0,58	0,16	0,36
Δ PAI-1 (pg/dl)	-0,12	0,53	0,40	0,04	-0,06	0,74

Δ = Variação (semana 16 – semana 0), C = colesterol, TG = triglicerídeos, HDL = lipoproteína de alta densidade, LDL = lipoproteína de baixa densidade, PA = pressão arterial, PCR-US = proteína C-reativa ultra sensível, TNF- α = fator de necrose tumoral- α , PAI-1 = inibidor do ativador do plasminogênio 1, ICAM = molécula de adesão intracelular-1, VCAM-1 = molécula de adesão celular vascular-1

8 DISCUSSÃO

8 DISCUSSÃO

Os principais achados deste estudo foram: 1) a restrição energética utilizada nos dois grupos de investigação foi capaz de reduzir significativamente em cada grupo as variáveis antropométricas e relacionadas ao metabolismo glicídico, lipídico (com exceção do HDL-colesterol) e leptina, além da PA e biomarcadores da função endotelial. 2) a DRC em comparação com a DPC causou redução significativamente maior na CC, RCQ, índice de conicidade, níveis séricos de PTH, PA diastólica e PA média.

As taxas de abandono em estudos nos quais são utilizadas intervenções dietéticas para induzir perda ponderal são elevadas, podendo atingir 40% a 50% dos pacientes, em estudos com duração de 12 meses (Foster *et al.*, 2003; Dansinger *et al.*, 2005). No presente estudo, 78% dos participantes completaram a intervenção de 16 semanas. Estudos utilizando metodologia similar, com suplementação de cálcio associada a déficit energético, obtiveram resultados semelhantes, com cerca de 80% dos participantes completando o estudo (Harvey-Berino *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005; Zemel *et al.*, 2004a).

8.1 Avaliação antropométrica

Adiposidade global

Os ensaios clínicos randomizados desenhados com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de cálcio dietético sobre a perda ponderal, durante restrição energética em obesos, apresentam resultados controversos. Esta inconsistência nos resultados pode ser devida a dois fatores principais, o primeiro deles é o pequeno número de artigos publicados até o presente momento e o segundo é a grande variabilidade nos desenhos de estudo. Existem estudos mostrando que os indivíduos

com suplementação de cálcio dietético apresentam perda ponderal significativamente maior em comparação com os indivíduos com baixa ingestão de cálcio (Zemel *et al.*, 2004a; Zemel *et al.*, 2005a). Enquanto outros não mostram efeitos benéficos da suplementação de cálcio sobre a perda ponderal (Harvey-Berino *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005; Wagner *et al.*, 2007).

A metodologia do presente estudo foi semelhante a dos 5 estudos citados no parágrafo anterior, ou seja, suplementação de cálcio dietético associada a restrição energética em indivíduos obesos. Os nossos resultados são similares aos de Harvey-Berino e colaboradores (2005) e Thompson e colaboradores (2005) que encontraram maior redução do peso corporal nos participantes da dieta rica em cálcio dietético, porém sem significância estatística.

No estudo de Thompson e colaboradores (2005) e de Harvey-Berino e colaboradores (2005) a perda ponderal alcançada após 12 meses (48 semanas) de intervenção com déficit energético de 500 Kcal/dia foi em média de -11,8 e -10,8kg respectivamente no grupo de pacientes com suplementação de laticínios e de -10,0 e -9,6kg respectivamente nos pacientes sem suplementação. A magnitude da perda ponderal foi maior nesses dois estudos, do que no nosso, onde observamos uma perda ponderal de -5,07 kg na DRC e -3,84 kg na DPC. Este fato pode ser explicado pelo maior tempo de duração (48 vs 16 semanas) e pela associação da restrição calórica com aumento na atividade física utilizada nos estudos de Thompson e colaboradores (2005) e Harvey-Berino e colaboradores (2005).

A redução no peso corporal observada nos nossos 2 grupos de tratamento está de acordo com a faixa de perda ponderal que normalmente é alcançada com intervenções dietéticas. Em uma revisão realizada por Franz e colaboradores (2007) sobre estudos desenhados para promover perda ponderal através de modificações no estilo de vida, foi observada redução média de 5,0 a 8,5 kg no peso corporal em 6 meses.

A diferença na perda ponderal entre a DRC e a DPC alcançada no presente estudo (-1,23kg, durante um acompanhamento de 16 semanas) está de acordo com as projeções feitas por Boon e colaboradores (2005) e Gunther e colaboradores (2005b) que avaliaram os efeitos da ingestão de cálcio dietético sobre a oxidação lipídica e

projetaram uma diferença de -3,0 e -4,7 Kg respectivamente no peso corporal durante o período de 1 ano.

As modificações na gordura corporal seguiram um padrão semelhante ao do peso corporal, ou seja, após as 16 semanas de intervenção, observou-se redução significativa neste parâmetro nas duas intervenções dietéticas, porém sem alcançar diferença significativa entre as mesmas, sendo de -4,29 kg na DRC e -3,28 kg na DPC ($p=0,22$). Nos estudos de Thompson e colaboradores. (2005) e Harvey-Berino e colaboradores (2005), também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de estudo em relação à redução da gordura corporal. Thompson e colaboradores (2005) encontraram reduções na gordura corporal do grupo com suplementação de laticínios em média de -9,0 vs. -7,5 kg no grupo sem suplementação de laticínios, durante os 12 meses de acompanhamento.

Adiposidade abdominal

Todos os parâmetros utilizados para avaliar a adiposidade abdominal neste estudo, apresentaram redução significativa nos 2 grupos intervenções dietéticas, havendo diminuição significativamente maior na DRC em comparação com a DPC. Este achado está de acordo com alguns ensaios clínicos randomizados que apontam para uma redução significativamente maior na obesidade abdominal com o uso da suplementação de laticínios associada à restrição energética, ou até mesmo associada a dieta normocalórica, sugerindo uma redistribuição da gordura corporal (Zemel *et al.*, 2004a; Zemel *et al.*, 2004b; Zemel *et al.*, 2005a; Zemel *et al.*, 2005b).

Zemel e colaboradores (2005a), publicaram um artigo relatando dois estudos randomizados realizados com suplementação de cálcio proveniente de laticínios (500 vs. 1200 mg/dia) em adultos obesos afro-americanos, um com dieta normocalórica e o outro com restrição energética. O primeiro estudo avaliou 34 indivíduos obesos recebendo dieta sem restrição energética por 24 semanas. O peso corporal se manteve constante nos dois grupos durante todo o estudo. Entretanto, o grupo com dieta rica em laticínios apresentou redução significativa da CC (-3,9 cm, $p<0,01$) em

comparação com os valores no início do estudo. O grupo com dieta pobre em laticínios não apresentou modificações significativas nesta variável durante o período do estudo.

No segundo estudo relatado por Zemel e colaboradores (2005a), realizado com restrição energética (-500 Kcal/dia), 29 indivíduos foram randomizados para receber dieta pobre ou rica em laticínios. Os participantes consumindo a dieta rica em laticínios apresentaram redução significativamente maior na CC (-5,4 vs. -1,7 cm; $p < 0,05$).

Wennergberg e colaboradores (2009) realizaram um estudo envolvendo 121 adultos, apresentando sobrepeso e características da síndrome metabólica que foram randomizados em um grupo com elevada ingestão de laticínios (3 – 5 porções/dia) e um grupo controle. Todos os participantes foram acompanhados durante 6 meses e não receberam orientações para modificar a ingestão energética. Dentre os participantes que apresentavam baixa ingestão de cálcio no início do estudo (< 700 mg/dia), aqueles alocados no grupo com elevada ingestão de laticínios apresentaram redução significativamente maior na CC e no diâmetro sagital abdominal em comparação com o grupo controle. Esse efeito dos laticínios sobre a obesidade abdominal exclusivamente nos participantes com baixa ingestão habitual de cálcio reforça um fato que já foi abordado na introdução, que é a possibilidade da existência de um limiar em relação à ingestão habitual de cálcio para que a suplementação deste mineral possa ter efeitos sobre a composição corporal.

Apesar dos dados do presente estudo e de outros estudos (Zemel *et al.*, 2004a; Zemel *et al.*, 2005a; Zemel *et al.*, 2005b; Wennergberg *et al.*, 2009) não distinguirem entre tecido adiposo abdominal visceral ou subcutâneo, a maior redução na obesidade abdominal é altamente sugestiva de uma mobilização aumentada de gordura visceral, portanto a suplementação de cálcio parece auxiliar na redução da adiposidade visceral.

Os mecanismos pelos quais o cálcio dietético pode auxiliar na redução da obesidade abdominal ainda não estão claros, porém alguns estudos descrevendo o papel da produção autócrina de cortisol pelo tecido adiposo fornecem uma explicação plausível (Zemel *et al.*, 2004a). O tecido adiposo humano expressa a enzima 11 β -Hidroxiesteróide desidrogenase-1 (11 β -HSD-1), que catalisa a conversão da cortisona em cortisol. Indivíduos obesos apresentam concentrações aumentadas do RNAm da 11 β -HSD-1 no tecido adiposo tanto subcutâneo quanto visceral (Desbriere *et al.*, 2006),

sugerindo que o metabolismo local de glicocorticóides no tecido adiposo de obesos é desviado para a formação de cortisol. Estudos com animais (Masuzaki *et al.*, 2001) e humanos (Engeli *et al.*, 2004) indicam que a expressão aumentada do gene da 11 β -HSD-1 no tecido adiposo está associada com características da síndrome metabólica incluindo o aumento na CC e a resistência à insulina.

Já foi demonstrado que o calcitriol estimula a expressão da 11 β -HSD-1 e a produção de cortisol em adipócitos humanos (Zemel & Sobhani, 2003; Morris & Zemel, 2005). Como dietas ricas em cálcio suprimem os níveis de calcitriol, foi proposto que a redução na obesidade central em dietas ricas em laticínios pode ser atribuída, em parte, a supressão dos níveis de calcitriol e a conseqüente redução na produção de cortisol pelos adipócitos (Zemel *et al.*, 2005a).

8.2 Metabolismo glicídico, lipídico e leptina

Metabolismo glicídico

As variáveis relacionadas ao metabolismo glicídico avaliadas neste estudo apresentaram diminuição significativa nos 2 grupos. As reduções foram discretamente maiores na DRC em comparação com a DPC em relação à glicemia de jejum (-5,21 vs -3,16%), insulinemia (-15,97 vs -10,07%) e HOMA (-20,37 vs -12,34%), porém sem alcançar diferenças significativas entre os 2 grupos.

Apesar de estudos epidemiológicos e realizados com cálcio suplementar terem observado associação negativa entre ingestão de cálcio e níveis de glicose, insulina ou resistência à insulina (Sánchez *et al.*, 1997; Choi *et al.*, 2005; Ma *et al.*, 2006; Pittas *et al.*, 2006; Pittas *et al.*, 2007b; Pikilidou *et al.*, 2009; Villegas *et al.*, 2009), os achados da presente intervenção são semelhantes aos observados em estudos com suplementação de cálcio dietético durante restrição energética (Zemel *et al.*, 2004a; Bowen *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2005).

Conforme esperado, ao analisarmos os dados de todos os participantes do nosso estudo encontramos associação positiva e significativa entre a redução no HOMA-IR e a modificação em diferentes variáveis antropométricas: IMC ($r=0,61$ e $p<0,001$), % gordura corporal ($r=0,61$ e $p<0,001$) e CC ($r=0,46$ e $p=0,003$). Existem numerosas evidências de que a perda ponderal é capaz de reduzir a resistência à insulina (ADA, 2007; Klein *et al.*, 2004).

Metabolismo lipídico

No presente estudo não foram observadas diferenças significativas entre os 2 grupos em relação as modificações no perfil lipídico. Um fator que pode ter contribuído para tal achado é que os 2 grupos de participantes foram orientados a ingerir uma dieta com aproximadamente 28% de lipídios, ou seja uma dieta normolipídica associada a restrição de alimentos com elevado teor de colesterol. Como o principal mecanismo de ação proposto para o cálcio sobre o perfil lipídico é através da redução na absorção de ácidos graxos e colesterol (Ditscheid *et al.*, 2005; Reid, 2004), provavelmente seus efeitos sejam intensificados em associação a dietas com maior teor de lipídios e colesterol e suprimidos em associação a dietas com teor adequado de lipídios como a do presente estudo.

Os estudos nos quais se associou a suplementação de cálcio dietético com restrição energética na vigência de dieta normolipídica, também não mostraram diferenças significativas entre os grupos com elevada ou reduzida ingestão de laticínios (Zemel *et al.*, 2004a; Thompson *et al.*, 2005; Bowen *et al.*, 2005).

Leptina

A leptina é um hormônio peptídico, codificado pelo gene *ob*, cuja principal fonte são os adipócitos e seus níveis circulantes se correlacionam diretamente com a massa de tecido adiposo (Fantuzzi, 2005; Ruhl *et al.*, 2007). O controle do balanço energético é o papel principal da leptina, enviando informações para o cérebro sobre a depleção ou acúmulo de tecido adiposo. A leptina atravessa a barreira hemato-encefálica onde

além de suprimir o apetite aumenta o gasto energético (Enriori *et al.*, 2006; Wisse, 2004). A leptina suprime a ingestão alimentar por inibir o neuropeptídeo Y, aumentar o hormônio estimulante do melanócito (MSH), e reduzir o peptídeo relacionado ao *agouti*, um antagonista do MSH no receptor MC4 (Stenvinkel *et al.*, 1999).

