

MÁRCIA MARIA GODOY GOWDAK

**Efeito da ingestão aguda de gordura na resposta vasodilatadora
muscular em portadores de polimorfismo nos receptores
b₂-adrenérgicos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão

São Paulo

2007

Ao meu amado marido, Luís Henrique, que sempre me apoiou em todas as decisões importantes da minha vida e sempre me estendeu a mão nos momentos mais difíceis. Você é para mim um exemplo a ser seguido em sua dedicação, responsabilidade e carinho como pai, marido e médico. Aos seus ensinamentos, serei sempre grata.

Aos meus filhos, Henrique e Matheus, que nasceram durante a execução desta tese e me deram muita força e coragem para conseguir executá-la com sucesso. A vontade de estar com vocês sempre superou o cansaço dos dias de trabalho intenso.

Ao meu pai, **Plínio**, pelo exemplo de honestidade e trabalho, cujo incentivo me possibilitou
seguir adiante.

À minha mãe, **Áurea**, pelo amor, ternura e especialmente por ser a minha grande amiga.

Aos meus irmãos, **Carlinhos, Júnior, Denise e Emerson** pelo conceito de família ensinado
pelos nossos pais e que procuramos nunca perder.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão**, meu orientador, pela confiança e oportunidade que me concedeu de realizar uma tese sob a sua atenção. As minhas conquistas profissionais foram muito ampliadas ao seu lado. Os seus ensinamentos e seriedade serão sempre uma referência que, com certeza, guardarei por toda a minha carreira profissional.

À **Profa. Maria Urbana P. B. Rondon** que muito contribuiu para o aprimoramento deste trabalho. Os seus ensinamentos, paciência e humildade a fazem uma professora nata e pessoa muito especial.

À **Profa. Ivani C. Trombetta**, cujas descobertas junto ao Prof. Negrão contribuíram sobremaneira para a execução desta tese. Os resultados de um trabalho científico realizado com seriedade e dedicação tornaram possível esta nova investigação.

Ao colega **Mateus Laterza**, pela importante ajuda na condução dos experimentos e pelos ensinamentos no laboratório que me permitiram aprender a técnica a ser utilizada no estudo.

Ao **Dr. Alexandre C. Pereira**, pela disposição em responder quaisquer questionamentos relacionados a este trabalho e também pela sua ajuda na seleção dos voluntários.

Aos amigos **Elenice Aparecida Nunes Narumia, Soraya Reis e Eduardo Rondon** que me receberam com muito carinho no ano de 2001 e facilitaram a minha integração ao grupo.

A **todos os colegas de diferentes formações profissionais** que trabalham na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Instituto do Coração, pela troca constante de conhecimentos que nos tornam uma grande equipe.

Às secretárias **Maria Mônica de Moraes Marques, Ana Paula Gagliotti e Kátia Matsudo Mieko** pela delicadeza, simpatia e atenção dispensadas.

Aos membros da minha Banca de Qualificação, **Prof. Dr. Protásio Lemos da Luz, Dra. Maria Cristina Izar, Dra. Maria Urbana P. B. Rondon**, que, com autoridade científica, contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

À **Dechen Surkhang** por ter sido a minha mentora e também uma grande amiga durante a minha estadia em Baltimore, Estados Unidos. Jamais esquecerei dos conhecimentos adquiridos com sua experiência profissional, mas principalmente do seu carinho e paciência com as minhas limitações com a língua inglesa, durante os meus primeiros meses de trabalho. Tenho certeza de que os conhecimentos adquiridos ao seu lado me ajudaram a ingressar na Unidade de Reabilitação quando retornei ao Brasil.

Aos **voluntários** que participaram do estudo pela grande contribuição que permitiu a execução deste trabalho.

Às sras **Neusa Rodrigues Dini, Eva Malheiros Guiss de Oliveira e Juliana Lattari Sobrinho** muito solícitas, atenciosas e sempre nos lembrando gentilmente de todos os nossos compromissos na pós-graduação.

RESUMO

SUMMARY

INTRODUÇÃO	1
1. ENDOTÉLIO	2
1.1. RECEPTORES β - ADRENÉRGICOS	3
1.2. POLIMORFISMO DOS RECEPTORES β - ADRENÉRGICOS	5
1.3. DIETA E FUNÇÃO ENDOTELIAL	7
OBJETIVO	11
2. OBJETIVO DO ESTUDO	12
MÉTODOS	13
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	14
3.1. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	15
3.2. AVALIAÇÃO LABORATORIAL	16
3.2.1. DETERMINAÇÃO DA INSULINA	16
3.2.2. DETERMINAÇÃO DA GLICOSE	16
3.2.3. ANÁLISE DOS LÍPIDES	17
3.3. DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO PELO COMPRIMENTO DO FRAGMENTO DE RESTRIÇÃO	18
3.3.1. EXTRAÇÃO DO DNA	18
3.3.2. AMPLIFICAÇÃO POR PCR DO SEGMENTO DE DNA CONTENDO O CÓDON 27 DO RECEPTOR β_2 -ADRENÉRGICO	19
3.4. AVALIAÇÃO DO FLUXO SANGÜÍNEO MUSCULAR	19
3.4.1. PROTOCOLO DE EXERCÍCIO ISOMÉTRICO	20
3.4.2. PROTOCOLO DE ESTRESSE MENTAL	21
3.4.3. AVALIAÇÃO DA CONDUTÂNCIA VASCULAR NO ANTEBRAÇO	22
3.5. DIETA	22
3.6. SEQÜÊNCIA EXPERIMENTAL	23
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
RESULTADOS	26

4. RESULTADOS BASAIS	27
4.1. PROTOCOLO DE EXERCÍCIO ISOMÉTRICO	29
4.1.1. PERÍODO ANTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN	29
4.1.2. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO GLU27GLU	32
4.1.3. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO GLN27GLN	35
4.1.4. PERÍODO POSTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN	38
4.2. PROTOCOLO DE ESTRESSE MENTAL	41
4.2.1. PERÍODO ANTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN	41
4.2.2. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO GLU27GLU	45
4.2.3. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO GLN27GLN	48
4.2.4. PERÍODO POSTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN	51
4.3. TESTE DE DIFICULDADE DO ESTRESSE MENTAL	54
4.4. EXAMES LABORATORIAIS	55
DISCUSSÃO	57
5. DISCUSSÃO	58
5.1. INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO NA RESPOSTA VASODILATADORA	58
5.2. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO AGUDA DE GORDURA NA RESPOSTA VASODILATADORA	60
5.3. IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E PERSPECTIVAS	63
CONCLUSÕES	66
ANEXOS	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

GOWDAK, M. M. G. **Efeito da ingestão aguda de gordura na resposta vasodilatadora muscular em indivíduos portadores de polimorfismo nos receptores β_2 -adrenérgicos.** 2007. 94p. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Indivíduos portadores do glutamato na posição 27 do gene que codifica para o receptor β_2 -adrenérgico têm resposta vasodilatadora muscular aumentada durante manobras fisiológicas. No entanto, o impacto do consumo agudo de gordura nessa resposta não é conhecido. Neste estudo, testou-se a hipótese de que o consumo de gordura afetaria a resposta vasodilatadora aumentada destes indivíduos durante manobras fisiológicas. Vinte e cinco indivíduos saudáveis foram subdivididos em dois grupos: 11 homocigotos para o glutamato (Glu27Glu, 40 \pm 3 anos; 65 \pm 3kg) e 14 homocigotos para a glutamina (Gln27Gln, 40 \pm 2 anos; 64 \pm 2kg). O fluxo sanguíneo muscular foi medido por pletismografia de oclusão venosa. A resposta vasodilatadora muscular foi avaliada durante 3 minutos de exercício e estresse mental em jejum e 3 horas após consumo de 62 g de gordura. A condutância basal foi semelhante entre grupos (Glu27Glu=2,3 \pm 0,1; Gln27Gln=2,2 \pm 0,1; P=0,21). O aumento da condutância vascular durante exercício e durante o estresse mental foi maior no grupo Glu27Glu (0,73 \pm 0,2 vs 0,22 \pm 0,1; P=0,008 e 1,8 \pm 0,3 vs 1,2 \pm 0,2; P=0,04, respectivamente). O consumo agudo de uma preparação rica em gordura eliminou esta diferença. A resposta de pressão arterial e frequência cardíaca foi semelhante antes e após a ingestão de gordura. Os níveis de triglicérides, glicose e insulina foram semelhantes ao longo de todo período de estudo. O consumo agudo de gordura elimina a resposta aumentada do fluxo sanguíneo muscular durante manobras fisiológicas dos indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico.

Descritores: receptores beta₂-adrenérgicos – polimorfismo genético – vasodilatação – lipídios na dieta

GOWDAK, M. M. G. **Effect of acute fat intake on vascular reactivity response in individuals with polymorphism in the β_2 -adrenoceptors**. 2007. 94p. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Subjects who have glutamic acid at position 27 in gene encoding to β_2 -adrenoceptor have increased muscle vasodilatory response during physiological maneuvers. However, the impact of a high-fat meal in this response is unknown. We tested the hypothesis that a high-fat meal would modify the increased muscle vascular reactivity during handgrip and mental stress in these subjects. Twenty-five healthy subjects were subdivided in two groups: 11 were homozygous to glutamic acid (Glu27Glu, 40 ± 3 years; 65 ± 3 kg) and 14 were homozygous to glutamine (Gln27Gln, 40 ± 2 years; 64 ± 2 kg). Forearm blood flow was measured by venous occlusion pletysmography. Forearm blood flow was recorded for 3 minutes of handgrip and mental stress during fasting and three hours after 62g of fat consumption. Baseline forearm vascular conductance was similar between groups (Glu27Glu= 2.3 ± 0.1 ; Gln27Gln= 2.2 ± 0.1 ; $P=0.21$). Forearm vascular conductance during handgrip and mental stress was greater in the genotype Glu27Glu (0.73 ± 0.2 vs 0.22 ± 0.1 ; $P=0.008$ and 1.8 ± 0.3 vs 1.2 ± 0.2 ; $P=0.04$, respectively). Acute fat consumption eliminated the difference of vasodilatory response previously achieved. Blood pressure and heart rate response were similar before and after fat intake. Triglycerides, glucose and insulin levels were also similar between groups. We concluded that high-fat ingestion abolishes the augmented muscle blood flow responses during physiological maneuvers in individuals who are homozygous for the Glu27 allele of the β_2 -adrenoceptor gene.

Descriptors: beta-2 adrenergic receptors – polymorphism genetic – vasodilation
 – dietary fats

1. ENDOTÉLIO

Antes do achado histórico de Furchgott e Zawadski em 1980 ¹ sobre a função endotelial, era de conhecimento geral que o relaxamento e constrição dos vasos resultava da ação de hormônios circulantes ou da atividade nervosa, cujos transmissores não eram exatamente conhecidos ². Atualmente, após inúmeros estudos, sabe-se que em resposta às alterações na corrente sanguínea, o endotélio produz substâncias com propriedades vasoativas sobre a musculatura vascular que, entre inúmeras funções, regulam o seu estado contrátil ³.

As substâncias vasoativas produzidas pelo endotélio incluem os fatores relaxantes derivados do endotélio (FRDE), entre eles, o óxido nítrico (NO), e os fatores constritores derivados do endotélio (FCDE) como, por exemplo, a endotelina. O NO é um potente vasodilatador, protetor dos vasos da agressão de agentes que levam à aterosclerose; por sua vez, a endotelina tem ação vasoconstritora, participando na progressão da doença vascular. Na presença de fatores de risco, os níveis de NO encontram-se menores e, por outro lado, a endotelina, normalmente sintetizada em menor proporção, tem a sua síntese aumentada ².

A disfunção endotelial, caracterizada pelo desequilíbrio entre os FRDE e os FCDE, está associada ao aparecimento e perpetuação de diversas doenças ². Na doença cardiovascular, a disfunção endotelial está intimamente associada aos fatores de risco, como

hipertensão, tabagismo, diabetes, hipercolesterolemia e deficiência de estrógeno em mulheres pós-menopausa ⁴. Além do controle do tônus vascular, somam-se às funções do endotélio a modulação da coagulação sanguínea e da inflamação e a regulação do controle do crescimento vascular, tornando inquestionável a sua importância para o sistema cardiovascular ^{2,5-7}.

Além destas atribuições, o endotélio é o foco da ação de várias substâncias que agem em receptores específicos das células endoteliais ^{2,8}. Entre os receptores encontrados no endotélio, os adrenérgicos têm sido alvo de fármacos com importantes efeitos fisiológicos relacionados ao tratamento de doenças cardiovasculares. Até o momento, foram identificados vários subtipos de adrenoreceptores classificados conforme os locais de ação específicos. Entre eles, os receptores $\alpha_{2A/D}$, α_{2C} , β_1 , β_2 , β_3 estão localizados no endotélio e participam da regulação do tônus vascular ⁹.

1.1. RECEPTORES β - ADRENÉRGICOS

A busca pelo conhecimento das células alvos das principais catecolaminas endógenas mediadoras, noradrenalina e adrenalina, levou à descoberta dos adrenoreceptores α e β . Estes receptores adrenérgicos são membros de uma super família de receptores acoplados às proteínas ligantes de nucleotídeos de guanina, conhecidas por proteínas G ^{9,10}. Assim, todos os receptores acoplados a estas proteínas compartilham as mesmas características estruturais, ou seja, possuem porções extracelulares com terminais amino (NH₂-terminal), além de sete domínios transmembranários e terminais carboxílicos intracelulares ^{8,9}. A região aminoterminal do receptor é importante para a sua síntese e

inserção na membrana celular, enquanto a terceira alça intracelular e a porção proximal da região carboxi-terminal são locais de ligação do receptor à proteína G ¹¹.

A proteína G, por sua vez, consiste de três subunidades heterogênicas, α , β e γ e age como uma intermediária na transdução do sinal de ativação do receptor. Assim, quando o receptor se liga ao agonista, ocorre uma mudança de guanina trifosfato (GTP) para guanina difosfato (GDP), promovendo a dissociação entre receptor e proteína G. Neste momento, ocorre também a dissociação da subunidade α das subunidades β e γ , assim como a liberação do agonista do receptor. A dissociação da subunidade α e, em alguns casos, β e γ ativam as moléculas efetoras. A atividade da GTPase intrínseca da subunidade α hidrolisa o GTP em GDP, libera fosfato inorgânico e facilita a nova reassociação do receptor à proteína ⁹.

Os receptores β - adrenérgicos são divididos em 3 subtipos, β_1 , β_2 e β_3 e são codificados por três genes distintos localizados nos cromossomos humanos 10, 5 e 8, respectivamente. Estes receptores modulam as respostas cardiovasculares provocadas pela liberação de noradrenalina dos terminais nervosos simpáticos ou adrenalina circulante. Todos os receptores β sinalizam através do acoplamento da proteína G, provocando a ativação da adenilciclase e acúmulo do segundo mensageiro AMPc.

Considerando as múltiplas funções fisiológicas destes receptores, muitos estudos têm sido realizados na tentativa de esclarecer a ação individual dos subtipos destes receptores, através da utilização de agonistas e antagonistas seletivos. Neste contexto, Lands e cols. ^{12,13} foram os primeiros a sugerir a divisão dos receptores β -adrenérgicos em subtipos. De acordo com a sua classificação, os receptores β_1 modulam o funcionamento cardíaco e os β_2 modulam o relaxamento da musculatura lisa vascular e do sistema respiratório. Os

receptores β_2 , portanto, representam o subtipo mais predominante na musculatura lisa vascular.

Os receptores β_2 auxiliam no controle e distribuição de fluxo sanguíneo para os diferentes tecidos. Em situações de exercício físico, por exemplo, as taxas de adrenalina e noradrenalina plasmática atingem níveis elevados que podem chegar a até 30 vezes o valor de repouso, com grande efeito sobre o fluxo sanguíneo muscular através da estimulação dos receptores β_2 -adrenérgicos^{8,12,13}.

1.2. POLIMORFISMO DOS RECEPTORES β_2 – ADRENÉRGICOS

Estudos têm demonstrado que o gene que codifica para o receptor β_2 -adrenérgico apresenta heterogeneidade na população humana com ocorrências naturais de polimorfismos¹⁴. Na região codificadora do receptor foram identificadas nove substituições de base, sendo cinco delas degenerativas e sem significado funcional. Das outras quatro substituições não degenerativas, somente três localizadas nos códons 16, 27 e 164 do receptor alteram as propriedades funcionais do receptor, tanto *in vivo* quanto *in vitro*^{15,16}.

Como a vasodilatação é uma das principais funções do receptor β_2 -adrenérgico, o impacto potencial de uma mutação (polimorfismo) sobre a resposta vascular tem sido objeto de muito interesse.

Na tentativa de elucidar as conseqüências funcionais dos polimorfismos do gene do receptor β_2 -adrenérgico nos códons 16 e 27, foi estudada a porção amino terminal do receptor *in vitro*¹⁷. Os polimorfismos consistiam da substituição do aminoácido arginina

pela glicina no códon 16 (Arg16→Gly); da substituição do aminoácido glutamina pelo ácido glutâmico no códon 27 (Gln27→Glu) e da combinação das duas situações. Após exposição ao agonista, houve maior dessensibilização do receptor com o polimorfismo no códon 16 (Arg16→Gly), comparativamente à forma natural. Por outro lado, o polimorfismo Gln27→Glu parece conferir ao receptor uma maior resistência ao “*downregulation*” frente ao agonista, quando comparado com a forma natural. Assim, em culturas primárias das células musculares lisas da via aérea, uma concentração 60 vezes maior de isoprenalina foi necessária para promover “*downregulation*” em homozigotos na forma Glu27, comparativamente aos homozigotos Gln27^{16,17}.

Em alguns ensaios *in vivo*, a forma Glu27 mostrou uma funcionalidade diferente da forma Gln27. Cockroft e cols.¹⁸ observaram maior resposta vasodilatadora do fluxo sanguíneo do antebraço após infusão intra-arterial de isoprenalina em indivíduos homozigotos para o alelo Glu27, comparativamente àqueles homozigotos para o alelo Gln27. Outra investigação mostrou uma forte associação entre os polimorfismos presentes nos códons 16 e 27¹⁹. De acordo com esta correlação, os indivíduos que apresentam a forma homozigótica Glu27 são portadores também da forma homozigótica Gly16, enquanto homozigotos Gln27 podem ser homo ou heterozigotos na posição 16, na forma natural ou polimórfica.

A influência dos haplótipos em manobras fisiológicas provocadas por estresse mental e exercício foi recentemente demonstrada²⁰. A combinação dos diferentes haplótipos mostrou que a maior vasodilatação conferida aos indivíduos homozigotos Gly16/Glu27 foi independente do aminoácido localizado na posição 16. Portanto, a maior reatividade vascular durante as manobras fisiológicas foi relacionada à presença do

aminoácido glutamato na posição 27 e não da presença da forma mutada glicina na posição 16. No mesmo estudo, a vasodilatação exacerbada no grupo com polimorfismo foi suprimida após uso de β -bloqueador, evidenciando a influência do polimorfismo na alteração da funcionalidade do receptor. Além disso, a resposta exacerbada da vasodilatação nos indivíduos homozigotos Glu27Glu mostrou ser, de fato, mediada pelo receptor β_2 -adrenérgico ²⁰.

Embora os polimorfismos representem um baixo fator de risco para doenças ²¹, existem freqüentes associações da variante Glu27 com prevalência aumentada de obesidade, aumento de volume da célula adiposa e níveis aumentados de insulina, quando comparados com a forma Gln27 ¹⁵. A relação deste polimorfismo com a obesidade ^{15,22,23} e diabetes tipo II ^{24,25}, no entanto, não tem sido replicada em todos os estudos ²⁶⁻²⁸, existindo também associação de comorbidades com a forma mutada Gly16 ^{29,30} ou ainda nas duas formas mutadas ³¹⁻³³. Ainda assim, a idéia de que a presença do polimorfismo possa influenciar a saúde cardiovascular ^{34,35} como elemento fisiopatológico ou, ainda, provocar respostas diferenciadas ao tratamento medicamentoso ³⁶ tem atraído muito interesse nos últimos anos.

1.3. DIETA E FUNÇÃO ENDOTELIAL

O consumo de uma dieta rica em gordura saturada por longo período está associada com doença arterial coronariana. Apesar desta associação com as doenças do coração, o consumo elevado de gordura nem sempre se traduz em aumento de colesterol, o que leva à perspectiva de que outros mecanismos possam estar envolvidos na incidência de aterosclerose por dieta rica em gordura ³⁷.

