

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:**  
**ENDOCRINOLOGIA**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO DE**  
**GORDURAS DA DIETA USUAL E A PRESENÇA DE DISFUNÇÃO**  
**ENDOTELIAL EM PACIENTES COM DIABETES MELITO TIPO 2**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Tanara Weiss**

**Porto Alegre, 28 de dezembro de 2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:**  
**ENDOCRINOLOGIA**

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO DE**  
**GORDURAS DA DIETA USUAL E A PRESENÇA DE DISFUNÇÃO**  
**ENDOTELIAL EM PACIENTES COM DIABETES MELITO TIPO 2**

**Tanara Weiss**

**Orientadora: Prof. Dra. Themis Zelmanovitz**

**Co-orientador: Prof. Dr. Luis Eduardo Paim Rohde**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

*Porto Alegre, 28 de dezembro de 2010*

## CONTEÚDO

<b>AGRADECIMENTO ESPECIAL</b> .....	05
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	06
<b>LISTA DE TABELAS E FIGURAS</b> .....	07
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	08
<b>Artigo de revisão</b> .....	10
<b>O papel das gorduras da dieta sobre a função endotelial</b>	
<b>Resumo</b> .....	11
<b>Abstract</b> .....	12
<b>1. Introdução</b> .....	13
<b>2. O Endotélio Normal</b> .....	14
<b>3. Conteúdo de gorduras da dieta e Função Endotelial</b> .....	15
<b>4. Papel das gorduras da dieta sobre a função endotelial</b> .....	17
4.1. Gorduras totais.....	17
4.2. Ácidos graxos saturados .....	19
4.3. Ácidos graxos monoinsaturados .....	21
4.4. Ácidos graxos poliinsaturados .....	23
4.5. Ácidos Graxos <i>Trans</i> .....	25
<b>5. Considerações finais</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	28
<b>Artigo original</b> .....	32
<b>Dietary Trans Fatty Acids are associated with endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients, independently of other cardiovascular risk factors</b>	

<b>Abstract</b> .....	33
<b>1. Introduction</b> .....	34
<b>2. Research design and methods</b> .....	35
<b>2.1. Patients</b> .....	35
<b>2.2. Methods</b> .....	36
2.2.1. Clinical evaluation .....	36
2.2.2. Endothelial function assessment .....	37
2.2.3. Nutritional Assessment .....	38
2.2.4. Laboratory measurements .....	39
2.2.5. Statistical analysis.....	40
<b>3. Results</b> .....	41
3.1 Patients.....	41
3.2 Patients' diet characteristics.....	43
3.3 Associations between FMD and clinical and nutritional characteristics.....	43
<b>4. Discussion</b> .....	45
<b>References</b> .....	50
<b>ANEXOS</b> .....	57

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

*À Prof.<sup>a</sup> Themis Zelmanovitz, não somente pelos ensinamentos desde a época de minha formação acadêmica até a realização de meu projeto de mestrado, como também pelos belos exemplos de que amizade, ética profissional e companheirismos são fundamentais na formação pessoal e profissional do ser humano.*

***“Para realizar grandes conquistas,  
devemos não apenas agir, mas  
também sonhar; não apenas  
planejar, mas também acreditar”***

**Anatole France**

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luis Eduardo Paim Rohde por acreditar em nossa idéia de projeto, nos fornecendo os recursos necessários para a sua realização e nos auxiliando nas suas conclusões.

Especial agradecimento às colegas Ana Luiza Teixeira dos Santos e Camila KümmeL pela ajuda fundamental na realização de meu projeto. Não foram apenas colegas; suas amizades são uma das minhas grandes conquistas nesta dissertação.

As colegas Flávia Moraes Silva e Alice Hoefel Nunes, por todo apoio e incentivo. As colegas Gabriela Cantori e Larissa Schneider, alunas de iniciação científica, e Fernanda dos Santos de Oliveira, que também participaram na realização deste projeto.

Às amigas Letícia Schenato e Suzana Coelho de Lavigne, amigas de longa data, que muito me ajudaram ao me escutar nos momentos mais difíceis de minha jornada.

À minha querida família, que é tudo para mim, sempre estando ao meu lado e sonhando junto comigo todos os meus sonhos. Agradecimento especial ao meu pai Rubem e minha mãe Maria Aparecida, exemplos de vida para mim.

À minha querida irmã Aline e cunhado Saulo, por todo o apoio sempre muito carinhoso. À minha sobrinha e afilhada Júlia, por todos os seus “desenhos” maravilhosos cheios de ternura.

Ao meu esposo Ronaldo pelo apoio incondicional. Exemplo de que sempre devemos batalhar pelos nossos sonhos. Obrigada pela minha maior alegria neste momento de minha vida.....Nosso filho Lucas ....Filho, apesar de ainda não te ter no meu colo, já te considero o meu presente mais precioso.....Amo vocês!

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

### Artigo original

<b>Tabela 1.</b> Clinical and laboratory characteristics of patients with type 2 diabetes divided according to median flow-mediated vasodilation (FMD) in ultrasound assessment of the brachial artery.....	53
<b>Tabela 2.</b> Dietary intake characteristics of patients with type 2 diabetes divided according to median flow-mediated vasodilation (FMD) in ultrasound assessment of the brachial artery.....	54
<b>Tabela 3.</b> Correlation coefficients between flow-mediated vasodilation (FMD) and clinical, laboratory and diets characteristics in type 2 diabetes patients.....	55
<b>Figura 1.</b> Correlation between Flow-Mediated Dilation (FMD) and dietary Trans Fatty Acids (TFA) intake of type 2 diabetes patients.....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS – ARTIGO DE REVISÃO

- **AG**           Ácido graxo
- **AGMI**        Ácido graxo moinsaturado
- **AGPI**        Ácido graxo poliinsaturado
- **AGS**        Ácido graxo saturado
- **CT**            Colesterol total
- **DCV**         Doença Cardiovascular
- **DHA**         Docosahexaenoic acid
- **DM**          Diabetes melito
- **DMF**         Dilatação mediada pelo fluxo
- **EPA**         Ácido graxo eicosapentaenóico
- **ET-1**         Endotelina-1
- **HDL**         *High-density lipoprotein*
- **ICAM-1**      Molécula de adesão intercelular 1
- **IMC**         Índice de massa corporal
- **IP**            Ingestão protéica
- **LDL**         *Low-density lipoprotein*
- **NCEP**        *National Cholesterol Education Program*
- **OMS**         Organização Mundial da Saúde
- **PCR**         Proteína C reativa
- **VCAM-1**      Molécula de adesão vascular 1
- **VCT**         Valor calórico total
- **VLDL**        *Very Low-density lipoprotein*



## LISTA DE ABREVIATURAS – ARTIGO ORIGINAL

- **BMI** Body mass index
- **CI** Confidence interval
- **CRP** C-reactive protein
- **CVD** Cardiovascular disease
- **DBP** Diastolic blood pressure
- **DHA** Ácido docosahexaenóico
- **EPA** Eicosapentaenoic acid
- **ET-1** Endothelin-1
- **FA** Fatty acids
- **FMD** Flow-mediated vasodilation
- **HDL** *High-density lipoprotein*
- **LDL** *Low-density lipoprotein*
- **MUFA** Monounsaturated fatty acids
- **OR** Odds ratios
- **P/S** P/S ratio
- **PUFA** Polyunsaturated fatty acids
- **SBP** Systolic blood pressure
- **SFA** Saturated fatty acids
- **TC** Total cholesterol
- **TFA** Trans fatty acids
- **TG** Triglycerides
- **UAE** Urinary albumin excretion
- **WDR** Weighed diet records

## Artigo de Revisão

### O PAPEL DAS GORDURAS DA DIETA SOBRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL

#### Título em inglês:

#### **The role of dietary fat content on endothelial function**

Tanara Weiss <sup>1</sup>

Ana Luiza Teixeira dos Santos <sup>1</sup>

Camila Kümme Duarte <sup>1</sup>

Gabriela Cantori <sup>1</sup>

Larissa Schneider <sup>1</sup>

Luis Eduardo Paim Rohde <sup>2</sup>

Themis Zelmanovitz <sup>1</sup>

Título resumido: Gorduras da Dieta e Função Endotelial

<sup>1</sup> Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>2</sup> Serviço de Cardiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

**Endereço para correspondência:** Themis Zelmanovitz. Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar, 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: [themis.voy@terra.com.br](mailto:themis.voy@terra.com.br); Fone: + 55 51 21018127 Fax: + 55 51 2101 8777.

## **Resumo**

A disfunção endotelial parece ser o evento desencadeante da doença aterosclerótica, sendo considerado um marcador precoce de risco cardiovascular. Evidências crescentes destacam o papel de determinados fatores dietéticos, principalmente as gorduras, no desenvolvimento da DCV, especialmente através da modulação da função endotelial. Esse artigo tem por objetivo revisar o papel das gorduras da dieta sobre a modulação da função endotelial e as evidências da sua associação com a disfunção endotelial. Estudos epidemiológicos e de intervenção sugerem um efeito adverso dos ácidos graxos (AG) saturados e dos AG *trans* e um efeito benéfico dos AG poliinsaturados n-3 na modulação da função endotelial. O papel dos AG monoinsaturados sobre a função endotelial é ainda controverso. A quantidade da gordura total por si só não parece ser fator determinante na função vascular a longo-prazo quanto a composição destas gorduras. No entanto, a modificação da composição de ácidos graxos da dieta implica obrigatoriamente na manipulação de mais de um componente para manter o valor energético, dificultando, portanto, a interpretação do papel de cada ácido graxo isoladamente sobre a função endotelial. ensaios clínicos randomizados, especialmente de longo-prazo, são ainda necessários para melhor evidenciar os diferentes efeitos da composição de AG da dieta e seus mecanismos, sobre a função vascular.

## **Abstract**

Endothelial dysfunction plays a central role in the development of atherosclerotic disease, and is considered an early marker of cardiovascular risk. Emerging evidence suggests an important role of dietary factors, especially fatty acids intake, in modulating endothelial function. The aim of this manuscript was to review the role of dietary fatty acids in modulating endothelial function and their potential association with endothelial dysfunction. Epidemiologic and clinical trials suggest an adverse effect of dietary saturated and *trans* fat acids in the modulation of endothelial function, whereas dietary polyunsaturated fatty acid had a beneficial effect. The role of monounsaturated fat remains obscure. Overall, the evidence suggest that total fat per se does not have a strong effect on vascular function and that the composition of dietary fatty acid may play a more important role. However, the modification of the composition of fatty acids in the diet necessarily implies manipulating more than one component to maintain the energy value, thus making it difficult to interpret the role of each fatty acid by itself in endothelial function. Randomized clinical essays, especially long-term ones, are still needed to show clearer evidence of the different effects of FA composition in the diet and its mechanisms on vascular function.

## **Introdução**

A doença cardiovascular aterosclerótica é a principal causa de morbidade e mortalidade em países ocidentais, sendo seu impacto em termos populacionais de grande relevância <sup>1</sup>. Independente dos fatores responsáveis pelo início do processo aterosclerótico, as alterações presentes neste processo representam diferentes estágios de um estado inflamatório crônico das artérias, no qual a disfunção endotelial tem um papel central <sup>1,2</sup>. Na presença de fatores inflamatórios e de fatores de risco cardiovascular há perda da ação protetora do endotélio, com propensão à vasoconstrição, trombose e inflamação, características do dano endotelial. A disfunção endotelial parece ser o evento desencadeante da doença aterosclerótica vascular em humanos, sendo considerado um marcador precoce de risco cardiovascular <sup>2</sup>.