Os pacientes com obesidade apresentam níveis elevados de leptina, pois seus níveis séricos se correlacionam diretamente com a adiposidade global do indivíduo. Entretanto, esta hiperleptinemia não reduz o apetite e/ou aumenta o gasto energético, porque indivíduos com excesso de peso corporal são resistentes aos efeitos hipotalâmicos deste hormônio (Banks & Farrell, 2003; Enriori *et al.*, 2006; Wisse, 2004). Os mecanismos moleculares para esta resistência à leptina são alvo de muitas pesquisas e devem ser heterogêneos (Tups, 2009). Por outro lado, a perda ponderal está associada a uma redução nos níveis séricos de leptina (Wadden *et al.*, 1998; Thongo *et al.*, 2000).

Os resultados do presente estudo estão de acordo com as evidências disponíveis na literatura, mostrando redução significativa nos níveis de leptina após a perda ponderal nos 2 grupos de estudo. Houve redução média no peso corporal de -5,4% e nos níveis de leptina de -17,6%. Outros estudos com restrição energética encontraram associações semelhantes entre perda ponderal e redução dos níveis de leptina: Monzillo e colaboradores (2003) observaram perda ponderal de -7% e redução na leptina de -14%, enquanto Xenachis e colaboradores (2001) obtiveram -7% de perda ponderal com queda na leptina de -22%. Foi observada forte correlação positiva entre a redução da leptina e as modificações nos parâmetros de adiposidade global: IMC ($r = 0,67$ e $p < 0,001$) e na gordura corporal ($r = 0,71$ e $p < 0,01$), durante a realização do estudo nos 2 grupos de tratamento.

A redução nos níveis de leptina não diferiu significativamente entre a DRC e a DPC, no presente estudo. Este fato provavelmente reflete a ausência de diferença em relação à perda ponderal entre os grupos. Em um estudo que avaliou os efeitos da suplementação de cálcio dietético sobre os níveis de leptina durante restrição calórica, a suplementação de cálcio também não potencializou a redução nos níveis séricos de leptina (Thompson *et al.*, 2005).

8.3 Pressão arterial

A restrição energética utilizada no presente estudo levou a redução significativa dos níveis de PA nos 2 grupos. Foram observadas diferenças significativas entre a DRC e a DPC em relação a redução na PA diastólica e na PA média. Fato semelhante foi observado em diferentes ensaios clínicos randomizados com suplementação de cálcio (e/ou laticínios) incluídos nas meta-análises realizadas por van Mierlo e colaboradores (2006) e Griffith e colaboradores (1999).

Os resultados do presente trabalho também estão de acordo com o estudo DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*), publicado em 1997, no qual a adição de ± 3 porções de laticínios (principalmente leite desnatado) dobrou a redução na PA observada com a dieta rica em frutas e hortaliças (Appel *et al.*, 1997).

Apesar do efeito do cálcio sobre a PA ser pequeno, isto não descarta um efeito importante sobre as doenças cardiovasculares, pois uma intervenção a nível populacional que reduza os níveis médios de PA sistólica em 2 mmHg pode resultar na diminuição da mortalidade por acidente vascular encefálico em 6% e por doenças coronarianas em 4% (Whelton *et al.*, 2002). A ingestão adequada de cálcio, dentro da faixa recomendada por idade e sexo para adultos saudáveis (1000 – 1200 mg/dia) (Institute of Medicine, 1997) pode ser útil tanto no tratamento quanto na prevenção da HAS (McCarron & Reusser, 1999). Não existem evidências de benefícios adicionais com ingestões mais elevadas (McCarron & Reusser, 1999).

8.4 Biomarcadores inflamatórios

Proteína C-reativa ultra sensível

A PCR é uma proteína de resposta inflamatória inespecífica que se eleva várias centenas de vezes em resposta a infecção e é considerada um bom marcador de

inflamação. Esta proteína geralmente é encontrada em baixas concentrações no plasma, com 80% dos indivíduos apresentando PCR < 3 mg/l (Pepys, 1996, apud Heilbronn *et al.*, 2001). Ela é sintetizada no fígado em resposta a IL-6 e ao TNF- α (Clearfield, 2005). Os testes “padrões” de PCR determinam concentrações aumentadas em até 1000 vezes em resposta a infecção ou destruição tecidual, porém não conseguem avaliar de forma adequada a faixa da normalidade. O teste de PCR-US detecta valores dentro da faixa da normalidade (Corrado *et al.*, 2009)

Existem evidências de que a PCR-US é tanto um marcador de baixo grau de inflamação quanto desempenha um papel ativo na aterosclerose (Jialal *et al.*, 2004), sendo preditora independente de eventos cardiovasculares (Pai *et al.*, 2004; Ridker *et al.*, 2000a; Ridker *et al.*, 1997; Blake & Ridker, 2001). In vitro, a PCR-US já demonstrou ativar uma série de processos envolvidos em reações inflamatórias. Em células endoteliais humanas, a PCR induz a expressão das moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina, assim como da MCP-1. Em monócitos humano, a PCR-US estimula a produção de fator tecidual, um ativador do sistema de coagulação (Corrado *et al.*, 2009)

Conforme abordado na introdução, estudos transversais demonstraram que a PCR apresenta associação positiva e significativa com medidas de adiposidade, tais como IMC, CC e RCQ (Mora *et al.*, 2006; Visser *et al.*, 1999; Heilbronn *et al.*, 2001; Tchernof *et al.*, 2002) e modificação do estilo de vida capazes de induzir perda ponderal estão associadas com redução significativa dos níveis séricos da PCR-US (Heilbronn *et al.*, 2001; Selvin *et al.*, 2007; Tchernof *et al.*, 2002; Plat *et al.*, 2007; Clifton *et al.*, 2005; Esposito *et al.*, 2003). Em uma revisão publicada recentemente (Selvin *et al.*, 2007), os estudos com perda ponderal através de modificações no estilo de vida alcançaram, durante um período de 7,5 meses, perda ponderal média de -6,2kg e uma redução na PCR-US de -2,3mg/l. Heilbronn e colaboradores (2001) acompanharam 83 mulheres obesas com IMC variando entre 28,2 e 43,8kg/m² que foram submetidas a restrição calórica durante 12 semanas. A perda ponderal foi de -7,9 kg, havendo redução significativa da PCR-US em -26%. Nos 2 estudos citados anteriormente, a redução na PCR-US foi proporcional a redução no peso corporal.

No presente estudo, não foram observadas reduções significativas nas concentrações séricas da PCR-US nos participantes das 2 intervenções dietéticas. A média da perda ponderal alcançada nos 2 grupos de pacientes foi de -4,45kg (ou -5,42% do peso corporal inicial) e a redução na PCR foi de -0,06 mg/l (ou -2,0%). As possíveis explicações para a divergência entre os nossos resultados e a literatura incluem: 1) os nossos participantes apresentavam valores iniciais mais baixos de IMC (32,1 kg/m²) e de PCR-US (3,3 mg/l) do que os de outros estudos. Por exemplo, no estudo de Heilbronn e colaboradores (2001), os valores iniciais de IMC eram de 33,8Kg/m² e da PCR-US de 5,6mg/l. Estes níveis iniciais mais baixos de PCR podem ter reduzido o efeito da perda ponderal sobre a PCR-US em nosso estudo. 2) A magnitude da perda ponderal alcançada pelos nossos pacientes foi menor do que a observada em outros estudos, podendo não ser suficiente para induzir redução significativa na PCR-US. Madsen e colaboradores (2008) observaram que a redução significativa das concentrações de PCR-US só consegue ser alcançada a longo prazo (3 anos), com perda ponderal maior do que 10%, demonstrando a importância da magnitude da perda ponderal para se alcançar redução expressiva na PCR-US. Bastard e colaboradores (2000) também não encontraram reduções significativas nas concentrações séricas de PCR-US e de TNF- α com a perda ponderal média de -3 kg de massa gorda induzida por restrição energética, durante um período de 3 meses.

Ao analisarmos todos os participantes do estudo juntos, também não foi observada associação significativa entre as modificações no IMC e as alterações na PCR-US durante o estudo ($r = 0,19$ e $p = 0,31$). Este fato também está em desacordo com os dados disponíveis na literatura. Entretanto, observou-se correlação positiva e significativa entre as modificações nas concentrações séricas da PCR-US ao longo do estudo e a redução na CC ($r = 0,35$ e $p = 0,04$). Este achado está de acordo com estudos que observaram associação entre acúmulo de tecido adiposo visceral e/ou abdominal e concentrações plasmáticas de PCR-US (Lemieux *et al.*, 2001; Despres & Lemieux, 2006; Visser *et al.*, 1999). Até o presente momento, ainda não foi estabelecido se os níveis séricos de PCR-US apresentam maior associação com a adiposidade abdominal do que com a total, pois existem estudos que observaram justamente o oposto (Tchernof *et al.*, 2002).

Ao compararmos a redução na PCR-US entre as duas intervenções dietéticas, observamos que a DRC não induziu redução significativamente maior nos níveis séricos de PCR, em comparação com a DPC. A grande maioria dos estudos avaliando os efeitos do cálcio (e/ou laticínios) sobre os biomarcadores inflamatórios foi realizada com animais ou *in vitro*. O reduzido número de estudos realizados com seres humanos apresenta resultados divergentes. No estudo realizado por Zemel & Sun (2008a) (já descrito na introdução), os indivíduos recebendo dieta rica em laticínios, tanto normocalórica quanto hipocalórica, apresentaram redução significativa de -11% e -29% na PCR-US, respectivamente, enquanto os participantes que receberam dieta pobre em laticínios não apresentaram modificações significativas na PCR-US. Por outro lado, Pittas e colaboradores (2007b) não observaram diferenças significativas nos níveis séricos de PCR-US e IL-6 entre os participantes que receberam e os que não receberam a suplementação diária de citrato de cálcio + vitamina D₃ durante 3 anos.

Fator de necrose tumoral- α

No presente estudo, observamos tanto na DRC quanto na DPC redução nas concentrações séricas do TNF- α após as 16 semanas de restrição energética, porém sem alcançar significância estatística. No nosso grupo total de pacientes (n=39), a perda ponderal alcançada foi de -4,45kg (ou -5,42% do peso corporal inicial) e a redução no TNF- α foi de -0,36 pg/ml (ou -10,1%) ($p = 0,53$). Este fato não está de acordo com alguns estudos que observaram redução significativa nos níveis séricos de TNF- α após perda ponderal (Kern *et al.*, 1995; Ziccardi *et al.*, 2002; Zahorska-Markiewicz *et al.*, 2000). Uma possível explicação para tal fato é que a magnitude da perda ponderal observada no presente estudo foi menor do que nos estudos onde se encontrou redução significativa nas concentrações séricas do TNF- α . No estudo realizado por Kern e colaboradores (1995) 11 indivíduos obesos perderam em média - 34,7 kg (ou -26% do peso corporal inicial) e apresentaram redução de -46% no TNF- α ($p < 0,002$). Ziccardi e colaboradores (2002) observaram que após 1 ano de programa multidisciplinar para perda ponderal (dieta, exercício e terapia comportamental), mulheres obesas perderam $\pm 10\%$ do peso corporal inicial e apresentaram reduções

significativas nas concentrações séricas de TNF- α , passando de 5,8 pg/ml para 4,0 pg/ml, ou seja, uma redução de -31%.

Conforme abordado anteriormente, o TNF- α é uma citocina pró-inflamatória e está envolvido na formação da placa de ateroma (Kleemann *et al.*, 2008; Popa *et al.*, 2007), estando associado com disfunção endotelial e aumento no risco de eventos cardiovasculares (Tedgui & Mallat, 2006; Skoog *et al.*, 2002; Ridker *et al.*, 2000b). Ele é produzido por macrófagos e células espumosas (entre outros tipos celulares), e não apenas inicia como também propaga a lesão aterosclerótica, por promover infiltração celular na placa, estimular a produção de outras citocinas que aumentam a instabilidade da placa e favorecer a formação do trombo (Libby, 2006). O TNF- α ativa o NF- κ B, que acelera a aterogênese, em parte por induzir a expressão de moléculas de adesão, além de reduzir a biodisponibilidade do NO nas células endoteliais e promover apoptose destas células (Lau *et al.*, 2005, Ouchi *et al.*, 1999; Bhagar & Vallence, 1997; Wang *et al.*, 1994; Hermann *et al.*, 2000).

Existem evidências de que o TNF- α também pode contribuir para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, por induzir alterações metabólicas associadas à obesidade, como resistência à insulina, dislipidemia e elevação nos níveis de PA (Skoog *et al.*, 2002). O TNF- α induz resistência à insulina por 2 mecanismos. Primeiro, o TNF- α estimula a lipólise, por aumentar a ação da lipase hormônio sensível (Souza *et al.*, 1998), contribuindo para o aumento na concentração sérica de ácidos graxos livres. Segundo, o TNF- α interfere na cascata de sinalização da insulina por promover a fosforilação da serina no lugar da tirosina no substrato do receptor da insulina-1 (Kanety *et al.*, 1995; Hotamisligil *et al.*, 1996). A neutralização do TNF- α em um modelo experimental de obesidade melhorou a sensibilidade à insulina, resultando em aumento significativo na captação periférica de glicose estimulada pela insulina (Hotamisligil *et al.*, 1993).

O TNF- α se correlaciona negativamente com a atividade da lipase lipoprotéica no tecido adiposo (Kern *et al.*, 1995), favorecendo a hipertrigliceridemia. Em roedores, a infusão de TNF- α leva ao aumento nos triglicerídeos plasmáticos e nas concentrações de colesterol por estimular a síntese hepática de lipídios (Feingold & Grunfeld, 1987). Além disto, o aumento na produção de TNF- α também pode aumentar a produção de

endotelina-1 e angiotensinogênio, ambos envolvidos na elevação dos níveis de PA (Kahaleh & Fan, 1997; Brasier *et al.*, 1996).