Sabe-se que os nutrientes também podem influenciar o tônus vascular, a coagulação, o crescimento celular, respostas imunológicas e inflamatórias. Portanto, é possível imaginar que alterações funcionais do endotélio, mediadas por nutrientes, possam estar envolvidas na gênese de algumas doenças ^{38,39}.

Alterações metabólicas e funcionais do endotélio podem ser observadas com o consumo prolongado de dietas com diferentes composições ⁴⁰⁻⁴³, uso de suplementações ⁴⁴⁻⁵⁰, uso regular de vinho tinto ou suco de uva ⁵¹, ou ainda com a ingestão de uma única refeição. Neste caso, o consumo de uma refeição rica em gordura, por exemplo, leva o organismo a um estado de absorção prolongado. Entre as características que estão associadas com o período pós prandial e alteração do endotélio pode-se citar a hipertrigliceridemia, o aumento de partículas remanescentes, o aumento do tônus simpático, a hipertensão e o aumento de estresse oxidativo ⁵². Destas, a principal característica que envolve uma ingestão rica em gordura é o aumento dos triglicérides plasmáticos. A sua elevação é consequência da absorção intestinal de ácidos graxos e colesterol da dieta.

Evidências têm apontado a hipertrigliceridemia pós prandial como um fator de risco independente para as doenças cardiovasculares ^{37,53-55}. Assim, quando há elevação dos triglicérides, em consequência a uma única refeição, ocorre diminuição da partícula de LDL-colesterol, tornando-a mais vulnerável à oxidação ⁵⁶. O LDL-colesterol oxidado tem efeitos deletérios à parede vascular sendo um deles a diminuição endotélio-dependente do relaxamento vascular ⁵⁷.

Desta forma, muitos estudos foram conduzidos para testar a influência de uma refeição rica em gordura no endotélio. Vogel e cols. ⁵⁸ foram os primeiros a avaliar o efeito agudo de uma refeição rica em gordura sobre a função endotelial em indivíduos

saudáveis. Houve uma diminuição da vasodilatação somente após consumo de refeição rica em gordura e esta foi atribuída à elevação dos triglicérides. A diminuição da vasoreatividade da artéria braquial também foi encontrada após infusão intralipídica para indução da hipertrigliceridemia⁵⁹. Portanto, parece que o contato prolongado das células endoteliais com os ácidos graxos livres provoca prejuízo na função vascular. Neste caso, ocorre uma diminuição da capacidade destas células em gerar óxido nítrico bioativo, provavelmente por uma redução da atividade da NO sintase e um aumento na síntese local de superóxido⁶⁰. Além disso, a administração de vitaminas ou alimentos ricos em antioxidantes concomitante, ou em dias que antecedem uma refeição rica em gordura, previne a disfunção endotelial, sugerindo a participação de um mecanismo oxidativo na diminuição da função vascular⁶¹⁻⁶⁴.

A adição de proteína à refeição hipergordurosa também tem sido proposta na prevenção da hiperlipidemia pós prandial e de suas consequências, incluindo o aumento da síntese de superóxido⁶⁵.

O papel do estresse oxidativo na alteração vascular está presente em inúmeras investigações^{66,67}, mas não em todas⁶⁸. A associação do aumento dos triglicérides com prejuízo da vasodilatação é freqüente^{58,69}, embora, em alguns estudos, essa resposta tenha sido verificada em indivíduos com alguma doença associada ou idosos⁷⁰⁻⁷². Em um deles, por exemplo, a diminuição da vasodilatação ocorreu somente quando a gordura já tinha sido utilizada anteriormente, como é o caso do óleo usado para frituras em restaurantes⁷³. A diminuição da vasodilatação não foi relacionada com o aumento dos triglicérides, pois não houve mudança no comportamento dos vasos após o consumo da gordura que não tinha sido reutilizada, apesar da hipertrigliceridemia pós prandial.

Com trabalhos apontando para resultados divergentes e com diferentes metodologias empregadas⁷⁴, outros grupos avaliaram a reatividade vascular por pletismografia de oclusão venosa e ultrassom da artéria braquial^{75,76}. Em um deles houve um aumento da vasodilatação após o consumo de refeições ricas em gordura nos dois métodos utilizados. No outro, houve aumento do fluxo sanguíneo muscular basal após o consumo de gordura. Nas duas investigações o aumento pós-prandial do fluxo sanguíneo no antebraço foi atribuído ao aumento dos níveis de insulina plasmática. No entanto, a ação vasodilatadora da insulina parece ser eliminada na presença de resistência à insulina^{77,78}.

De todos os estudos até agora realizados, nenhum avaliou a vasodilatação induzida por manobras fisiológicas, após consumo elevado de gordura. Além disso, não se conhece o efeito agudo da ingestão de gordura na resposta vasodilatadora muscular dos indivíduos que apresentam a forma homozigota do glutamato na posição 27 do gene que codifica para o receptor β_2 -adrenérgico, em quem essa resposta está aumentada durante manobras fisiológicas.



OBJETIVO

2. OBJETIVO

Estudar em indivíduos magros e saudáveis com a presença da glutamina (Gln) ou ácido glutâmico (Glu) na forma homozigota do códon 27 do gene que codifica para o receptor β_2 -adrenérgico:

1. a resposta vasodilatadora muscular durante manobras fisiológicas de exercício isométrico e estresse mental;
2. a resposta vasodilatadora muscular provocada pelo exercício físico e estresse mental após a ingestão aguda de gordura.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

O protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão Científica e de Ética do Instituto do Coração e pela Comissão Científica e de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

Após aprovação, foram recrutados voluntários do Serviço de Pronto Atendimento do InCor para a triagem. Neste dia, os indivíduos obtiveram informação detalhada sobre o estudo e deram o seu consentimento por escrito, através do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Os critérios de seleção utilizados na triagem foram: homens e mulheres saudáveis, idade entre 30-55 anos e índice de massa corpóral (IMC) menor do que 25kg/m².

Os critérios de exclusão foram: homens e mulheres engajados em programa de atividade física nos últimos 2 meses, tabagistas, portadores de doenças crônicas ou em uso de medicações ou suplementações vitamínicas.

Foram selecionados 162 voluntários, que não utilizavam nenhum tipo de medicação e preenchiam todos os critérios de inclusão. As avaliações foram realizadas na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício, no Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular e no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Os voluntários foram genotipados e subdivididos de acordo com a característica genética do receptor β_2 -adrenérgico em:

- a) Indivíduos portadores da forma natural homozigota Gln27Gln no códon 27 do receptor;
- b) Indivíduos portadores da variante na forma homozigota Glu27Glu no códon 27 do receptor.

Do total de 162 indivíduos, 82 (50%) apresentaram a forma natural homozigota Gln27Gln, 16 (10%) a forma homozigota polimórfica Glu27Glu e 64 (40%) a forma heterozigota e, portanto, foram excluídos do estudo. Do subgrupo que apresentou o genótipo Glu27Glu, 3 indivíduos apresentaram alguma alteração metabólica nos exames de triagem e 2 desistiram da participação no estudo. Destes, 11 realizaram todos os exames. Dos 82 homozigotos Gln27Gln, 4 apresentaram alguma alteração metabólica, 5 desistiram do estudo, 15 iniciaram prática regular de exercício físico e 16 aumentaram de peso após genotipagem. Dos 42 restantes, 14 realizaram todos os exames. Portanto, participaram efetivamente do estudo 25 homens e mulheres eutróficos, normotensos (pressão arterial diastólica menor que 90mmHg e pressão arterial sistólica menor que 140mmHg), na faixa etária de 30 a 55 anos e que não estavam engajados em programa de atividade física.

3.1. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

O peso e a altura foram aferidos no dia da triagem. A inclusão dos indivíduos no estudo foi realizada pela avaliação do estado nutricional, definida pelo índice de massa

corporal (IMC). O IMC foi obtido através do cálculo do peso dividido pela altura ao quadrado [IMC= peso (kg)/altura² (m)]⁷⁹.

3.2. AVALIAÇÃO LABORATORIAL

A coleta de sangue venoso periférico foi realizada após 12 horas de jejum com determinação das medidas laboratoriais descritas a seguir.

3.2.1. DETERMINAÇÃO DA INSULINA

A concentração sérica da insulina foi determinada pelo método imunofluorimétrico AutoDELFIA (Wallac Oy, Turku, Finlândia). Os valores são expressos em microunidade por mililitro ($\mu\text{U/mL}$) de soro. As análises foram realizadas em duplicata. O coeficiente de variação foi < 6%.

A determinação da insulina plasmática foi realizada no laboratório de Pesquisa da Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina na Universidade de São Paulo.

3.2.2. DETERMINAÇÃO DA GLICOSE

A concentração plasmática de glicose foi determinada em analisador automático, modelo Cobas Integra da Roche, pelo método enzimático colorimétrico

hexoquinase. O intervalo de referência considerado para os valores normais de glicemia foi de 70 a 99mg/dL.

A determinação da glicose plasmática foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.2.3. ANÁLISE DOS LÍPIDES

A obtenção de plasma foi realizada por centrifugação a 3.000rpm durante 10min a 4°C em centrífuga refrigerada Sorvall RT 6000B (Sorvall Instruments, Du Pont Company, Newton, CT, EUA).

As dosagens de colesterol total (CT), HDL-c e triglicérides (TG) plasmáticas foram realizadas em sistema automatizado Cobas-MIRA (F. Hoffmann-La Roche, Basileia, Suíça), utilizando kits enzimáticos comerciais da Roche (Mannheim, Alemanha).

A concentração de colesterol nas frações LDL e VLDL foi determinada pela equação de Friedewald⁸⁰, onde $VLDL\text{-col} = TG/5$ e $LDL\text{-col} = Col\ Total - (HDL\text{-col} + VLDL\text{-col})$.

A determinação dos lípides plasmáticos foi realizada no laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.3. DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO PELO COMPRIMENTO DO FRAGMENTO DE RESTRIÇÃO

3.3.1. EXTRAÇÃO DO DNA

O DNA genômico foi extraído a partir de leucócitos de amostra de 10mL de sangue total, coletado em tubos contendo 25mM de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). Os leucócitos foram obtidos a partir da lise dos glóbulos vermelhos utilizando-se 20mL de uma solução contendo 1,44M NH_4Cl e 0,01M NH_4HCO_3 . O material foi conservado em geladeira a 4°C por 10min e centrifugado a 4°C por 10min a 3000rpm. O sobrenadante foi descartado e o mesmo procedimento, desde a adição da solução de lise até a centrifugação, foi repetido mais uma vez. O sobrenadante foi descartado novamente e o sedimento leucocitário suspenso em solução de lise de glóbulos brancos (3mL de 10mM Tris pH 8.0, 400mM de NaCl, 2mM de EDTA pH 8.0), 200 μl de SDS 10%, 500 μl de solução (50 μl de SDS 10%, 2 μl de EDTA 0,5M pH 8.0 e 488ml de H_2O Milli-Q) e 2 μl de proteinase K (20mg/mL) e incubado durante 18 horas à 37°C. No dia seguinte, adicionou-se 1mL de solução com NaCl 6M com agitação vigorosa da solução por 15s, seguida por centrifugação a 4°C por 20min a 3000rpm. O sobrenadante contendo DNA foi transferido para um tubo contendo 1mL de etanol 70%. Em seguida o material foi centrifugado a 4°C por 15min a 13500rpm. O sobrenadante foi descartado e o tubo permaneceu em descanso de um dia para o outro para secagem completa, em temperatura ambiente. O sedimento de DNA foi novamente ressuspenso em 1mL de TE pH 8.0 (10mM de Tris-HCl e 1mM de EDTA).

As análises das ampliações por “*polymerase chain reaction*” (PCR) dos segmentos do gene β_2 -adrenérgico foram realizadas por um equipamento automático (PTC-200; SDS Co., Falkenberg, Sweden).

3.3.2. AMPLIFICAÇÃO POR PCR DO SEGMENTO DE DNA CONTENDO O CÓDON 27 DO RECEPTOR β_2 -ADRENÉRGICO

A amplificação do segmento de DNA contendo o códon 27 do gene do receptor β_2 -adrenérgico foi realizada em volume de 26 μ l contendo 300-500ng de DNA, 0,38mM de cada trifosfato deoxinucleosídeo, 10% solução tampão (100mM Tris-HCL, 15mM MgCl₂, 500mM KCl, pH 8,3), 10% DMSO, 20pmol de cada *primer* e 0,13-0,63U de *Taq* DNA polimerase.

O *primer* senso foi 5'-GGCCCATGACCAGATCAGCA-3' e o *primer* reverso foi 5'-GAATGAGGCTCCAGGCGTC-3'. O PCR foi iniciado com denaturação a 94°C por 4min, seguido por 30 ciclos de denaturação (94°C, 1min), hibridação (63°C, 1min) e extensão (72°C, 1min), com uma extensão final de 72°C por 10min. O tamanho do produto de PCR desses *primers* é 353pb. O produto amplificado foi digerido a 37°C por 1h com 0,4U de enzima de restrição *I*ta I. Os fragmentos foram introduzidos em 2% gel agarose ultra pura DNA com Tri-acetato EDTA (40mM Tri-acetato, 2mM EDTA) buffer e visualizado sob iluminação ultra violeta após coloração com brometo de etídio.

Os fragmentos de produtos produzidos apresentavam os seguintes tamanhos: 27, 55, 97, e 174pb nos homozigotos Gln 27; 27,55,97, 174, e 229pb em heterozigotos Gln27Glu27; e 27, 97, e 229pb em Glu27 homozigotos.

3.4. AVALIAÇÃO DO FLUXO SANGÜÍNEO MUSCULAR

O fluxo sangüíneo muscular foi avaliado pela técnica de pletismografia de oclusão venosa. O braço contralateral (aquele que não realizou o exercício isométrico) foi

elevado acima do nível do coração para garantir uma adequada drenagem venosa. Um tubo silástico preenchido com mercúrio, conectado a um transdutor de baixa pressão e a um pletismógrafo, foi colocado ao redor do antebraço, a cinco centímetros de distância da articulação úmero-radial. Um manguito foi colocado ao redor do punho e outro na parte superior do braço. O manguito do punho foi inflado a um nível supra-sistólico um minuto antes de se iniciarem as medidas. Em intervalos de 15 segundos, o manguito do braço foi inflado acima da pressão venosa por um período de sete a oito segundos. O aumento da tensão no tubo silástico refletiu o aumento de volume do antebraço e conseqüentemente o fluxo sanguíneo muscular. O sinal da onda de fluxo muscular foi adquirido em tempo real em um computador através do programa AT/CODAS, numa frequência de 500 Hz.

3.4.1. PROTOCOLO DE EXERCÍCIO ISOMÉTRICO

A força de contração voluntária máxima foi determinada pela média de três tentativas de contração máxima (no braço dominante) em um dinamômetro de preensão de mão, antes do início do protocolo. Após três minutos de repouso com registros basais, o indivíduo realizava três minutos de exercício isométrico moderado a 30% da contração voluntária máxima, seguidos por três minutos de recuperação.

Durante o protocolo de exercício isométrico, foram realizados os registros simultâneos de pressão arterial e frequência cardíaca.

A pressão arterial foi medida a cada minuto, no membro inferior esquerdo pelo método oscilométrico (monitor automático de pressão arterial – Dixtal, modelo DX 2710).

A frequência cardíaca foi obtida através do registro eletrocardiográfico. Foram colocados três eletrodos no tórax do indivíduo, na posição bipolar, para registro da derivação MC5. Este sinal foi analisado em um programa de computador AT/CODAS, numa frequência de 500 Hz.

3.4.2. PROTOCOLO DE ESTRESSE MENTAL

O protocolo de estresse mental foi realizado através do teste de cores (“*stroop color word test*”) ^{81,82}. O estresse mental consiste de uma tabela que possui uma série de nomes de cores, escritos com uma tinta diferente daquela do significado da palavra ⁸². Foi pedido para o participante identificar a cor da tinta e não ler o significado da palavra. Através do teste de cores, os indivíduos foram estimulados a dizer a cor em voz alta e o mais rápido possível, sendo advertidos quando erravam as palavras. Este procedimento foi realizado da seguinte maneira: três minutos de registro basal, seguidos de três minutos de teste de cores e três minutos de recuperação. Ao final do teste foi perguntado a cada indivíduo o grau de dificuldade do teste de cores através de uma tabela padrão que segue classificação a seguir:

Escala de Dificuldade no Teste de Estresse Mental				
0	1	2	3	4
não estressante	pouco estressante	estressante	muito estressante	extremamente estressante

Durante o protocolo de estresse mental, foram realizados os registros simultâneos de pressão arterial e frequência cardíaca da mesma forma descrita no protocolo de exercício isométrico.

3.4.3. AVALIAÇÃO DA CONDUTÂNCIA VASCULAR NO ANTEBRAÇO

A condutância vascular no antebraço foi calculada pela divisão do fluxo sanguíneo muscular no antebraço (mL de sangue/min/100mL) pela pressão arterial média (mmHg), multiplicado por 100 e expressa em “unidades”.

3.5. DIETA

A composição nutricional do “*milkshake*” oferecido foi de 61g de carboidrato, 5,5g de proteína e 62g de gordura, somando um total de 924 calorias. Do total de gordura utilizada, 40g eram de origem saturada. A composição apresentava ainda 200mg de colesterol.

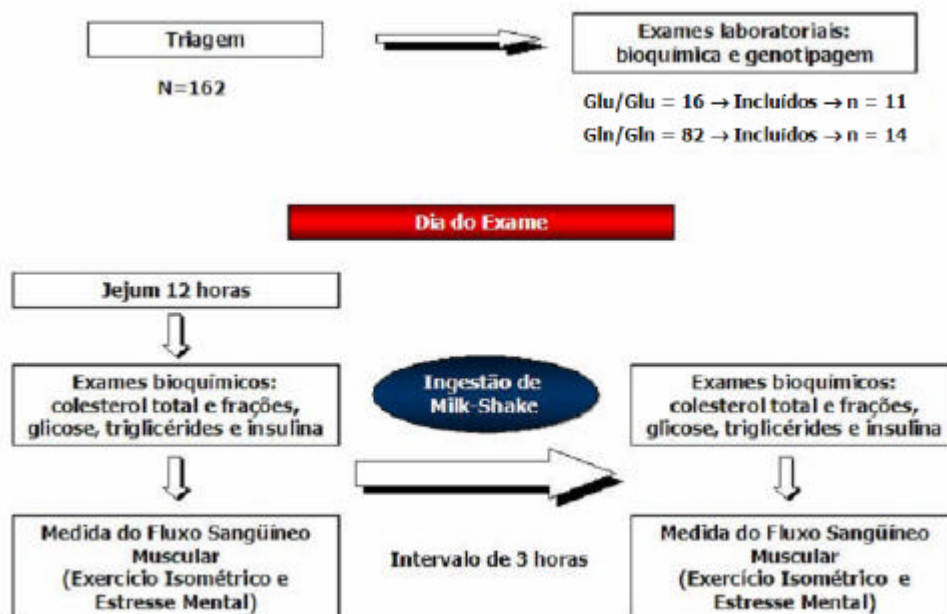
A preparação era realizada no dia do experimento e mantida em isopor para a manutenção da qualidade do produto. O “*milkshake*” era oferecido pelo pesquisador que acompanhava a aceitação e a ingestão da quantidade total de 500mL. Ao voluntário era solicitado que a ingestão do “*milkshake*” fosse realizada no prazo máximo de 15min. O indivíduo também recebia instruções de que poderia consumir apenas água no intervalo que antecedia o próximo exame.

3.6. SEQUÊNCIA EXPERIMENTAL

O participante chegava ao laboratório às 7:00hs da manhã, após jejum de 12 horas. Naquele momento era coletado sangue para a determinação de colesterol total e frações, glicose e triglicérides. Após a coleta de sangue, o voluntário era posicionado em

decúbito dorsal. Em seguida, eram colocados os eletrodos para o registro da frequência cardíaca, o manguito na perna esquerda para registro da pressão arterial e os manguitos para medida de fluxo sanguíneo muscular. A força de contração voluntária máxima era determinada neste momento. A partir do início da gravação do exame, eram registrados três minutos basais e, a seguir, o protocolo de exercício isométrico. Após um período de repouso para que os comportamentos cardiovasculares retornassem aos níveis basais, foi iniciado o protocolo de estresse mental que consistia de três minutos basais e três minutos da aplicação do teste.