A disfunção do endotélio associa-se a diversos fatores de risco tradicionais para a doença aterosclerótica, incluindo a presença de hipercolesterolemia, tabagismo, hipertensão arterial, diabetes melito (DM) e história familiar de doença coronariana prematura <sup>3,4</sup>. Além disto, tanto na patogênese como na progressão da doença cardiovascular (DCV), têm sido crescentes as evidências sobre o papel exercido por determinados fatores dietéticos, principalmente as gorduras. No que diz respeito aos mecanismos desta relação entre as gorduras da dieta com o desenvolvimento da DCV, o foco tem sido especialmente sobre o efeito destes nutrientes no metabolismo das lipoproteínas. No entanto, as gorduras da dieta exercem também influência sobre outros componentes de risco cardiovascular não menos importantes, mas menos explorados, como a sensibilidade à insulina, hemostasia e a função vascular. Esse artigo tem por objetivo revisar o papel das gorduras da dieta sobre a modulação da função endotelial e as evidências da sua associação com a disfunção endotelial.

## **O Endotélio Normal**

Dado antigamente como uma camada unicelular cujo papel era somente o de uma barreira semipermeável entre o sangue e o interstício, o endotélio desempenha uma gama de importantes funções metabólicas e regulatórias do sistema vascular <sup>4,5</sup>. Além da função de vasodilatação, um endotélio saudável tem papel antiaterogênico devido à inibição da adesão e agregação plaquetária, proliferação de células do músculo liso e adesão leucocitária <sup>6</sup>. Cabe ainda às células endoteliais a expressão de moléculas de adesão como a P-selectina, E-selectina, molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1) em resposta à estímulos inflamatórios e trombóticos <sup>5</sup>.

O controle do tônus vascular local depende do balanço entre substâncias dilatadoras e constritoras. O óxido nítrico, sintetizado a partir da L-arginina, é o vasodilatador predominante; já as substâncias vasoconstritoras são a Endotelina-1 (ET-1), Angiotensina II e o Tromboxano <sup>7</sup>. Em pessoas saudáveis o efeito predominante é o de vasodilatação. O termo disfunção endotelial refere-se à alteração da vasodilatação dependente do endotélio e à má regulação da interação endotélio - células sanguíneas, causando uma inflamação localizada e, posteriormente, lesões vasculares graves e trombose. A disfunção endotelial ocorre quando os efeitos vasoconstritores se superpõem aos efeitos vasodilatadores, geralmente como resultado da diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico, com perda de sua ação vasoprotetora <sup>8</sup>. Essas alterações propiciam um estado pró-constritor, pró-inflamatório e pró-agregante ao vaso sanguíneo e ocorrem especialmente na presença de hipercolesterolemia, hipertensão arterial, tabagismo e DM <sup>9</sup>.

O emprego de marcadores bioquímicos e de técnicas funcionais de vasodilatação dependente do endotélio tem sido utilizado para a avaliação da função endotelial.

Ativação endotelial pode ser detectada pelo aumento das concentrações plasmáticas das moléculas de adesão tipo 1, selectinas e ET-1, conhecidos marcadores de disfunção endotelial<sup>10</sup>. Contudo, o método mais empregado para o estudo da função endotelial em estudos clínicos tem sido a avaliação da resposta vasomotora dependente do endotélio em leitos circulatórios regionais, principalmente o antebraço ou na circulação coronariana<sup>4</sup>. Esse teste faz uso de estímulos farmacológicos (acetilcolina) e fisiológicos (aumento de fluxo sanguíneo através da hiperemia reativa) para a liberação endotelial de óxido nítrico, e conseqüente vasodilatação. Associado a ele, analisa-se a vasodilatação independente do endotélio desencadeada com o uso de nitroglicerina<sup>5,10</sup>. A técnica da ultrassonografia da artéria braquial tem sido considerada como método padrão para avaliação não invasiva da função endotelial devido a sua ampla experiência clínica, validação, além de servir como um preditor de risco de ventos cardiovasculares. A ação local do óxido nítrico não somente reflete sua influência no tônus vascular, mas também outras importantes funções dessa molécula como tromborregulação, adesão celular e proliferação<sup>10</sup>.

### **Conteúdo de gorduras da dieta**

Cerca de 95% da composição de gordura da dieta é representada por triacilgliceróis (constituído por três moléculas de ácidos graxos com uma molécula de glicerol), sendo o restante constituído por outras formas de lipídeos, como fosfolipídeos, ácidos graxos (AG) livres, colesterol e fitosteróis. O conteúdo de gordura da dieta consiste de AG insaturados e saturados, que se diferenciam pela presença ou não de ligações duplas entre dois átomos de carbono na cadeia, respectivamente. Quando a cadeia de átomos de carbono possui apenas uma ligação dupla, define-se como AG monoinsaturado (AGMI); na presença de duas ou mais ligações duplas, o AG é

poliinsaturado (AGPI). As ligações duplas presentes nos AGPI podem apresentar-se com dois tipos de configurações: cis e trans. A configuração cis se caracteriza pela presença dos átomos de hidrogênio do mesmo lado da dupla ligação, enquanto que na configuração trans, os átomos de hidrogênio estão em lados opostos na dupla ligação. A grande maioria dos AGPI encontram-se na configuração cis. Os AG *trans* não ocorrem naturalmente nos vegetais, e somente em pequenas quantidades nos animais. Porém, os AG *trans* são formados durante o processo de hidrogenação de óleos vegetais líquidos.

Baseada em um conjunto de valores de referência para ingestão de nutrientes a serem utilizados no planejamento e na avaliação de dietas de indivíduos saudáveis, as *DRIs* (“*Dietary Reference Intakes*”) preconizam que em adultos a ingestão de gordura total se concentre na faixa entre 20 a 35% do valor calórico total (VCT). Destas, o consumo médio de AG saturado (AGS) não deve ultrapassar de 10%, o consumo de AGPI deve ser responsável por cerca de até 10% e o de AGMI de até 20% do VCT. Para a ingestão de colesterol, o consumo diário não deve ultrapassar 300 mg/dia. Em relação ao AG *trans*, deve ser reduzido evitando o consumo dos principais alimentos fonte. Já para indivíduos com alto risco cardiovascular ou aqueles já com DCV estabelecida, a *American Heart Association* (AHA) <sup>11</sup> recomenda as seguintes metas: maior restrição do AGS, devendo ser limitado a no máximo 7% do VCT, associada a uma diminuição do consumo de colesterol para até 200mg/dia. A ingestão do AG *trans* não deve ultrapassar 1% do VCT. A AHA recomenda que o restante de ingestão de lípidios seja proveniente de AGMI e AGPI através da ingestão de nozes, grãos, peixes e óleos vegetais.

Na presente revisão será abordado o papel do conteúdo total da gordura da dieta e de cada grupo de AG sobre a função endotelial.



## **Papel das gorduras da dieta sobre a função endotelial**

### Gorduras totais

Vários estudos têm estabelecido que a quantidade total de gordura da dieta não é tão associada com a presença de DCV quanto o tipo de gordura ingerida. Quando analisada a variação nas quantidades de gordura total na dieta entre populações diversas, observa-se que esta não se associa a incidência de eventos coronarianos <sup>12</sup>. No estudo de Oh et al <sup>13</sup>, a ingestão total de gorduras esteve significativamente associada com o aumento de risco de DCV; contudo, quando ajustado para outros fatores de risco tradicionais como idade, tabagismo e hipertensão arterial sistêmica esta associação desapareceu. Este achado é reforçado por outros estudos clássicos como o *Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial* <sup>14</sup>. Neste estudo randomizado e controlado observou-se que a adoção de uma dieta com redução da proporção de gordura (20% VCT), sem modificação no peso corporal, não resultou em redução de taxas de eventos cardiovasculares.

Em relação à função endotelial, as evidências também sugerem que a quantidade da gordura total por si só não parece ser tão determinante na função vascular quanto à composição das gorduras da dieta. Roos et al <sup>15</sup> analisaram 32 indivíduos saudáveis submetidos a uma dieta reduzida em gorduras totais (25% VCT) e a uma dieta com maior conteúdo de gorduras (44% VCT) e rica em AGMI, durante 3,5 semanas cada uma. Após este período, os autores não observaram diferença com relação à dilatação mediada pelo fluxo (DMF), apesar da diminuição no colesterol *High-density lipoprotein* (HDL) e do aumento nos triglicérides séricos resultantes com a dieta pobre em gorduras.

A maioria dos estudos que avalia o efeito da ingestão de dietas ricas em gordura sobre a função endotelial são estudos de efeito agudo, possivelmente pela maior

facilidade técnica, de mais rápida realização e ausência do risco de não aderência. Em geral, as refeições ricas em gordura estão associadas à piora da vasodilatação dependente do endotélio, em muitos destes estudos determinada pela DMF. Em um estudo realizado com 50 pacientes com DM tipo 2, foi demonstrado que os níveis plasmáticos de ADMA (Asymmetric dimethylarginine), um potente inibidor do óxido nítrico sintase, elevava-se agudamente após uma refeição rica em gordura, além de ocorrer uma redução na resposta vasodilatadora do endotélio após a hiperemia reativa<sup>16</sup>. No entanto, é importante ressaltar que este efeito pode ser diverso dependendo da composição de nutrientes que compõe a dieta. Em outro estudo de intervenção, 16 indivíduos saudáveis foram submetidos a três tipos diferentes de dieta (rica em gordura e rica em gordura com 2 tipos diferentes de proteína). A DMF foi avaliada agudamente e mostrou que a piora da função endotelial não foi observada quando ambos os tipos de proteína foram adicionadas à dieta rica em gordura<sup>17</sup>.

Portanto, mais do que a quantidade de gordura total, provavelmente, o importante seja definir qual a melhor composição de AG que resulte em menor efeito adverso sobre a função vascular, protegendo, em última análise, o endotélio do dano a longo-prazo. Além disso, a influência de outros componentes que estão presentes na refeição, como proteínas, fibras solúveis e anti-oxidantes também deve ser levada em consideração.

O impacto das dietas ricas em gordura sobre a função vascular pós-prandial está provavelmente associado à lipemia pós-prandial. O aumento dos triglicerídeos e dos AG não esterificados pós-prandiais é inversamente associado à função endotelial, sendo que a deterioração da função endotelial resultante das dietas ricas em gordura é maior em indivíduos hipertrigliceridêmicos<sup>18</sup>. Uma explicação é que este efeito esteja ligado ao

aumento do estresse oxidativo, ou seja, o aumento das lipoproteínas ricas em triglicerídeos induziria a menor biodisponibilidade do óxido nítrico.

### Ácidos graxos saturados

Os AGS são encontrados em alimentos de origem animal como carnes e laticínios. De acordo com o *National Cholesterol Education Program (NCEP)*<sup>19</sup>, o consumo médio de AGS é de 12% do VCT na população norte-americana, sendo que o ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0) e láurico (12:0) são os mais predominantes.

O alto consumo de AGS é um importante fator de risco para DCV, por levar a um perfil pró-aterogênico dos lipídios plasmáticos, além de favorecer a trombogênese<sup>20</sup>. O seu efeito sobre o aumento dos níveis de colesterol é bem estabelecido<sup>21</sup>. Estudos têm demonstrado que a ingestão de AGS da dieta tem efeito negativo sobre a função endotelial. Em uma coorte publicada em 2009, com 264 indivíduos idosos (> 70 anos de idade), constatou-se que a proporção do ácido palmitoléico sérico foi associada aos níveis elevados de proteína C reativa (PCR), importante marcador inflamatório, independente de índice de massa corporal (IMC) e fatores de estilo de vida<sup>22</sup>. Este AG sérico reflete em grande parte a ingestão do ácido palmítico. Ainda, no estudo de Sarabi et al<sup>23</sup>, que analisou indivíduos saudáveis entre 20 e 69 anos, foi observado que os ácidos palmítico e palmitoléico medidos em lipídeos séricos foram inversamente relacionados com a função endotelial através da pletismografia venosa.

No entanto, os mecanismos pelos quais os AGS danificam o endotélio vascular ainda não são bem conhecidos. Um possível mecanismo do AGS na inflamação tem sido demonstrado *in vitro*. Quando culturas de células endoteliais coronarianas humanas são incubadas com ácido palmítico, a expressão gênica e a produção protéica de IL-6 aumentam<sup>24</sup>.