As evidências disponíveis na literatura (citadas nos 2 parágrafos anteriores) indicam papel potencial para o TNF- α no desenvolvimento de alterações no metabolismo glicídico, no perfil lipídico e na PA. Estudos populacionais fornecem suporte para a associação entre TNF- α e sensibilidade à insulina, por exemplo Hivert e colaboradores (2008) avaliaram os dados de 2356 indivíduos participantes do *the Framingham Offspring Study* e observaram correlação positiva e significativa entre TNF- α e HOMA-IR ($r = 0,12$ e $p < 0,0001$). Skoog e colaboradores (2002) realizaram um estudo transversal com um menor número de participantes e também encontraram associações significativas entre as concentrações séricas de TNF- α e HOMA-IR ($r = 0,21$ e $p < 0,05$), triglicerídeos ($r = 0,31$ e $p < 0,01$), HDL-colesterol ($r = -0,29$ e $p < 0,01$), PA sistólica ($r = 0,33$ e $p < 0,01$) e PA diastólica ($r = 0,33$ e $p < 0,01$).

No presente estudo não foram observadas correlações significativas entre as variações neste biomarcador inflamatório e as modificações nas variáveis metabólicas e na PA. Houve apenas uma tendência para alcançar significância estatística na correlação com as concentrações séricas de insulina ($r = 0,32$ e $p = 0,07$). Possíveis explicações para tal fato incluem: 1) ausência de alterações expressivas nas variáveis metabólicas e na PA no início do estudo (não foram incluídos indivíduos diabéticos, com dislipidemia em uso de tratamento medicamentoso e nem hipertensos), 2) Todos os participantes evoluíram com perda ponderal em uma faixa relativamente semelhante, 3) Caso o número de participantes fosse maior poderia ter se observado associação significativa.

Nossos resultados se assemelham aos encontrados por Ziccardi e colaboradores (2002), que avaliaram 56 mulheres obesas na pré-menopausa e não encontraram correlação significativa do TNF- α com a glicemia, insulinemia e concentrações séricas de triglicerídeos, HDL-colesterol e LDL-colesterol.

Apesar das alterações no TNF- α , no presente estudo, não terem apresentado associação significativa com as modificações na insulina e no HOMA-IR, as alterações nas concentrações séricas da PCR-US (que sofrem influência do TNF- α) apresentaram. Este fato pode sugerir um efeito indireto do TNF- α sobre a sensibilidade à insulina.

Na análise comparativa das duas intervenções dietéticas em relação à modificação nas concentrações séricas de TNF- α não foi evidenciada diferença significativa. Não encontramos estudos publicados avaliando os efeitos do cálcio dietético (e/ou laticínios) associado à restrição energética sobre as concentrações séricas de TNF- α em seres humanos, inviabilizando uma comparação adequada com os nossos resultados. Entretanto, existem 2 estudos que avaliaram os efeitos dos laticínios sobre o TNF- α e encontraram resultados divergentes (Zemel *et al.*, 2009; Wenersberg *et al.*, 2009).

Zemel e colaboradores (2009) avaliaram os efeitos da dieta normocalórica rica em laticínios em comparação com dieta rica em soja em 20 indivíduos. Os autores observaram redução significativa de 15% no TNF- α após 28 dias da dieta suplementada com laticínios, e ausência de modificações significativas após os 28 dias da dieta suplementada com soja. Este resultado diverge dos nossos, onde na DRC a redução no TNF- α foi de -3,2%. Uma possível explicação para essa divergência é o fato dos valores iniciais de TNF- α encontrados no estudo do Zemel e colaboradores (2009) terem sido muito elevados \pm 450 pg/ml em comparação com os nossos valores iniciais nos pacientes alocados na DRC (3,12 pg/ml). Esses valores iniciais encontrados por Zemel e colaboradores (2009) são extremamente elevados não só em comparações com os nossos, porém também em comparação com outros estudos cujos valores médios em geral são inferiores a 10 pg/ml (Zahorska-Markiewicz *et al.*, 2000; Ziccardi *et al.*, 2002; Jefferis *et al.*, 2009).

Por outro lado, os resultados obtidos por Wenersberg e colaboradores (2009) se assemelham aos nossos. Esses autores investigaram os efeitos do aumento na ingestão de laticínios (sem restrição calórica), em pessoas com baixa ingestão habitual desses alimentos, sobre a composição corporal e fatores relacionados com a síndrome metabólica. Foram incluídos 121 adultos, sendo randomizados em grupo controle e leite, sendo acompanhados durante 6 meses. O grupo do leite foi orientado a consumir 3 – 5 porções de laticínios/dia (não necessariamente com baixo teor de lipídios). O grupo controle manteve sua dieta habitual. Após os 6 meses de acompanhamento, os participantes dos 2 grupos mantiveram o peso corporal constante e não apresentaram

modificações significativas nas concentrações séricas dos biomarcadores de inflamação: PCR, IL-6 e TNF- α .

8.5 Avaliação da fibrinólise

As alterações na fibrinólise observadas na obesidade são fundamentalmente devidas ao aumento nas concentrações séricas do PAI-1, que é o inibidor mais importante da atividade fibrinolítica plasmática (Skurk & Hauner, 2004). Quanto maior o tamanho da célula adiposa e a massa de tecido adiposo, principalmente na região abdominal, maior é a contribuição deste tecido para os níveis circulantes de PAI-1 (Juhan-Vague *et al.*, 1987; Landin *et al.*, 1990; McGill *et al.*, 1994; Giltay *et al.*, 1998; Janand-Delenne *et al.*, 1998; Alessi *et al.*, 1997). As citocinas pró-inflamatórias participam do estímulo para o aumento na expressão do PAI-1, particularmente no tecido adiposo (Palomo *et al.*, 2006; Skurk & Hauner, 2004). O aumento na concentração do PAI-1 pode levar a trombose arterial (ou aterotrombose), sendo considerado um preditor de eventos cardiovasculares (Kohler & Grant, 2000; Ridker *et al.*, 1993; Hamsten *et al.*, 1987; Juhan-Vague *et al.*, 1996; Thompson *et al.*, 1995; Thogersen *et al.*, 1998).

A perda ponderal está associada com normalização parcial ou total dos distúrbios nos parâmetros fibrinolíticos associados com a obesidade. A redução do PAI-1 normalmente é proporcional à extensão da perda de peso (Clifton *et al.*, 2005; Keogh *et al.*, 2008; Skurk & Hauner, 2004). No presente estudo, apesar dos 2 grupos de estudo terem apresentado redução nas concentrações séricas de PAI-1, esta não alcançou significância estatística em cada intervenção dietética separadamente. Portanto, nossos resultados não estão de acordo com outros estudos que observaram redução significativa nas concentrações séricas de PAI-1 associada com perda ponderal (Clifton *et al.*, 2005; Keogh *et al.*, 2008; Skurk & Hauner, 2004; Lindahl *et al.* 1999).

No nosso grupo total de pacientes a perda ponderal foi de - 4,45kg (ou - 5,42% do peso corporal inicial) e a redução no PAI-1 foi de - 8,8 pg/dl (ou - 8,4%), sendo inferior ao observado por Lindahl e colaboradores (1999) em um estudo no qual indivíduos com intolerância à glicose foram submetidos a intervenção com modificações no estilo de vida realizadas de forma intensiva ou usual. Após 12 meses de acompanhamento os participantes com acompanhamento intensivo apresentaram perda ponderal de -5,4Kg e a redução de -31% na concentração de PAI-1, já o grupo com cuidado usual obteve redução de -0,5kg e diminuição de -12% no PAI-1 (Lindahl *et al.* 1999). A menor magnitude da redução no PAI-1 observada em nosso estudo e a ausência de redução significativa nas 2 intervenções dietéticas pode ser atribuída ao menor período de acompanhamento e a menor faixa de perda ponderal.

Foi observada redução nas concentrações séricas de PAI-1 de -4,6% na DRC e -12,4% na DPC, não havendo diferença estatisticamente significativa entre as duas intervenções dietéticas. Não conseguimos encontrar estudos que tenham avaliado os efeitos da dieta rica em cálcio (e/ou laticínios), associada à restrição energética, sobre as concentrações séricas de PAI-1, inviabilizando a comparação dos nossos dados com os de outros estudos. O único estudo com desenho relativamente semelhante foi o realizado por Wennersberg e colaboradores (2009) que já foi descrito (na discussão sobre o TNF- α) e cujos resultados são semelhantes aos nossos. Nesse estudo o aumento na ingestão de laticínios associado à dieta normocalórica não induziu modificações significativas na concentração sérica de PAI-1.

8.6 Avaliação da função endotelial

Após as 16 semanas de restrição energética foi observada redução em todos os biomarcadores da função endotelial nos 2 grupos de intervenção, alcançando significância estatística na DRC em relação a ICAM-1 e a E-selectina, com uma tendência para VCAM-1 ($p = 0,06$) e na DPC em relação a ICAM-1 e uma tendência para E-selectina ($p = 0,06$). Estes achados estão de acordo com alguns estudos que

avaliaram os efeitos da perda ponderal sobre as moléculas de adesão celular e encontraram reduções nas concentrações séricas destas moléculas, alcançando significância estatística em alguns estudos, porém não em todos (Ziccardi *et al.*, 2002; Plat *et al.*, 2007; Keogh *et al.*, 2008; Pontiroli *et al.*, 2004; Clifton *et al.* 2005).

O nosso grupo total de pacientes apresentou perda ponderal de - 4,45kg (ou - 5,42% do peso corporal inicial) e a redução na ICAM-1 foi de - 19,6 pg/dl (ou - 11,6%), na VCAM-1 foi de 83,6 pg/dl (ou - 8,9%) e na E-selectina foi de -2,8 pg/ml (ou - 8,6%). A magnitude da redução nas moléculas de adesão celular observada no presente estudo é inferior a encontrada em outros (Ziccardi *et al.*, 2002; Plat *et al.*, 2007), provavelmente devido a menor faixa de perda ponderal observada em nossos pacientes.

No estudo realizado por Ziccardi e colaboradores (2002) após 1 ano de programa multidisciplinar para perda ponderal (dieta, exercício e terapia comportamental), mulheres obesas perderam $\pm 10\%$ do peso corporal inicial e apresentaram reduções significativas nas concentrações séricas de ICAM-1, passando de 315 ng/ml para 234 ng/ml, ou seja, uma redução de -81ng/ml (ou -25,7%). A VCAM-1 passou de 708 ng/ml para 590 ng/ml, ou seja uma redução de -118 ng/ml (ou -16,7%).

Plat e colaboradores (2007) observaram que em homens obesos, após perda ponderal de $\pm 9,4$ Kg, houve redução significativa nas concentrações de ICAM-1 de 106,8 ng/l para 80,9 ng/l, ou seja uma redução de -25,9 ng/l (ou -24,4%). Já a redução da E-selectina não foi significativa: de 18,8ng/l para 16,8ng/l, ou seja redução de -2,0 ng/l (ou -10,6%).

Keogh e colaboradores (2008) observaram redução significativa nas concentrações séricas de ICAM-1, E-selectina, P-selectina associada à perda ponderal de ± 7 kg induzida por dieta hipocalórica durante 8 semanas. A VCAM-1 não apresentou modificações significativas.

Em outro estudo (Pontiroli *et al.*, 2004), após 1 ano de perda ponderal induzida por cirurgia bariátrica 68 participantes apresentaram redução média no IMC de -8,2 kg/m² com redução significativa nos níveis séricos de ICAM-1 e E-selectina. Entretanto, neste mesmo estudo, os pacientes submetidos à intervenção dietética apresentaram

redução bem menor no IMC – 0,4 kg/m² e não foi observada redução significativa nas moléculas de adesão celular.

A análise transversal dos dados obtidos na visita inicial do estudo (semana 0) revelou associação positiva e significativa entre as concentrações séricas de ICAM-1 e os valores da CC. Este achado está de acordo com outros estudos transversais que encontraram associação significativa entre ICAM-1 e parâmetros antropométricos de adiposidade abdominal (Ziccardi et al., 2002; Miller & Cappuccio, 2006).

Nos dados iniciais do estudo foi observada associação significativa entre as moléculas de adesão celular e o IMC. Essa ausência de associação significativa entre as moléculas de adesão e os valores do IMC diverge do observado no estudo realizado por Ziccardi e colaboradores (2002), no qual houve associação positiva e significativa entre ICAM-1 e IMC e entre VCAM-1 e IMC. Mora e colaboradores (2006) também observaram associação positiva e significativa entre ICAM-1 e IMC. No estudo realizado por Miller e Cappuccio (2006), apesar da VCAM-1 e da ICAM-1 não terem apresentado correlação significativa com o IMC, foi observada associação positiva e significativa entre E-selectina e IMC. Ponthieux e colaboradores (2003) não observaram associação significativa entre o IMC e ICAM-1, porém encontraram entre IMC e E-selectina.

Nós acreditamos que a ausência de associação significativa entre as moléculas de adesão celular e o IMC, encontrada na análise transversal do presente estudo, pode ter sido ocasionada principalmente pela estreita faixa de IMC dos nossos participantes, pois só foram incluídos indivíduos com IMC entre 30 e 34,9 kg/m². Outro fator que pode ter influenciado é o número um pouco menor de participantes que os demais estudos.

Apesar dos participantes do presente estudo terem apresentado redução em todos os parâmetros de adiposidade e nas concentrações séricas das moléculas de adesão celular, não foi observada associação significativa entre as modificações durante o estudo (semana 16 – semana 0) nos parâmetros de adiposidade e as alterações nas moléculas de adesão, divergindo do que foi observado em outros estudos (Pontiroli *et al.*, 2004; Trøseid *et al.*, 2005). Acreditamos que vários fatores possam ter contribuído para a redução nos biomarcadores da função endotelial (como

por exemplo o padrão alimentar) e não apenas a perda ponderal, impedindo a ocorrência de associações significativas.