Em seguida, o voluntário ingeria o “*milkshake*” num período máximo de 15 minutos. Durante três horas o voluntário era orientado a não realizar nenhum tipo de atividade, exceto leitura. Após este intervalo, o voluntário repetia todos os exames, isto é, coleta de sangue, exercício físico e estresse mental.



3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados são apresentados como média \pm erro padrão. Dados de idade, peso, altura, índice de massa corporal e medidas basais de fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular do antebraço, pressão arterial média, frequência cardíaca e parâmetros bioquímicos foram comparados pelo teste t de Student não pareado bicaudal. A possível diferença da distribuição de sexos entre os grupos foi analisada pelo teste de associação do qui-quadrado. Os parâmetros bioquímicos dos diferentes grupos, antes e após intervenção, foram analisados pelo teste t de Student pareado bicaudal.

A comparação dos grupos durante as manobras de exercício isométrico e estresse mental foi realizada pela análise de variância de dois caminhos (two-way ANOVA) para amostras repetidas.

O efeito da ingestão de gordura dentro de cada grupo e entre os grupos foi verificado também pela análise de variância de dois caminhos (two-way ANOVA) para amostras repetidas. No caso de F significativo, foram realizadas comparações Pos-hoc de Scheffè. O nível de significância aceito foi de $P \leq 0,05$.

Para a editoração eletrônica do texto, elaboração dos cálculos estatísticos e confecção dos gráficos foram utilizados os programas aplicativos integrantes do pacote Microsoft® Office 2000 (Microsoft, Corp., Redmond, EUA) e Statistica for Windows® (versão 5.0, StatSoft, Inc., Tulsa, EUA).



RESULTADOS

4. RESULTADOS BASAIS

As características antropométricas, demográficas e bioquímicas no início do estudo dos grupos Glu27Glu e Gln27Gln são apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

A idade, peso, índice de massa corporal (IMC) e distribuição de sexo não foram significativamente diferentes entre os grupos Glu27Glu e Gln27Gln. Quanto às características bioquímicas, ambos os grupos apresentaram perfil lipídico e níveis séricos de glicose e insulina semelhantes.

Tabela 1. Características físicas dos grupos que apresentam as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico.

Variável	Glu27Glu (n=11)	Gln27Gln (n=14)	P
Idade (anos)	40 ± 3	40 ± 2	0,96
Peso (kg)	65 ± 3	64 ± 2	0,73
IMC (kg/m ²)	23 ± 1	24 ± 1	0,50
Sexo (homens)	5	5	0,62

IMC = índice de massa corporal

Tabela 2. Características bioquímicas basais dos grupos que apresentam as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico.

Variável	Glu27Glu	Gln27Gln	P
Triglicérides (mg/dL)	96 ± 15	98 ± 11	0,91
Colesterol total (mg/dL)	168 ± 12	183 ± 9	0,34
LDL-colesterol (mg/dL)	98 ± 10	110 ± 7	0,35
HDL-colesterol (mg/dL)	51 ± 3	53 ± 5	0,74
VLDL-colesterol (mg/dL)	19 ± 3	20 ± 2	0,90
Glicose (mg/dL)	87 ± 1	89 ± 2	0,22
Insulina (μ U/mL)	5,28 ± 1	6,94 ± 1	0,09

As características hemodinâmicas basais dos grupos Glu27Glu e Gln27Gln são apresentadas na Tabela 3. O fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular no antebraço, pressão arterial média e frequência cardíaca basal não foram significativamente diferentes entre os grupos.

Tabela 3. Características hemodinâmicas basais dos grupos que apresentam as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico.

Variável	Glu27Glu	Gln27Gln	P
FSM (mL/min/100ml)	2,1 ± 0,1	2,0 ± 0,1	0,49
CVA (unidades)	2,3 ± 0,1	2,2 ± 0,1	0,21
PAM (mmHg)	92 ± 3	93 ± 2	0,59
FC (bpm)	69 ± 4	66 ± 1	0,46

FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA= condutância vascular no antebraço; PAM=pressão arterial média; FC= frequência cardíaca

4.1. PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO

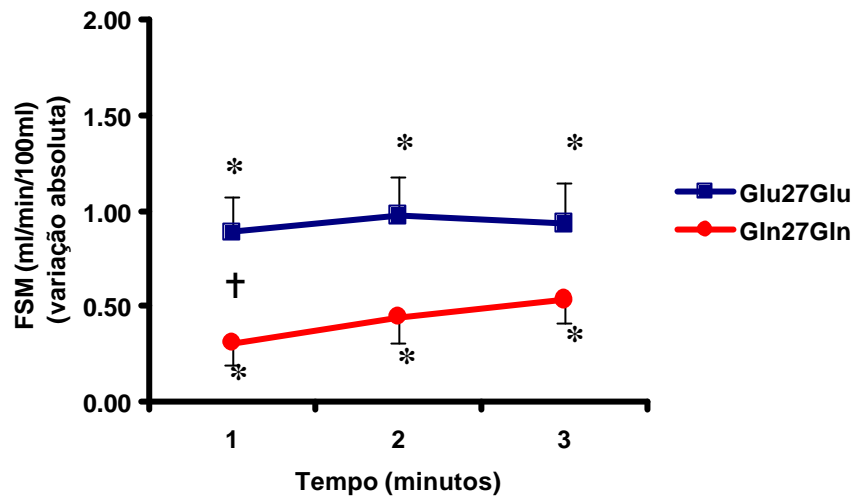
4.1.1. PERÍODO ANTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN

As variações de fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular no antebraço, pressão arterial média e frequência cardíaca durante o exercício, dos grupos Glu27Glu e Gln27Gln são apresentados nas Figuras 1 (A e B), 2 e 3, respectivamente.

O exercício isométrico realizado a uma intensidade de 30% da contração voluntária máxima (CVM) provocou um aumento significativo do fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular no antebraço tanto nos indivíduos com a variante Glu27Glu quanto nos indivíduos portadores da forma Gln27Gln. No entanto, a variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular do antebraço foram significativamente maiores no grupo Glu27Glu (Figuras 1 A e B, Interação, $P=0,02$ e $P=0,008$, respectivamente).

A pressão arterial média aumentou progressiva e significativamente durante o exercício isométrico nos grupos Glu27Glu e Gln27Gln (Figura 2). No entanto, o aumento da pressão arterial média foi semelhante entre os grupos Glu27Glu e Gln27Gln. A frequência cardíaca também aumentou significativamente e de forma semelhante, durante o exercício isométrico nos grupos Glu27Glu e Gln27Gln (Figura 3).

A



B

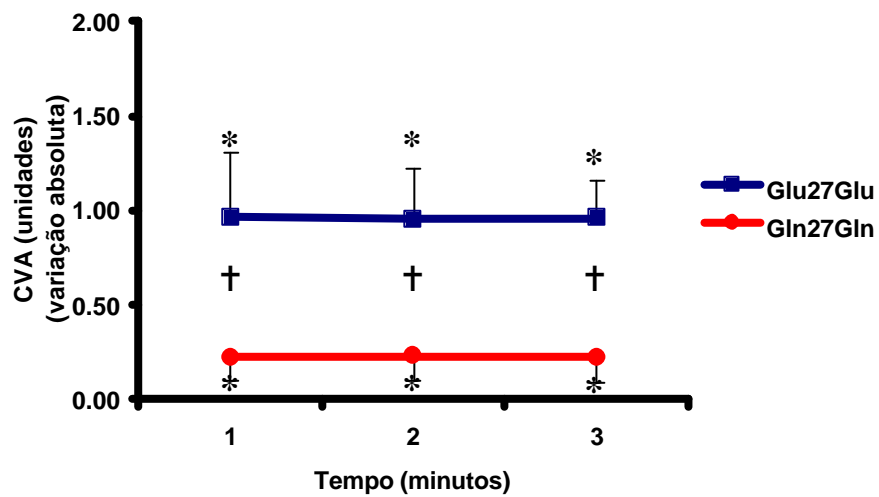


Figura 1. Variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular (FSM, Painel A) e condutância vascular no antebraço (CVA, Painel B) durante o exercício isométrico, em indivíduos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, antes do consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal); † $P < 0,05$ (versus grupo)

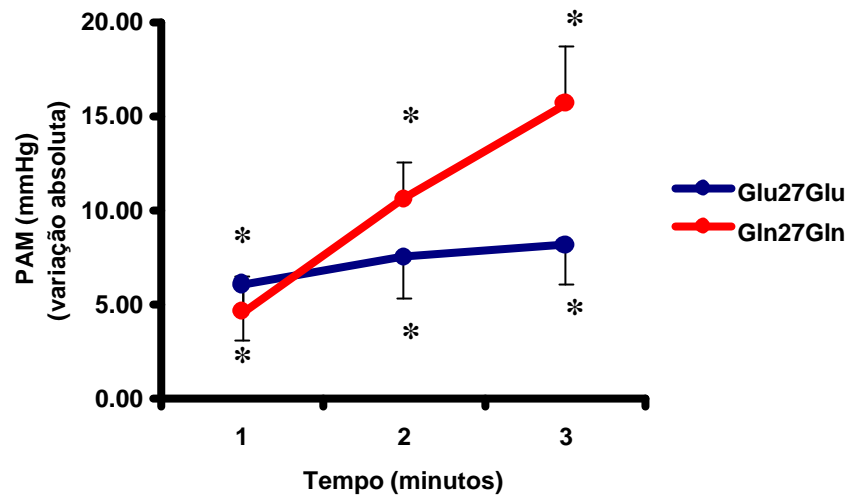


Figura 2. Variação absoluta da pressão arterial média (PAM) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, antes do consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

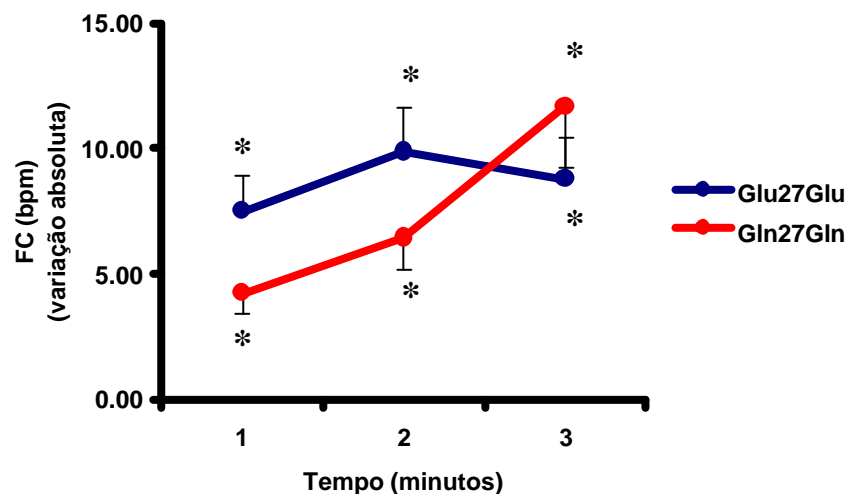


Figura 3. Variação absoluta da frequência cardíaca (FC) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, antes do consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal).

4.1.2. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO GLU27GLU

A ingestão da preparação rica em gordura não alterou significativamente os valores basais de fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular no antebraço, pressão arterial média e frequência cardíaca no grupo Glu27Glu (Tabela 4).

Tabela 4. Dados hemodinâmicos dos grupos que apresentam as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, antes e após o consumo da preparação rica em gordura.

Variável	Glu27Glu			Gln27Gln		
	Antes	Após	P	Antes	Após	P
FSM (mL/min/100ml)	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,2	0,89	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1	0,90
CVA (unidades)	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,2	0,37	2,2 ± 0,1	2,4 ± 0,2	0,37
PAM (mmHg)	92 ± 3	86 ± 2	0,12	93 ± 2	88 ± 3	0,14
FC (bpm)	69 ± 4	71 ± 3	0,65	66 ± 1	70 ± 2	0,05

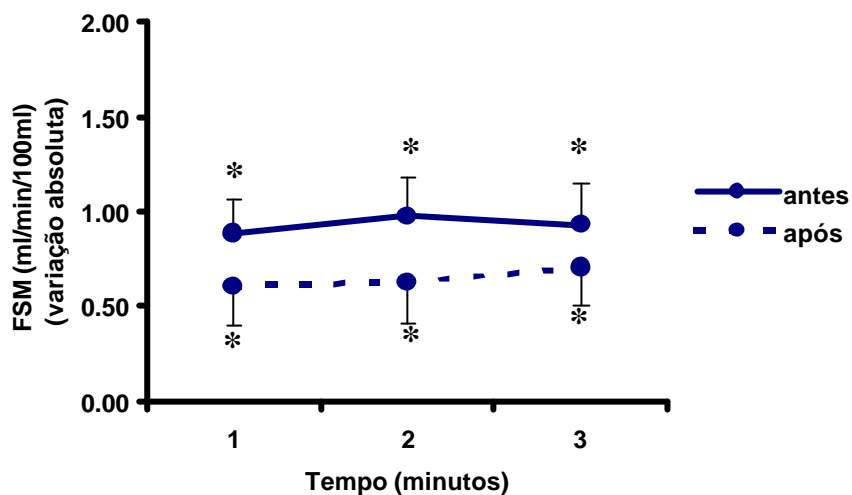
FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA= condutância vascular no antebraço; PAM=pressão arterial média; FC= frequência cardíaca

Os níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço do grupo Glu27Glu aumentaram significativamente durante exercício isométrico após consumo elevado de gordura. A comparação com o período anterior ao consumo da preparação rica em gordura mostrou que os níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço tenderam a diminuir, mas não atingiram níveis significativos (Figuras 4 A e B).

A pressão arterial média aumentou progressiva e significativamente durante a manobra de exercício isométrico no grupo Glu27Glu, após consumo de gordura (Figura 5). O aumento da pressão arterial média foi semelhante ao encontrado antes do consumo da preparação rica em gordura. A frequência cardíaca também aumentou significativamente

durante o exercício isométrico no grupo Glu27Glu (Figura 6). Este aumento foi mais acentuado no grupo Gln27Gln ($P=0,05$).

A



B

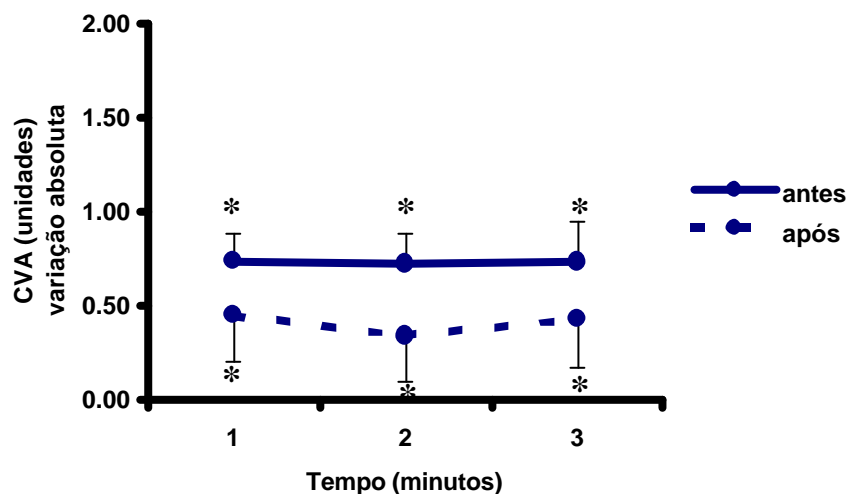


Figura 4. Variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular (FSM, Painel A) e condutância vascular no antebraço (CVA, Painel B) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

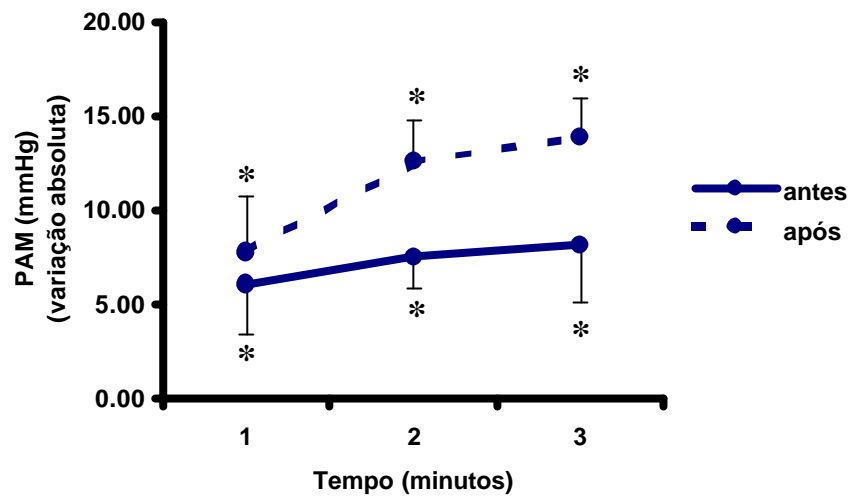


Figura 5. Variação absoluta da pressão arterial média (PAM) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura.

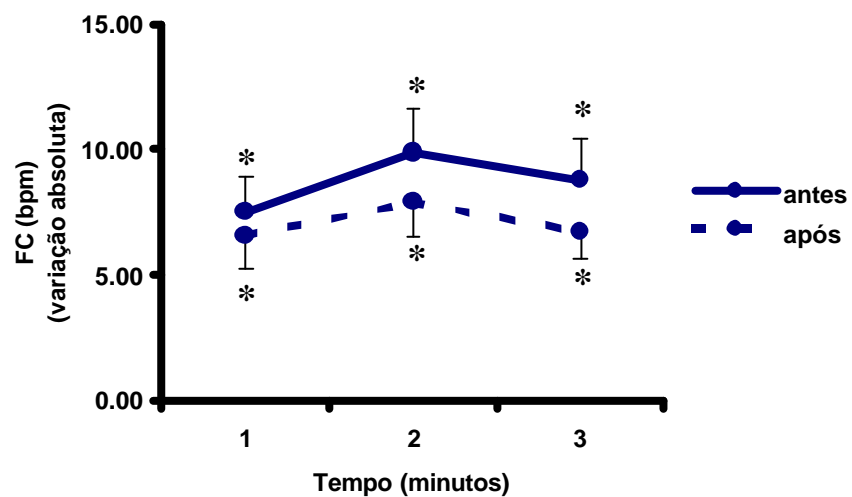


Figura 6. Variação absoluta da frequência cardíaca (FC) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

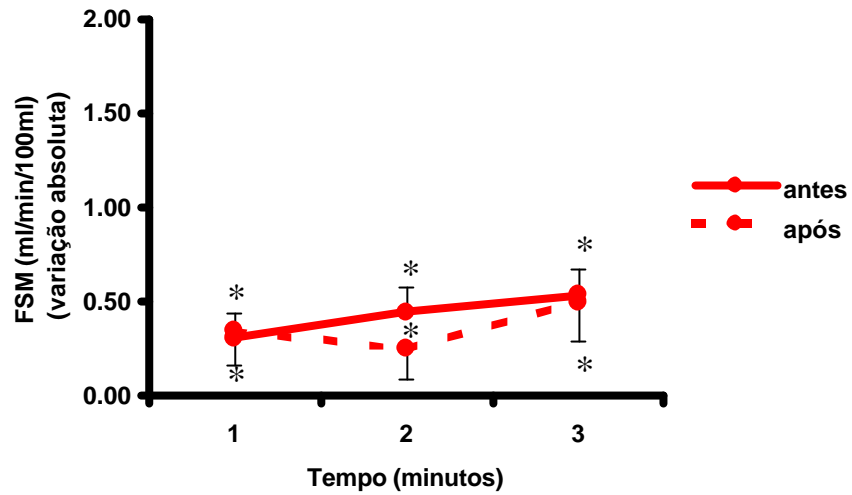
4.1.3. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO Gln27Gln

A ingestão rica em gordura não alterou significativamente os valores basais de fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular no antebraço, pressão arterial média e frequência cardíaca no grupo Gln27Gln (Tabela 4).

Os níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço do grupo Gln27Gln aumentaram significativamente durante exercício isométrico, após consumo elevado de gordura. A comparação com o período anterior ao consumo da preparação rica em gordura mostrou que os níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço não se alteraram significativamente após a ingestão da gordura (Figuras 7 A e B).