Analisando o efeito agudo da ingestão de AGS, um ensaio clínico randomizado australiano comparou os efeitos de duas dietas ricas em gordura, mas diferenciadas na composição das mesmas: uma rica em AGPI e a outra em AGS em 14 adultos saudáveis. Os autores observaram uma significativa piora da função endotelial avaliada através da ultrassonografia de artéria braquial após a ingestão aguda da dieta rica em AGS quando comparada à dieta rica em AGPI <sup>25</sup>. Em outro estudo no qual foram testadas quatro tipos de dietas por 3 semanas cada uma (ricas em AGS, AGPI, AGMI e carboidratos de alto índice glicêmico, respectivamente) em indivíduos saudáveis, a dieta com maior conteúdo de AGS resultou em uma diminuição da vasodilatação dependente do endotélio de 50%, quando comparado às outras dietas <sup>9</sup>.

Em pacientes com DM tipo 2, conhecida condição associada a um processo aterosclerótico mais precoce e acelerado, os estudos na sua grande maioria analisam apenas o efeito agudo da ingestão de AGS sobre a função endotelial <sup>26,27</sup>. Recentemente, Tentolouris et al realizaram um ensaio clínico randomizado com cruzamento, no qual observaram que o consumo de um lanche rico em AGS, sendo a manteiga a principal fonte, propiciou uma diminuição na vasodilatação dependente do endotélio duas horas após, que perdurou até 6 horas após, quando comparado a uma dieta rica em AGMI <sup>26</sup>. Esta piora da função endotelial está provavelmente associada ao maior estresse oxidativo resultante, efeito que parece ser de maior magnitude nos pacientes com DM tipo 2, quando comparados a indivíduos normais <sup>27</sup>. Além disso, após a ingestão aguda de dietas ricas em AGS, a piora da função endotelial foi correlacionada com aumento da concentração de *very low density lipoprotein* (VLDL) e *Low-density lipoprotein* (LDL). Outra observação é que a piora da função endotelial após estas refeições foi maior nos indivíduos com níveis plasmáticos menores de colesterol HDL.

## Ácidos graxos Monoinsaturados

O papel dos MUFA no desenvolvimento das DCV é bastante controverso, com alguns estudos demonstrando efeito protetor, outros não. No estudo *Nurses' Health Study*, uma coorte prospectiva com mais de 80000 mulheres, foi demonstrada uma associação inversa entre a ingestão de AGPI, e em menor magnitude a ingestão de AGMI, e o risco de doença coronariana<sup>28</sup>. Estudos epidemiológicos sobre o impacto de fatores alimentares na prevenção das DCV, também demonstram uma redução de risco de eventos cardiovasculares associada à maior ingestão de oleaginosas, que são importante fonte de AG insaturados, especialmente os AGMI. No entanto, este alimento é também fonte de outros nutrientes bioativos (proteínas vegetais, fibras, ácido fólico, etc), aos quais pode ser também atribuído este efeito cardioprotetor<sup>29</sup>.

Evidências indiretas do benefício dos AGMI da dieta sobre a função endotelial são observadas em estudos de intervenção nos quais dietas ricas em AGS são substituídas por dietas com alto teor de AGMI, como a dieta mediterrânea. Em um estudo randomizado e com cruzamento, pacientes com hipercolesterolemia foram submetidos a uma dieta típica mediterrânea, rica em óleo de oliva (fonte do ácido oléico) ou a uma dieta pobre em gordura<sup>30</sup>. Após 28 dias de dieta mediterrânea, os pacientes apresentavam maior DMF, sugerindo melhor função endotelial. Além disso, após a dieta rica em AGMI assim como após a dieta pobre em gordura, observou-se menores valores de colesterol plasmático, de colesterol LDL e da apolipoproteína B. Contudo, além do maior conteúdo de AGMI, as dietas mediterrâneas são compostas também por alimentos ricos em antioxidantes, como frutas, vegetais e peixes, conhecidos fatores benéficos sobre a função endotelial<sup>31</sup>.

Quando avaliada a associação entre a composição de AG séricos, como marcadores da ingestão alimentar dos AG, e função endotelial, Sarabi et al<sup>23</sup> também

observaram que a maior proporção do ácido oléico na fração éster de colesterol e do ácido linoléico na fração fosfolípídeo dos lipídeos séricos foram associados a uma melhor função endotelial avaliada através da pletismografia venosa. O ácido oléico e o ácido linoléico são os principais constituintes dos grupos de AGMI e AGPI da dieta, respectivamente. Os mecanismos de proteção destes AG sobre a função endotelial, no entanto, devem diferir entre si, pois o ácido linoléico foi positivamente associado com a vasodilatação tanto dependente quanto independente do endotélio, ao passo que o ácido oléico correlacionou-se somente com a vasodilatação endotélio-dependente <sup>23</sup>.

Por outro lado, quando o efeito de curto-prazo ou agudo da ingestão de fontes ricas em AGMI é estudado em pacientes com hipercolesterolemia e comparado ao efeito dos AGPI, os achados são divergentes. Em estudo randomizado e com cruzamento, Ros et al <sup>32</sup> comparou o efeito de uma dieta mediterrânea e de uma dieta rica em nozes, importante fonte de AGPI, em 21 pacientes com hipercolesterolemia, por um período de quatro semanas cada uma. Foi observada uma melhora da função endotelial na dieta rica em AGPI, além de reduzir os níveis de VCAM-1 e de colesterol total e colesterol LDL; achado este não observado após a dieta rica em AGMI <sup>32</sup>. Já a ingestão aguda de AGMI pode estar associada à piora da função endotelial. Em estudo recente realizado por Cortés et al <sup>33</sup>, a DMF reduziu após a refeição com óleo de oliva (rica em AGMI) tanto em indivíduos saudáveis (-17%) quanto nos indivíduos hipercolesterolêmicos (-36%), o que não foi observado após a ingestão de nozes, fonte de AGPI. De fato, outros autores também observaram piora da função endotelial após ingestão aguda de refeição rica em AGMI, em indivíduos saudáveis <sup>31</sup>, tanto comparada a refeições ricas em AGS (ácido esteárico) <sup>34</sup>, como a refeições ricas em carboidratos <sup>35</sup>.

Ainda, em pacientes com DM tipo 2, outro estudo avaliou o efeito agudo de AGMI e AGPI e foi observado que a ingestão aguda do AGPI combinado com AGMI

foi associada a aumento aproximado de 50 a 80% da DMF 4 horas após, enquanto a ingestão de AGMI isolada não resultou em modificação da DMF.<sup>36</sup> Desta forma, estudos de efeito agudo sobre a função vascular mostram que dietas ricas em AGMI podem não modificar ou mesmo diminuir a vasodilatação dependente do endotélio, dependendo também da composição dos outros ácidos graxos que também compõem a dieta.<sup>37</sup>

### Ácidos Graxos Poliinsaturados

Entre os principais AGPI provenientes da dieta estão os AGPI n-6, sendo seu principal representante o ácido linoléico (18:2n6), e os AGPI n-3, dentre eles: o ácido linolênico (18:3n3), os ácidos de cadeia longa eicosapentaenóico (EPA:20:5n3) e o docosahexaenóico (DHA:22:6n3), além do ácido de cadeia intermediária alfa-linolênico (ALA:18:3n3) que é convertido a EPA ou DHA. Os AGPI n-6 estão presentes em óleos vegetais líquidos, incluindo óleo de soja, milho, girassol, óleo de açafrão e óleo de semente de algodão; enquanto os óleos de linhaça e canola são ricos em AGPI n-3. O EPA e o DHA estão abundantemente presentes em peixes e mariscos, sendo que peixes como salmão, truta e arenque contêm um maior conteúdo destes AG do que os outros peixes<sup>38</sup>.

### *Ácidos Graxos Poliinsaturados n-3*

A evidência do benefício do consumo de peixe<sup>39-41</sup> e/ou da suplementação de AGPI n-3<sup>42</sup> sobre a redução do risco e da incidência de DCV em diferentes populações é bem documentada em uma série de estudos. Os efeitos cardioprotetores dos AGPI n-3 são atribuídos a uma série de mecanismos, entre eles: efeito sobre os níveis de triglicerídeos séricos, coagulação, inflamação vascular, variabilidade da frequência

cardíaca, vasodilatação dependente do endotélio, metabolismo dos eicosanóides e ainda sobre a estabilidade das placas ateroscleróticas.

Quanto à função endotelial, estudos observacionais em indivíduos saudáveis <sup>43</sup> ou em indivíduos de maior risco <sup>44</sup> demonstram claramente a associação inversa entre a ingestão de AGPI n-3 e marcadores de ativação endotelial ou de inflamação. No entanto, ainda não está claro se este efeito é diferenciado nos homens e nas mulheres, ou ainda possa variar de acordo com a origem étnica. Em um estudo transversal bem recente realizado com mais de 3045 adultos, sem história de DCV prévia, foi encontrada uma associação negativa entre o maior quartil de ingestão de peixe não-frito e o diâmetro basal da artéria braquial nos homens, quando comparados com os indivíduos no menor quartil de ingestão de peixe <sup>45</sup>. Considerando que o menor diâmetro basal da artéria braquial tem sido associado a uma menor incidência de eventos cardiovasculares, esta seria uma associação benéfica. Já nas mulheres, observou-se apenas uma associação negativa entre a maior ingestão de peixe e a DMF, sugerindo que nestas o efeito benéfico da carne de peixe sobre a função endotelial não esteja presente.

Estudos com suplementação de AGPI n-3 em diferentes doses, em indivíduos com dislipidemia <sup>1 46</sup>, DM <sup>46</sup> ou ainda com doença vascular periférica <sup>47</sup>, durante períodos variados (de 2 semanas até 8 meses), demonstram benefício sobre a concentração de moléculas de adesão solúveis no plasma, assim como sobre a vasodilatação endotélio-dependente. Também em indivíduos saudáveis, a suplementação com EPA mais DHA levaram a melhora na função endotelial estudada através da infusão de acetilcolina <sup>48</sup> ou DMF <sup>49</sup>.

Vários são os mecanismos possíveis que explicam o efeito benéfico dos AGPI n-3 sobre a função vascular. Entre eles, o aumento da fluidez da membrana das células endoteliais, aumento da atividade da enzima óxido nítrico sintase e diminuição da



resposta inflamatória, ambos através da sua incorporação na membrana celular endotelial (especialmente o DHA), e ainda através da modulação da via dos eicosanóides <sup>50</sup>. No entanto, ainda são necessários ensaios clínicos randomizados e controlados, especialmente de longo-prazo, para melhor determinar os diferentes efeitos da composição de AGPI da dieta sobre a função endotelial tanto em indivíduos saudáveis como em pacientes com complicações vasculares ou metabólicas.

### Ácidos Graxos *Trans*

A gordura *trans*, resultante da hidrogenação de óleos vegetais está presente em grandes quantidades em alimentos industrializados como margarinas, biscoitos e salgadinhos. Estudos epidemiológicos prospectivos sustentam o papel do AG *trans* como fator de risco estabelecido de DCV. A magnitude desta associação é consideravelmente mais forte do que a associação entre DCV e AGS, devido aos seus efeitos no perfil lipídico com aumento do colesterol LDL e triglicerídeos e redução do colesterol HDL <sup>51 52</sup>.

Em 2005, Oh et al <sup>13</sup> examinou a associação da gordura da dieta e incidência de doença aterosclerótica em mais de 78 mil mulheres previamente hígdas durante 20 anos. Foi encontrada uma associação positiva significativa entre ingestão de AG *trans* e risco de doença arterial coronariana, independente de outros fatores de risco tradicionais de DCV, principalmente em mulheres com menos de 65 anos. <sup>13</sup>

Evidências recentes indicam também que o AG *trans* promove a inflamação e leva à disfunção endotelial <sup>53,54</sup>. Maior ingestão do AG *trans* esteve correlacionada com vários marcadores de disfunção endotelial como moléculas de adesão-1, E-selectina e PCR em um grupo de mulheres sem DCV prévia, mesmo após ajuste dos principais fatores de risco tradicionais. Após ajuste para idade, os níveis de ICAM-1, VCAM-1 e

Selectina-E foram 10,10 e 20% maiores respectivamente comparando-se os extremos de quintis de ingestão desse tipo de gordura <sup>53</sup>.