Um achado importante do nosso estudo é a associação positiva e significativa entre a glicemia e VCAM-1 e E-selectina na análise transversal dos dados na semana 0. Também observamos uma tendência para associação significativa entre as modificações na VCAM-1 e a insulina ($p = 0,05$) e o HOMA-IR ($p = 0,06$). Esses achados corroboram com o que foi observado por Pontiroli e colaboradores (2004) e Trøseid e colaboradores (2005). A hiperglicemia induz, no endotélio, a produção de radicais livres e a ativação do NF- κ B assim como aumenta a formação intracelular de produtos finais da glicação avançada. Como resultado, a hiperglicemia aumenta a oxidação das lipoproteínas, o que contribui independentemente para a aterogênese (Brownlee, 2001). A hiperglicemia também aumenta o superóxido nas células endoteliais e o estresse oxidativo, e ambos podem resultar em lesão endotelial (Marfella *et al.*, 2001). O aumento na concentração plasmática de glicose também aumenta a expressão de adipocinas, favorecendo a disfunção endotelial (Lau *et al.*, 2005).

No presente estudo, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as duas intervenções dietéticas em relação à redução nas moléculas de adesão celular. Entretanto, apesar da ICAM-1 ter apresentado redução significativa tanto na DRC quanto na DPC e da ausência de redução significativa da VCAM-1 nas 2 dietas, os níveis séricos da E-selectina só apresentaram redução significativa na DRC. Nós desconhecemos a existência de estudos que tenham investigado os efeitos de uma dieta rica em cálcio (e/ou laticínios) associada à restrição calórica sobre os biomarcadores de função endotelial. O único estudo com um desenho mais próximo ao nosso foi o realizado por Wengersberg e colaboradores (2009), descrito anteriormente, e que também não observou modificações significativas nos biomarcadores de função endotelial (VCAM-1, E-selectina e fator de von Willebrand) nos pacientes orientados a aumentar a ingestão de laticínios. Porém, quando os participantes de cada sexo foram analisados separadamente, as mulheres do grupo do leite apresentaram redução significativa na VCAM-1. É importante ressaltar que no estudo de Wengersberg e colaboradores (2009) os participantes do grupo do leite em comparação com os do grupo controle apresentaram aumento significativamente maior na ingestão de ácidos

graxos saturados e nos níveis séricos de colesterol total (em comparação com o outro grupo de estudo), o que possivelmente pode ter interferido nos resultados.

8.7 Metabolismo do cálcio

Os níveis séricos de cálcio (total e ionizado) não apresentaram modificações significativas, durante as 16 semanas de acompanhamento, nos 2 grupos de estudo. Esta ausência de modificações nos níveis séricos de cálcio era esperada, pois existe um mecanismo homeostático para manutenção da concentração de cálcio no líquido extracelular, que é realizado especialmente através do PTH e do calcitriol, mantendo concentrações normais de cálcio ionizado, mesmo em condições de baixa ingestão de cálcio (Potts, 2005, Heaney, 2006).

A excreção urinária de cálcio também não apresentou modificações significativas ao final do estudo (V5 – V1) mesmo nos participantes da DRC. Este fato também era esperado, pois a conservação do cálcio via redução da excreção renal em períodos de baixa ingestão não ocorre de forma satisfatória (Heaney, 2006).

No presente estudo, os níveis séricos de PTH e de calcitriol apresentaram reduções significativas durante as 16 semanas de acompanhamento apenas nos participantes da DRC, permanecendo praticamente inalterados na DPC. Este achado indica que os participantes da DRC realmente aumentaram sua ingestão de cálcio, enquanto os participantes da DPC não alteraram a ingestão deste mineral, demonstrando adesão à prescrição dietética de cálcio.

8.8 Excreção urinária de uréia e sódio

No presente estudo não foram observadas diferenças significativas na excreção urinária de uréia e de sódio ao final do estudo (semana 16) entre os 2 grupos. Este

achado sugere que os dois grupos apresentaram ingestões similares de proteínas e sódio.

Existem evidências de que dietas hiperprotéicas podem potencializar a perda ponderal durante restrição calórica (Weigle *et al.*, 2005; Due *et al.*, 2004), sendo portanto, fundamental que os 2 grupos de estudo apresentassem ingestões semelhantes.

A semelhança na ingestão de sódio entre os 2 grupos também é importante, pois a excreção urinária aumentada de sódio está associada com uma alta excreção urinária de cálcio, provavelmente devido a competição na absorção entre esses minerais no túbulo renal (Silva & Correia, 2001), além de interferir nos níveis de PA (Chobanian *et al.*, 2003).

8.9 Componentes bioativos adicionais dos laticínios

Os laticínios apresentam outros componentes bioativos (além do cálcio) que podem apresentar efeitos benéficos sobre a adiposidade e/ou fatores de risco cardiovascular tais como a leucina e peptídeos inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) (Zemel, 2005).

Leucina

A elevada concentração de leucina presente nos laticínios, pode contribuir para o efeito antiobesidade destes alimentos por afetar o metabolismo energético tanto nos adipócitos quanto no músculo esquelético (Sun & Zemel, 2007b).

A leucina é um aminoácido essencial de cadeia ramificada, que apresenta funções únicas na regulação do metabolismo, estimulando a síntese de proteína muscular e inibindo sua degradação (Layman, 2003; Etzel, 2004; Stipanuk, 2007). A propriedade anabólica da leucina é atribuída a sua capacidade de estimular o início da

translação do RNA mensageiro para síntese protéica muscular (Norton & Layman, 2006; Kimball & Jefferson, 2001; Layman, 2003; Etzel, 2004).

Além dos efeitos sobre o anabolismo protéico, dados recentes indicam que a leucina também suprime o armazenamento de energia no tecido adiposo. A modulação do metabolismo lipídico no adipócito, possivelmente serve para fornecer um fluxo aumentado de lipídios para o músculo esquelético, fornecendo substrato energético para sustentar a síntese protéica estimulada pela leucina (Sun & Zemel, 2007b; Bruckbauer *et al.*, 2009). Além disto, Sun e Zemel (2009) demonstraram que a leucina estimula a biogênese mitocondrial tanto nos adipócitos quanto nas células do músculo esquelético, em associação com um aumento no consumo de oxigênio e na oxidação de ácidos graxos em ambos os tipos celulares.

Em um estudo com ratos (Zhang *et al.*, 2007), a ingestão de leucina foi duplicada em animais com livre acesso a ração “convencional” ou a uma dieta rica em lipídios. Nos ratos alimentados com ração, a leucina não produziu efeitos consideráveis, porém nos ratos com dieta rica em lipídios, o aumento na ingestão de leucina resultou em redução de -32% no ganho de peso e de -25% na adiposidade. Os autores observaram que a redução na adiposidade foi devida ao aumento no gasto energético de repouso associado com aumento da expressão da UCP3 no tecido adiposo branco, no tecido adiposo marrom e no músculo esquelético (Zhang *et al.*, 2007).

Os efeitos da suplementação oral de leucina sobre a massa muscular foram avaliados em alguns estudos com seres humanos, principalmente em idosos, devido a sarcopenia típica desta faixa etária. Nestes estudos foram observados benefícios sobre a síntese protéica muscular (Katsanos *et al.*, 2006; Rieu *et al.*, 2006), como também ausência de efeitos benéficos (Verhouvern *et al.*, 2009).

O aumento na utilização de energia associado com a ingestão de leucina provavelmente é capaz de atenuar o estresse oxidativo e inflamatório. Desta forma, as elevadas concentrações de leucina nos laticínios também podem ser capazes de desempenhar um papel significativo na atenuação das respostas oxidativas e inflamatórias no tecido adiposo (Zemel *et al.*, 2009).

Já foi demonstrado que os efeitos da leucina sobre o metabolismo mitocondrial são mediados, em parte, pelo aumento da expressão da sirtuin 1 (Sirt1), que é um

regulador chave da biogênese mitocondrial (Sun & Zemel, 2009). A ativação pela Sirt1 do coativador 1a do receptor ativado da proliferação de peroxissomos (PPAR) não apenas leva a um aumento no metabolismo energético mitocondrial como também resulta em indução de enzimas antioxidantes, tais como manganês superóxido desmutase (Pfluger *et al.*, 2008) e inibição da atividade do NF- κ B (Pfluger *et al.*, 2008; Yeung *et al.*, 2004), atenuando, portanto, o estresse oxidativo e inflamatório, respectivamente. Pfluger e colaboradores (2008) demonstraram que ratos transgênicos com super-expressão da Sirt1 exibem menor ativação das citocinas inflamatórias TNF- α e IL-6, via redução significativa da atividade do NF- κ B, além de aumento na produção de proteínas antioxidantes como a manganês superóxido desmutase, quando alimentados com dieta rica em lipídios.

O teor de leucina varia em diferentes fontes de proteínas na dieta, a proteína do soro do leite apresenta 14% de leucina, enquanto o a proteína do leite possui 10%. Estes teores são mais elevados do que os observados na proteína do ovo (8,5%), na proteína muscular (8%), no isolado protéico de soja (8%) e na proteína do trigo (7%) (Millward *et al.*, 2008; Layman, 2003).

Peptídeos inibidores da enzima de conversão da angiotensina

O soro do leite apresenta peptídeos com propriedade inibidora da ECA (Zemel, 2004). Portanto, acredita-se que estes peptídeos podem contribuir para os efeitos dos laticínios sobre a adiposidade, níveis de PA e estresse inflamatório (Zemel, 2004, Zemel *et al.*, 2009; van Meijl *et al.*, 2008).

Os inibidores da ECA reduzem a PA por inibir a conversão da angiotensina I em angiotensina II (Oparil, 2002). Entretanto, o tecido adiposo possui um sistema renina-angiotensina local que também desempenha um papel importante na adipogênese e no desenvolvimento da inflamação associada com a obesidade. Em humanos a angiotensina II inibe a diferenciação de pré-adipócitos, resultando em adipócitos que podem exibir anormalidades inflamatórias e metabólicas (Janke *et al.*, 2002; Matsushita *et al.*, 2006). De acordo com este fato, o bloqueio do sistema renina-angiotensina por inibidores da ECA ou por bloqueadores do receptor da angiotensina, promove o

recrutamento de pré-adipócitos e o aumento nos adipócitos pequenos e sensíveis à insulina (Mogi *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2002). Segundo Zemel (2004), a angiotensina II aumenta a expressão da ácido graxo sintase em adipócitos. Consequentemente, os peptídeos com atividade inibidora da ECA encontrados nos laticínios podem contribuir favoravelmente na obesidade e na síndrome metabólica (Bruckbauer *et al.*, 2009). Em apoio a estes conceitos, já foi demonstrado que o inibidor da ECA derivado do soro do leite aumenta os efeitos do cálcio dietético sobre a perda de peso e gordura em ratos transgênicos (*aP2-agouti*) submetidos à restrição energética (Causey & Zemel, 2003).

Cálcio vs leucina e inibidores da ECA

Bruckbauer e colaboradores (2009) publicaram um estudo visando investigar os efeitos desses 3 componentes dos laticínios sobre o metabolismo do adipócito e muscular em um modelo de animais com obesidade induzida pela dieta (ratos transgênicos *aP2-agouti*) que foram alimentados com 4 dietas diferentes associadas a restrição energética durante 6 semanas: 1) dieta restrita basal (0,4% cálcio), 2) leite em pó desnatado (1,2% cálcio), 3) leite depletado em cálcio (0,4% cálcio), ou 4) dieta restrita basal com suplementação de aminoácidos de cadeia ramificada/inibidores ECA. Os genes lipogênicos no tecido adiposo foram suprimidos no grupo do leite enquanto as vias de síntese de proteína muscular foram estimuladas síntese pelo leite depletado em cálcio e pela dieta restrita basal com suplementação de aminoácidos de cadeia ramificada/inibidores ECA. As vias envolvidas na inflamação foram alteradas no tecido adiposo nos 3 grupos de tratamento. Portanto, os componentes dos laticínios, incluindo cálcio, leucina, inibidores da enzima conversora da angiotensina e possivelmente outros componentes parecem exercer um efeito sinérgico sobre a adiposidade e alterações metabólicas.

8.10 Considerações finais

A quantidade de cálcio presente na DRC (± 1200 mg/dia) utilizada neste estudo está de acordo com as recomendações de ingestão de cálcio (*Dietary Reference Intakes- DRI*) para adultos: 19 – 50 anos: 1000 mg/dia, > 50 anos: 1200mg/dia (Institute of Medicine, 1997). Portanto, não existem contra-indicações para utilização desta quantidade de cálcio na alimentação.

Pelo contrário, um nível de ingestão adequado de cálcio durante períodos de restrição calórica é importante, pois dietas hipocalóricas podem estar associadas a aumento na reabsorção óssea, favorecendo o desenvolvimento da osteoporose, especialmente em mulheres na pós-menopausa (Ricci *et al.*, 2001). A utilização de uma ingestão de cálcio na faixa da DRI, associada a restrição calórica, pode evitar a perda de massa óssea (Riedt *et al.*, 2007; Thorpe *et al.*, 2008).

As principais fontes dietéticas de cálcio (70 - 75%) são os laticínios (Miller *et al.*, 2000; Heaney, 2009), sendo assim, este nível recomendado de ingestão de cálcio (1000 - 1200 mg/dia) pode ser alcançado através do consumo de 3 a 4 porções diárias desses alimentos, quantidade esta muito superior a ingestão habitual da população brasileira (IBGE, 2002 - 2003).