A pressão arterial média aumentou progressiva e significativamente durante a manobra de exercício isométrico no grupo Gln27Gln, após consumo de gordura (Figura 8). O aumento da pressão arterial média foi semelhante ao encontrado antes do consumo da preparação rica em gordura. A frequência cardíaca também aumentou significativamente durante o exercício isométrico no grupo Gln27Gln (Figura 9). No entanto, não houve diferença do aumento de frequência cardíaca encontrado anteriormente.

A



B

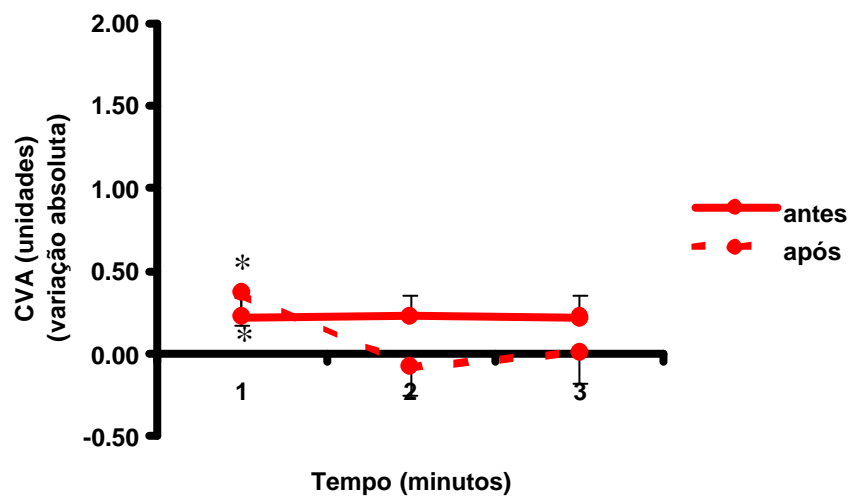


Figura 7. Variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular (FSM, Painei A) e condutância vascular no antebraço (CVA, Painei B) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura. * P < 0,05 (versus basal)

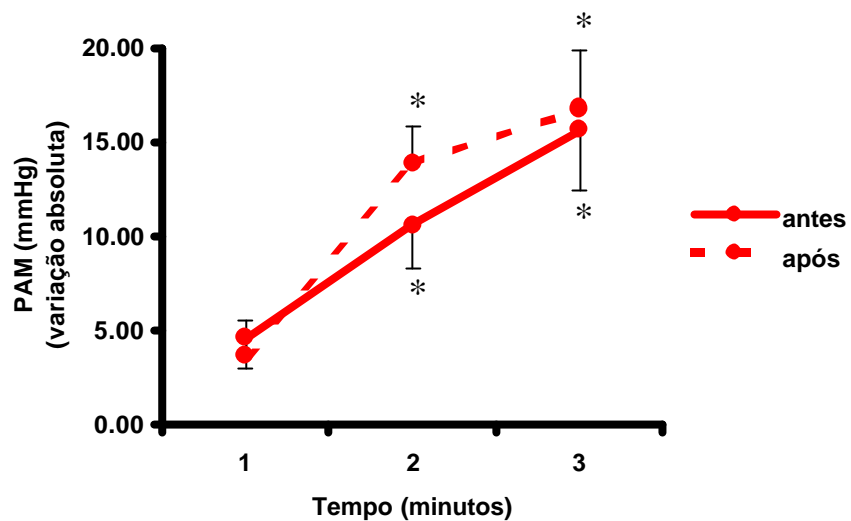


Figura 8. Variação absoluta da pressão arterial média (PAM) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura.

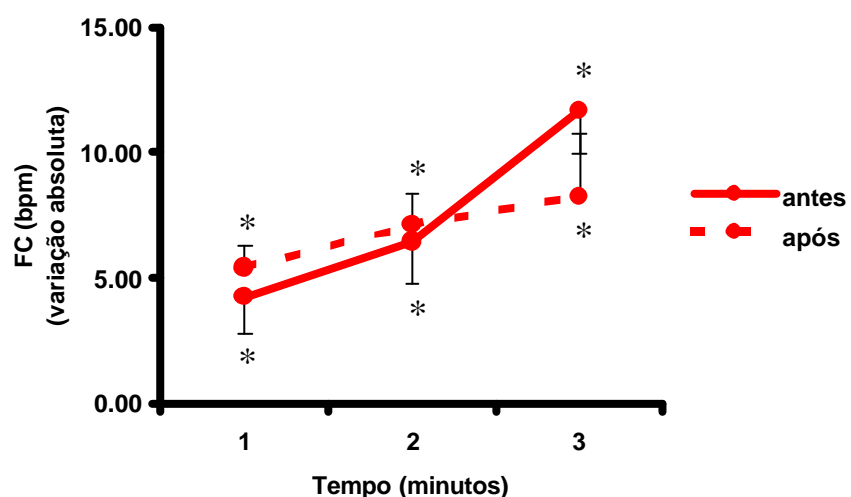


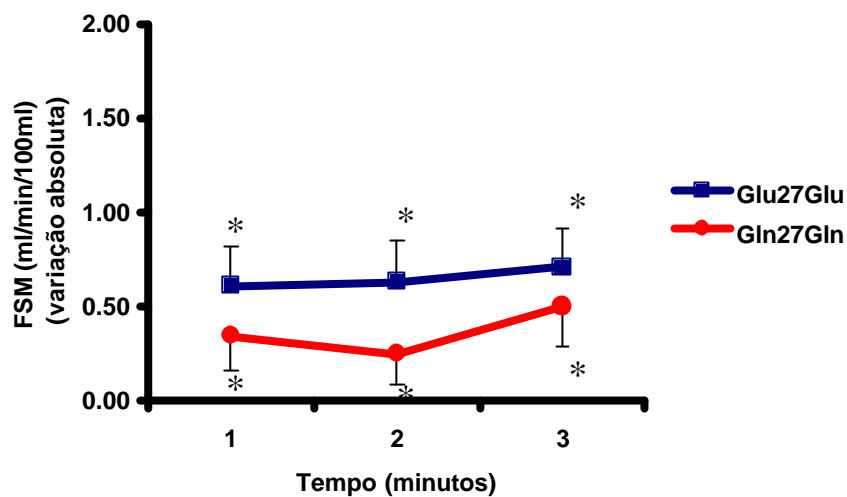
Figura 9. Variação absoluta da frequência cardíaca (FC) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico antes 3 horas após consumo da preparação rica em gordura.

4.1.4. PERÍODO POSTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN

Após a ingestão da preparação rica em gordura, observamos que a diferença inicial existente no fluxo sanguíneo muscular e na condutância vascular no antebraço durante o exercício isométrico entre os grupos Glu27Glu e Gln27Gln não foi mais verificada (Figuras 10 A e B).

Os parâmetros hemodinâmicos analisados pelos deltas da pressão arterial média (Figura 11) e frequência cardíaca (Figura 12) também não foram diferentes entre os portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln durante exercício, após o consumo da preparação rica em gordura.

A



B

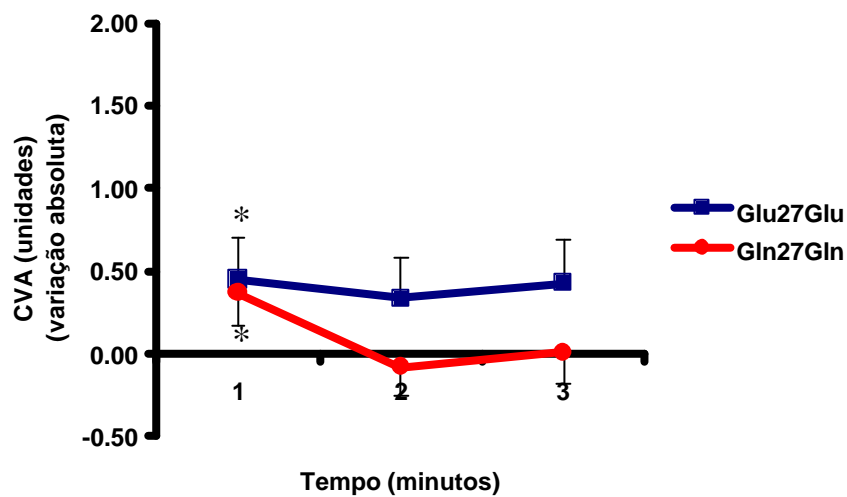


Figura 10. Variação absoluta do fluxo sanguíneo muscular (Painel A) e da condutância vascular (Painel B) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da forma Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico após consumo da preparação rica em gordura. * P < 0,05 (versus basal)

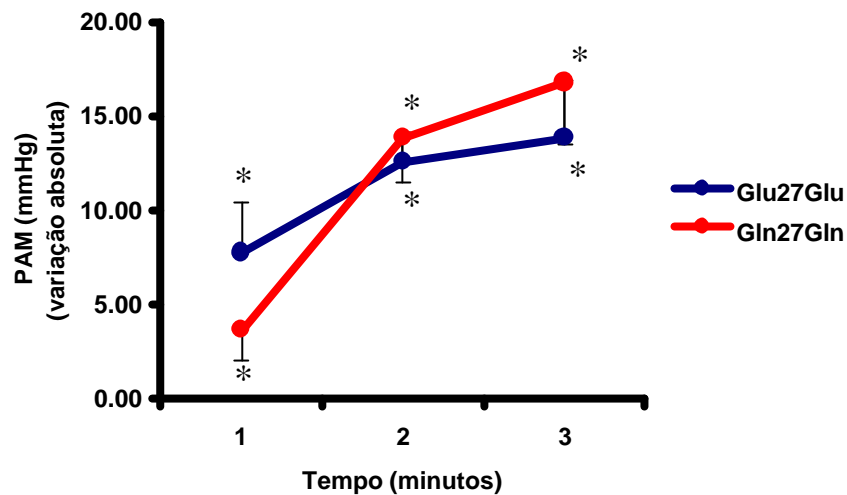


Figura 11. Variação absoluta de pressão arterial média (PAM) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da forma Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

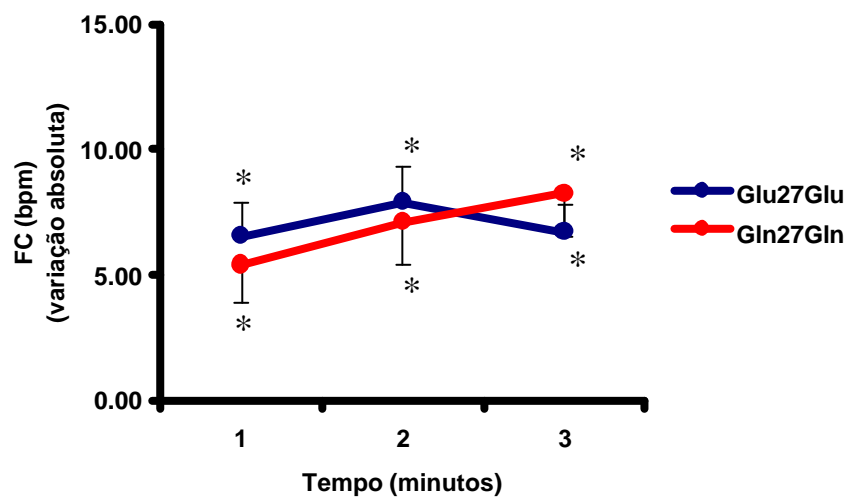


Figura 12. Variação absoluta de frequência cardíaca (FC) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores da forma Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, após consumo da preparação rica em gordura.

4.2. PROTOCOLO DE ESTRESSE MENTAL

4.2.1. PERÍODO ANTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN

As variações de fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular no antebraço, pressão arterial média e frequência cardíaca durante o estresse mental, antes da ingestão da preparação rica em gordura, dos grupos Glu27Glu e Gln27Gln, são apresentados nas Figuras 13 (A e B), 14 e 15, respectivamente. As medidas obtidas em repouso, antes da execução do protocolo de estresse mental, não mostraram diferenças significativas entre os dois grupos em nenhum dos parâmetros estudados (Tabela 5).

Tabela 5. Características hemodinâmicas obtidas em repouso dos grupos que apresentam as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor receptor β_2 -adrenérgico.

Variável	Glu27Glu	Gln27Gln	P
FSM (mL/min/100ml)	2,2±0,1	2,0±0,1	0,23
CVA (unidade)	2,4±0,1	2,1±0,1	0,08
PAM (mmHg)	93±3	96±2	0,38
FC (bpm)	68±4	66±2	0,60

FSM = fluxo sanguíneo muscular; CVA= condutância vascular no antebraço; PAM=pressão arterial média; FC= frequência cardíaca

Durante o estresse mental houve um aumento significativo do fluxo sanguíneo muscular e condutância vascular no antebraço tanto nos indivíduos com a variante Glu27Glu quanto nos indivíduos portadores da forma Gln27Gln. No entanto, a variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular do antebraço foi significativamente maior no grupo Glu27Glu (Figuras 13 A e B, Grupo, P=0,05 e P=0,03, respectivamente).

A pressão arterial média aumentou progressiva e significativamente durante a manobra de estresse mental nos grupos Glu27Glu e Gln27Gln (Figura 14) e este aumento foi semelhante entre os grupos Glu27Glu e Gln27Gln. A frequência cardíaca também aumentou significativamente durante o estresse mental nos grupos Glu27Glu e Gln27Gln (Figura 15) e este aumento foi semelhante entre os grupos.

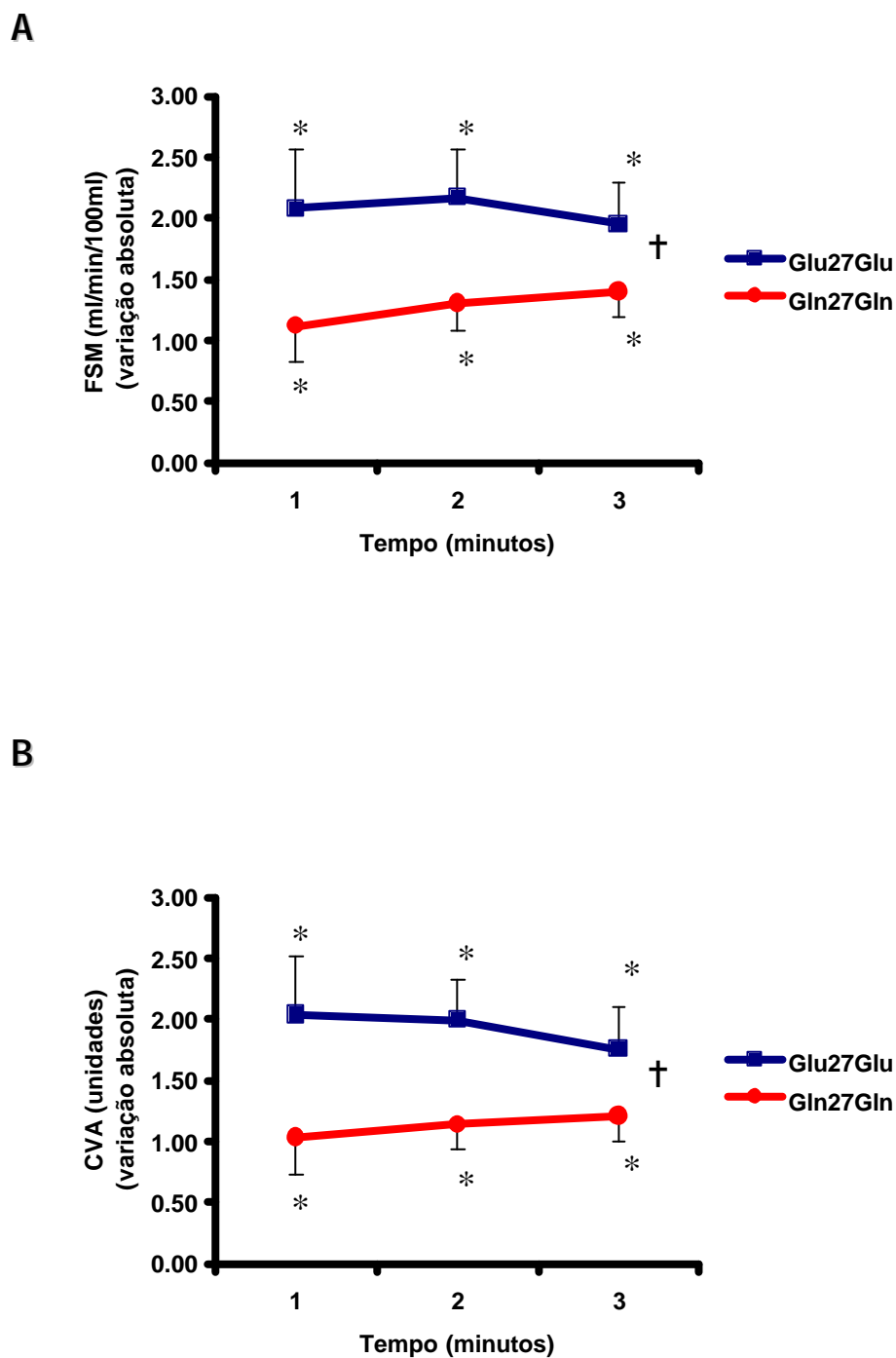


Figura 13. Variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular (FSM, Painei A) e condutância vascular no antebraço (CVA, Painei B) durante o estresse mental em indivíduos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, antes do consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal); † $P < 0,05$ (versus grupo)

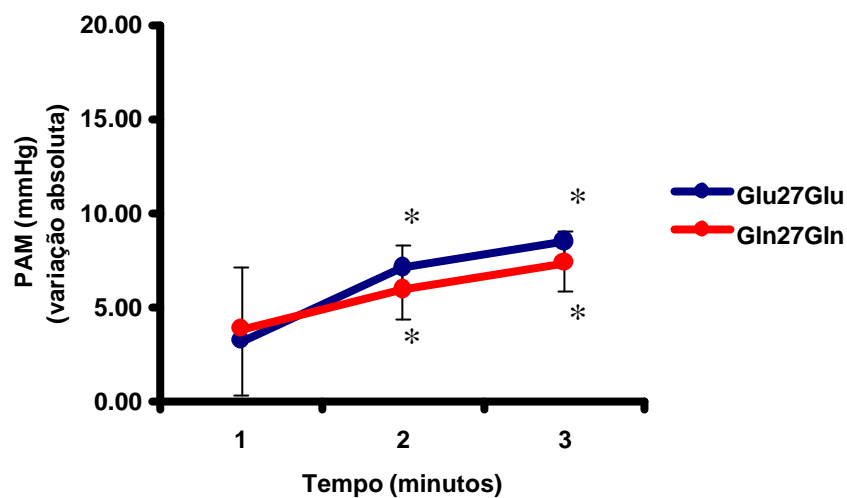


Figura 14. Variação absoluta da pressão arterial média (PAM) durante o estresse mental em indivíduos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, antes do consumo da preparação rica em gordura. * P < 0,05 (versus basal).

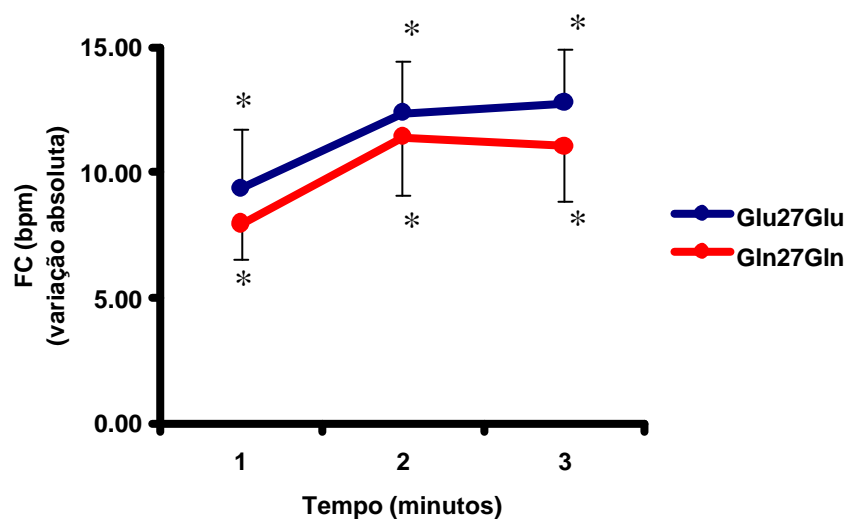


Figura 15. Variação absoluta da frequência cardíaca (FC) durante o estresse mental em indivíduos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico, antes do consumo da preparação rica em gordura. * P < 0,05 (versus basal).