Em estudos de intervenção, viu-se que após cinco semanas de uma dieta enriquecida com AG *trans* (8% do VCT), houve um aumento nos níveis de Selectina-E quando comparados com dietas isocalóricas enriquecidas com carboidratos, AGMI, ácido esteárico ou AGS de cadeia curta em homens previamente hígidos <sup>55</sup>. Além disso, de Ross mostrou em 2002 que o consumo de uma única refeição enriquecida com AG *trans* ou AGS teve repercussão adversa similar na DMF da artéria braquial no período pós-prandial <sup>56</sup>. Em estudo prévio de maior duração, a mesma autora demonstrou que suplementação de AG *trans* por 4 semanas (9,2% do VCT) significativamente diminuiu o colesterol HDL (21%) e a DMF da artéria braquial (29%) quando comparada a uma dieta com equivalentes calorias ricas em AGS <sup>57</sup>.

Assim, estudos observacionais e de intervenção mostram o papel determinante desse tipo de gordura tanto como promotor da inflamação como na piora da função endotelial, mesmo quando comparado com a ingestão de AGS <sup>52</sup>.

### **Considerações Finais**

Apesar de todo avanço nas propostas farmacológicas para prevenção da progressão do processo aterosclerótico cardiovascular, que tem como seu precursor a disfunção endotelial, a intervenção dietética persiste como medida primordial no manejo desta complicação. Considerações de estudos epidemiológicos e de intervenção sugerem um efeito adverso do AGS e da gordura *trans* na função endotelial, aumentando a ativação endotelial através da expressão de moléculas de adesão e diminuindo a vasodilatação dependente do endotélio. Já os AGPI n-3 tem efeito benéfico na modulação da função endotelial. O papel dos AGMI sobre a função

endotelial é ainda controverso. E, finalmente, a quantidade da gordura total por si só não parece ser tão determinante na função vascular a longo-prazo quanto a composição destas gorduras. Deve-se ressaltar que a modificação da composição de ácidos graxos da dieta implica obrigatoriamente na manipulação de mais de um componente para manter o valor energético, dificultando, portanto, a interpretação do papel de cada ácido graxo isoladamente sobre a função endotelial. Além disso, são ainda necessários ensaios clínicos randomizados, especialmente de longo-prazo, que melhor evidenciem os diferentes efeitos da composição de AG da dieta e seus mecanismos, sobre a função vascular, para que seja base de conhecimento e de construção de recomendações alimentares.

## Referências Bibliográficas

1. Goodfellow, J., Bellamy, M.F., Ramsey, M.W., Jones, C.J. & Lewis, M.J. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* **35**, 265-70 (2000).
2. Bahia, L., Aguiar, L., Villela, N., Bottino, D. & Bouskela, E. Endotélio e Aterosclerose. *Revista da SOCERJ*, **17**, 26-32. (2004).
3. Davignon, J. & Ganz, P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* **109**, III27-32 (2004).
4. Caramori, P. & Zago, A. Disfunção Endotelial e doença arterial coronariana. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* **75**, 163-172 (2000).
5. Brown, A.A. & Hu, F.B. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* **73**, 673-86 (2001).
6. Anderson, T. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in Humans. *Journal of the American College of Cardiology* **34**, 631-638 (1999).
7. Laroia, S.T., Ganti, A.K., Laroia, A.T. & Tendulkar, K.K. Endothelium and the lipid metabolism: the current understanding. *Int J Cardiol* **88**, 1-9 (2003).
8. Aguiar, L., Villela, N. & Bouskela, E. A microcirculação no Diabetes: Implicações nas complicações crônicas e tratamento da doença. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* **51**, 204-211 (2007).
9. Keogh, J.B., Grieger, J.A., Noakes, M. & Clifton, P.M. Flow-mediated dilatation is impaired by a high-saturated fat diet but not by a high-carbohydrate diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **25**, 1274-9 (2005).
10. Deanfield, J.E., Halcox, J.P. & Rabelink, T.J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* **115**, 1285-95 (2007).
11. Lichtenstein, A.H. et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation* **114**, 82-96 (2006).
12. Dyerberg, J., Bang, H.O., Stoffersen, E., Moncada, S. & Vane, J.R. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet* **2**, 117-9 (1978).
13. Oh, K., Hu, F.B., Manson, J.E., Stampfer, M.J. & Willett, W.C. Dietary fat intake and risk of coronary heart disease in women: 20 years of follow-up of the nurses' health study. *Am J Epidemiol* **161**, 672-9 (2005).
14. Howard, B.V. et al. Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Jama* **295**, 655-66 (2006).
15. de Roos, N.M., Bots, M.L., Siebelink, E., Schouten, E. & Katan, M.B. Flow-mediated vasodilation is not impaired when HDL-cholesterol is lowered by substituting carbohydrates for monounsaturated fat. *Br J Nutr* **86**, 181-8 (2001).
16. Fard, A. et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**, 2039-44 (2000).
17. Westphal, S. et al. Endothelial dysfunction induced by postprandial lipemia is neutralized by addition of proteins to the fatty meal. *Atherosclerosis* **185**, 313-9 (2006).

18. Norata, G.D. et al. Post-prandial endothelial dysfunction in hypertriglyceridemic subjects: molecular mechanisms and gene expression studies. *Atherosclerosis* **193**, 321-7 (2007).
19. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama* **285**, 2486-97 (2001).
20. Tanasescu, M., Cho, E., Manson, J.E. & Hu, F.B. Dietary fat and cholesterol and the risk of cardiovascular disease among women with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* **79**, 999-1005 (2004).
21. Mann, J. Diet and risk of coronary heart disease and type 2 diabetes. *The Lancet* **360**, 783-789 (2002).
22. Petersson, H. et al. Relationships between serum fatty acid composition and multiple markers of inflammation and endothelial function in an elderly population. *Atherosclerosis* **203**, 298-303 (2009).
23. Sarabi, M., Vessby, B., Millgard, J. & Lind, L. Endothelium-dependent vasodilation is related to the fatty acid composition of serum lipids in healthy subjects. *Atherosclerosis* **156**, 349-55 (2001).
24. Weigert, C. et al. Palmitate, but not unsaturated fatty acids, induces the expression of interleukin-6 in human myotubes through proteasome-dependent activation of nuclear factor-kappaB. *J Biol Chem* **279**, 23942-52 (2004).
25. Nicholls, S.J. et al. Consumption of saturated fat impairs the anti-inflammatory properties of high-density lipoproteins and endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **48**, 715-20 (2006).
26. Tentolouris, N. et al. Differential effects of two isoenergetic meals rich in saturated or monounsaturated fat on endothelial function in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **31**, 2276-8 (2008).
27. Anderson, R.A. et al. The relationships between post-prandial lipaemia, endothelial function and oxidative stress in healthy individuals and patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* **154**, 475-83 (2001).
28. Hu, F.B. et al. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* **337**, 1491-9 (1997).
29. Kris-Etherton, P.M., Hu, F.B., Ros, E. & Sabate, J. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. *J Nutr* **138**, 1746S-1751S (2008).
30. Fuentes, F. et al. Mediterranean and low-fat diets improve endothelial function in hypercholesterolemic men. *Ann Intern Med* **134**, 1115-9 (2001).
31. Vogel, R.A., Corretti, M.C. & Plotnick, G.D. The postprandial effect of components of the Mediterranean diet on endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **36**, 1455-60 (2000).
32. Ros, E. et al. A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects: a randomized crossover trial. *Circulation* **109**, 1609-14 (2004).
33. Cortes, B. et al. Acute effects of high-fat meals enriched with walnuts or olive oil on postprandial endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **48**, 1666-71 (2006).
34. Berry, S.E. et al. Impaired postprandial endothelial function depends on the type of fat consumed by healthy men. *J Nutr* **138**, 1910-4 (2008).
35. Ong, P.J. et al. Effect of fat and carbohydrate consumption on endothelial function. *Lancet* **354**, 2134 (1999).

36. West, S.G. et al. Acute effects of monounsaturated fatty acids with and without omega-3 fatty acids on vascular reactivity in individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia* **48**, 113-22 (2005).
37. Hall, W.L. Dietary saturated and unsaturated fats as determinants of blood pressure and vascular function. *Nutr Res Rev* **22**, 18-38 (2009).
38. UN, D. Essential fatty acids – a review. *Curr Pharm Biotechnol* **7**, 467-82 (2006).
39. Kromhout, D., Bosschieter, E.B. & de Lezenne Coulander, C. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med* **312**, 1205-9 (1985).
40. Daviglius, M.L. et al. Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. *N Engl J Med* **336**, 1046-53 (1997).
41. Hu, F.B., Cho, E., Rexrode, K.M., Albert, C.M. & Manson, J.E. Fish and long-chain omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease and total mortality in diabetic women. *Circulation* **107**, 1852-7 (2003).
42. Bucher, H.C., Hengstler, P., Schindler, C. & Meier, G. N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med* **112**, 298-304 (2002).
43. Lopez-Garcia, E. et al. Consumption of (n-3) fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial activation in women. *J Nutr* **134**, 1806-11 (2004).
44. Leeson, C., Mann, A. & Kattenhorn, M. Relationship between circulating n-3 fatty acid concentration and endothelial function in early adulthood. *Eur Heart J* **23**, 216-22 (2002).
45. Anderson, JS et al. Relation of omega-3 fatty acid and dietary fish intake with brachial artery flow-mediated vasodilation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* **92** (5), 1204-13 (2010).
46. Abe, Y. et al. Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **18**, 723-31 (1998).
47. Schiano V, L.E., Brevetti G, Maio JI de, Lanero S, Scopacasa F, Chiariello M. . Omega-3 polyunsaturated fatty acid in peripheral arterial disease: Effect on lipid pattern, disease severity, inflammation profile, and endothelial function. *Clinical Nutrition*. **27**, 241-247 (2008).
48. Khan, F. et al. The effects of dietary fatty acid supplementation on endothelial function and vascular tone in healthy subjects. *Cardiovasc Res* **59**, 955-62 (2003).
49. Shah, A.P. et al. Cardiovascular and endothelial effects of fish oil supplementation in healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* **12**, 213-9 (2007).
50. Appel, L.J. et al. Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the OmniHeart randomized trial. *Jama* **294**, 2455-64 (2005).
51. Willett, W.C. Trans fatty acids and cardiovascular disease-epidemiological data. *Atheroscler Suppl* **7**, 5-8 (2006).
52. Mozaffarian, D., Aro, A. & Willett, W.C. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *Eur J Clin Nutr* **63 Suppl 2**, S5-21 (2009).

53. Lopez-Garcia, E. et al. Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr* **135**, 562-6 (2005).
54. Mozaffarian, D., Katan, M.B., Ascherio, A., Stampfer, M.J. & Willett, W.C. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *N Engl J Med* **354**, 1601-13 (2006).
55. Baer, D.J., Judd, J.T., Clevidence, B.A. & Tracy, R.P. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr* **79**, 969-73 (2004).
56. de Roos, N.M. et al. Trans monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids have similar effects on postprandial flow-mediated vasodilation. *Eur J Clin Nutr* **56**, 674-9 (2002).
57. de Roos, N.M., Bots, M.L. & Katan, M.B. 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* **21**, 1233-7 (2001).