9 CONCLUSÕES

• 9 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo, realizado com indivíduos obesos acompanhados durante 16 semanas, sugerem que:

- a restrição energética, tanto em associação com elevada ingestão de cálcio quanto com baixa ingestão de cálcio, é capaz de reduzir significativamente o peso corporal; o percentual de gordura corporal; a obesidade abdominal; as variáveis relacionadas ao metabolismo glicídico e lipídico (com exceção do HDL-colesterol); a leptina sérica; a pressão arterial e as concentrações séricas dos biomarcadores da função endotelial.
- a restrição energética, alcançada pelos participantes do estudo, alocados na dieta rica em cálcio e na dieta pobre em cálcio, não é capaz de promover reduções significativas nos biomarcadores inflamatórios, nem no inibidor do ativador do plasminogênio-1.
- a dieta rica em cálcio em comparação com a dieta pobre em cálcio é capaz de potencializar os efeitos benéficos da restrição energética sobre a obesidade abdominal e a pressão arterial.
- a dieta rica em cálcio em comparação com a pobre em cálcio não produz reduções significativamente maiores na adiposidade corporal, nas variáveis associadas ao metabolismo glicídico e lipídico, nos biomarcadores inflamatórios, no inibidor do ativador do plasminogênio-1 e nos biomarcadores da função endotelial.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Ackley S, Barrett-Connor E, Suarez L. Dairy products, calcium and blood pressure. *Am J Clin Nutr.* 1983;38:457-61.

ADA – American Diabetes Association. Nutrition recommendations and interventions for diabetes. A position statement for diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30(suppl 1):S48-S65.

Albertson AM, Good CK, Holschuh NM, Eldridge AM. The relationship between dietary calcium intake and body mass index in adult women: data from the continuing survey of food intake by individuals, 1994-96. *FASEB J.* 2003;17:A289(abst).

Albertson AM, Good CK, Holschuh NM, Eldridge AM. The relationship between dietary calcium intake and body mass index in adult women from three National dietary intake databases. *FASEB J.* 2004; 18:A107.4(abstr).

Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbone G, Juhan-Vague I. Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue: possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes.* 1997;46:860-7.

Allender PS, Cutler JA, Follmann D, Cappuccio FP, Pryer J, Elliott P. Dietary calcium and blood pressure: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Ann Intern Med.* 1996;124:825-31.

Andersen T, McNair P, Hyldstrup L, Fogh Andersen N, Nielsen TT, Astrup A, et al. Secondary hyperparathyroidism of morbid obesity regresses during weight reduction. *Metabolism.* 1988;37:425-8.

Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al, for the DASH Collaborative Research Group. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *N Engl J Med.* 1997;336:1117-24.

Avignon A, Colette C, Monnier L. Assessment of insulin sensitivity from plasma insulin and glucose in the fasting or post oral glucose-load state. *Int J Obes.* 1999;23:512-7.

Bahia L, Aguiar LGK, Villela NR, Bottino D, Bouskela. O endotélio na síndrome metabólica. *Arq Bras Metab.* 2006;50:291-303.

Banks WA, Farrell CL. Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity is acquired and reversible. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285:E10-E15.

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

Barba G, Russo P. Dairy foods, dietary calcium and obesity: A short review of the evidence. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006;16:445-51.

Barbagallo M, Dominguez LJ, Licata G, Resnick LM. Effects of aging on serum ionized and cytosolic free calcium: relation to hypertension and diabetes. *Hypertension.* 1999; 34: 902-6.

Barger-Lux MJ, Heaney RP, Hayes HF, DeLuca HF, Johnson ML, Gong G. Vitamin D receptor gene polymorphism, bone mass, body size, and vitamin D receptor density. *Calcif Tissue Int.* 1995;57:161-2.

Barr SI. Increased dairy product ou calcium intake: Is body weight or composition affected in humans? *J Nutr.* 2003;133:245S-8S.

Barr SI, Fulgoni VI, Pereira MI. Relationship of calcium or dairy product intakes on percent body fat, BMI, and anthropometric measures in NHANES-III. *FASEB J.* 2004;18: A583.8(abstr).

Barr SI, McCarron DA, Heaney RP, Dawson-Hughes B, Berga SL, Stern JS, et al. Effects of increased consumption of fluid milk on energy and nutrient intake, body weight, and cardiovascular risk factors in healthy older adults. *J Am Diet Assoc.* 2000;100:810-7.

Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3338-42.

Begum N, Leitner W, Reusch JE, Sussman KE, Draznin B. GLUT-4 phosphorylation and its intrinsic activity. Mechanism of Ca²⁺ induced inhibition of insulin-stimulated glucose transport. *J Biol Chem.* 1993; 268: 3352-6.

Bell NH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexmann MJ, Shaw S. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest.* 1985;76:370-3.

Bermudez EA, Rifai N, Buring J, Manson JE, Ridker PM. Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1668-73.

Bhagar K, Vallance P. Inflammatory cytokines impairs endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation.* 1997;96:3042-7.

Birkett NJ. Comments on a meta-analysis of the relation between dietary calcium intake and blood pressure. *Am J Epidemiol.* 1998;148:223-8.

Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res.* 2001;89:763-71.

Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary heart disease. *Circulation*. 2001;104:1336-42.

Bogin E, Massry SG, Harary I. Effect of parathyroid hormone on rat heart cells. *J Clin Invest*. 1981;67:1215-27.

Boon N, Hul GBJ, Viguerie N, Sicard A, Langin D, Saris WHM. Effects of 3 diets with various calcium contents on 24-h energy expenditure, fat oxidation, and adipose tissue message RNA expression of lipid metabolism-related proteins. *Am J Clin Nutr*. 2005;82:1244-52.

Boschini RP, Garcia Júnior JR. Regulação da expressão gênica das UCP2 e UCP3 pela restrição energética, jejum e exercício físico. *Rev. Nutr*. 2005;18(6):753-64.

Bostick RM, Foskick L, Grandits GA, Grambsch P, Gross M, Louis TA. Effect of calcium supplementation on serum cholesterol and blood pressures. A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Arch Fam Med*. 2000;9:31-9.

Bowen J, Noakes M, Clifton PM. Effect of calcium and dairy foods in high protein, energy-restricted diets on weight loss and metabolic parameters in overweight adults. *Int J Obes*. 2005;29:957-65.

Brand MD, Esteves TC. Physiological functions of the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3. *Cell Metab*. 2005;2:85-93.

Brasier AR, Li J, Wimbish KA. Tumor necrosis factor activates angiotensinogen gene expression by the Rel A transactivator. *Hypertension*. 1996;27:1009-17.

Brevetti G, Schiano V, Chiariello M. Cellular adhesion molecules and peripheral arterial disease. *Vascular Medicine*. 2006;11(1):39-47.

Brickman AS, Nyby MD, von Hungen K, Eggena P, Tuck ML. Calciotropic hormones, platelet calcium, and blood pressure in essential hypertension. *Hypertension*. 1990;16:515-22.

Brickman AS, Nyby MD, von Hungen K, Eggena P, Tuck ML. Parathyroid hormone, platelet calcium, and blood pressure in normotensive subjects. *Hypertension*. 1991;18:176-82.

Brownlee M. Biochemistry and molecular biology of diabetic complications. *Nat Med*. 2001;414:813-20.

Bruckbauer A, Gouffon J, Rekapalli B, Zemel MB. The Effects of Dairy Components on Energy Partitioning and Metabolic Risk in Mice: A Microarray Study. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2009;2:64-77.

Buchowski MS, Semenza J, Johnson AO. Dietary calcium intake in lactose maldigesting intolerant and tolerant African-American women. *J Am Coll Nutr.* 2002;21:47-54.

Buhler FR, Resink TJ. Platelet abnormalities and the pathophysiology of essential hypertension. *Experientia.* 1988;15:94-7.

Bukoski RD, Xue H, McCarron DA. Effect of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ and ionized Ca²⁺ on ⁴⁵Ca uptake by primary cultures of aortic myocytes of spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto normotensive rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987;14:1330-5.

Caan B, Neuhauser M, Aragaki A, Lewis CB, Jackson R, LeBoff MS, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of postmenopausal weight gain. *Arch Intern Med.* 2007;167:893-902.

Canoy D. Distribution of body fat and risk of coronary heart disease in men and women. *Curr Opin Cardiol.* 2008;23(6):591-8.

Canoy D, Boekholdt SM, Wareham N, Luben R, Welch A, Bingham S, et al. Body fat distribution and risk of coronary heart disease in men and women in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition in Norfolk Cohort. A population-based prospective study. *Circulation.* 2007;116:2933-43.

Capiati DA, Vazquez G, Tellez Inon MT, Boland RL. Role of protein kinase C in 1,25(OH)₂-vitamin D₃ modulation of intracellular calcium during development of skeletal muscle cells in culture. *J Cell Biochem.* 2000;77:200-12.

Causey KR, Zemel MB. Dairy augmentation of the anti-obesity effect of Ca in aP2-agouti transgenic mice. *FASEB J.* 2003;A746(abstr).

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al, and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension.* 2003;42:1206-52.

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

Clearfield MB. C-reactive protein: a new risk assessment tool for cardiovascular disease. *J Am Osteopath Assoc.* 2005;105:409-16

Clifton PM, Keogh JB, Foster PR, Noakes M. Effect of weight loss on inflammatory and endothelial markers and FMD using two low-fat diets. *Int J Obes (Lond).* 2005;29:1445-51.

Colditz GA, Manson JE, Stampfer MJ, Rosner B, Willett WC, Speizer FE. Diet and risk of clinical diabetes in women. *Am J Clin Nutr.* 1992;55:1018-23.

Cooper RS, Shamsi N, Katz S. Intracellular calcium and sodium in hypertensive patients. *Hypertension*. 1987;9:224-9.

Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, et al. An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2009;16:000-000

Dalton M, Cameron AJ, Zimmet PZ, Shaw JE, Jolley D, Dunstan DW, et al. AusDiab Steering Committee. *J Intern Med*. 2003; 254(6):555-63.

Daly RM, Nowson CA. Long-term effect of calcium-vitamin D₃ fortified milk on blood pressure and serum lipid concentrations in healthy older men. *Eur J Clin Nutr*. 2009;63:993-1000.

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

Dansinger ML, Gleason JA, Griffith JL, Selker HP, Schaefer EJ. Comparison of the Atkins, Ornish, weight watchers, and zone diets for weight loss and heart disease risk reduction. A randomized trial. *JAMA*. 2005;293:43-53.

Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(suppl III):27-32.

Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, et al. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: A statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005, 23:7-17

Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115:1285-95.

DeLuca, HD. The vitamin D systems: A view from basic science to the clinic. *Clin Biochem*. 1981;14:213-22.

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

Desbriere R, Vuaroqueaux V, Achard V, Boullu-Ciocca S, Labuhn M, Dutour A, et al. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 mRNA is increased in both visceral and subcutaneous adipose tissue of obese patients. *Obesity*. 2006;14:794-8.

Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(14):881-7.

Dicker D, Belnic Y, Goldsmith R, Kaluski DN. Relationship between dietary calcium intake, body mass index, and waist circumference in MABAT – the Israeli National Health and Nutrition Study. *IMAJ*. 2008;10:512-5.

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

Drapeau V, Després J-P, Bouchard C, Allard K, Fournier G, Leblanc C, et al. Modifications in food-group consumption are related to long-term body-weight changes. *Am J Clin Nutr*. 2004;80:29-37.

Draznin B. Cytosolic calcium and insulin resistance. *Am J Kidney Dis*. 1993;21:32-8.

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

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

Due A, Toubro S, Skov AR, Astrup A. Effects of normal-fat diets, either medium or high in protein, on body weight in overweight subjects: a randomised 1-year trial. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:1283-90

Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, et al. Atherosclerosis Risk in Communities Study. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003;52:1799-805.

Eagan MS, Lyle RM, Gunther CW, Peacock M, Teegarden D. Effect of 1-year dairy product intervention on fat mass in young women: 6-month follow-up. *Obesity*. 2006;14:2242-8.

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

Elwood PC, Pickering JE, Fehily AM. Milk and dairy consumption, diabetes and the metabolic syndrome: the Caerphilly prospective study. *J Epidemiol Community Health*. 2007;61:695-8.

Elwood PC, Pickering JE, Hughes J, Fehily AM, Ness AR. Milk drinking, ischaemic heart disease and ischaemic stroke II. Evidence from cohort studies. *Eur J Clin Nutr*. 2004;58:718-24.

Elwood PC, Strain JJ, Robson PJ, Fehily AM, Hughes J, Pickering J, et al. Milk consumption, stroke, and heart attack risk: evidence from the Caerphilly cohort of older men. *J Epidemiol Community Health*. 2005;59:502-5.

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

Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, Gorzelniak K, Heintze U, Janke J, et al. Regulation of 11 β -HSD genes in human adipose tissue: Influence of central obesity and weight loss. *Obes Res*. 2004;12:9-16.

Enriori PJ, Evans AE, Sinnayah P, Cowley MA. Leptin resistance and obesity. *Obesity*. 2006;14:254S-8S.

Erne P, Bolli P, Burgisser E, Buhler FR. Correlation of platelet calcium with blood pressure. Effect of antihypertensive therapy. *N Eng J Med*. 1984;310:1084-8.

Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, et al. Effect of Weight Loss and Lifestyle Changes on Vascular Inflammatory Markers in Obese Women. *JAMA*. 2003;289:1799-804.

Etzel MR. Manufacture and use of dairy protein fractions. *J. Nutr*. 2004;134:996S-1002S.

Everett BM, Kurth T, Buring JE, Ridker PM. The relative strength of C-reactive protein and lipid levels as determinants of ischemic stroke compared with coronary heart disease in women. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:2235-42.

Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:911-9.

Feingold KR, Grunfeld C. Tumour necrosis factor-alpha stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo. *J Clin Invest*. 1987;80:184-90.

Festa A, D'Agostino RJr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes*. 2002;51:1131-7.

Festa A, D'Agostino R Jr, Williams K, Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Tracy RP, et al. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25:1407-15.

Forouhi NG, Sattar N, McKeigue PM. Relation of C-reactive protein to body fat distribution and features of the metabolic syndrome in Europeans and South Asians. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25:1327-31.

Foster GD, Wyatt HR, Hill JO, McGuckin BG, Brill C, Mohammed BS, Szapary PO, Rader DJ, Edman JS, Klein S. A randomized trial of a low-carbohydrate diet for obesity. *N Engl J Med.* 2003;348:2082-90.

Fox KAA, Despres JP, Richar AJ, Brette, Deanfield JE, and on behalf of the IDEA Steering Committee and Natio. Does abdominal obesity have a similar impact on cardiovascular disease and diabetes? A study of 91 246 ambulant patients in 27 European countries. *Eur Heart J.* 2009;30: 3055-63.

Franz MJ, VanWormer JJ, Crain AL, Boucher JL, Histon T, Caplan W, et al. Weight-loss outcomes: a systematic review and meta-analysis of weight-loss clinical trials with a minimum 1-year follow-up. *J Am Diet Assoc.* 2007;107:1755-67.

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

Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2004;114:1752-61.

Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2009; doi:10.1016/j.mce.2009.08.018.

Garcia-Palmieri MR, Costas R, Cruz-Vidal M, Sorlie PD, Tillotson J, Havlik RJ. Milk consumption, calcium intake, and decreased hypertension in Puerto Rico. Puerto Rico Heart Health Program study. *Hypertension.* 1984;6:322-8.

Gascon-Barre M, Haddad P, Provencher SJ, et al. Chronic hypocalcemia of vitamin D deficiency leads to lower intracellular calcium concentrations in rat hepatocytes. *J Clin Invest.* 1994;93:2159-67.

German JB, Gibson RA, Krauss RM, Nestel P, Lamarche B, van Staveren WA. A reappraisal of the impact of dairy foods and milk fat on cardiovascular disease risk. *Eur J Nutr.* 2009;48:191-203.

Giltay EJ, Elbers JM, Gooren LJ, Emeis JJ, Kooistra T, Asscheman H, Stehouwer CD. Visceral fat accumulation is an important determinant of PAI-1 levels in young, nonobese men and women: modulation by cross-sex hormone administration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1716-22.

Griffith LE, Guyatt GH, Cook RJ, Bucher HC, Cook DJ. The influence of dietary and nondietary calcium supplementation on blood pressure: an updated metaanalysis of randomized controlled trials. *Am J Hypertens.* 1999;12:84-92.

Gunther CW, Legowski PA, Lyle RM, et al. Dairy products do not lead to alterations in body weight or fat mass in young women in a 1-y intervention. *Am J Clin Nutr.* 2005a;81:751-6.

Gunther CW, Lyle RM, Legowski PA, James JM, McCabe LD, McCabe GP, et al. Fat oxidation and its relation to serum parathyroid hormone in young women enrolled in a 1-y dairy calcium intervention. *Am J Clin Nutr.* 2005b;82:1228-34.

Hackeng WH, Lips P, Netelenbos JC, Lips CJ. Clinical implications of estimation of intact parathyroid hormone (PTH) versus total immunoreactive PTH in normal subjects and hyperparathyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63:447-53.

Hadi HAR, Carr CS, Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc Health Risk Manag.* 2005;1(3):183-98.

Hamsten A, de Faire U, Walldius G, Dahlen G, Szamosi A, Landou C, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet.* 1987;2: 3-9.

Harlan WR, Hull AI, Schmoouder RL, Landis JR, Larkin FA, Thompson FE. High blood pressure in older Americans. The first National Health and Nutrition Examination Survey. *Hypertension.* 1984;6:802-9.

Harvey-Berino J, Gold BC, Lauber R, Starinski A. The impact of calcium and dairy product consumption on weight loss. *Obes Res.* 2005;13:1720-6.

Heaney RP. Calcium intake and disease prevention. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006;50:685-93.

Heaney RP. Dairy and Bone Health. *J Am Coll Nutr.* 2009;28:82S-90S.

Heilbronn LK, Noakes M, Clifton PM. Energy restriction and weight loss on very-low-fat diets reduce c-reactive protein concentrations in obese, healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:968-70.

Heiss CJ, Shaw SE, Carothers L. Association of calcium intake and adiposity in postmenopausal women. *J Am Coll Nutr.* 2008;27:260-6.

Hermann C, Assmus B, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Insulin-mediated stimulation of protein kinase Akt: a potent survival signaling cascade for endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:402-9.

Hilpert KF, West SG, Bagshaw DM, Fishell V, Barnhart L, Lefevre M, et al. Effects of dairy products on intracellular calcium and blood pressure in adults with essential hypertension. *J Am Coll Nutr.* 2009;28:142-9.

Hivert MF, Sullivan LM, Fox CS, Nathan DM, D'Agostino RB, Wilson PWF, Meigs JB. Associations of Adiponectin, Resistin, and TNF- α with Insulin Resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* doi:10.1210/jc.2008-0425.

Hollis BW. Assay of circulating 1,25-dihydroxyvitamin D involving a novel single-cartridge extraction and purification procedure. *Clin Chem.* 1986;32:2060-3.

Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science.* 1996;271:665-8.

Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259:87-91.

Huang B, Rodreiguez BL, Burchfiel CM, Chyou PH, Curb JD, Sharp DS. Associations of adiposity with prevalent coronary heart disease among elderly men: The Honolulu Heart Program. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997;21(5):340-8.

Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, and Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26- year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 1983;67:968-77.

Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation.* 1997;16:96:4219-25.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística –. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em 1 de novembro de 2009.

Ilich JZ, Brownbill RZ. A two-year follow-up in postmenopausal women reveals lower body weight and fat with higher calcium intake. *FASEB J.* 2004;18:A374.1(abstr).

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

Institute of Medicine: "Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride." Washington, DC: National Academy Press;1997:106-17.

Jacobsen R, Lorenzen JK, Toubro S, Krog-Mikkelsen I, Astrup A. Effects of short-term high dietary calcium intake on 24-h energy expenditure, fat oxidation, and fecal fat excretion. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2005;29:292-301.

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

Janand-Delenne B, Chagnaud C, Raccah D, Alessi MC, Juhan-Vague I, Vague P. Visceral fat as a main determinant of plasminogen activator inhibitor 1 level in women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998;22:312-7.

Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Mature adipocytes inhibit in vitro differentiation of human preadipocytes via angiotensin type 1 receptors. *Diabetes.* 2002; 51:1699-707.

Jefferis BJ, Whincup PH, Welsh P, Wannamethee SG, Rumley A, Lennona LT, et al. Circulating TNF α levels in older men and women do not show independent prospective relations with MI or stroke. *Atherosclerosis.* 2009; 205:302-8.

Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension.* 2004;44:6-11.

Joffres MR, Reed DM, Yano K. Relationship of magnesium intake and other dietary factors to blood pressure: the Honolulu heart study. *Am J Clin Nutr.* 1987;45:469-75.

Jones BH, Kim JH, Zemel MB, Woychik RP, Michaud EJ, Wilkison WO, et al. Upregulation of adipocyte metabolism by agouti protein: possible paracrine actions in yellow mouse obesity. *Am J Physiol.* 1996;270:192-6.

Jorde R, Bønaa KH. Calcium from dairy products, vitamin D intake, and blood pressure: The Tromsø study. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:1530-5.

Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation.* 1996;94:2057-63.

Juhan-Vague I, Vague P, Alessi MC, Badier C, Valadier J, Aillaud MF, et al. Relationships between plasma insulin triglyceride, body mass index, and plasminogen activator inhibitor. *Diab Metab.* 1987;13:331-6.

Kahaleh MB, Fan PS. Effect of cytokines on the production of endothelin by endothelial cells. *Clin Exp Rheumatol.* 1997;15:163-7.

Kanety H, Feinstein R, Papa MZ, Hemi R, Karasik A. Tumor necrosis factor alpha-induced phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1). Possible mechanism for suppression of insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of IRS-1. *J Biol Chem.* 1995; 270:23780-4.

Karanja N, Morris CD, Rufolo P, Snyder G, Illingworth DR, McCarron DA. Impact of increasing calcium in the diet on nutrient consumption, plasma lipids, and lipoproteins in humans. *Am J Clin Nutr.* 1994;59:900-7.

Katsanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A, Wolfe RR. A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;291:E381-7.

Keogh JB, Brinkworth GD, Noakes M, Belobrajdic DP, Buckley JD. Effects of weight loss from a very-low-carbohydrate diet on endothelial function and markers of cardiovascular disease risk in subjects with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:567-76.

Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *Clin Invest.* 1995;95:2111-29.

Kharbanda R, MacAllister RJ. The atherosclerosis time-line and the role of the endothelium. *Curr Med Chem.* 2005;5:47-52.

Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res.* 2008;79:360-76.

Klein S, Sheard NF, Pi-Sunyer X, Daly A, Wylie-Rosett J, Kulkarni K, et al. Weight management through lifestyle modification for the prevention and management of type 2 diabetes: rationale and strategies: a statement of the American Diabetes Association, the North American Association for the Study of Obesity, and the American Society for Clinical Nutrition. *Diabetes Care.* 2004;27:2067-73.

Kim JH, Kiefer LL, Woychik RP, Wilkison WO, Truesdale A, Ittoop O, Willard D, Nichols J, Zemel MB. Agouti regulation of intracellular calcium. Role of melanocortin receptor. *Am J Physiol.* 1997;272:E379-E384.

Kimball SR, Jefferson LS. Regulation of protein synthesis by branched chain amino acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001;4:39-43.

Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2000;342:1792-801.

Koning L, Merchant AT, Pogue J, Anand SS. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *Eur Heart J.* 2007;28:850-6.

Koster HP, Hartog A, Van Os CH, Bindels RJ. Calbindin-D28K facilitates cytosolic calcium diffusion without interfering with calcium signaling. *Cell Calcium.* 1995;18:187-96.

Kris-Etherton PM, Grieger JA, Hilpert KF, West SG. Milk products, dietary patterns and blood pressure management. *J Am Coll Nutr.* 2009;28:103S-19S.

Landin K, Stigendal L, Eriksson E, Krotkiewski M, Risberg B, Tengborn L, et al. Abdominal obesity is associated with an impaired fibrinolytic activity and elevated plasminogen activator inhibitor-1. *Metabolism.* 1990;39:1044-8.

Lau DCW, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:H2031-H2041.

Lavie CJ, Milani RV. Obesity and cardiovascular disease: the Hippocrates paradox? *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:677-9.

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

Layman DK. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. *J. Nutr.* 2003;133:261S-7S.

Le Quan-Sang KH, Laude D, Devynck MA. Platelet cytosolic free Ca²⁺ concentration and serotonin (5-HT) content in essential hypertension. *J Hypertens.* 1987;5:237-40.

Lechi A, Lechi C, Bonadonna G, Sinigaglia D, Corradini P, Polignano R, et al. Increased basal and thrombin-induced free calcium in platelets of essential hypertensive patients. *Hypertension.* 1987;9:230-5.

Lemieux I, Pascot A, Prud'homme D, Almeras N, Bogaty P, Nadeau A, et al. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:961-7.

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

Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:456S-60S.

Lin Y-C, Lyle RM, McCabe LD, McCabe GP, Weaver CM, Teegarden D. Dairy calcium is related to changes in body composition during a two-year exercise intervention in young women. *J Am Coll Nutr.* 2000;19:754-60.

Lindahl B, Nilsson TK, Jansson JH, Asplund K, Hallmans G. Improved fibrinolysis by intense lifestyle intervention. A randomized trial in subjects with impaired glucose tolerance. *J Intern Med.* 1999;246:105-12.

Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardizations reference manual. Champaign, IL: Human Kinetics, 1988.

Lorenzen JK, Nielsen S, Holst JJ, Tetens I, Rehfeld JF, Astrup A. Effect of dairy calcium or supplementary calcium intake on postprandial fat metabolism, appetite, and subsequent energy intake. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:678-87.

Loss RJJ, Rankinen T, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, et al. Calcium intake is associated with adiposity in black and white men and white women of the HERITAGE Family Study. *J Nutr.* 2004;134:1772-8.

Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest.* 2007;117:175-84.

Ma B, Lawson AB, Liese AD, Bell RA, Mayer-Davis EJM. Dairy, magnesium and calcium intake in relation to insulin sensitivity: Approaches to modeling a dose-dependent association. *Am J Epidemiol.* 2006;164:449-58.

Madsen EL, Rissanen A, Bruun JM, Skogstrand K, Tonstadi S, Hougaard DM, et al. Weight loss larger than 10% is needed for general improvement of levels of circulating adiponectin and markers of inflammation in obese subjects: a 3-year weight loss study. *Eur J of Endocrinol.* 2008;158:179-87.

Major GC, Alarie F, Doré J, Phouttama S, Tremblay A. Supplementation with calcium + vitamin D enhanced the beneficial effect of weight loss on plasma lipid and lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:54-9.

Major GC, Chaput JP, Ledoux M, St-Pierre S, Anderson GH, Zemel MB, et al. Recent developments in calcium-related obesity research. *Obes Reviews.* 2008;9:428-45.

Marfella R, Quagliaro L, Nappo F, Ceriello A, and Giugliano D. Acute hyperglycemia induces oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest.* 2001;108:635-6.