4.2.2. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO GLU27GLU

A ingestão rica em gordura não alterou os valores de repouso do fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular no antebraço, pressão arterial média e frequência cardíaca no grupos Glu27Glu (Tabela 6).

Tabela 6. Dados hemodinâmicos obtidos em repouso antes e após o consumo da preparação rica em gordura dos grupos que apresentam as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor receptor β_2 -adrenérgico.

Variável	Glu27Glu			Gln27Gln		
	Antes	Após	P	Antes	Após	P
FSM (mL/min/100ml)	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,3	0,75	2,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1	0,97
CVA (unidades)	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,4	0,56	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,2	0,45
PAM (mmHg)	93 ± 3	89 ± 2	0,43	96 ± 2	90 ± 3	0,09
FC (bpm)	68 ± 4	73 ± 4	0,42	66 ± 1	72 ± 2	0,06

Os níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço do grupo Glu27Glu aumentaram significativamente durante estresse mental, após consumo elevado de gordura. Houve uma diminuição significativa dos níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço do grupo Glu27Glu quando comparados àqueles encontrados no período anterior ao consumo da preparação rica em gordura (Figuras 16 A e B, Grupo, P=0,05 e P=0,03, respectivamente).

A pressão arterial média aumentou progressiva e significativamente durante a manobra de estresse mental no grupo Glu27Glu, após consumo de gordura (Figura 17) e este aumento foi semelhante ao encontrado antes do consumo da preparação rica em gordura. A frequência cardíaca também aumentou significativamente durante o estresse

mental no grupo Glu27Glu (Figura 18). No entanto, não houve diferença do aumento de frequência cardíaca encontrado anteriormente.

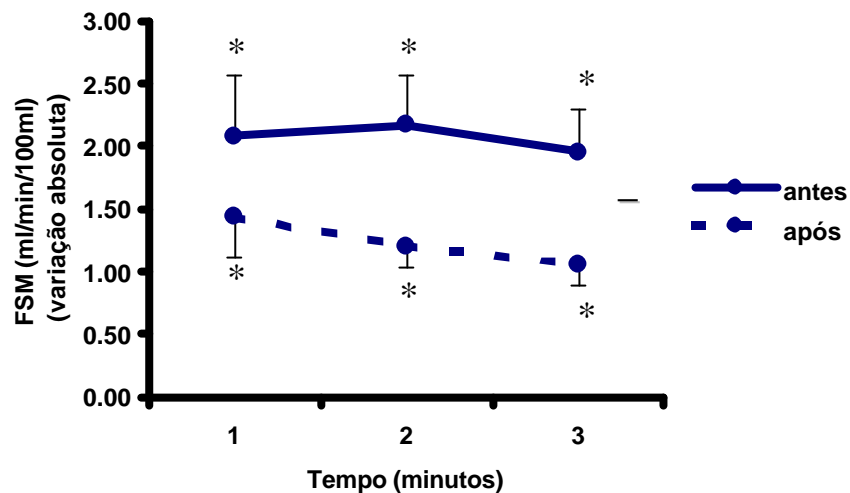
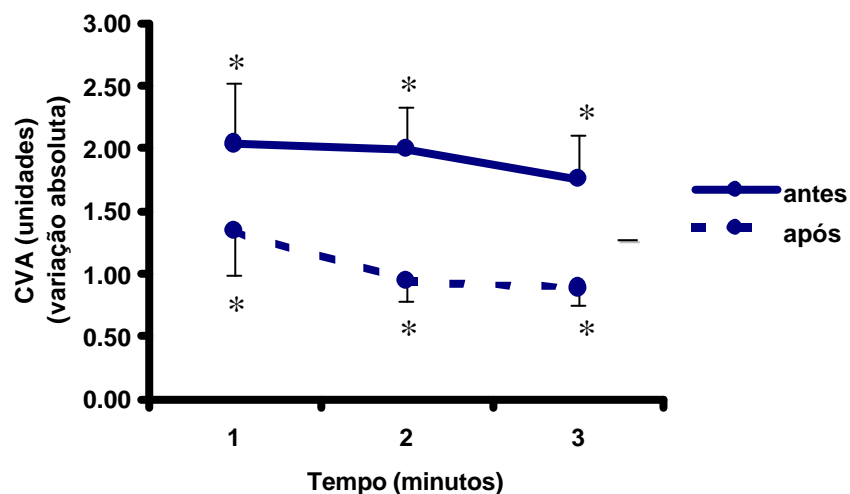
A**B**

Figura 16. Variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular (FSM, Painei A) e condutância vascular no antebraço (CVA, Painei B) durante o estresse mental em indivíduos portadores da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico antes e após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal); = (versus pré consumo).

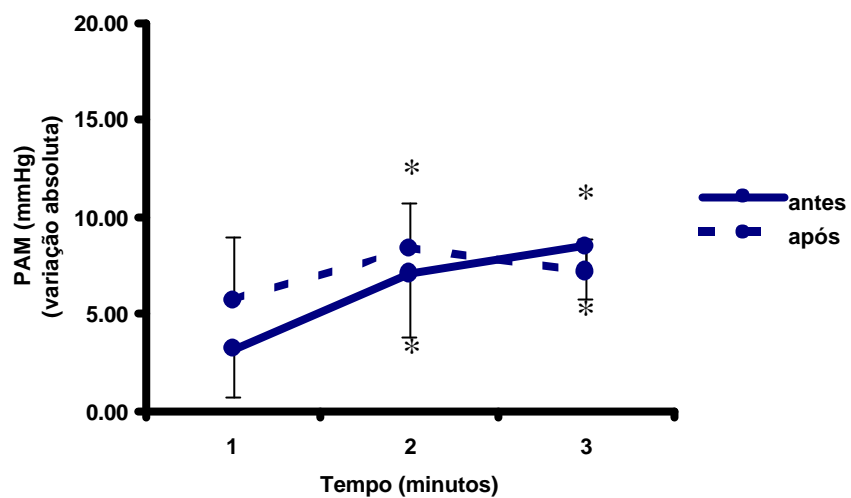


Figura 17. Variação absoluta da pressão arterial média (PAM) durante o estresse mental em indivíduos portadores da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

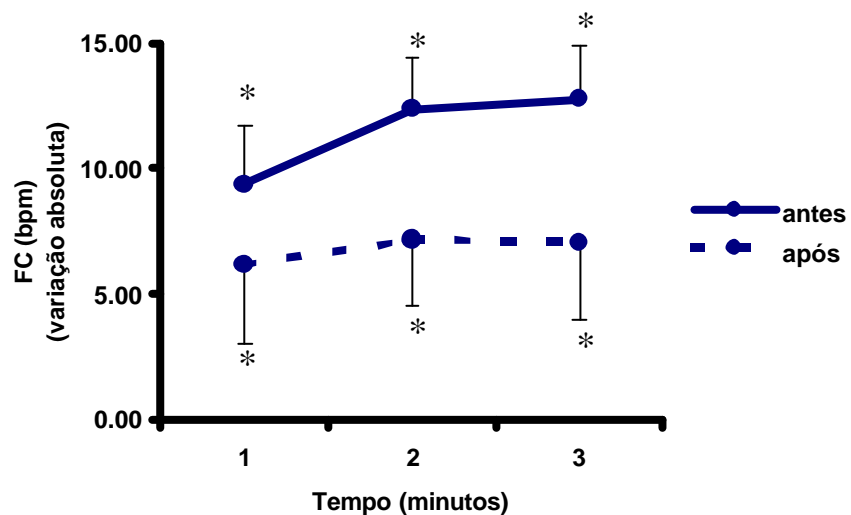


Figura 18. Variação absoluta da frequência cardíaca (FC) durante o estresse mental em indivíduos portadores da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

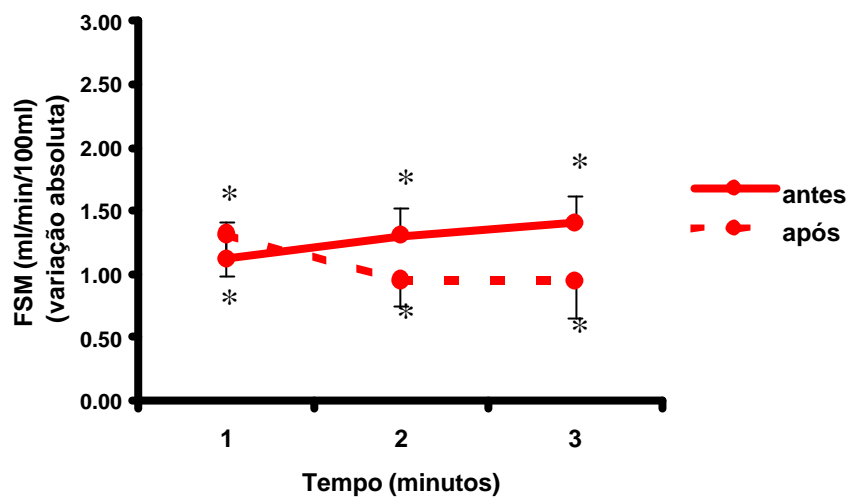
4.2.3. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA NO GRUPO Gln27Gln

A ingestão rica em gordura não alterou os valores de repouso do fluxo sanguíneo muscular, condutância vascular no antebraço, pressão arterial média e frequência cardíaca no grupos Gln27Gln (Tabela 6).

Os níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço do grupo Gln27Gln aumentaram significativamente durante estresse mental após consumo elevado de gordura. Os níveis de fluxo sanguíneo muscular e de condutância vascular no antebraço do grupo Gln27Gln foram semelhantes àqueles encontrados no período anterior ao consumo da preparação rica em gordura. (Figuras 19 A e B).

A pressão arterial média aumentou progressiva e significativamente durante a manobra de estresse mental no grupo Gln27Gln, após consumo de gordura (Figura 20) e este aumento foi semelhante ao encontrado antes do consumo da preparação rica em gordura. A frequência cardíaca também aumentou significativamente durante o estresse mental no grupo Gln27Gln (Figura 21) e não houve diferença do aumento de frequência cardíaca encontrado anteriormente.

A



B

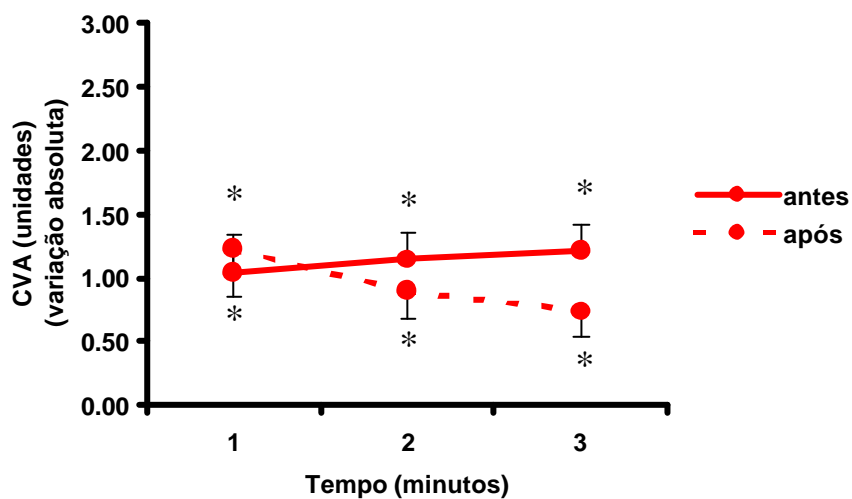


Figura 19. Variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular (FSM, Painel A) e da condutância vascular no antebraço (CVA, Painel B) durante o estresse mental em indivíduos portadores da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

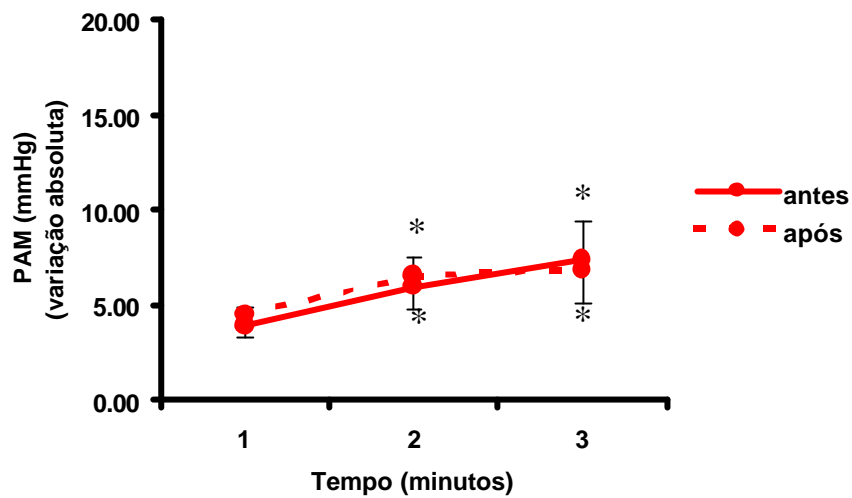


Figura 20. Variação absoluta da pressão arterial média (PAM) durante o estresse mental em indivíduos portadores da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo de preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

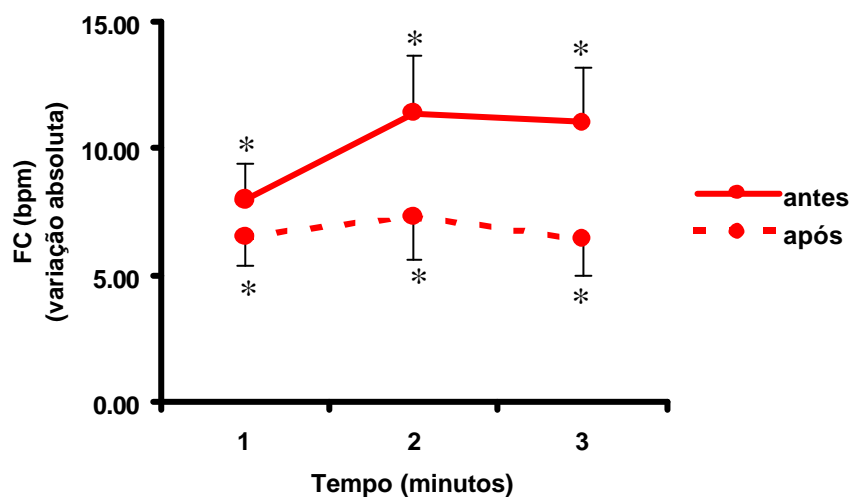


Figura 21. Variação absoluta da frequência cardíaca (FC) durante o estresse mental em indivíduos portadores da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico antes e 3 horas após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus basal)

4.2.4. PERÍODO POSTERIOR À INGESTÃO DA PREPARAÇÃO RICA EM GORDURA – COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS GLU27GLU E GLN27GLN

Após a ingestão da preparação rica em gordura, observamos que a diferença inicial existente no fluxo sanguíneo muscular e na condutância vascular no antebraço durante o estresse mental entre os grupos Glu27Glu e Gln27Gln não foi mais verificada (Figuras 22 A e B).

Os parâmetros hemodinâmicos analisados pelos deltas da pressão arterial média (Figura 23) e frequência cardíaca (Figura 24) também não foram diferentes entre os portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln durante estresse mental, após o consumo da preparação rica em gordura.

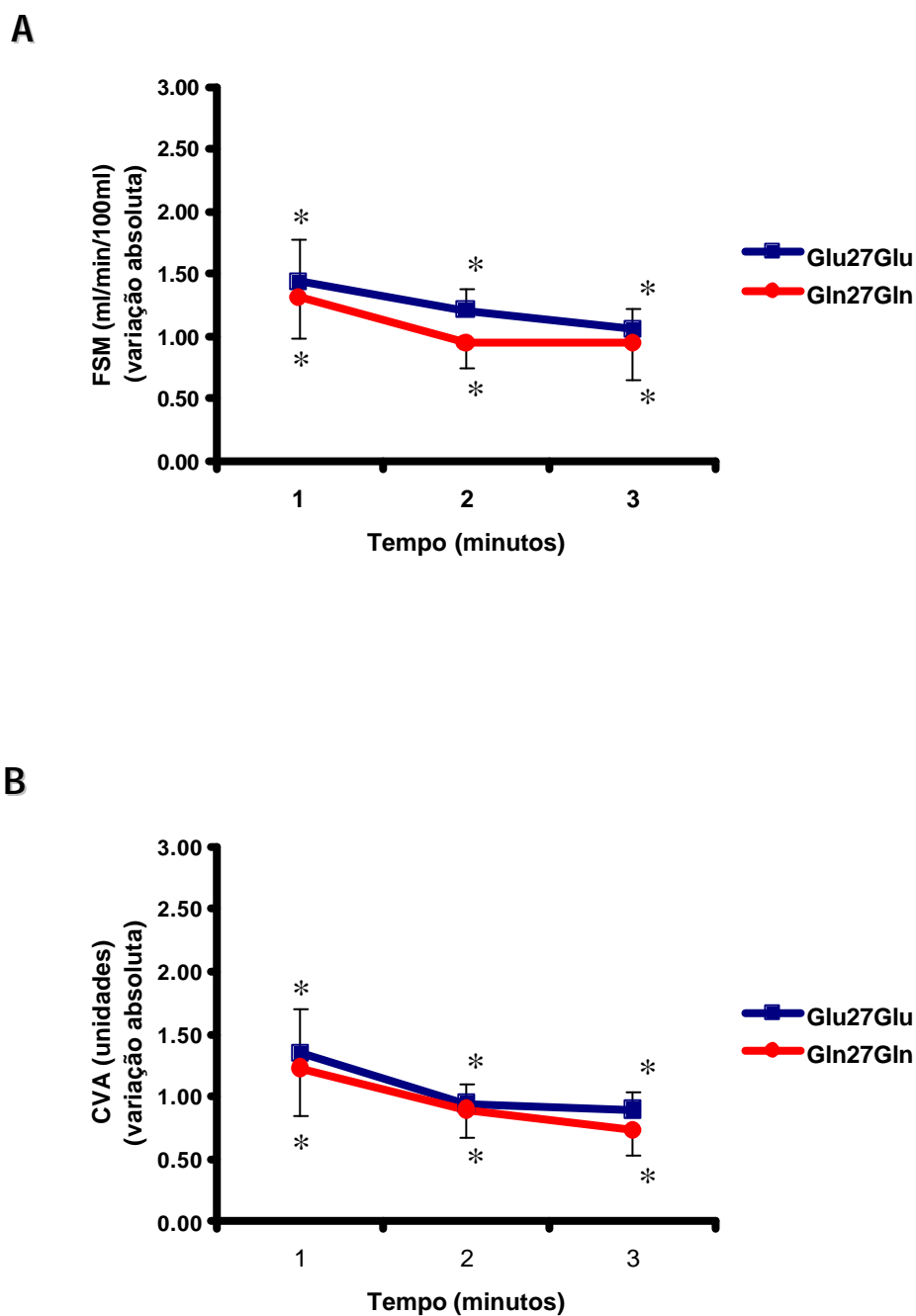


Figura 22. Variação absoluta de fluxo sanguíneo muscular (Painel A) e da condutância vascular (Painel B) durante o estresse mental em indivíduos portadores da forma natural e da variante polimórfica no receptor β_2 -adrenérgico após ingestão de gordura.

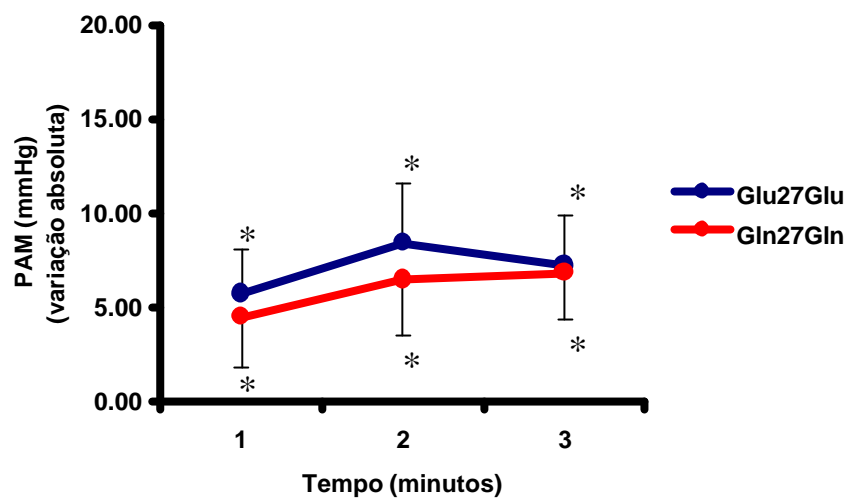


Figura 23. Variação absoluta da pressão arterial média (PAM) durante o estresse mental em indivíduos portadores da forma Gln27Gln e da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico, após consumo de preparação rica em gordura.