**Dietary Trans Fatty Acids are associated with endothelial dysfunction  
in type 2 diabetic patients, independently of other cardiovascular risk  
factors**

**Tanara Weiss <sup>1</sup>, Ana Luiza Teixeira dos Santos <sup>1</sup>, Camila Kümmel Duarte <sup>1</sup>,  
Fernanda dos Santos de Oliveira <sup>2</sup>, Jorge Luiz Gross <sup>1</sup>, Mirela Jobim de Azevedo<sup>1</sup>,  
Luis Eduardo Paim Rohde <sup>3</sup>, Themis Zelmanovitz <sup>1</sup>**

**Running head: Dietary fat and endothelial function in diabetes**

<sup>1</sup> Endocrine Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>2</sup> Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>3</sup> Cardiology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

**Address for correspondence and reprint requests:** Themis Zelmanovitz, Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350/ Prédio 12 - 4º andar CEP 90035-003 - Porto Alegre - RS, Brazil.

Phone/Fax: (55-51) 3359.8127 / 3331.3312

E-mail: [themis.voy@terra.com.br](mailto:themis.voy@terra.com.br)

**Sources of support:** FIPE- Hospital de Clínicas de Porto Alegre; CNPq; Propeq- Universidade Federal do Rio Grande do Sul



## Abstract

**Objective** – To evaluate the possible association between dietary fatty acid composition and the presence of endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients.

**Patients and Methods** – This cross-sectional study evaluated type 2 diabetic patients that were submitted to nutritional (completing three-day weighed diet records – WDR and anthropometric measures) and clinical evaluation (evaluation of metabolic and blood pressure control, detection of chronic complications of DM and cardiovascular evaluation). The presence of endothelial dysfunction was assessed by ultrasound of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation (FMD) of the brachial artery.

**Results** – Eighty-four patients were evaluated (age:  $63 \pm 9$  years; 64% male). The observed median endothelium-dependent FMD was 5.55% (1.19 – 20.10) and the mean endothelium-independent vasodilation after nitroglycerin was  $17.29 \pm 6.05\%$ . In multiple linear regression analyses, log-transformed FMD (dependent variable) were inversely associated to dietary trans fatty acids (TFA) intake ( $\beta$ -Standardized Coefficients = -0.387;  $P = 0.001$ ;  $R^2 = 0.271$ ,  $P = .001$ ), and to the presence of diabetic nephropathy ( $\beta$ -Standardized Coefficients = -0.235;  $P = 0.04$ ), adjusting to systolic blood pressure, adequacy of WDR, gender and waist circumference. In a multivariate logistic regression analysis with lower FMD (median FMD < [5.55 %]) as a dependent variable, dietary TFA intake (OR = 7.89; 95% CI: 1.85 to 33.7;  $P = 0.005$ ) and presence of diabetic nephropathy (OR = 4.77; 95% CI: 1.37 to 16.6;  $P = 0.014$ ) were positively associated with lower FMD, adjusted for waist circumference, adequacy of WDR, gender and systolic blood pressure.

**Conclusion**– In patients with type 2 diabetes, a higher intake of TFA is inversely associated with endothelial function assessed by ultrasound of the brachial artery, independently of other cardiovascular risk factors.

## **Introduction**

Atherosclerotic coronary artery disease is a major cause of morbidity and mortality in patients with diabetes mellitus<sup>1</sup>. Patients with type 2 diabetes have a two to three times greater incidence of cardiovascular disease (CVD), and macrovascular complications are twice as frequent as microvascular complications in these patients<sup>2,3</sup>. Coronary artery disease occurs more frequently and more severely in patients with diabetes compared to non-diabetic patients<sup>3</sup>. This condition is largely explained by the higher prevalence of traditional risk factors among patients with diabetes, including obesity, dyslipidemia and hypertension<sup>4</sup>.

Atherosclerosis may be regarded as the long-term consequence of a chronic inflammatory condition of large arteries, in which endothelial dysfunction plays a key role<sup>5</sup>. Endothelial dysfunction is characterized by the presence of increased permeation of macromolecules, increased or decreased production of vasoactive factors producing vasoconstriction/vasodilatation, and by increased prothrombotic and/or procoagulant activity, but also by blunting of the vasodilatory response to acetylcholine or hyperemia, which are known causative factors of nitric oxide-dependent vasodilation<sup>6</sup>. Flow-mediated vasodilation (FMD) of the brachial artery is considered one of the most reliable assessments of endothelium-dependent vasodilation and also a surrogate measure of nitric oxide production<sup>7</sup>.

There has been a growing interest in the role of nutritional factors, especially the fatty acids (FA) intake, in modulating endothelial function<sup>8</sup>. In particular,  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) appear to have beneficial effects on vascular endothelial function, either by decreasing endothelial activation or by improving endothelium-dependent vasodilation in patients at high risk of CVD as well as in healthy subjects<sup>9</sup>. Otherwise, the effect of dietary trans fatty acids (TFA) and saturated

fatty acids (SFA) on markers of inflammation have been implicated in increasing the risk of CVD and endothelial dysfunction in non-diabetic patients <sup>10</sup>.

FA composition in the diet has been associated both with the development of type 2 diabetes <sup>11</sup> and with its chronic macrovascular complications <sup>12,13</sup>. Most of the studies that analyzed the association between FA composition of diet and vascular function in diabetic patients, evaluated only their acute effects on endothelial function <sup>14,15</sup>. We demonstrated previously that, in type 2 diabetes patients, the serum FA composition was independently related to endothelial function evaluated by serum endothelin-1 (ET-1). SFA were associated with endothelial dysfunction (high levels of ET-1), whereas PUFA had a protective role in endothelial function <sup>16</sup>. Therefore, this study was conducted to evaluate the possible association between dietary FA composition and endothelial dysfunction assessed by ultrasound of endothelial-dependent FMD of the brachial artery.

## **Research design and methods**

### **Patients**

Patients with type 2 diabetes (World Health Organization criteria) <sup>17</sup> attending the Endocrine Division's outpatient clinic at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil, were consecutively recruited based on the following criteria: non-smokers, body mass index (BMI) < 40 kg/m<sup>2</sup>, triglycerides levels <400 mg/dl, serum creatinine < 1.5 mg/dl and normal liver and thyroid function. Exclusion criteria were the presence of heart failure (class III or IV), an acute cardiovascular event in the preceding 6 months, uncontrolled blood pressure, use of phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction, presence of other renal disease except diabetic nephropathy and severe autonomic neuropathy. Treatment with antihypertensive and oral antidiabetic agents

was maintained during the study. Hypolipidemic agents were temporarily discontinued six weeks before, when possible. This study followed a cross-sectional trial design. The local Ethics Committee approved the protocol, and patients gave their written informed consent.

## **Methods**

### Clinical evaluation

Eligible patients entered a run-in period, during which they underwent a clinical and laboratory evaluation. The clinical evaluation consisted of blood pressure assessment, renal and cardiovascular evaluation. During the run-in period, if necessary, changes in medication were prescribed to obtain a good glycemic and blood pressure control as best as possible. Thereafter, participants were instructed to maintain their medications and usual physical activities and not to make any marked changes in lifestyle throughout the study period.

Sitting blood pressure was measured twice to the nearest 2 mm Hg after a 10-min rest by using a digital sphygmomanometer (OMRON<sup>®</sup> Automatic Blood Pressure Monitor, Model HEM-705CP, Vernon Hills, Illinois 60061), to evaluate blood pressure control. Hypertension was defined as blood pressure  $\geq 140/90$  mmHg on at least 2 separate occasions or use of antihypertensive drugs<sup>18</sup>. Renal function was evaluated by serum creatinine and 24-h urinary albumin excretion (UAE)<sup>19</sup>. Microalbuminuria and macroalbuminuria were considered to be present when urinary albumin excretion was 30 and 300 mg and  $\geq 300$  mg, respectively, at least twice in a 6-month period<sup>20,21</sup>. Cardiovascular evaluation consisted of applying the World Health Organization cardiovascular questionnaire and resting electrocardiogram<sup>22</sup>. Exercise electrocardiogram testing or radionuclide myocardial perfusion imaging (exercise or pharmacological – dipyridamol) were done, when indicated, to evaluate the presence of

myocardial ischemia<sup>23</sup>. Peripheral vascular disease was evaluated through questions about the presence of intermittent claudication and/or absence of posterior tibial pulse. The presence of diabetic retinopathy was evaluated by direct funduscopy with mydriasis and the patient was classified as: normal funduscopy, non-proliferative diabetic retinopathy and proliferative diabetic retinopathy<sup>24</sup>.

Physical activity was evaluated applying a standard questionnaire according to Tuomilehto et al<sup>25</sup>. A patient was considered sedentary when his habitual daily activities corresponded to level 1 of the questionnaire to evaluate the proposed physical activity. Level 2 corresponded to mild activity, level 3 to active individuals and level 4 to very active individuals.

#### Endothelial function assessment

Patients underwent assessment of endothelium-dependent FMD, according to *Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of the Brachial Artery*<sup>26</sup>. Patients were advised to not exercise or ingest substances that might affect FMD such as caffeine and vitamin C, and after an overnight fast, subjects were kept quiet for 5 minutes before FMD measurement. Ultrasound systems were equipped with vascular software for two-dimensional imaging, color and spectral Doppler and an internal electrocardiogram monitor, image resolution was enhanced with a broad-band (multiple-frequency: 7 to 12 MHz) linear array transducer. The brachial artery was imaged above the antecubital fossa in the longitudinal plane. To create a flow stimulus in the brachial artery, a sphygmomanometric (blood pressure) cuff was first placed either above the antecubital fossa or on the forearm. A baseline rest image was acquired; thereafter, arterial occlusion was created by cuff inflation to suprasystolic pressure. Typically, the cuff is inflated to at least 200 mm Hg for 5 minutes to occlude arterial inflow for a standardized length of time. This causes

ischemia and consequent dilation of downstream resistance vessels via autoregulatory mechanisms. Subsequent cuff deflation induces a brief high-flow state through the brachial artery (reactive hyperemia) to accommodate the dilated resistance vessels. The resulting increase in shear stress causes the brachial artery to dilate. The longitudinal image of the artery was recorded continuously from 30 s before to 2 min after cuff deflation. At least 10 min of rest were needed after reactive hyperemia before another image was acquired to reflect the reestablished baseline conditions. An exogenous nitric oxide donor, such as a single high dose (0.4 mg) of nitroglycerin spray had been given to determine the maximum obtainable vasodilator response, and to serve as a measure of endothelium-independent vasodilation reflecting vascular smooth muscle function. Peak vasodilation occurs 3 to 4 min after nitroglycerin administration.

In order to determine intraobserver variability of FMD, we recruited 9 otherwise healthy adults (4 men). Each participant was tested after a 12-h fast on three occasions, separated by 1 week. Because hormonal fluctuations across the menstrual cycle affect endothelial function, the women were examined during the early follicular phase of three consecutive menstrual cycles. The coefficient of variation of FMD measurements was  $4 \pm 1 \%$ .

#### Nutritional Assessment

The nutritional evaluation consisted of performing anthropometric measures and completing the weighed diet records (WDR). The anthropometric measures comprised weight (in light clothes and without shoes), height and waist circumference (measured at the mid-point between the last rib and the iliac crest); an anthropometric scale and flexible nonstretch fiberglass tape being used for this <sup>27</sup>.

The patients were instructed to perform a 3-day WDR, as previously reported <sup>28</sup>. Briefly, the patient's usual diet was assessed on 2 nonconsecutive week days and 1

weekend day. Patients were issued commercial scales (1-125 g) and measuring cups (25-250 mL), and a detailed explanation and demonstration were given to each subject. Compliance with the weight record technique, besides an interview with the nutritionist, was confirmed by comparison of daily protein intake estimated from the 3-day WDR and from 24-h urinary urea. The protein intake estimated by 24-h urinary urea was calculated by using the following formula: Protein intake (g/d) = nitrogen intake x 6.25. The nitrogen intake was estimated by urinary urea nitrogen (=urinary urea / 2) + nonurea nitrogen (= 0.031g/kg current weight), assuming that patients were in nitrogen balance<sup>29</sup>. The urine collections were considered adequate when the value of urinary creatinine was: in women, 700 to 1500 mg/24 hours and in men, 1000 to 1800 mg /24 hours<sup>21</sup>.