Marques-Vidal P, Gonçalves A, Dias CM. Milk intake is inversely related to obesity in men and in young women: data from the Portuguese Health Interview Survey 1998-1999. *Int J Obes.* 2006;30:89-3.

Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, Flier JS. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science.* 2001;294:2166-70.

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

Mathieu P, Poirier P, Pibarot P, Limieux I, Despre's JP. Visceral obesity: the link among inflammation, hypertension, and cardiovascular disease. *Hypertension.* 2009;53:577-84.

Matsushita K, Wu Y, Okamoto Y, Pratt RE, Dzau VJ. Local renin angiotensin expression regulates human mesenchymal stem cell differentiation to adipocytes. *Hypertension*. 2006; 48:1095-102.

Maury, E., Brichard, S.M., Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol. Cell. Endocrinol.* (2009), doi:10.1016/j.mce.2009.07.031 (in press).

McCarron DA, Morris CD, Henry HJ, Stanton JL. Blood pressure and nutrient intake in the United States. *Science*. 1984;224:1392-8.

McCarron DA, Reusser ME. Finding consensus in the dietary calcium-blood pressure debate. *J Am Coll Nutr*. 1999;18:398S-405S.

McCarty MF, Merzer G, Pereira MA, Ludwig DS. Dairy products and insulin resistance. *JAMA*. 2002;288:693-4.

McGill JB, Schneider DJ, Arfken CL, Lucore CL, Sobel BE. Factors responsible for impaired fibrinolysis in obese subjects and NIDDM patients. *Diabetes*. 1994;43:104-9.

Miller O. Bioquímica do sangue – substâncias não eletrolíticas. In: Miller O. *Laboratório para o clínico*. 1999, Ed Atheneu São Paulo 8ed Cap. 1 pp 3-32.

Miller MA, Cappuccio FP. Cellular adhesion molecules and their relationship with measures of obesity and metabolic syndrome in a multiethnic population. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30:1176-82.

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

Millward D J, Layman DK, Tomé D, Schaafsma G. Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(suppl):1576S- 81S.

Mirmiran P, Esmailzadeh A, Azizi F. Dairy consumption and body mass index: an inverse relationship. *Int J Obes*. 2005;29:115-21.

Mogi M, Iwai M, Horiuchi M. Emerging concept of adipogenesis regulation by the reninangiotensin system. *Hypertension*. 2006;48:1020-2.

Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin EndocrinolMetab*. 1997;82:4196-200.

Mohanty P, Hamouda W, Garg R, Aljada A, Ghanim H, Dondona P. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2970-3.

Monzillo LU, Hamdy O, Horton ES, Ledbury S, Mulooly C, Jarema C, et al. Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obes Res.* 2003;11:1048-54.

Mora S, Lee IM, Buriong JE, Ridker PM. Association of physical activity and body mass index with novel and traditional cardiovascular biomarkers in women. *JAMA.* 2006;295:1412-9.

Morgan CR, Lazarow A. Immunoassay of insulin: two antibody system: plasma insulin levels in normal, subdiabetic and diabetic rats. *Diabetes.* 1963;12:115-6.

Morris KL, Zemel MB. 1,25-dihydroxyvitamin D3 modulation of adipocyte glucocorticoid function. *Obes Res.* 2005;13:670-7.

Neels JG, Olefsky JM. Inflamed fat: what starts the fire? *J. Clin. Invest.* 2006;116:33-5.

Norton LE, Layman DK. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. *J Nutr.* 2006;136:533S-7S.

Oparil S. Are there meaningful differences in blood pressure control with current antihypertensive agents? *Am J Hypertens.* 2002;15:14S-21S.

Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation.* 1999;100:2473-6.

Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med.* 2004;351:2599-610.

Palomo I, Alarcón M, Moore-Carrasco R, Argilés JM. Hemostasis alterations in metabolic syndrome. *Int J Mol Med.* 2006;18:969-74.

Pannacciulli N, Cantatore FP, Minenna A, Bellacicco M, Giorgino R, De Pergola G. C-reactive protein is independently associated with total body fat, central fat, and insulin resistance in adult women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25:1416-20.

Parikh SJ, Yanovski JA. Calcium intake and adiposity. *Am J Clin Nutr.* 2003;77:281-7.

Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005;69:29-35.

Parnham AJ, Wijeyesing ECR, Tarbit JF, Wilkinson R, Farndon JR. Intact parathyroid hormone assay offers increased sensitivity over C-terminal assays in the study of parathyroid graft function. *Nephron*. 1986;44:8-10.

Pereira MA, Jacobs DR, Horn LV, Slattery ML, Kartashov AI, Ludwig DS. Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults. The CARDIA study. *JAMA*. 2002;287:2081-9.

Peterson MJ, Czerwinski SA, Siervogel RM. Development and validation of skinfold-thickness prediction equations with a 4-compartment model. *Am J Clin Nutr*. 2003;77:1186-91.

Petrov V, Lijnen P. Modification of intracellular calcium and plasma rennin by dietary calcium in men. *Am J Hypertens*. 1999;12:1217-24.

Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschop MH. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:9793-8.

Picotto G. Rapid effects of calciotropic hormones on female rat enterocytes: combined actions of 1,25(OH)₂-vitamin D₃, PTH and 17β-estradiol on intracellular Ca²⁺ regulation. *Horm Metab Res*. 2001;33:733-8.

Pikilidou MI, Lasaridis AN, Sarafidis PA, Befani CD, Koliakos GG, Tziolas IM, et al. Insulin sensitivity increase after calcium supplementation and change in intraplatelet calcium and sodium–hydrogen exchange in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabet. Med*. 2009;26:211–9.

Pischon T, Boeing H, Hoffmann K, Bergmann M, Schulze MB, Overvad K, et al. General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. *N Engl J Med*. 2008;359:2105–20.

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

Pittas AG, Harris SS, Stark PC, Dawson-Hughes B. The Effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. *Diabetes Care*. 2007b;30:980-6

Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. REVIEW: The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007a;92:2017-29.

Plat J, Jellema A, Ramakers J, Mensink RP. Weight Loss, but Not Fish Oil Consumption, Improves Fasting and Postprandial Serum Lipids, Markers of Endothelial Function, and Inflammatory Signatures in Moderately Obese Men. *J. Nutr*. 2007;137: 2635-40.

Poirer P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:968-76.

Ponthieux A, Herbeth B, Drosch S, Haddy N, Lambert D, Visvikis. Biological determinants of serum ICAM-1, E-selectin, P-selectin and L-selectin levels in healthy subjects: the Stanislas study. *Atherosclerosis.* 2004;172:299-308.

Pontiroli A, Pizzocri P, Koprivec D, Vedani P, Marchi M, Arcelloni C, et al. Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *Eur J Endocrinol.* 2004;150:195-200.

Popa C, Netea M.G. van Riel P.L.C.M. The role of TNF- α in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res.* 2007;48:751-62.

Potts JT. Diseases of the parathyroid gland and other hyper-and hypocalcemic disorders. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL. *Harrison's: Principles of internal medicine.* 16th ed. Ed McGraw-Hill, 2005:2249-68.

Pou KM, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Maurovich-Horvat P, Larson MG, et al. Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2007;116:1234-41.

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin -6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001;286:327-34.

Reed D, McGee D, Yano K, Hankin J. Diet, blood pressure, and multicollinearity. *Hypertension.* 1985;7:405-10.

Reid IR. Effects of calcium supplementation on circulating lipids: potential pharmacoeconomic implications. *Drugs Aging.* 2004;21:7-17.

Reid IR, Horne A, Mason B, Ames R, Bava U, Gamble GD. Effects of calcium supplementation on body weight and blood pressure in normal older women: A randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:3824-9.

Reid IR, Mason B, Horne A, Ames R, Clearwater J, Bava U, et al. Effects of calcium supplementation on serum lipid concentrations in normal older women: a randomized controlled trial. *Am J Med.* 2002;112:343-7.

Resnick LM. Cellular ions in hypertension, insulin resistance, obesity, and diabetes: a unifying theme. *J Am Soc Nephrol.* 1992;3:78-85.

Reusch JE, Begum N, Sussman KE, Draznin B. Regulation of GLUT-4 phosphorylation by intracellular calcium in adipocytes. *Endocrinology.* 1991;129:3269-73.

Rexrode KM, Pradhan A, Manson JE, Buring JE, Ridker PM. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Ann Epidemiol.* 2003;13:674-82.

Ricci TA, Heymsfield SB, Pierson RN, Stahl T, Chowdhury HA, Shapses SA. Moderate energy restriction increases bone resorption in obese postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:347-52.

Ricquier D. Respiration uncoupling and metabolism in the control of energy expenditure. *Proc Nutr Soc.* 2005;64:47-52.

Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation.* 2004;109:IV6-IV19.

Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med.* 1997;336:973-9.

Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000a;342:836-43.

Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet.* 1998;10:351:88-92.

Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CPR as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA.* 2005;294(3):326-33.

Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of Tumor Necrosis Factor- α and Increased Risk of Recurrent Coronary Events After Myocardial Infarction. *Circulation.* 2000b;101:21-49.

Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet.* 1993;341:1165-8.

Riedt CS, Schlussek Y, Thun N, Ambia-Sobhan H, Stahl T, Field MP, et al. Premenopausal overweight women do not lose bone during moderate weight loss with adequate or higher calcium intake. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:972-80.

Rieu I, Balage M, Sornet C, et al. Leucine supplementation improves muscle protein synthesis in elderly men independently of hyperaminoacidaemia. *J Physiol.* 2006;575:305-15.

Rifai N, Ridker PM. Inflammatory markers and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13:383-9.

Rimm EB, Stampfer MJ, Giovannucci E, Ascherio A, Spiegelman D, Colditz GA, Willett WC. Body size and fat distribution as predictors of coronary heart disease among middle-aged and older US men. *Am J Epidemiol.* 1995;141:1117-27.

Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;64:355-65.

Rosell M, Johansson G, Berglund L, Vessby B, De Faire U, Hellenius ML. Associations between the intake of dairy fat and calcium and abdominal obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28:1427-34.

Ruhl CE, Harris TB, Ding J, Goodpaster BH, Kanaya AM, Dritchevsky SB, et al. Body mass index and serum leptin concentration independently estimate percentage body fat in older adults. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:1121-6.

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

Saijo Y, Kiyota N, Kawasaki Y, Miyazaki Y, Kashimura J, Fukuda M, Kishi R. Relationship between C-reactive protein and visceral adipose tissue in healthy Japanese subjects. *Diabetes Obes Metab.* 2004;6:249-58.

Sakhaee K, Maalouf NM. Dietary calcium, obesity and hypertension – The end of the road? *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:4411-3.

Sánchez M, Sierra AI, Coca A, Poch E, Giner V, Urbano-Márquez A. Oral calcium supplementation reduces intraplatelet free calcium concentration and insulin resistance in essential hypertensive patients. *Hypertension.* 1997;29:531-6.

Sanz J & Fayad ZA. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature.* 2008;45:953-7.

Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, Lindberg G, Savage PJ, Offenbacher S, et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet.* 1999;353:1649-52.

Schrager S. Dietary calcium intake and obesity. *J Am Board Fam Pract.* 2005;18:205-10.

Selvin E, Paynter NP, Erlinger TP. The effect of weight loss on C-reactive protein. *Arch Intern Med.* 2007;167:31-9.

Shahar DR, Abel R, Elhayany A, Vardi H, Fraser D. Does dairy calcium intake enhance weight loss among overweight diabetic patients? *Diabetes Care*. 2007;30:485-9.

Shahkhalili Y, Murset C, Meirim I, Duruz E, Guinchard S, Caradini C, et al. Calcium supplementation of chocolate: Effect on cocoa butter digestibility and blood lipids in humans. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:246-52.

Shapses SA, Heshka S, Heymsfield SB. Effect of calcium supplementation on weight and fat loss in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:632-7.

Sharma AM, Janke J, Gorzelniak K, Engeli S, Luft FC. Angiotensin blockade prevents type 2 diabetes by formation of fat cells. *Hypertension*. 2002;40:609-11.

Shi H, Dirienzo D, Zemel MB. Effects of dietary calcium on adipocyte lipid metabolism and body weight regulation in energy-restricted aP2-agouti transgenic mice. *FASEB J*. 2001a;15:291-3.

Shi H, Norman AW, Okamura WH, Sen A, Zemel MB. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits uncoupling protein 2 expression in human adipocytes. *FASEB J*. 2002;16:1808-10.

Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell Tissue Res*. 2009;335:191-203.

Silva JAM, Correia MITD. Nutrição e litíase renal. In: Riella MC, Martins C. Nutrição e o rim. Ed. Guanabara-Koogan 2001:207-12.

Simionescu M. Implications of early structural-functional changes in the endothelium for vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:266-74.

Simpson JA, MacInnis RJ, Peeters A, Hopper JL, Giles GG, English DR. A comparison of adiposity measures as predictors of all-cause mortality: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Obesity (Silver Spring)*. 2007; 15:994-1003.

Skoog T, Dichtl W, Boquist S, Skoglund-Andersson C, Karpe F, Tang R, et al. Plasma tumour necrosis factor-alpha and early carotid atherosclerosis in healthy middle-aged men. *Eur Heart J*. 2002; 23:376-83.

Skurk T, Hauner H. Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. *Int J Obes*. 2004; 28:1357-64.

Smogorzewski M, Zayed M, Zhang YB, Roe J, Massry SG. Parathyroid hormone increases cytosolic calcium concentration in adult rat cardiac myocytes. *Am J Physiol*. 1993;264:H1998-H2006.

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

Soares MJ, Binns C, Lester L. Higher intakes of calcium are associated with lower BMI and waist circumference in Australian adults: an examination of the 1995 National Nutrition Survey. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2004;13:S85.