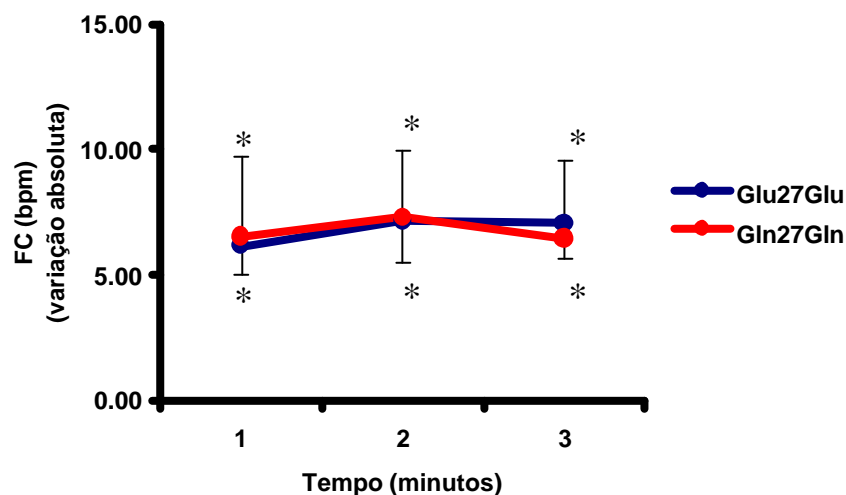


Figura 24. Variação absoluta da pressão arterial média (Painel A) e frequência cardíaca (Painel B) durante o estresse mental em indivíduos portadores da forma Gln27Gln e da variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico, após consumo da preparação rica em gordura. * $P < 0,05$ (versus grupo).

4.3. TESTE DE DIFICULDADE DO ESTRESSE MENTAL

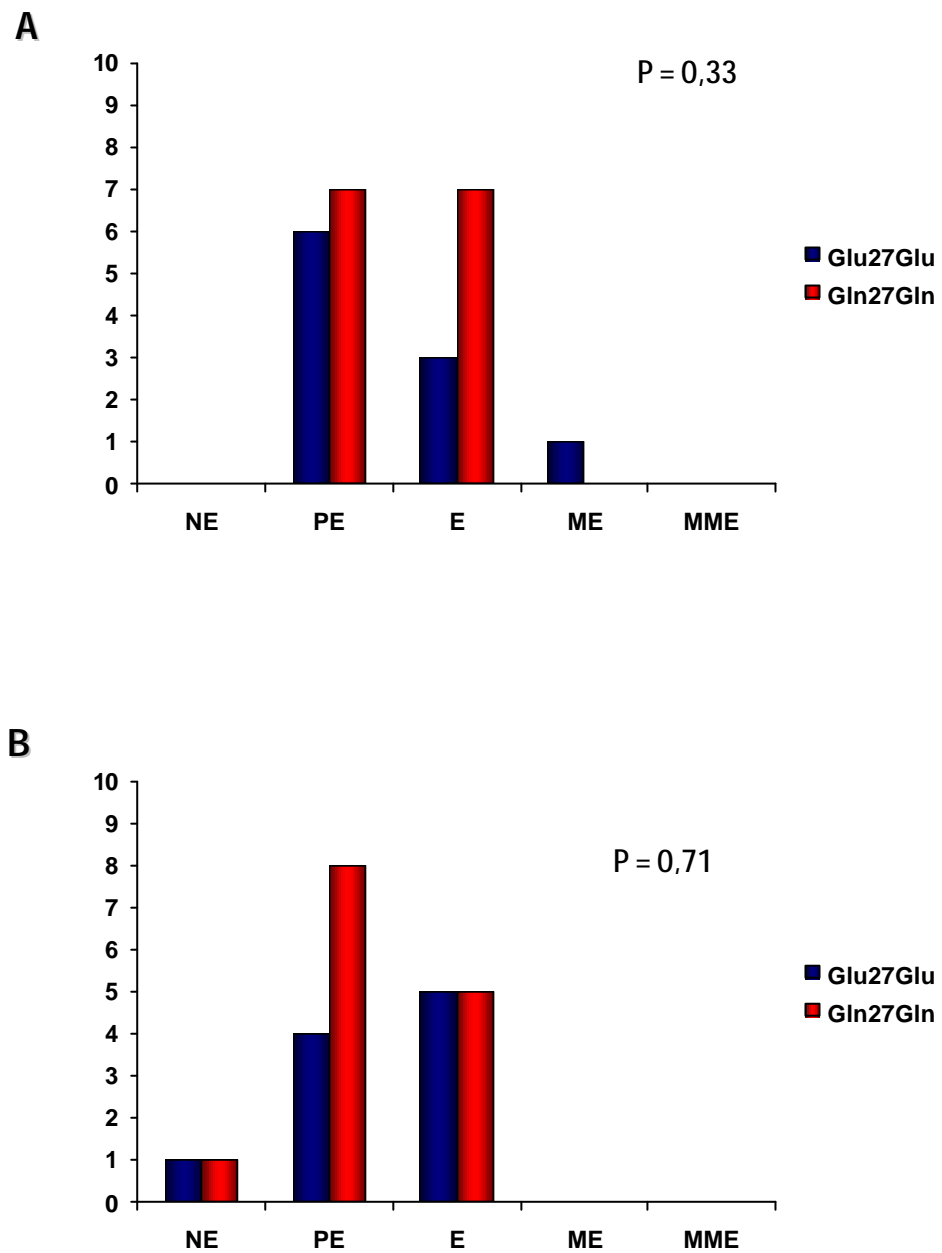


Figura 25. Distribuição do grau de dificuldade durante o estresse mental antes (Painel A) e após (Painel B) o consumo da preparação rica em gordura entre indivíduos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico. NE=não estressante, PE=pouco estressante, E=estressante, ME=muito estressante, MME=muito, muito estressante

4.4. EXAMES LABORATORIAIS

Os resultados de colesterol total e frações, triglicérides, glicose e insulina antes e após o consumo agudo de gordura, nos grupos com e sem o polimorfismo, são mostrados na Tabela 7.

A avaliação bioquímica mostrou que os grupos portadores da variante Glu27Glu e da forma Gln27Gln tiveram um aumento significativo do colesterol total ($P < 0,001$, $P = 0,002$, respectivamente) e triglicérides ($P < 0,001$, $P < 0,001$, respectivamente) após o consumo da preparação rica em gordura. Houve uma diminuição significativa da glicose três horas após a ingestão da preparação rica em gordura no grupo Glu27Glu ($p = 0,004$) e uma forte tendência a diminuição no grupo Gln27Gln ($p = 0,06$). O HDL-colesterol diminuiu significativamente apenas no grupo Gln27Gln ($p = 0,02$).

A variação percentual das análises bioquímicas nos grupos Glu27Glu e Gln27Gln pode também ser observada na tabela 7. Observamos que não houve diferença entre os grupos na variação percentual dos triglicérides, glicose e insulina, após o consumo agudo de gordura. O colesterol total teve um aumento percentual mais significativo no grupo Glu27Glu ($p = 0,007$) e o HDL-colesterol apresentou uma queda percentual mais significativa no grupo Gln27Gln ($p = 0,04$).

Tabela 7. Dados bioquímicos antes e após ingestão de gordura dos grupos que apresentam as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor receptor β_2 -adrenérgico.

Variável	Grupo	Basal	Pós-prandial	P	D%	P
Colesterol (mg/dL)	Glu27Glu	168±12	182±13	< 0,001	8±1	0,007
	Gln27Gln	183±9	190±9	0,002	4±1	
LDL-colesterol (mg/dL)	Glu27Glu	98±10	93±11	0,18	-7±4	0,84
	Gln27Gln	110±7	101±8	0,12	-8±5	
HDL-colesterol (mg/dL)	Glu27Glu	51±3	52±3	0,4	1±2	0,04
	Gln27Gln	53±5	51±5	0,02	-3±1	
VLDL-colesterol (mg/dL)	Glu27Glu	19±3	42±7	< 0,001	134±29	0,64
	Gln27Gln	20±2	42±5	< 0,001	118±13	
Triglicérides (mg/dL)	Glu27Glu	96±15	208±33	< 0,001	134±29	0,64
	Gln27Gln	98±11	209±23	< 0,001	118±13	
Glicose (mg/dL)	Glu27Glu	87±1	78±3	0,004	-10±3	0,27
	Gln27Gln	89±2	84±3	0,06	-6±3	
Insulina (μ U/mL)	Glu27Glu	5±1	6±1	0,40	42±40	0,60
	Gln27Gln	7±2	10±1	0,07	69±28	

5. DISCUSSÃO

Os principais achados do presente estudo são:

- Os portadores da variante polimórfica glutamina→ácido glutâmico no códon 27 do receptor β_2 -adrenérgico têm resposta vasodilatadora muscular aumentada durante o exercício físico e o estresse mental;
- A ingestão aguda de gordura elimina a diferença da resposta vasodilatadora durante as duas manobras fisiológicas nos portadores de polimorfismo.

5.1. INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO NA RESPOSTA VASODILATADORA

Estudo recente do nosso laboratório mostrou que mulheres obesas portadoras de mutação no receptor β_2 -adrenérgico têm função vascular aumentada quando comparadas com mulheres obesas sem polimorfismo no receptor β_2 -adrenérgico²⁰. Neste estudo, ficou evidenciado que mulheres obesas homozigotas Gly16/Glu27 apresentam maior vasodilatação comparativamente à forma natural Arg16/Gln27 durante o exercício físico e o estresse mental e que essa funcionalidade é, de fato, dependente do receptor β_2 -adrenérgico já que a administração na artéria braquial de propranolol eliminou a resposta

vasodilatadora exacerbada nos indivíduos Gly16/Glu27. O presente estudo amplia esses resultados para indivíduos não obesos e de ambos os sexos, sendo, portanto, mais representativo da população geral. Outros investigadores já haviam analisado o comportamento de variantes polimórficas dos receptores β_2 -adrenérgicos na resposta vascular, frente à ação de diferentes agonistas. A infusão intra-arterial ou venosa de isoproterenol provocou uma maior resposta vasodilatadora no antebraço e veia dorsal da mão de indivíduos homozigotos Glu27, comparativamente aos homozigotos para a forma natural Gln27. Esta diferença foi atribuída ao nível de fluxo sanguíneo basal aumentado em indivíduos Glu27¹⁸. No presente estudo, o fluxo sanguíneo basal não foi diferente entre os indivíduos portadores de polimorfismo e sem a variante genética, evidenciando que o maior fluxo muscular durante as manobras fisiológicas em indivíduos com a variante polimórfica foi, de fato, em função de uma maior reatividade vascular. No estudo de Trombetta e cols.²⁰, os níveis basais de fluxo sanguíneo também eram semelhantes entre os grupos. Além disso, o códon 27 mostrou ser o responsável por esta alteração em funcionalidade vascular. O menor fluxo sanguíneo conferido às mulheres homozigotas Gln27 foi independente da mutação que codifica o aminoácido no códon 16. Daí a nossa escolha em estudar indivíduos homozigotos Glu27. A influência de haplótipos no gene que codifica para o receptor β_2 -adrenérgico na resposta vascular foi também verificada por outros investigadores. Mostrou-se que durante um estímulo exógeno provocado pela administração de isoproterenol, indivíduos homozigotos Glu27 tiveram uma resposta aumentada ao fármaco comparativamente aos homozigotos Gln27, independente do aminoácido na posição 16. Adicionalmente, os indivíduos com a variante polimórfica Gly16 mostraram maior resistência à dessensibilização, não estando esta relacionada com o aminoácido da posição 27. Os indivíduos homozigotos Arg16 e Gln27 tiveram uma dessensibilização ainda maior, mediada pelo agonista, demonstrando a importância da análise conjunta dos haplótipos¹⁹.

O aumento encontrado no fluxo sanguíneo muscular em indivíduos que possuem a variante polimórfica não pode ser explicado por qualquer outro ajuste hemodinâmico. A resposta da frequência cardíaca, principal componente de aumento do débito cardíaco durante exercício isométrico ou estresse mental ⁸³, foi semelhante entre os grupos. Da mesma forma, a resposta de pressão arterial foi semelhante entre os indivíduos homocigotos, independente da variante polimórfica, durante as duas manobras fisiológicas. Além disso, a condutância vascular no antebraço, que é dependente dos níveis de fluxo sanguíneo e da pressão arterial, estava significativamente aumentada nos indivíduos Glu27. O comportamento da pressão arterial semelhante entre os grupos evidencia que o maior fluxo sanguíneo nos indivíduos com polimorfismo no receptor β_2 -adrenérgico no códon 27 é, de fato, devido a essa mutação que ocorre naturalmente na população.

5.2. INFLUÊNCIA DA INGESTÃO AGUDA DE GORDURA NA RESPOSTA VASODILATADORA DE INDIVÍDUOS COM POLIMORFISMO

O impacto de uma ingestão aguda de gordura na função vascular tem sido objeto de muitas investigações. Para alguns, ela provoca alterações expressivas no vaso sanguíneo, o que parece estar diretamente relacionado ao aumento de insulina ou triglicérides plasmáticos. Se por um lado a ingestão elevada de gordura pode aumentar a concentração plasmática de insulina, o que potencializa o efeito vasodilatador tanto em vasos de condução como em vasos de resistência ⁷⁵, por outro lado, a elevação plasmática de triglicérides diminui as partículas de LDL-colesterol, tornando-as mais vulneráveis à oxidação e, com isso, atenua a capacidade das células endoteliais em gerar óxido nítrico pela redução na atividade da enzima óxido nítrico sintase ⁵⁶. Paralelamente a este efeito, ocorre um

aumento da síntese de espécies reativas de oxigênio e um desbalanço entre componentes oxidantes e antioxidantes em favor do primeiro, provocando o estresse oxidativo e prejuízo ao funcionamento do endotélio ⁶³.

Em nossa investigação, a ingestão aguda de gordura não provocou mudança no fluxo sanguíneo basal e na resposta vasodilatadora no grupo com a forma Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico. No grupo com a variante Glu27Glu, ela provocou diminuição na vasodilatação muscular durante o exercício e o estresse mental. Os mecanismos pelos quais a ingestão aguda de gordura alterou essa resposta no grupo com polimorfismo estão fora do escopo da presente investigação. Contudo, é possível sugerir que o grupo com a variante Glu27Glu apresente uma síntese mais expressiva de óxido nítrico, o que aumentaria a susceptibilidade do endotélio à ação de agentes agressores. Isto poderia explicar a maior redução na resposta vasodilatadora do grupo que apresenta a forma Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico durante o exercício e o estresse mental. Neste momento, poder-se-ia questionar sobre as evidências da modulação do receptor β_2 -adrenérgico na vasodilatação endotélio-dependente ⁸⁴. Estudo recente mostrou que a administração de salbutamol, um agonista de receptores β_2 -adrenérgicos, provocou vasodilatação mediada por óxido nítrico endotelial em ratos conscientes ⁸⁵. Em humanos, Dawes e cols. verificaram que a associação de L-NMMA com isoproterenol ou salbutamol restringiu a resposta vasodilatadora muscular, o que não foi observado quando L-NMMA foi administrado em associação com nitroprussiato, verapamil ou prostaciclina ⁸⁶. Além disso, esses autores constataram que a administração com salbutamol provocou uma vasodilatação muito maior do que a administração de dobutamina. Estes resultados, portanto, mostram que: 1) a vasodilatação muscular em humanos depende muito mais da estimulação dos receptores β_2 -adrenérgicos do que dos receptores β_1 -adrenérgicos e 2) os receptores β_2 -adrenérgicos têm um papel importante na

vasodilatação endotélio-dependente. Numa outra investigação ficou evidenciado que a ativação do receptor β_2 de células endoteliais da veia umbilical *in vitro* estimulou a produção de óxido nítrico com conseqüente relaxamento do vaso⁸⁷. Neste caso, a estimulação do β_2 e o aumento do AMPc pela adenilato-ciclase teriam levado ao aumento na produção de óxido nítrico pelo sistema L-arginina/NOS. Em termos de resposta, estima-se que 25% da vasodilatação muscular endotélio-dependente em humanos é devido à estimulação do receptor β_2 -adrenérgico, uma vez que a infusão de ritodrina (β_2 agonista) associada ao L-NMMA diminuiu em 25% a vasodilatação muscular⁸⁸. Os nossos resultados sugerem que em indivíduos com a forma Glu27Glu a produção de óxido nítrico, via estimulação do receptor β_2 -adrenérgico, é muito mais expressiva do que em indivíduos com a forma Gln27Gln.

É pouco provável que a diferença de resposta vasodilatadora apresentada entre os grupos, após o consumo da preparação rica em gordura, esteja associada com as alterações dos níveis de insulina e triglicérides plasmáticos. Os níveis basais de insulina e triglicérides e o aumento nesses parâmetros provocados pela ingestão de gordura foram semelhantes entre os grupos Glu27Glu e Gln27Gln.

Outro aspecto que poderia ser levantado para explicar a diminuição da resposta vasodilatadora após o consumo de gordura durante o protocolo de estresse mental em indivíduos com a variante Glu27Glu, seria uma familiarização desses indivíduos ao estresse mental. Este argumento, no entanto, parece pouco sustentável, porque o nível de percepção de estresse foi semelhante entre os indivíduos com e sem a variante polimórfica. O mesmo argumento poderia ser utilizado na manobra de exercício isométrico, pois a força de contração voluntária máxima foi semelhante entre os grupos Glu27Glu e Gln27Gln.

Finalmente, poder-se-ia levantar a possibilidade de que a diferença da resposta vasodilatadora apresentada entre os grupos, durante as manobras fisiológicas de exercício isométrico e estresse mental, foi devido à resposta de débito cardíaco ou pressão de perfusão e não necessariamente à resposta vascular. Este não é o caso porque as respostas de frequência cardíaca e pressão arterial foram semelhantes entre os grupos. Além disso, os resultados de condutância vascular foram diferentes entre os indivíduos com as formas Glu27Glu e Gln27Gln no receptor β_2 -adrenérgico.

5.3. IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E PERSPECTIVAS

Os presentes resultados reforçam a influência de uma variante genética que ocorre naturalmente na população na alteração da função vascular durante manobras fisiológicas. Além disso, eles abrem perspectivas para uma melhor compreensão da função vascular em humanos. Algumas delas dizem respeito a um menor risco de doenças cardiovasculares e à influência de uma variante genética em fatores que potencialmente alteram este risco. Neste contexto, poderíamos imaginar um menor impacto frente a alguns componentes da dieta que, em grande quantidade, podem sabidamente alterar a resposta vascular como é o caso da gordura.

Ao contrário do que poderia ser esperado em nossa investigação, o impacto da ingestão aguda de gordura foi maior nos indivíduos com a forma Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico. Estes resultados têm duas implicações a serem esclarecidas. Primeiro, esta resposta não significa necessariamente que indivíduos com a variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico têm um risco aumentado à sobrecarga aguda de gordura, uma vez que a redução na resposta vasodilatadora os igualou aos indivíduos que apresentavam a forma

Gln27Gln nesse receptor. Ao contrário, a melhor função vascular parece sugerir que indivíduos com a variante polimórfica na posição 27 do receptor β_2 -adrenérgico possam ser menos susceptíveis a eventos cardiovasculares ao longo da vida. Segundo, eles podem explicar algumas controvérsias entre estudos que mostram diminuição, não alteração ou até aumento da resposta vasodilatadora após ingestão aguda de gordura em humanos.