Foods consumed in the 3-day WDR were analyzed using Nutribase 2007 Clinical Nutritional Manager software (version 7.14-Cybersoft Phoenix, AZ). The main dietary nutrients were analyzed. The mean values of each nutrient consumed during the three days of WDR were calculated. Nutrient data on frequently consumed foods were updated if necessary<sup>30</sup>. Diet composition was expressed as a percentage of total daily energy for macronutrients or as an absolute amount. Alcohol intake was assessed by a semi-quantitative dietary frequency questionnaire.

#### Laboratory measurements

Blood samples were collected after a 12-hour overnight fast. Glycemic control was evaluated through plasma glucose (glucose-peroxidase colorimetric enzymatic method – Biodiagnostica kit)<sup>31</sup> and glycated hemoglobin (by ion-exchange high-performance liquid chromatography; in a Merck-Hitachi L-9100 glycated hemoglobin analyzer; reference range: 4.7%-6.0%; Merck, Darmstadt, Germany)<sup>32</sup>. The lipid profile consisted of the measurement of total cholesterol (TC)<sup>33</sup> and triglycerides (TG)

<sup>34</sup> using a colorimetric method, and *High-density lipoprotein* (HDL) cholesterol using the direct enzymatic method. *Low-density lipoprotein* (LDL) cholesterol was calculated using the Friedewald formula <sup>35</sup> ( $LDL = TC - HDL - TG/5$ ). Serum creatinine was measured by the Jaffé method <sup>36</sup> and urea by the kinetic method U.V.<sup>37</sup>. Urinary albumin was measured in 24-hour timed sterile urine samples by immunoturbidimetry (Sera-Pak immunomicroalbuminuria; Bayer, Tarrytown, NY).

For the measurement of plasma ET-1, venous blood (5 mL) was drawn and put into a refrigerated tube containing EDTA. Serum and plasma were separated after centrifugation at 1500g and 4°C for 15 minutes, and stored at -80°C for later measurements. ET-1 was measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a commercial kit (R&D Systems, Minneapolis, MN). Fibrinogen was measured by a coagulometric method (STA Compact, Cedex, France) and serum C-reactive protein (CRP) by nephelometry (reference range, 1-4 mg/L).

#### Statistical analysis

Pearson or Spearman correlation coefficients were used for testing the relationships between the FMD and clinical, laboratory and dietary intake characteristics. Multiple linear regression models were carried out to test the association of FMD (dependent variable) and factors with possible biological relevance or significance at univariate analysis. All independent variables selected were added in a single step. Different selected dietary fatty acids were included as independent variables in each model, one at a time.

Because of the lack of a well established cutoff point of FMD to define endothelial dysfunction in diabetic individuals, the patients were stratified according to the median FMD in the present sample. The Student t or Mann-Whitney test for independent continuous variables and the Exact Fisher or Chi-Square test for categorical



variables were applied as indicated. Factors associated with endothelial dysfunction were assessed using multivariate logistic regression models, and results were described using odds ratios (OR) and their 95% confidence interval (CI).

Variables with non-Gaussian distribution (FMD, plasma TG, CRP and UAE) were log transformed before analysis. *P* values < 0.05 were considered significant. Results were expressed as mean  $\pm$  SD or median (range). SPSS software (version 16.0; SPSS, Chicago, IL) was used for the analyses.

As the intra-individual variability of lipid intake may influence both the interpretation of the patients' information from dietary assessment methods and the association of nutrients with chronic diseases<sup>38</sup>, the intra-individual coefficients of variation of dietary fatty acid proportions were calculated using the data of each day of the 3-day WDR. All of the analyses were adjusted to this variable.

## **Results**

### Patients

Eighty-nine patients were eligible for the study. Four patients were excluded because of technical difficulties and one because of non-acceptance to submit to ultrasound exam. Thus, eighty-four patients (54% male) were included in the study and performed the clinical, endothelial and nutritional evaluation. The mean age of the patients was  $63 \pm 9$  years, the mean duration of diabetes was  $17 \pm 8$  years and the mean BMI was  $29.1 \pm 4.1$  kg/m<sup>2</sup>. Seventy-one (84.5%) subjects had hypertension and 32 (38.1%) subjects had diabetic nephropathy. All participants were nonsmokers. Regarding the presence of macrovascular disease, 23 (27.4%) patients had coronary heart disease, 10 (11.9%) had a history of stroke or transitory ischemic attack and 3 (3.6%) subjects had peripheral vascular disease. In endothelial function assessment, the

observed median endothelium-dependent FMD was 5.55% (1.19 – 20.10) and the mean endothelium-independent vasodilation after nitroglycerin spray was  $17.29 \pm 6.05\%$ .

When the patients were separated according to the median of FMD (group with lower FMD [ $<5.55\%$ ] and group with higher FMD [ $\geq 5.55\%$ ]), no difference was observed in relation to gender, age, duration of diabetes, presence of hypertension and macrovascular disease (Table 1). The group with higher FMD presented a lower proportion of patients with diabetic nephropathy, when compared with the group with lower FMD, but did not reach statistical significance. However, when the patients with normo-, micro- and macroalbuminuria were separately analyzed, the proportion of patients with lower FMD in these groups was 37.3%, 65.4% and 83.3%, respectively (p for trend=0.04). Furthermore, UAE values were significantly higher in patients with lower FMD as expected. Systolic blood pressure (SBP) values were lower in the patients with higher FMD, but not the diastolic blood pressure (DBP) values. When the patients were separated by gender, the waist circumference was higher in men with lower FMD, but not in women. Regarding the presence of metabolic syndrome<sup>39</sup>, the prevalence was 83.3% in the patients with lower values of FMD and 71.4% in patients with higher FMD, but did not reach statistical significance (p=0.297).

In relation to angiotensin-convertin enzyme inhibitor drugs, statin and acetylsalicylic acid use and type of treatment for diabetes (oral antidiabetic agents alone, insulin alone or both), no difference was observed between the patients with higher and lower FMD. Also, no difference was observed in the proportion of sedentary patients between the groups (41.5% vs. 60% in the group with lower and higher FMD, respectively; p=0.121).

Regarding laboratory characteristics, the group with lower FMD presented higher values of plasma triglycerides, but did not reach statistical significance

( $P=0.052$ ). No difference was observed between the groups in relation to glucose control, total, HDL and LDL cholesterol. In relation to inflammatory and endothelial function markers, the plasma level of ET-1 and fibrinogen were similar in the groups. CRP values were significantly higher in patients with lower FMD.

#### Patients' diet characteristics

The mean daily dietary intake of the patients assessed by 3-day WDR was as follows: total energy =  $1803 \pm 448$  kcal, carbohydrates =  $46 \pm 7\%$ , proteins =  $20 \pm 5\%$  and lipids =  $35 \pm 7\%$ , which is comprised of  $10 \pm 2\%$  of SFA,  $12 \pm 3\%$  of monounsaturated fatty acids (MUFA) and  $10 \pm 4\%$  of PUFA. The intake of TFA was  $1.0 \pm 0.5\%$ , the cholesterol content was  $208 \pm 90$  mg/day and polyunsaturated/saturated ratio (P/S) was  $1.04 \pm 0.48$ .

When diet characteristics of patients with higher and lower FMD were compared, no difference was observed between the groups, except energy and TFA content. The patients with lower FMD had a higher daily energy intake, as with the TFA content (Table 2).

Regarding compliance with the weight record technique, there was no difference in the proportion of plausible reporting WDR (defined as a ratio of protein intake estimated from the 3-day WDR to protein intake estimated by 24-h urinary urea from 0.79 to 1.26) between the groups with higher and lower FMD (64.3% vs. 71.4%;  $p = 0.320$ ).

#### Associations between FMD and clinical and nutritional characteristics

In the analyses of correlation coefficients between FMD and clinical variables, waist circumference in men and SBP in all patients were negatively associated with FMD. In relation to laboratory measurements, serum HDL cholesterol was positively

correlated with FMD, while serum triglycerides and UAE were negatively correlated with FMD. As expected, CRP values were also negatively correlated with FMD (Table 3).

When dietary characteristics were analyzed, the TFA content was negatively correlated with FMD (Table 3 and Figure 1). No correlation was observed between FMD and the intake of other nutrients. When the correlation coefficients between FMD and dietary FA intake (SFA, PUFA and MUFA) as well as P/S ratio were analyzed adjusted to intra-individual coefficients of variation of each FA intake, the results were similar.

Multiple linear regression analyses were performed with log-transformed FMD as the dependent variable and dietary TFA intake, SBP, presence of diabetic nephropathy, adequacy of WDR, gender and waist circumference as independent variables. The dietary TFA intake remained significantly associated with FMD ( $\beta$  -Standardized Coefficients = -0.387;  $P = 0.001$ ;  $R^2 = 0.271$ ,  $P = .001$ ), and also the presence of diabetic nephropathy ( $\beta$  -Standardized Coefficients = -0.235;  $P = 0.04$ ). Another model was constructed with log-transformed FMD as the dependent variable, and with dietary TFA intake, HDL cholesterol, UAE, triglycerides, and waist circumference as independent variables. Only dietary TFA intake remained significantly associated with FMD ( $\beta$  -Standardized Coefficients = -0.360;  $P = 0.002$ ;  $R^2 = 0.208$ ,  $P = 0.006$ ).

Factors associated with lower FMD ( $\leq 5.55\%$ ) were also evaluated using a multivariate logistic regression model. Dietary TFA intake (OR = 7.89; 95% CI: 1.85 to 33.7;  $P = 0.005$ ) and presence of diabetic nephropathy (OR = 4.77; 95% CI: 1.37 to 16.6;  $P = 0.014$ ) were positively associated with lower FMD, adjusted for waist circumference (OR = 1.02; 95% CI: 0.96 to 1.08;  $P = 0.609$ ), adequacy of WDR (OR =

0.68; 95% CI: 0.20 to 2.3;  $P = 0.542$ ), gender (OR = 0.70; 95% CI: 0.22 to 2.24;  $P = 0.55$ ), and SBP (OR = 1.04; 95% CI: 0.99 to 1.08;  $P = 0.07$ ).

## **Discussion**

In the present study, dietary TFA intake was negatively associated with FMD in type 2 diabetic patients. It was observed that the increase of 1% of TFA content of daily diet's energy would increase almost 8 times the risk to present a lower FMD, which was defined as a value lower than the median of this sample of patients (5.55%). This association was present even after adjustment to many other variables that classically could influence the presence of endothelial dysfunction. Very few studies have analyzed the association of dietary FA and endothelial function in patients with diabetes and, as far as we know, there are no data about the association of TFA intake and endothelial dysfunction in these patients.

These observations are in agreement with several studies that were done with individual without diabetes, that suggest that TFA intake could adversely affect endothelial function. Lopez-Garcia observed that, after adjustment for other risk factors, higher TFA intake was associated with increased levels of several markers of endothelial dysfunction, including soluble intercellular adhesion molecule 1, soluble vascular-cell adhesion molecule 1, and E-selectin in apparently healthy women<sup>8</sup>. In another trial, consumption of TFA impaired FMD of the brachial artery by 29 percent, after replacement of dietary SFA by TFA in 29 volunteers after 4 weeks<sup>40</sup>. However, the same author found, one year latter, that FMD was not impaired and not different after test meals with SFA or TFA in postprandial measurements that were done 3 hours after the end of the test meal. The authors suggest that the impairment of FMD after 4

weeks consumption of a diet rich in TFA would be mediated by a decrease in the HDL-cholesterol <sup>41</sup>.

On the other hand, in the present study, the association between TFA intake and endothelial dysfunction was also present independently of lipid profile, i.e., even after adjustment to plasma triglycerides and HDL cholesterol. This observations could partially explain why the positive relation between TFA intake and cardiovascular risk is greater than could be predicted based solely on its adverse effects on lipids.