Souza SC, Yamamoto MT, Franciosa MD, Lien P, and Greenberg AS. BRL 49653 blocks the lipolytic actions of tumor necrosis factor α : a potential new insulin-sensitizing mechanism for thiazolidinediones. *Diabetes.* 1998;47:691-5.

Stenvinkel P, Lonnqvist F, Schalling M. Molecular studies of leptin: implications for renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14:1103-12.

Stipanuk MH. Leucine and protein synthesis: mTOR and beyond. *Nutr Rev.* 2007;65:122-9.

St-Pierre MV, Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, Meier PJ. Transport of bile acids in hepatic and non-hepatic tissues. *J Exp Biol.* 2001;204:1673-86.

Sturm R, Well KB. Does obesity contribute as much to morbidity as poverty or smoking? *Public Health.* 2001;115:229-35.

Sun X, Morris KL, Zemel MB. Role of calcitriol and cortisol on human adipocyte proliferation and oxidative and inflammatory stress: A microarray study. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2008;1:30-48.

Sun XC, Zemel MB. Reactive oxygen species stimulate cell proliferation and down-regulate UCP2 expression in 3T3-L1 adipocytes. *Obes Res.* 2004;11:A37 [abstr].

Sun XC, Zemel MB. Dietary calcium regulates ROS production in aP2-agouti transgenic mice on high fat/high sucrose diets. *Int J Obes.* 2006;30:1341-6.

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

Sun X, Zemel MB. Leucine and calcium regulate fat metabolism and energy partitioning in murine adipocytes and muscle cells. *Lipids.* 2007b; 42: 297-305.

Sun X, Zemel MB. Calcitriol and calcium regulate cytokine production and adipocyte-macrophage cross-talk. *J Nutr Biochemistry.* 2008;19:392-9.

Sun X, Zemel MB. Leucine modulation of mitochondrial mass and oxygen consumption in skeletal muscle cells and adipocytes. *Nutrition & Metabolism.* 2009;6:26 doi:10.1186/1743-7075-6-26.

Tchernof A, Nolan A, Sites CK, Ades PA, Poehlman ET. Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation.* 2002;105:564-9.

Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: Pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev.* 2006;86:515-81.

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

Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Weinehall L, Huhtasaari F, et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women. *Circulation.* 1998;98:2241-7.

Thompson WG, Holdman NR, Janzow DJ, Slezak JM, Morris KL, Zemel MB. Effect of energy-reduced diets high in dairy products and fiber on weight loss in obese adults. *Obes Res.* 2005;13:1344-53.

Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med.* 1995; 332: 635-41.

Thongo FSL, Hudson R, Ross R, Janssen I, Graham TE. Plasma leptin in moderately obese men: independent effects of weight loss and aerobic exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279:E307-E313.

Thorpe MP, Jacobson EH, Layman DK, He X, Kris-Etherton PM, Evans EM. A diet high in protein, dairy, and calcium attenuates bone loss over twelve months of weight loss and maintenance relative to a conventional high-carbohydrate diet in adults. *J Nutr.* 2008;138(6):1096-100.

Townsend MS, Fulgoni VL, Stern JS, Adu-Afarwuah S, McCarron DA. Low mineral intake is associated with high systolic blood pressure in the Third and Fourth National Health and Nutrition Examination Surveys: could we all be right? *Am J Hypertens.* 2005;18:261-9.

Tremblay A, Gilbert JA. Milk products, insulin resistance syndrome and type 2 diabetes. *J Am Coll Nutr.* 2009;28:91S-102S.

Trøseid M, Lappegard KT, Mollnes TE, Arnesen H, Seljeflot I. Changes in serum levels of E-selectin correlate to improved glycaemic control and reduced obesity in subjects with the metabolic syndrome. *Scandinavian J of Clin & Laboratory Investigation.* 2005;65:283-90.

Tups A. Physiological models of leptin resistance. *J Neuroendocrinol.* 2009; 21:961-71.

Valdez R, Seidell JC, Ahn YI, Weiss KM. A new index of abdominal adiposity as an indicator of risk for cardiovascular disease. A cross-population study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1993;17:77-82.

Van der Meer R, Welberg JW, Kuipers F, Kleibeuker JH, Mulder NH, Termon DS, et al. Effects of supplemental dietary calcium on the intestinal association of calcium, phosphate, and bile acids. *Gastroenterology*. 1990;99:1653-9.

Van Loan M. The role of dairy foods and dietary calcium in weight management. *J Am Coll Nutr*. 2009;28:120S-9S.

van Meijl LEC, Vrolix R, Mensink RP. Dairy product consumption and the metabolic syndrome. *Nutr Res Reviews*. 2008;21:148-57.

Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: The first step toward coronary arteriosclerosis. *Circ J*. 2009;73:595-601.

vanMierlo LA, Arends LR, Streppel MT, Zeegers MP, Kok FJ, Grobbee DE, et al. Blood pressure response to calcium supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hum Hypertens*. 2006;20:571-80.

Vaskonen T. Dietary minerals and modification of cardiovascular risk factors. *J Nutr Biochem*. 2003;14:492-506.

Vaskonen T, Mervaala E, Sumuvuori V, Seppanen-Laakso T, Karppanen H. Effects of calcium and plant sterols on serum lipids in obese Zucker rats on a low-fat diet. *Br J Nutr*. 2002;87:239-45.

Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005 3:1879-83.

Verhoven S, Vanschoonbeek K, Verdijk LB, Koopman R, Wodzig WKWH, Dendale P, et al. Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men. *Am J Clin Nutr*. 2009;89:1468-75.

Villegas R, Gao YT, Dai Q, Yang G, Cai H, Li H, et al. Dietary calcium and magnesium intakes and the risk of type 2 diabetes: the Shanghai Women's Health Study. *Am J Clin Nutr*. 2009;89:1059-67.

Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*. 1999;282:2131-5.

Vogel R. Listening to the endothelium a story of signal and noise. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1965-6.

Wadden TA, Considine RV, Foster GD, Anderson DA, Sarwer DB, Caro JS. Short- and long-term changes in serum leptin in dieting obese women: Effects of caloric restriction and weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:214-8.

Wagner G, Shirley K, Hertzler S, DiSilvestro RA. Effects of various forms of calcium on body weight and bone turnover markers in women participating in a weight loss program. *J Am Coll Nutr*. 2007;26:456-61.

Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev.* 2000;21: 697-738.

Wang P, Ba ZF, Chaudry IH. Administration of tumor necrosis factor-alpha in vivo depresses endothelium-dependent relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1994;266:H2535-H41.

Wang L, Manson JE, Buring JE, Lee IM, Sesso HD. Dietary Intake of Dairy Products, Calcium, and Vitamin D and the Risk of Hypertension in Middle-Aged and Older Women. *Hypertension.* 2008;51:1-7

Weigle DS, Breen PA, Matthys CC, Callahan HS, Meeuws KE, Burden VR, et al. A high-protein diet induces sustained reductions in appetite, ad libitum caloric intake, and body weight despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and ghrelin concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:41-8.

Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante Jr AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112: 1796-808.

Welberg JW, Monkelbaan JF, de Vries EG, Muskiet FA, Cats A, Oremus ET, et al. Effects of supplemental dietary calcium on quantitative and qualitative fecal fat excretion in man. *Ann Nutr Metab.* 1994;38:246-52.

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

Whelton PK; He J; Appel LJ; Cutler JA; Havas S; Kotchen TA; et al; for the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Primary prevention of hypertension: Clinical and public health advisory from the National High Blood Pressure Education Program. *JAMA.* 2002;288:1882-8.

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

WHO - World Health Organization. Human energy requirements. Report of a Joint Food and Agriculture Organization/World Health Organization/United Nations University (FAO/WHO/UNU) Expert Consultation, Rome, 17 - 24 October 2001.

WHO - World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health: Obesity and overweight. 2003. Disponível em <http://www.who.int>. Acessado em 1 novembro de 2009.

WHO/Europe - World Health Organization / Europe. Obesity in Europe. Disponível em <http://www.euro.who.int/obesity>. Acessado em 1 de novembro de 2009.

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

Willett WC, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Weight, weight change, and coronary heart disease in women. Risk within the "normal" weight range. *JAMA* 1995;273:461-5.

Wisse BE. The inflammatory syndrome: The role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:2792-800.

Witteman JCM, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Sacks FM, Speizer FE, et al. A prospective study of nutritional factors and hypertension among US women. *Circulation.* 1989;80:1320-7.

Wyatt HR, Jortberg BT, Babbel C, Garner S, Dong F, Grunwald GK, et al. Weight loss in a community initiative that promotes decreased energy intake and increased physical activity and dairy consumption: calcium weighs-in. *J Physical Activity and Health.* 2008; 5:28-44.

Xenachis C, Samojlik E, Raghuwanshi MP, Kirschner MA. Leptin, insulin and TNF-alpha in weight loss. *J Endocrinol Invest.* 2001;24:865-70.

Xiaoyu Z, Payal B, Melissa O, Zanello LP. 1alpha,25(OH)₂-vitamin D₃ membrane-initiated calcium signaling modulates exocytosis and cell survival. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007;103:457-61.

Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003;112:1821-30.

Xue BZ, Greenberg AG, Kraemer FB, Zemel MB: Mechanism of intracellular calcium inhibition of lipolysis in human adipocytes. *FASEB.* 2001;15:2527-9.

Xue H, McCarron DA, Bukoski RD. 1,25(OH)₂ vitamin D₃-induced ⁴⁵Ca uptake in vascular myocytes cultured from spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Life Sci.* 1991;49:651-9.

Xue BZ, Moustaid N, Wilkison WO, Zemel MB. The agouti gene product inhibits lipolysis in human adipocytes via a Ca²⁺-dependent mechanism. *FASEB.* 1998;12:1391-6.

Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, et al. Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond).* 2002;103:137-42.

Yang Z, Ming X. Recent advances in understanding endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Clin Med & Res* 2006;4:53-65.

Ye WZ, Reis AF, Dubois-Laforgue D, Bellanne-Chantelot C, Timsit J, Velho G. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset. *Eur J Endocrinol.* 2001;145:181-6.

Yeung F, Hoberg Ramsey CS, Keller MD, Jones DR, Frye RA, Maho MW. Modulation of NF κ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J.* 2004;23:2369-80.

Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:972-8.

Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, et al, INTERHEART Study Investigators. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet.* 2005;366(9497):1640-9.

Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, Olszanecka-Glinianowicz M, Zurakowski A. Serum concentrations of TNF- α and soluble TNF- α receptors in obesity. *Int J Obes.* 2000;24:1392-5.

Zemel MB. Insulin resistance vs. hyperinsulinemia in hypertension: insulin regulation of Ca²⁺ transport and Ca(2+)-regulation of insulin sensitivity. *J Nutr.* 1995;125:1738S-43S.

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

Zemel MB. Regulation of adiposity and obesity risk by dietary calcium: Mechanisms and implications. *J Am Coll Nutr.* 2002;21:146S-51S.

Zemel MB. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:907S-12S.

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

Zemel MB, Donnelly JE, Smith BK, Sullivan DK, Richards J, Morgan-Hanusa D, et al. Effects of dairy intake on weight maintenance. *Nutr Metab (Lond).* 2008;5:28. doi:10.1186/1743-7075-5-28.

Zemel MB, Kim JH, Woychik RP, Michaud EJ, Kadwell SH, Patel IR, et al. Agouti regulation of intracellular calcium: role in the insulin resistance of viable yellow mice. *Proc Natl Acad Sci.* 1995;92:4733-7.

Zemel MB, Richards J, Mathis S, Milstead A, Gebhardt L, Silva E. Dairy augmentation of total and central fat loss in obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2005b;29:391-7.

Zemel MB, Richards J, Milstead A, Campbell P. Effects of calcium and dairy on body composition and weight loss in African-American adults. *Obes Res.* 2005a;13:1218-25.

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

Zemel MB, Sobhani T. Intracellular calcium modulation of cortisol production in human adipocytes. *FASEB J.* 2003; 17:A323(abstr).

Zemel MB, Sun X. Dietary Calcium and Dairy Products Modulate Oxidative and Inflammatory Stress in Mice and Humans. *J. Nutr.* 2008a;138:1047-52.

Zemel MB, Sun X. Calcitriol and energy metabolism. *Nutr Review.* 2008b; 66(Suppl. 2):S139-S46.

Zemel MB, Sun X, Sobhani T, Wilson B. Effects of dairy compared with soy on oxidative and inflammatory stress in overweight and obese subjects. *Am J Clin Nutr* doi: 10.3945/ajcn.2009.28468.

Zemel MB, Teegarden DB, Van Loan MB, Schoeller DB, Matkovic VB, Lyle RB, Craig BB. Role of dairy products in modulating weight and fat loss: A multi-center trial *FASEB J.* 2004b;18:A566.5(abstr).

Zemel MB, Thompson W, Milstead A, Morris K, Campbell P. Calcium and dairy acceleration of weight and fat loss during energy restriction in obese adults. *Obes Res.* 2004a ;12:582-90.

Zhang Y, Guo K, LeBlanc RE, Loh D, Schwartz GJ, Yu YH. Increasing dietary leucine intake reduces diet-induced obesity and improves glucose and cholesterol metabolism in mice via multimechanisms. *Diabetes.* 2007;56:1647-54.

Zhang C, Rexrode KM, van Dam RM, Li TY, Hu FB. Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality. Sixteen years of follow-up in US women. *Circulation.* 2008;117:1658-67.

Zhongmin MA. Radioimmunoassay of leptin in human plasma. *Clin Chem.* 1996;42:942-6.

Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation.* 2002;105:804-9.

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](#)