Os resultados do presente estudo se limitaram à ingestão aguda de gordura. Além disso, a presente investigação foi realizada em indivíduos saudáveis, sem nenhum fator de risco associado. Portanto, nós não sabemos o resultado de uma agressão crônica de dieta rica em gordura em indivíduos com e sem a variante Glu27Glu no receptor β_2 -adrenérgico e se algum fator de risco associado modificaria a resposta vascular destes indivíduos, comparativamente àqueles que apresentam a forma Gln27Gln. Estes aspectos trazem à tona a necessidade de continuidade de investigações nessa área do conhecimento.

Esses achados permitem uma maior compreensão sobre as complexas interações existentes entre genes e meio ambiente, aqui exemplificado pelo consumo de dietas ricas em gordura típico das sociedades ocidentais modernas e o seu impacto diferencial na função vascular, dependente de variantes genéticas.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- 6.1. Indivíduos magros e saudáveis com a presença do ácido glutâmico na forma homozigota do códon 27 (Glu27Glu) do receptor β_2 -adrenérgico apresentam resposta vasodilatadora muscular aumentada durante o exercício isométrico e estresse mental quando comparados com indivíduos com a presença da glutamina na mesma posição (Gln27Gln)

- 6.2. O consumo agudo de gordura diminui a resposta vasodilatadora muscular de indivíduos magros e saudáveis com a presença do ácido glutâmico na forma homozigota do códon 27 (Glu27Glu) do receptor β_2 -adrenérgico durante exercício isométrico e estresse mental, comparativamente àqueles que apresentam a glutamina na mesma posição (Gln27Gln)



7.1. DADOS ORIGINAIS

Tabela 8 – Dados antropométricos dos indivíduos com genótipo Glu27Glu

N	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)
1	36	85	1,80	26
2	26	78	1,76	25
3	37	64	1,87	18
4	51	57	1,68	20
5	45	56	1,63	21
6	46	57	1,54	24
7	32	68	1,70	24
8	41	60	1,57	24
9	52	70	1,72	24
10	37	54	1,56	22
11	35	69	1,67	25

Tabela 9 – Dados antropométricos dos indivíduos com genótipo Gln27Gln

N	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)
1	32	62	1,62	24
2	49	73	1,69	26
3	30	80	1,83	24
4	44	65	1,58	26
5	43	63	1,60	25
6	39	58	1,48	26
7	46	55	1,58	22
8	45	63	1,56	26
9	45	59	1,64	22
10	34	54	1,54	23
11	30	65	1,83	19
12	48	64	1,64	24
13	34	70	1,80	22
14	35	70	1,67	25

Tabela 10 – Lipídes séricos dos indivíduos com genótipo Glu27Glu pré e pós consumo agudo de gordura

N	TG1 (mg/dL)	TG2 (mg/dL)	CT1 (mg/dL)	CT2 (mg/dL)	LDL-c 1 (mg/dL)	LDL-c 2 (mg/dL)	HDL-c 1 (mg/dL)	HDL-c 2 (mg/dL)
1	197	458	170	191	91	108	40	39
2	153	244	232	244	154	150	47	45
3	72	114	145	155	97	96	34	36
4	58	155	153	165	88	81	53	53
5	90	128	185	202	112	120	55	56
6	116	319	221	233	143	114	55	55
7	128	274	198	221	124	116	48	50
8	90	142	187	197	100	96	69	73
9	76	198	132	143	48	35	69	68
10	36	175	114	121	60	42	47	44
11	39	84	111	125	60	60	43	48

Tabela 11 – Lipídes séricos dos indivíduos com genótipo Gln27Gln pré e pós consumo agudo de gordura

N	TG1 (mg/dL)	TG2 (mg/dL)	CT1 (mg/dL)	CT2 (mg/dL)	LDL-c 1 (mg/dL)	LDL-c 2 (mg/dL)	HDL-c 1 (mg/dL)	HDL-c 2 (mg/dL)
1	155	392	190	203	115	82	44	43
2	130	197	235	241	171	164	38	38
3	89	273	190	198	126	96	46	47
4	167	310	223	235	147	133	43	40
5	81	169	184	181	113	94	55	53
6	95	173	157	170	94	93	44	42
7	72	140	161	164	72	68	71	68
8	48	80	122	127	69	67	43	44
9	56	148	218	241	112	115	95	96
10	60	155	168	182	109	103	47	48
11	62	180	154	152	102	78	40	38
12	113	235	214	210	123	98	68	65
13	163	321	148	160	80	64	35	32
14	82	157	193	201	107	157	70	66

Tabela 12 – Glicose e Insulina plasmáticas dos indivíduos com genótipo Glu27Glu pré e pós consumo agudo de gordura

N	Glicose 1 (mg/dL)	Glicose 2 (mg/dL)	Insulina 1 (mg/dL)	Insulina 2 (mg/dL)
1	86	81	2,3	2,3
2	85	75	7,4	7,3
3	85	77	3,6	3,9
4	80	73	2,3	2,4
5	85	90	5,3	5,5
6	91	93	3,2	17,0
7	88	68	6,2	7,4
8	97	81	8,1	3,6
9	81	66	6,2	5,8
10	86	69	4,5	7,1
11	89	82	9,0	9,0

Tabela 13 – Glicose e Insulina plasmáticas dos indivíduos com genótipo Gln27Gln pré e pós consumo agudo de gordura

N	Glicose 1 (mg/dL)	Glicose 2 (mg/dL)	Insulina 1 (mg/dL)	Insulina 2 (mg/dL)
1	92	80	SH	SH
2	91	77	8,2	5,3
3	84	69	SH	SH
4	105	83	8,9	11,7
5	89	85	3,7	12,9
6	93	93	3,5	10,9
7	84	85	7,1	14,8
8	81	84	10,1	11,1
9	87	90	SH	SH
10	80	67	8,7	4,2
11	91	98	5,7	11,5
12	93	77	7,7	7,6
13	97	105	5,6	14,6
14	86	85	7,1	5,2

SH = soro hemolisado

Tabela 14 – Dados basais da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca dos indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu pré e pós consumo agudo de gordura

N	PAM1 (mmHg)	PAM2 (mmHg)	FC1 (bpm)	FC2 (bpm)
1	107	89	65	72
2	97	90	58	64
3	85	92	61	54
4	98	90	65	73
5	91	81	88	87
6	104	96	96	89
7	81	76	64	70
8	83	85	71	80
9	92	88	56	57
10	82	80	64	76
11	86	80	65	59

Tabela 15 – Dados basais da pressão arterial média (PAM) e da frequência cardíaca dos indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln pré e pós consumo agudo de gordura

N	PAM1 (mmHg)	PAM2 (mmHg)	FC1 (bpm)	FC2 (bpm)
1	102	95	64	72
2	99	107	62	68
3	85	93	67	71
4	95	80	70	79
5	81	68	69	77
6	91	81	71	68
7	98	94	70	77
8	85	84	60	71
9	92	83	71	78
10	98	101	64	66
11	97	84	69	72
12	87	81	67	71
13	92	92	57	60
14	105	93	57	55

Tabela 16 – Dados basais do fluxo sanguíneo muscular (FSM) e da condutância vascular do antebraço (CVA) dos indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu pré e pós consumo agudo de gordura

N	FSM1 (ml/min/100g)	FSM2 (ml/min/100g)	CVA1 (unidade)	CVA2 (unidade)
1	2,5	2,3	2,3	2,6
2	2,0	2,6	2,0	2,9
3	1,6	1,8	1,8	2,0
4	2,1	2,4	2,2	2,6
5	2,7	2,9	3,0	3,6
6	2,9	3,0	2,8	3,2
7	1,8	2,1	2,3	2,8
8	2,1	1,7	2,5	2,0
9	2,3	1,8	2,5	2,0
10	1,6	1,8	1,9	2,2
11	2,2	1,5	2,5	1,9

Tabela 17 – Dados basais do fluxo sanguíneo muscular (FSM) e da condutância vascular do antebraço (CVA) dos indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln pré e pós consumo agudo de gordura

N	FSM1 (ml/min/100g)	FSM2 (ml/min/100g)	CVA1 (unidade)	CVA2 (unidade)
1	2,3	2,1	2,3	2,2
2	2,3	1,9	2,3	1,8
3	1,1	1,2	1,2	1,2
4	2,1	2,2	2,2	2,7
5	2,1	2,7	2,6	4,1
6	1,6	1,7	1,9	2,0
7	2,5	2,6	2,5	2,8
8	2,4	2,0	2,5	2,0
9	2,0	2,1	2,2	2,6
10	1,6	1,7	1,8	2,1
11	2,2	2,0	2,2	2,4
12	2,4	2,8	2,5	3,2
13	1,7	2,0	1,8	2,2
14	2,1	1,6	2,0	1,7

Tabela 18 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pré consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	4,0	4,1	3,8	3,6	3,4	3,2
2	2,6	2,4	2,2	3,1	2,6	2,4
3	2,3	2,5	2,8	2,3	2,8	3,6
4	3,9	4,6	4,5	3,2	3,9	4,1
5	3,2	3,5	3,8	3,2	3,7	4,1
6	4,5	4,4	4,3	3,8	3,9	3,6
7	2,4	2,4	2,3	2,9	2,9	2,7
8	2,7	3,2	3,4	3,0	3,2	3,6
9	2,6	2,5	2,7	2,9	2,8	2,6
10	1,6	1,8	2,0	1,7	1,5	2,1
11	3,7	2,8	2,0	4,1	3,2	1,9

Tabela 19 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pós consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	3,0	2,9	2,8	3,0	2,7	2,6
2	3,6	2,1	2,2	4,0	2,0	1,8
3	2,0	2,3	2,4	2,3	2,1	2,3
4	2,6	3,2	3,6	2,5	3,0	3,3
5	5,3	5,4	5,2	6,0	5,8	5,9
6	3,8	3,8	4,1	3,2	3,5	4,0
7	1,9	2,4	3,0	2,3	3,0	3,6
8	2,5	2,8	2,5	3,0	3,1	2,7
9	2,2	2,1	2,1	2,4	2,1	2,0
10	1,7	2,4	2,4	2,0	2,8	2,9
11	2,0	1,4	1,4	2,0	1,4	1,3

Tabela 20 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln, pré consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	2,6	2,6	2,5	2,7	2,3	2,1
2	2,5	2,7	3,0	2,4	2,5	2,7
3	1,0	1,1	1,0	1,2	1,1	0,9
4	1,8	1,8	1,8	1,9	1,7	1,7
5	3,1	3,1	3,1	3,4	3,3	3,4
6	2,2	2,2	2,6	2,5	2,3	2,9
7	2,1	2,2	2,8	2,0	2,1	2,5
8	2,3	2,7	2,7	2,2	2,7	2,7
9	2,9	3,5	3,3	2,7	3,4	3,1
10	2,0	2,3	2,3	2,3	2,6	2,5
11	3,2	3,0	2,7	3,4	2,8	2,2
12	2,8	3,1	3,5	2,7	2,9	3,1
13	2,3	2,3	2,6	2,3	1,9	1,9
14	2,0	2,0	2,1	1,8	1,7	1,6

Tabela 21 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln, pós consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	2,5	1,2	1,6	2,3	1,2	1,3
2	2,5	2,6	3,3	2,4	2,4	3,1
3	1,0	1,6	1,0	1,7	0,9	1,2
4	1,8	2,1	2,3	2,2	2,4	2,7
5	3,4	3,1	3,3	5,3	3,9	4,2
6	1,9	1,9	2,4	2,4	2,0	2,6
7	2,2	2,0	2,4	2,3	2,0	2,3
8	2,2	2,0	2,0	2,2	2,2	2,2
9	4,1	3,8	4,0	4,5	4,2	3,9
10	2,3	2,3	2,3	2,5	2,3	2,2
11	2,0	2,2	1,7	2,2	2,0	1,5
12	2,8	3,1	3,5	3,1	2,7	2,6
13	3,4	2,7	1,8	3,6	2,4	1,5
14	1,4	1,5	1,7	1,3	1,3	1,7

Tabela 22 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pré consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	111	122	118	75	73	65
2	83	94	94	65	66	71
3	97	91	80	77	78	61
4	122	117	110	79	86	73
5	99	96	94	91	94	98
6	119	112	118	105	114	111
7	83	84	87	68	69	71
8	89	101	96	75	78	79
9	89	92	104	57	62	73
10	91	91	94	70	70	75
11	90	89	101	75	73	74

Tabela 23 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pós consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	100	108	108	80	78	78
2	88	103	121	71	69	71
3	88	107	101	60	61	65
4	107	108	108	75	87	78
5	87	92	87	92	93	101
6	117	110	102	100	94	91
7	85	81	84	66	71	76
8	84	91	93	88	86	83
9	89	100	108	68	71	64
10	88	86	79	84	92	79
11	100	100	109	68	65	68

Tabela 24 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln, pré consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	98	110	120	67	66	70
2	106	107	110	64	64	67
3	86	104	113	70	71	75
4	91	105	104	76	78	79
5	93	94	91	73	76	85
6	107	104	108	72	73	77
7	107	103	110	68	70	70
8	87	94	91	66	66	73
9	86	90	91	76	87	83
10	105	101	101	65	72	72
11	94	106	121	76	76	87
12	100	100	100	74	74	78
13	101	122	135	67	72	96
14	110	115	131	63	63	69

Tabela 25 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o exercício isométrico em indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln, pós consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	106	106	124	85	74	74
2	106	106	108	73	73	72
3	92	112	121	72	72	83
4	83	89	85	84	85	80
5	63	81	78	82	83	87
6	92	90	101	72	72	76
7	96	99	104	67	69	70
8	77	95	91	80	79	80
9	90	100	103	88	93	95
10	102	105	105	74	80	80
11	92	112	112	79	85	83
12	86	105	119	77	81	81
13	95	112	121	70	75	75
14	107	118	99	57	63	64

Tabela 26 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pré consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	8,04	6,60	5,19	6,54	5,59	4,59
2	3,69	3,81	3,01	3,97	4,23	3,04
3	4,94	4,63	4,22	5,74	4,58	4,44
4	3,79	3,97	4,14	3,58	3,64	3,48
5	5,89	5,39	5,17	7,65	6,06	5,88
6	4,92	3,82	4,18	4,17	3,35	3,67
7	2,00	3,53	3,41	2,50	4,01	3,59
8	2,95	3,83	3,76	2,71	4,07	4,04
9	2,77	2,64	2,79	3,42	2,90	2,85
10	3,98	5,7	5,83	4,06	5,48	5,95

Tabela 27 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pós consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	3,80	3,47	3,05	4,04	3,21	2,90
2	3,44	3,33	2,77	3,95	3,66	3,22
3	3,09	2,67	2,26	3,03	2,57	2,40
4	5,28	3,44	3,48	5,39	3,25	3,55
5	8,17	6,50	7,15	8,69	6,57	7,77
6	3,20	3,42	3,00	3,27	3,60	2,91
7	2,20	3,30	3,33	2,37	3,33	3,36
8	2,13	2,91	3,05	2,15	3,20	3,32
9	2,53	2,34	2,66	2,66	2,69	2,86
10	3,90	4,04	3,13	4,29	3,74	3,01

Tabela 28 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln, pré consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	6,21	4,70	4,19	6,27	4,23	3,43
2	4,50	4,14	4,97	3,98	3,66	4,44
3	2,48	3,17	2,64	2,70	3,45	2,81
4	1,91	1,43	2,13	2,03	1,46	2,20
5	2,59	3,51	3,60	2,70	3,86	4,24
6	2,11	2,44	2,50	2,37	2,80	2,94
7	3,05	4,03	4,92	2,46	3,91	4,73
8	2,02	2,62	2,32	1,76	2,08	1,92
9	3,01	4,13	4,63	3,10	3,86	4,54
10	2,24	2,35	2,49	2,64	2,76	2,62
11	2,71	3,49	3,31	2,68	3,17	3,28
12	4,61	3,41	3,24	5,01	3,67	3,45
13	3,44	3,78	3,36	3,34	3,53	2,90
14	2,63	2,89	3,18	2,55	2,65	2,56

Tabela 29 – Fluxo sanguíneo muscular (FSM) e condutância vascular do antebraço (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pós consumo de gordura

N	FSM (ml/min/100ml)			CVA (ml/min/100ml)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	3,72	2,88	3,04	3,48	2,62	3,04
2	4,42	3,54	3,54	3,18	3,71	3,03
3	1,52	1,54	1,70	1,67	1,54	1,70
4	2,29	2,90	3,58	2,66	3,49	4,31
5	2,71	2,35	2,76	3,15	3,13	3,83
6	3,63	3,18	2,74	4,08	3,31	2,98
7	5,59	3,01	2,79	5,95	3,20	2,85
8	2,38	2,13	2,03	2,51	2,25	2,26
9	5,90	5,26	4,50	6,78	5,37	4,74
10	2,10	2,41	1,54	2,76	3,39	2,03
11	3,01	3,61	2,78	2,69	3,31	2,55
12	3,20	2,91	2,81	3,72	3,31	3,02
13	3,66	3,17	3,30	3,62	2,91	3,11
14	2,00	2,11	2,17	2,15	2,27	2,07

Tabela 30 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pré consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	123	118	113	78	78	73
2	93	90	99	63	65	65
3	86	101	95	86	72	75
4	106	109	119	71	87	86
5	77	89	88	91	98	100
6	118	114	114	108	97	98
7	80	88	95	69	81	82
8	97	94	93	79	89	90
9	81	91	98	57	61	61
10	98	104	98	76	80	82

Tabela 31 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Glu27Glu, pós consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	94	108	105	67	69	68
2	87	91	86	70	67	65
3	102	104	94	93	87	88
4	98	106	98	73	89	81
5	94	99	92	117	94	94
6	98	95	103	88	90	89
7	93	99	99	70	81	88
8	99	91	92	90	92	90
9	95	87	93	65	63	61
10	91	98	104	60	71	78

Tabela 32 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln, pré consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	99	111	122	87	83	85
2	113	113	112	71	79	82
3	92	92	94	70	70	69
4	94	98	97	75	75	76
5	96	91	85	70	75	75
6	97	107	102	73	74	76
7	124	103	104	84	82	85
8	89	87	85	70	76	75
9	85	85	95	73	74	76
10	115	126	121	67	78	69
11	101	110	101	87	96	91
12	92	93	94	73	69	70
13	103	107	116	71	90	89
14	103	109	124	66	64	62

Tabela 33 – Pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (CVA) durante o estresse mental em indivíduos portadores do genótipo Gln27Gln, pós consumo de gordura

N	PAM (mmHg)			FC (bpm)		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
1	107	110	100	89	77	87
2	120	119	117	77	83	82
3	91	100	100	83	79	79
4	86	83	83	80	81	77
5	86	75	72	77	77	77
6	87	98	95	71	73	70
7	94	94	98	76	72	73
8	89	96	92	77	90	77
9	76	71	76	79	77	82
10	95	106	110	69	69	70
11	112	109	109	82	83	80
12	86	88	93	74	74	72
13	101	109	106	101	109	106
14	93	93	105	58	60	60

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FURCHGOTT RF, ZAWADSKI JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v.228, p.373-6, 1980.
2. VAPAATALO H, MERVAALA E. Clinically important factors influencing endothelial function. **Med Sci Monit.**, vol.7, p.1075-85, 2001.
3. LUZ PL, UINI L, SERRANO JR CV, PILEGGI F. Endotélio e Aterosclerose. **Rev Socesp**, vol.6, p.160-170, 1996.
4. DREXLER H. Factors involved in the maintenance of endothelial function. **Am J Cardiol.**, vol.82, p.3S-4S, 1998.
5. MONCADA S, PALMER RMJ, HIGGS EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol Rev.**, vol.43, p.109-42, 1991.
6. VAZ-DA-SILVA MJ, MAGINA S, DOMINGUES-COSTAA, MOURAD, GUIMARÃES S. The role of the endocardium in the facilitatory effect of bradykinin on electrically-induced release of noradrenaline in rat cardiac ventricle. **Br J Pharmacol.**, vol.118, p.364-8, 1996.
7. BUSSE R, FISSLTHALER B, FLEMING I. Activation of the endothelial nitric oxide synthase by fluid shear stress. **Pharmacol Toxicol.**, vol.83, p.47-8, 1998.
8. GUIMARÃES S, MOURAD. Vascular adrenoceptors: an update. **Pharmacol Rev.**, vol.53, p.319-56, 2001.
9. INSEL PA. Adrenergic receptors. Evolving concepts and clinical implications. **New Engl J Med.**, vol.334, p.580-5, 1996.