As to SFA intake, the present study did not demonstrate an association with impaired endothelial function. Some studies with non-diabetic or diabetic patients had shown an association of SFA intake and deterioration of endothelial function; however, these studies analyzed only the acute effects of this FA intake <sup>15,42</sup> or analyzed the short-term effects of SFA intake in substitution with other nutrients, such as MUFA, PUFA or carbohydrates <sup>43</sup>. Furthermore, in cross-sectional studies with non-diabetic patients, a relationship between endothelial dysfunction and serum SFA proportions was also observed, the latter being adopted as a biomarker of SFA intake <sup>44,45</sup>. This finding is in agreement with a previous study performed by our group with type 2 diabetes patients. Perassolo et al observed a positive correlation between serum SFA and serum levels of ET-1, a marker of endothelial dysfunction <sup>16</sup>, even after adjustment for traditional risk factors. However, these studies also have some methodological aspects that differ from the present one and might explain the discrepancy between the findings. First, in these studies the endothelial function was evaluated by different techniques (CRP, plethysmography or ET-1) and, second, the FA intake was analyzed through the measurement of serum FA composition as a biomarker. Even if the correlation analyses between the dietary FA compositions and FMD are adjusted to the intra-individual coefficient of variation of each FA, it is known that the dietary assessment tools are

subject to reporting biases that can underestimate the associations between nutrients and diseases.

The present study also did not demonstrate an association between MUFA and endothelial function, that is in agreement with other studies on diabetic patients, both analyzing the acute effects of high-MUFA diets <sup>14</sup> and analyzing the association of serum FA composition with ET-1 in a cross-sectional design <sup>16</sup>

Finally, the present study also did not demonstrate an association between dietary PUFA content and FMD in type 2 diabetes patients. Some cross-sectional <sup>46,47</sup> and interventional studies <sup>5,48</sup>, the latter with long-chain PUFA (eicosapentaenoic acid - EPA plus docosahexaenoic acid -DHA) supplementation, all conducted with non-diabetic individuals, had shown beneficial effects of these FA on endothelial function. However, again, some of them were done measuring serum FA composition, or, in the case of interventional studies, the PUFA intake was much higher than in the present study. Actually, our population has a low intake of PUFA, especially n-3 PUFA, because of the low intake of marine sources, and this can underestimate a possible association. In the study of Perassolo et al <sup>16</sup>, an association was observed between serum linoleic acid, the principal component of serum PUFA, and ET-1. However in this study, dietary FA composition was not analyzed.

Otherwise, On the other hand, recently, in 3045 adults free of cardiovascular disease, Anderson et al <sup>49</sup> investigated an association of brachial artery measures with fish intake, ascertained with a food-frequency questionnaire, and plasma phospholipid omega-3 concentrations, and observed different results. When the patients were stratified by sex, there was an association between the highest quartile of non-fried fish consumption and a 0.10-mm lower brachial artery diameter in men, suggesting a beneficial effect of fish intake. But in women, only an inverse association between the

highest quartile of non-fried fish consumption and FMD was observed, signifying a harmful effect on endothelial function. These observations advocate that the effects of dietary PUFA content on endothelial function might be diverse between the sexes.

In addition, we observed that UAE values were significantly higher in patients with lower FMD as expected, since microalbuminuria reflects subclinical vascular damage in the kidney and may also mean systemic endothelial dysfunction that in itself predisposes to cardiovascular events<sup>50</sup>.

One advantage of the present study was to evaluate endothelial function by ultrasound assessment of FMD. Several studies suggest that the presence of endothelial dysfunction in the coronary circulation is an independent predictor of cardiovascular disease events<sup>26</sup>. Anderson et al showed that brachial vasodilator response to reactive hyperemia assessed by an ultrasound technique is closely related to the coronary vasodilator response to acetylcholine<sup>51</sup>. FMD is currently the standard for noninvasive assessment of conduit artery endothelial function because there is considerable clinical trial experience, validation, a firm link to biology, and association with cardiovascular events<sup>52</sup>.

Studies examining the effect of dietary nutrients on endothelial function are clinically relevant in subjects with type 2 diabetes, who are especially vulnerable to cardiovascular complications. A potential limitation to be considered in the present study was that no biological marker of dietary FA intake was used, such as the measurement of serum FA composition, already validated in patients with type 2 diabetes<sup>53</sup>. The use of biological markers can offer more precise information concerning the food records and reinforce the association between the composition of the dietary FA and a given disease<sup>54</sup>. Another limitation is that it is a cross-sectional study that provides the description of the association between the dietary FA



composition and endothelial function and does not establish a cause and effect relationship between these variables. Finally, maybe the sample size could be prevented from finding an association between other nutrients and endothelial dysfunction.

In conclusion, in type 2 diabetes patients, the dietary TFA intake was independently related to endothelial dysfunction evaluated by ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery; but because of the cross-sectional design of this study, it is not possible to conclude that TFA regulate endothelial function. Future studies also analyzing serum FA composition as a biomarker of dietary FA and randomized clinical trials with interventions in these nutrients may support these observations.

## References

1. Thom, T. et al. Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* **113**, e85-151 (2006).
2. Juutilainen, A., Lehto, S., Ronnema, T., Pyorala, K. & Laakso, M. Type 2 diabetes as a "coronary heart disease equivalent": an 18-year prospective population-based study in Finnish subjects. *Diabetes Care* **28**, 2901-7 (2005).
3. Bloomgarden, Z.T. Cardiovascular disease and diabetes. *Diabetes Care* **26**, 230-7 (2003).
4. Cernea, S., Hâncu, N. & Raz, I. Diet and coronary heart disease in diabetes. *Acta Diabetol* **40**, S389-S400 (2003).
5. Goodfellow, J., Bellamy, M.F., Ramsey, M.W., Jones, C.J. & Lewis, M.J. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* **35**, 265-70 (2000).
6. Calles-Escandon, J. & Cipolla, M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev* **22**, 36-52 (2001).
7. Hall, W.L. Dietary saturated and unsaturated fats as determinants of blood pressure and vascular function. *Nutr Res Rev* **22**, 18-38 (2009).
8. Lopez-Garcia, E. et al. Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr* **135**, 562-6 (2005).
9. Brown, A.A. & Hu, F.B. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* **73**, 673-86 (2001).
10. Baer, D.J., Judd, J.T., Clevidence, B.A. & Tracy, R.P. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr* **79**, 969-73 (2004).
11. Nettleton, J.A. & Katz, R. n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review. *J Am Diet Assoc* **105**, 428-40 (2005).
12. Soinio, M., Laakso, M., Lehto, S., Hakala, P. & Ronnema, T. Dietary fat predicts coronary heart disease events in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **26**, 619-24 (2003).
13. Bantle, J.P. et al. Nutrition recommendations and interventions for diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* **31 Suppl 1**, S61-78 (2008).
14. West, S.G. et al. Acute effects of monounsaturated fatty acids with and without omega-3 fatty acids on vascular reactivity in individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia* **48**, 113-22 (2005).
15. Tentolouris, N. et al. Differential effects of two isoenergetic meals rich in saturated or monounsaturated fat on endothelial function in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **31**, 2276-8 (2008).
16. Perassolo, M.S. et al. Endothelial dysfunction and serum fatty acid composition in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* **57**, 1167-72 (2008).
17. Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* **727**, 1-113 (1985).
18. Chobanian, A.V. et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Jama* **289**, 2560-72 (2003).

19. Gross, J.L., Zelmanovitz, T., Oliveira, J. & de Azevedo, M.J. Screening for diabetic nephropathy: is measurement of urinary albumin-to-creatinine ratio worthwhile? *Diabetes Care* **22**, 1599-600 (1999).
20. Zelmanovitz, T. et al. The receiver operating characteristics curve in the evaluation of a random urine specimen as a screening test for diabetic nephropathy. *Diabetes Care* **20**, 516-9 (1997).
21. Molitch, M.E. et al. Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care* **27 Suppl 1**, S79-83 (2004).
22. Rose GA, B.H., Gillum RF, Pirineas RJ. Cardiovascular survey methods. *WHO Monograph Series* **56**, 123-65 (1982).
23. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care* **33 Suppl 1**, S11-61.
24. Fong, D.S. et al. Retinopathy in diabetes. *Diabetes Care* **27 Suppl 1**, S84-7 (2004).
25. Tuomilehto, J. et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* **344**, 1343-50 (2001).
26. Corretti, M.C. et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* **39**, 257-65 (2002).
27. Gibson, R.S. *Anthropometric assessment of growth*, 195.
28. Moulin, C.C. et al. Use of weighed diet records in the evaluation of diets with different protein contents in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* **67**, 853-7 (1998).
29. Maroni, B.J., Steinman, T.I. & Mitch, W.E. A method for estimating nitrogen intake of patients with chronic renal failure. *Kidney Int* **27**, 58-65 (1985).
30. US Department of Agriculture Nutrient Data Base for Standard Reference. USDA Handbook No. 8 edn Vol. release 14 (ed. US Department of Agriculture, A.R.S.) (US Department of Agriculture, Agriculture Research Service, 2001).
31. Trindler, P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a noncarcinogenic chromogen. *J Clin Path* **22**, 158-61 (1969).
32. Camargo, J.L., Zelmanovitz, T., Paggi, A., Friedman, R. & Gross, J.L. Accuracy of conversion formulae for estimation of glycohaemoglobin. *Scand J Clin Lab Invest* **58**, 521-8 (1998).
33. Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.S., Richmond, W. & Fu, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* **20**, 470-5 (1974).
34. McGowan, M., Artiss, J., Strandbergh, D. & Zak, B. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem* **29**, 538-542 (1983).
35. Friedewald, W., Levy, R. & Fredrickson, D. Estimation of the concentration of Low-density Lipoprotein Cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* **18**, 499-502 (1972).
36. Fabiny, D. & Ertingshausen, G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the centrifichem. *Clin Chem* **17**, 696-704 (1971).
37. Talk, H. & Shubert, G. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serum in optischen test nach warburg. *Klin Wschr* **43**, 174-5 (1965).
38. Willet, W. *Nature of variation in diet.* , 33-49 (Oxford University Press. , New York, 1998).

39. Alberti, K.G. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* **120**, 1640-5 (2009).
40. de Roos, N.M., Bots, M.L. & Katan, M.B. 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* **21**, 1233-7 (2001).
41. de Roos, N.M. et al. Trans monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids have similar effects on postprandial flow-mediated vasodilation. *Eur J Clin Nutr* **56**, 674-9 (2002).
42. Nicholls, S.J. et al. Consumption of saturated fat impairs the anti-inflammatory properties of high-density lipoproteins and endothelial function. *J Am Coll Cardiol* **48**, 715-20 (2006).
43. Keogh, J.B., Grieger, J.A., Noakes, M. & Clifton, P.M. Flow-mediated dilatation is impaired by a high-saturated fat diet but not by a high-carbohydrate diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **25**, 1274-9 (2005).
44. Petersson, H. et al. Relationships between serum fatty acid composition and multiple markers of inflammation and endothelial function in an elderly population. *Atherosclerosis* **203**, 298-303 (2009).
45. Sarabi, M., Vessby, B., Millgard, J. & Lind, L. Endothelium-dependent vasodilation is related to the fatty acid composition of serum lipids in healthy subjects. *Atherosclerosis* **156**, 349-55 (2001).
46. Leeson, C., Mann, A. & Kattenhorn, M. Relationship between circulating *n-3* fatty acid concentration and endothelial function in early adulthood. *Eur Heart J* **23**, 216-22 (2002).
47. Lopez-Garcia, E. et al. Consumption of (n-3) fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial activation in women. *J Nutr* **134**, 1806-11 (2004).
48. Khan, F. et al. The effects of dietary fatty acid supplementation on endothelial function and vascular tone in healthy subjects. *Cardiovasc Res* **59**, 955-62 (2003).
49. Anderson, JS et al. Relation of omega-3 fatty acid and dietary fish intake with brachial artery flow-mediated vasodilation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* **92** (5), 1204-13 (2010).
50. Weir, M.R. Microalbuminuria and cardiovascular disease. *Clin J Am Soc Nephrol* **2**, 581-90 (2007).
51. Anderson, T.J. et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* **26**, 1235-41 (1995).
52. Deanfield, J.E., Halcox, J.P. & Rabelink, T.J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* **115**, 1285-95 (2007).
53. Zelmanovitz, T. et al. Fatty Acids Composition of Serum Lipids as Biological Marker of Fat Intake in Patients with Type 2 Diabetes. in *American Diabetes Association, 68th Scientific Sessions* Vol. Abstract Number: 356-OR (2008).
54. Potischman, N. Biologic and methodologic issues for nutritional biomarkers. *J Nutr* **133 Suppl 3**, 875S-880S (2003).