10. DIXON RA, KOBILKA BK, STRADER DJ, BENOVIC JL, DOHLMAN HG, FRIELLE T, BOLANOWSKI MA, BENETT CD, RANDS E, DIEHL RE, MUNFORD RA, SLATER EE, SIGAL IS, CARON MG, LEFKOWITZ RJ, STRADER CD. Cloning of a gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. **Nature**, vol.21, p.75-9, 1986.
11. DIXON RA, SIGAL IS, RANDS E, REGISTER RB, CANDELORE MR, BLAKE AD, STRADER CD. Ligand binding to the beta-adrenergic receptor involves its rhodopsin-like core. **Nature**, vol.326, p.73-7, 1987.
12. LANDS AM, ARNOLD A, MCAULIFF JP, LUDUENA FP, BROWN TG. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. **Nature**, vol.214, p.597-8, 1967.
13. LANDS AM, LUDUENA FP, BUZZO HJ. Differentiation of receptors responsive to isoproterenol. **Life Sci.**, vol.6, p.2241-9, 1967.
14. GREEN SA, TURKI J, BEJARANO P, HALL IP, LIGGETT SB. Influence of beta 2-adrenergic receptor genotypes on signal transduction in human airway smooth muscle cells. **Am J Respir Cell Mol Biol.**, vol.13, p.25-33, 1995.
15. LARGE V, HELLSTRÖM L, REYNISDÓTTIR S, LÖNNQVIST F, ERIKSSON P, LANNFELT L, ARNER P. Human beta-2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associates with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function. **J Clin Invest.**, vol.100, p.3005-13, 1997.
16. LEINWEBER K, BÜSCHER R, BRUCK H, BRODDE O-E. β -Adrenoceptor polymorphisms. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.**, vol.369, p.1-22, 2004.

17. GREEN SA, TURKI J, INNIS M, LIGGETT SB. Amino-terminal polymorphisms of the human β_2 -adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. **Biochemistry**, vol.33, p.9414-9, 1994.
18. COCKROFT JR, GAZIS AG, CROSS DJ, WHEATLEY A, DEWAR J, HALL IP, NOON JP. β_2 -adrenoceptor polymorphism determines vascular reactivity in humans. **Hypertension**, vol.36, p.371-5, 2000.
19. DISHY V, SOFOWORA GG, XIE HG, KIM RB, BYRNE DW, STEIN CM, WOOD AJ. The effect of common polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization. **N Engl J Med.**, vol.345, p.1030-5, 2001.
20. TROMBETTA IC, BATALHALT, RONDON MUPB, LATERZA MC, FRAZZATTO E, ALVES MJNN, SANTOS AC, BRUM PC, BARRETTO ACP, HALPERN A, VILLARES SMF, NEGRÃO CE. Gly¹⁶ + Glu²⁷ β_2 -adrenoceptor polymorphisms cause increased forearm blood responses to mental stress and handgrip in humans. **J Appl Physiol.**, vol.98, p.787-94, 2005.
21. SMALL KM, RATHZ DA, LIGGETT SB. Identification of adrenergic receptor polymorphisms. **Methods Enzymol.**, vol.343, p.459-75, 2002.
22. HELLSTROM L, LARGE V, REYNISDOTTIR S, WAHRENBERG H, ARNER P. The different effects of a Gln27Glu beta 2-adrenoceptor gene polymorphism on obesity in males and females. **J Intern Med.**, vol.245, p.253-9, 1999.
23. MORI Y, KIM-MOTOYAMA H, ITO Y, KATAKURA T, YASUDA K, ISHIYAMA-SHIGEMOTO S, YAMADA K, AKANUMA Y, OHASHI Y, KIMURA S, YAZAKI Y, KADOWAKI T. The Gln27Glu beta2-adrenergic receptor variant is associated with obesity due to subcutaneous fat accumulation in Japanese men. **Biochem Biophys Res Commun.**, vol.258, p.138-40, 1999.

24. ISHIYAMA-SHIGEMOTO S, YAMADA K, YUAN X, ICHIKAWA F, NONAKA K. Association of polymorphisms in the beta2-adrenergic gene with obesity, hypertriglyceridaemia, and diabetes mellitus. **Diabetologia**, vol.42, p. 98-101, 1999.
25. YAMADA K, ISHIYAMA-SHIGEMOTO S, ICHIKAWA F, YUAN X, KOYANAGI A, KOYAMA W, NONAKA K. Polymorphism in the 5'-leader cistron of the β_2 -adrenergic receptor gene with obesity and type 2 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab.**, vol.84, p.1754-7, 1999.
26. KORTNER B, WOLF A, WENDT D, BEISIGEL U, EVANS D. Lack of association between a human beta2-adrenoceptor gene polymorphism (Gln27Glu) and morbid obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord.**, vol.23, p.1099-1100, 1999.
27. ECHWALD SM, SORENSEN TI, TYBJAERG-HANSEN A, ANDERSEN T, PEDERSEN O. Gln27Glu variant of the human beta2-adrenoceptor gene is not associated with early-onset obesity in Danish men. **Diabetes**, vol.47, p.1657-8, 1998.
28. HAYAKAWA T, NAGAI Y, KAHARA T, YAMASHITA H, TAKAMURA T, ABE T, NOMURA G, KOBAYASHI K. Gln27Glu and Arg16Gly polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor gene are not associated with obesity in Japanese man. **Metabolism**, vol.49, p.1215-8, 2000.
29. MASUO K, KATSUYA T, FU Y, RAKUGI H, OGIHARA T, TUCK ML. Beta2-adrenoceptor polymorphisms relate to insulin resistance and sympathetic overactivity as early markers of metabolic disease in nonobese, normotensive individuals. **Am J Hypertens.**, vol.18, p.1009-14, 2005.
30. RANADE K, SHUE WH, HUNG YJ, HSUING CA, CHIANG FT, PESICH R, HEBERT J, OLIVIER M, CHEN YD, PRATT R, OLSHEN R, CURB D, BOTSTEIN D, RISCH N, COX DR. The glycine/arginine polymorphism in the beta2-adrenergic receptor gene is associated with essential

- hypertension in a population of Chinese origin. **Am J Hypertens.**, vol.14, p.1196-200, 2001.
31. DALLONGEVILLE J, HELBECQUE N, COTTEL D, AMOUYEL P, MEIRHAEGHE A. The Gly16→Arg16 and Gln27→Glu27 polymorphisms of beta2-adrenergic receptor are associated with metabolic syndrome in men. **J Clin Endocrinol Metab.**, vol.88, p.4862-6, 2003.
32. MASUOK K, KATSUYA T, FU Y, RAKUGI H, OGIHARA T, TUCK ML. Beta2 and beta-3adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. **Circulation**, vol.111, p.3429-34, 2005.
33. PEREIRA AC, FLORIANO MS, MOTA GF, CUNHA RS, HERKENHOFF FL, MILL JG, KRIEGER JE. Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population. **Hypertension**, vol.42, p.685-92, 2003.
34. MCNAMARA DM, MACGOWAN GA, LONDON B. Clinical importance of beta-adrenoceptor polymorphisms in cardiovascular disease. **Am J Pharmacogenomics**, vol.2, p.73-8, 2002.
35. SOTOODEHNIA N, SISCOVICK DS, VATTA M, PSATY BM, TRACY RP, TOWBIN JA, LEMAITRE RN, REA TD, DURDA JP, CHANG JM, LUMLEY TS, KULLER LH, BURKE GL, HECKBERT SR. Beta2-adrenergic receptor genetic variants and risk of sudden cardiac death. **Circulation**, vol.113, p.1818-20, 2006.
36. LANFEAR DE, JONES PG, MARSH S, CRESCI S, MCLEOD HL, SPERTUS JA. Beta2-adrenergic receptor genotype and survival among patients receiving beta-blocker therapy after an acute coronary syndrome. **JAMA**, vol.294, p.1526-33, 2005.

37. ANDERSON RA, JONES CJH, GOODFELLOW J. Is the fatty meal a trigger for acute coronary syndromes? **Atherosclerosis**, vol.159, p.9-15, 2001.
38. BROWN AA, HU FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr.**, vol.73, p.673-86, 2001.
39. KINLAY S, LIBBY P, GANZ P. Endothelial function and coronary artery disease. **Curr Opin Lipidol.**, vol.12, p.383-89, 2001.
40. ROOS NM, BOTS ML, KATAN MB. Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, vol.21, p.1233-37, 2001.
41. KEOGH JB, GRIEGER JA, NOAKES M, CLIFTON PM. Flow-mediated dilatation is impaired by a high-saturated fat diet but not by a high-carbohydrate diet. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, vol.25, p.1274-79, 2005.
42. ROBERTS CK, BARNARD RJ, SINDHU RK, JURCZAK M, EHDAIE A, VAZIRI ND. A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction and oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression. **J Appl Physiol.**, vol.98, p.203-10, 2005.
43. ROS E, NÚÑEZ I, PÉREZ-HERAS A, SERRA M, GILABERT R, CASALS E, DEULOFEU R. A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects. **Circulation**, vol.109, p.1609-14, 2004.
44. KENNY D, WALRLTIER DC, PLEUSS JA, HOFFMANN RG, GOODFRIEND TL, EGAN BM. Effect of omega-3 fatty acids on the vascular response to angiotensin in normotensive men. **Am J Cardiol.**, vol.70, p.1347-52, 1992.

45. CHIN JPF, GUST AP, NESTEL PJ, DART AM. Marine oils dose-dependently inhibit vasoconstriction of forearm resistance vessels in humans. **Hypertension**, vol.21, p.22-28, 1993.
46. MARCHESI S, LUPATELLI G, SIEPI D, ROSCINI AR, VAUDO G, SINZINGER H. Oral L-arginine administration attenuates postprandial endothelial dysfunction in young healthy males. **J Clin Pharm Ther.**, vol.26, p.343-49, 2001.
47. NYBY MD, MATSUMOTO K, YAMAMOTO K, ABEDI K, ESLAMI P, HERNANDEZ G, SMUTKO V, BERGER ME, TUCK ML. Dietary fish oil prevents vascular dysfunction and oxidative stress in hyperinsulinemic rats. **Am J Hypertens.**, vol.18, p.213-19, 2005.
48. KAMATA K, KOBAYASHI T, MATSUMOTO T, KANIE N, ODA S, KANEDA A, SUGIURA M. Effects of chronic administration of fruit extract (citrus unshiu marc) on endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biol Pharm Bull.**, vol.28, p.267-70, 2005.
49. PLOTNICK GD, CORRETTI MC, VOGEL RA, HESSLINK R, WISE JA. Effects of supplemental phytonutrients on impairment of the flow-mediated brachial artery vasoactivity after a single high-fat meal. **J Am Coll Cardiol.**, vol.41, p.1744-49, 2003.
50. GOODFELLOW J, BELLAMY MF, RAMSEY MW, JONES CJH, LEWIS MJ. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improves systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. **J Am Coll Cardiol.**, vol.35, p.265-70, 2000.
51. COIMBRA SR, LAGE SH, BRANDIZZI L, YOSHIDA V, DALUZ PL. The action of red wine and purple grape juice on vascular reactivity is independent of plasma lipids in hypercholesterolemic patients. **Braz J Med Biol Res**, vol.38, p.1349-57, 2005.

52. KONING EJP, RABELINK TJ. Endothelial function in the post-prandial state. **Atherosclerosis**, vol.3, p.11-16, 2002.
53. KARPE F, STEINER G, UFFELMAN K, OLIVECRONA T, HAMSTEN A. Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. **Atherosclerosis**, vol.106, p.83-97, 1994.
54. GOTTO AM JR. Triglyceride: the forgotten risk factor. **Circulation**, vol.97, p.1027-8, 1998.
55. HENNING B, TOBOREK M, McCLAIN CJ. High energy diets, fatty acids and endothelial cell function: implications for atherosclerosis. **J Am Coll Nutr.**, vol.20, p.97-105, 2001.
56. McKEONE BJ, PATSCH JR, POWNALL HJ. Plasma triglycerides determine low density lipoprotein composition, physical properties, and cell-specific binding in cultured cells. **J Clin Invest.**, vol.91, p.1926-33, 1993.
57. HEINTW, LIAO JC, KUO L. oxLDL specifically impairs endothelium-dependent, NO-mediated dilation of coronary arterioles. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.**, vol.278, p.175-83, 2000.
58. VOGEL RA, CORRETTI MC, PLOTNICK GD. Effect of a single high fat meal on endothelial function in healthy subjects. **Am J Cardiol.**, vol.79, p.350-4, 1997.
59. LUNDMAN P, ERIKSSON M, SCHENK-GUSTAFSSON K, KARPE F, TORNVALL P. Transient triglyceridemia decreases vascular reactivity in young, healthy men without risk factors for coronary heart disease. **Circulation**, vol.96, p.3266-8, 1997.
60. McCARTY MF. Does postprandial storage of triglycerides in endothelial cells contribute to the endothelial dysfunction associated with insulin resistance and fatty diets? **Medical Hypotheses**, vol.61, p.167-72, 2003.

61. PLOTNICK GD, CORRETTI MC, VOGEL RA. Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high fat meal. **JAMA**, vol.278, p.1682-6, 1997.
62. VOGEL RA, CORRETTI MC, PLOTNICK GD. The postprandial effect of components of the Mediterranean diet on endothelial function. **J Am Coll Cardiol.**, vol.36, p.1455-60, 2000.
63. SIES H, STAHL W, SEVANIAN A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. **J Nutr.**, vol.135, p.969-72, 2005.
64. NERI S, SIGNORELLI SS, TORRISI B, PULVIRENTI D, MAUCERI B, ABATE G, IGNACCOLO L, BORDONARO F, CILIO D, CALVAGNO S, LEOTTA C. Effects of antioxidant supplementation on postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction: a single-blind, 15-day clinical trial in patients with untreated type 2 diabetes, subjects with impaired glucose tolerance, and healthy controls. **Clinical Therapeutics**, vol.27, p.1764-73, 2005.
65. WESTPHAL S, TANEVA E, KÄSTNER S, MARTENS-LOBENHOFFER J, BODE-BÖGER S, KROPF S, DIERKES J, LULEY C. Endothelial dysfunction induced by postprandial lipemia is neutralized by addition of proteins to the fatty meal. **Atherosclerosis**, vol.185, p.313-9, 2006.
66. ANDERSON RA, EVANS ML, ELLIS GR, GRAHAM J, MORRIS K, JACKSON SK, LEWIS MJ, REES A, FRENNEAUX MP. The relationships between postprandial lipaemia, endothelial function and oxidative stress in healthy individuals and patients with type 2 diabetes. **Atherosclerosis**, vol.154, p.475-83, 2001.

67. BAE JH, BASSENGE E, KIM KB, KIM YN, KIM KS, LEE HJ, MOON KC, LEE MS, PARK KY, SCHWEMMER M. Postprandial hipertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. **Atherosclerosis**, vol.155, p.517-23, 2001.
68. SCHINKOVITZ A, DITTRICH P, WASCHER TC. Effects of a high-fat meal on resistance vessel reactivity and on indicators of oxidative stress in healthy volunteers. **Clinical Physiology**, vol.4, p.404-10, 2001.
69. MARCHESI S, LUPATELLI G, SCHILLACI G, PIRRO M, SIEPI D, ROSCINI AR, PASQUALINI L, MANNARINO E. Impaired flow-mediated vasoactivity during post-prandial phase in young healthy men. **Atherosclerosis**, vol.153, p.397-402, 2000.
70. ZHAO SP, LIU L, GAO M, ZHOU QC, LI YL, XI AB. Impairment of endothelial function after a high-fat meal in patients with coronary artery disease. **Coronary Artery Dis.**, vol.12, p.561-65, 2001.
71. GIANNATTASIO C, ZOPPO A, GENTILE G, FAILLA M, CAPRA A, MAGGI FM, CATAPANO A, MANCIA G. Acute effect of high-fat meal on endothelial function in moderately dyslipidemic subjects. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, vol.25, p.406-10, 2005.
72. SKILTON MR, LAI NT, GRIFFITHS KA, MOLYNEAUX LM, YUE DK, SULLIVAN DR, CELERMAJER DS. Meal-related increases in vascular reactivity are impaired in older and diabetic adults: insights into roles of aging and insulin in vascular flow. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.**, vol.288, p.1404-10, 2005.
73. WILLIAMS MJA, SUTHERLAND WHF, MCCORMICK MP, DE JONG SA, WALKER RJ, WILKINS GT. Impaired endothelial function following a meal rich in used cooking fat. **J Am Coll Cardiol.**, vol.33, p.1050-5, 1999.

74. IRACE C, CERAVOLO R, NOTARANGELO L, CRESCENZO A, VENTURA G, TAMBURRINI O, PERTICONE F, GNASSO A. Comparison of endothelial function evaluated by strain gauge plethysmography and brachial artery ultrasound. **Atherosclerosis**, vol.158, p.53-9, 2001.
75. RAITAKARI OT, LAI N, GRIFFITHS K, MCCREDIE R, SULLIVAN D, CELERMAJER DS. Enhanced peripheral vasodilation in humans after a fatty meal. **J Am Coll Cardiol.**, vol.36, p.417-22, 2000.
76. GOKCE N, DUFFY SJ, HUNTER LM, KEANEY JF, VITA JA. Acute hypertriglyceridemia is associated with peripheral vasodilation and increased basal flow in healthy young adults. **Am J Cardiol.**, vol.88, p.153-9, 2001.
77. ARCARO G, CRETTI A, BALZANO S, LECHI A, MUGGEO M, BONORA E, BONADONNA RC. Insulin causes endothelial dysfunction in humans. **Circulation**, vol.105, p.576-82, 2002.
78. ARDIGO D, FRANZINI L, VALTUENA S, MONTI LD, REAVEN GM, ZAVARONI I. Relation of plasma insulin levels to forearm flow-mediated dilatation in healthy volunteers. **Am J Cardiol.**, vol.105, p.1250-4, 2006.
79. GURNEY M, GORSTEIN J. The global prevalence of obesity – an initial overview of available data. **World Health Stat Q.**, vol.41, p.251-4, 1988.
80. FRIEDWALD WT, LEVY IR, FRIEDRICKSON DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. **Clin Chem.**, vol.18, p.499-502, 1972.
81. STROOP, JR. Studies of interference in serial verbal reactions. **J Exper Psychol.**, vol.18, p.643-62, 1935.

82. MIDDLEKAUF HR, NGUYEN AH, NEGRAO CE, NITZSCHE EU, HOH CK, NATTERSON BA, HAMILTON MA, FONAROW GC, HAGE A, MORIGUCHI JD. Impact of acute mental stress on sympathetic nerve activity and regional blood flow in advanced heart failure. **Circulation**, vol. 96, p.1835-42, 1997.
83. FREYSCHUSS U, HJEMDAHL P, JUHLIN-DANNFELT A, LINDE B. Cardiovascular and sympathoadrenal responses to mental stress: influence of β -blockade. **Am J Physiol: Heart Circ Physiol.**, vol.255, p.H1443-51, 1988.
84. HOWELL RE, ALBELDA SM, DAISE ML, LEVINE EM. Characterization of (beta)-adrenergic receptors in cultured human and bovine endothelial cells. **J Appl Physiol.**, vol.65, p.1251-7, 1988.
85. WANG YX, POON KS, RANDALL DJ, PANG CCY. Endothelium-derived nitric oxide partially mediates salbutamol-induced vasodilations. **Eur J Pharmacol.**, vol.250, p.335-40, 1993.
86. DAWES M, CHOWIENCZYK PJ, RITTER JM. Effects of inhibition of the L-arginine/nitric oxide pathway on vasodilation caused by beta-adrenergic agonists in human forearm. **Circulation**, vol.95, p.2293-7, 1997.
87. ALBERT F, QUEEN LR, PRIEST RM, XU BIAO, RITTER JM, POSTON L, WARD JPT. Activation of nitric oxide synthase by β_2 -adrenoceptors in human umbilical vein endothelium in vitro. **Br J Pharmacol.**, vol.126, p.1872-80, 1999.
88. MAJUMDAR NG, ANUMBA D, ROBSON SC, FORD GA. Contribution of nitric oxide to β_2 -adrenoceptor mediated vasodilation in human forearm arterial vasculature. **Br J Clin Pharmacol.**, vol.47, p.173-7, 1999.