**Table 1.** Clinical and laboratory characteristics of patients with type 2 diabetes divided according to median flow-mediated vasodilation (FMD) in ultrasound assessment of the brachial artery.

	<b>FMD <math>\geq</math> 5.55 (n=42)</b>	<b>FMD <math>&lt;</math> 5.55 (n=42)</b>	<b>p</b>
<b>Gender (% male)</b>	45.2	61.9	0.095
<b>Age (years)</b>	62 $\pm$ 9	65 $\pm$ 8	0.162
<b>Duration of diabetes (years)</b>	18 $\pm$ 9	16 $\pm$ 7	0.529
<b>Hypertension (%)</b>	81	88	0.55
<b>Diabetic Nephropathy (n [%])</b>	23.8	53.7	0.07
<b>Macrovascular disease (%)</b>	28.6	50	0.073
<b>Statin use (%)</b>	42.9	50	0.662
<b>Acetylsalicylic acid use (%)</b>	73.8	90.5	0.085
<b>SBP(mmHg)</b>	136 $\pm$ 14	145 $\pm$ 15	0.005
<b>DBP (mmHg)</b>	78 $\pm$ 9	77 $\pm$ 8	0.627
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	29.1 $\pm$ 4.5	28.9 $\pm$ 3.8	0.083
<b>Waist Circumference (cm)</b>			
<b>Men</b>	100 $\pm$ 7	106 $\pm$ 8	0.032
<b>Women</b>	99 $\pm$ 13	98 $\pm$ 8	0.720
<b>Laboratory Measurements</b>			
<b>Fasting Plasma Glucose (mg/dL)</b>	146 $\pm$ 54	160 $\pm$ 62	0.255
<b>A1c test (%)</b>	8.1 $\pm$ 1.6	8.0 $\pm$ 1.6	0.832
<b>Total Cholesterol (mg/dL)</b>	189 $\pm$ 50	187 $\pm$ 48	0.824
<b>HDL Cholesterol (mg/dL)</b>	54 $\pm$ 14	49 $\pm$ 13	0.128
<b>LDL Cholesterol (mg/dL)</b>	109 $\pm$ 41	101 $\pm$ 43	0.366
<b>Triglycerides (mg/dL)</b>	99 (46 – 302)	163 (42 – 508)	0.052
<b>Endothelin-1 (pg/ml)</b>	1.1 $\pm$ 0.37	1.2 $\pm$ 0.4	0.370
<b>Fibrinogen (mg/dl)</b>	439.7 $\pm$ 101	414.8 $\pm$ 89.4	0.241
<b>CRP (mg/L)</b>	1.4 (0.2-8.6)	2.6 (0.4-9.86)	0.016
<b>UAE</b>	7.8 (0 – 315)	21.8 (0 – 1590)	0.012

FMD: flow-mediated vasodilation; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure; BMI: body mass index; A1c test: glycated hemoglobin; CRP: C-reactive protein; UAE: urinary albumin excretion

**Table 2.** Dietary intake characteristics of patients with type 2 diabetes divided according to median flow-mediated vasodilation (FMD) in ultrasound assessment of the brachial artery.

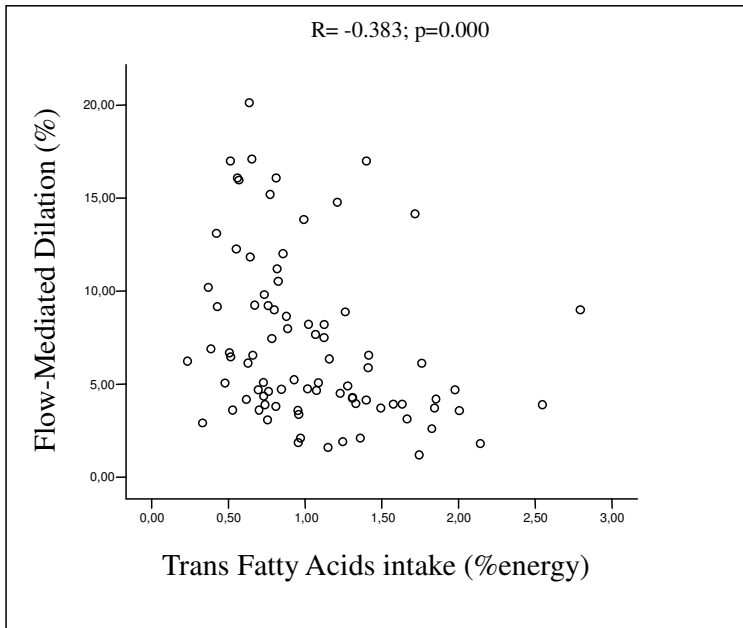
<b>Dietary Intake</b>	<b>FMD <math>\geq</math> 5.55 (n=42)</b>	<b>FMD <math>&lt;</math> 5.55 (n=42)</b>	<b><i>p</i></b>
<b>Energy (Kcal)</b>	1698 $\pm$ 342	1909 $\pm$ 517	0.030
<b>Carbohydrates (% of energy)</b>	46 $\pm$ 8	46 $\pm$ 6	0.711
<b>Proteins (% of energy)</b>	20 $\pm$ 6	20 $\pm$ 4	0.492
<b>Lipids (% of energy)</b>	35 $\pm$ 8	34 $\pm$ 6	0.735
<b>Saturated FA (% of energy)</b>	9 $\pm$ 2	10 $\pm$ 2	0.405
<b>Monounsaturated FA (% of energy)</b>	12 $\pm$ 3	11 $\pm$ 2	0.881
<b>Polyunsaturated FA (% of energy)</b>	10 $\pm$ 5	9 $\pm$ 3	0.310
<b>P/S Ratio</b>	1.1 $\pm$ 0.5	0.9 $\pm$ 0.4	0.116
<b>Cholesterol (mg/day)</b>	197 $\pm$ 89	219 $\pm$ 92	0.285
<b>Trans FA (% of energy)</b>	0.8 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.5	0.004

FMD: flow-mediated vasodilation; FA: fatty acid; P/S ratio: polyunsaturated/saturated ratio

**Table 3.** Correlation coefficients between flow-mediated vasodilation (FMD) and clinical, laboratory and diet characteristics in type 2 diabetes patients.

	<b>Correlation coefficient</b>	
	<b>with FMD (r)</b>	<b>(p)</b>
Age (years)	-0.090	0.417
Duration of diabetes (years)	0.037	0.742
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	- 0.063	0.571
Waist Circumference (cm)		
Men	- 0.341	0.029
Women	- 0.094	0.590
SBP(mmHg)	- 0.276	<i>0,012</i>
DBP (mmHg)	- 0.80	<i>0.475</i>
<b>Laboratory Measurements</b>		
Fasting Plasma Glucose (mg/dL)	-0.011	<i>0.920</i>
A1c test (%)	0.085	<i>0.444</i>
Total Cholesterol (mg/dL)	0.032	<i>0.775</i>
HDL Cholesterol (mg/dL)	0.283	<i>0.009</i>
LDL Cholesterol (mg/dL)	0.075	<i>0.500</i>
Triglycerides (mg/ dL)	-0.245	<i>0.025</i>
Endothelin-1 (pg/ml)	-0.073	<i>0.521</i>
Fibrinogen	0.107	0.340
CRP	-0.278	0.016
UAE	-0.234	<i>0.033</i>
<b>Dietary Intake</b>		
Energy (Kcal)	-0.153	<i>0.166</i>
Carbohydrates (% of energy)	0.008	<i>0.941</i>
Proteins (% of energy)	0.098	<i>0.377</i>
Lipids (% of energy)	-0.062	<i>0.572</i>
Saturated FA (% of energy)	-0.034	<i>0.762</i>
Monounsaturated FA (% of energy)	-0.001	<i>0.992</i>
Polyunsaturated FA (% of energy)	0.003	<i>0.977</i>
P/S Ratio	0.061	<i>0.584</i>
Cholesterol (mg/day)	-0.054	<i>0.626</i>
Trans FA (% of energy)	-0.383	<i>0.000</i>

FMD: Flow-mediated dilatation; BMI: body mass index; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure; A1c test: glycated hemoglobin; CRP: C-reactive protein; UAE: urinary albumin excretion; FA: fatty acid; P/S ratio: polyunsaturated/saturated ratio



**Figure 1.** Correlation between Flow-Mediated Dilatation (FMD) and dietary Trans Fatty Acids (TFA) intake of type 2 diabetes patients



O projeto de pesquisa intitulado “Associação entre a composição de gorduras da dieta usual e a presença de disfunção endotelial em pacientes com Diabetes Melito Tipo 2” será desenvolvido no Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

O comprometimento do coração é uma complicação que ocorre frequentemente em pessoas com diabetes melito. Sabe-se que esse comprometimento está diretamente associado com o padrão de alimentação do indivíduo. Este estudo visa analisar a relação entre as gorduras sanguíneas (ácidos graxos), os hábitos alimentares e os fatores ligados ao aparecimento de problemas cardiovasculares em pacientes com diabetes melito tipo 2. Os fatores ligados aos problemas cardiovasculares que serão estudados são representados pela dificuldade da parede dos vasos sanguíneos responderem a estímulos de dilatação e contração que indicam tendência à inflamação de um modo geral, também denominado de disfunção endotelial.

Os pacientes com diabetes melito tipo 2 selecionados serão avaliados por médico e nutricionista. Nas consultas para avaliação dos registros alimentares, o paciente também deverá trazer uma coleta de urina e será submetido a uma coleta de sangue em jejum. Tais procedimentos não envolvem qualquer risco de vida para os pacientes. Apresentam somente o desconforto da picada para retirada do sangue e exigem a dedicação para a pesagem e preenchimento dos históricos alimentares e para a coleta de urina.

Para medir as alterações da parede dos vasos sanguíneos o paciente será submetido a uma avaliação composta de exame físico, além da realização de um exame da artéria do braço (ecografia) após compressão do braço e uso de um medicamento em spray (nitroglicerina). No exame da artéria do braço, poderá haver leve dor de cabeça, tonturas e mal-estar passageiro após o medicamento que será utilizado.

Nenhuma outra pessoa, além dos pesquisadores e de seus colaboradores diretamente envolvidos no projeto, terão acesso ao material proveniente da amostra de sangue.

Eu, ..... fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, do desconforto ou riscos previstos tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disto, sei que novas informações obtidas durante o estudo me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa face a estas informações. Sei também que a qualquer momento poderei desistir de participar do estudo e esta decisão não acarretará prejuízo no meu atendimento médico assistencial.

O profissional Dr/Dra. .... certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial. Fui informado que caso existam danos à minha saúde causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Assinatura do paciente: .....

Assinatura do investigador: .....

Pesquisadora Responsável: Dra.Themis Zelmanovitz/ Dra. Tanara Weiss  
Telefone para contato: 2101.8127

**A) Angina** (dor no peito aos esforços)

1. Você teve qualquer tipo de dor ou desconforto no peito?

Sim (1)

Não (2). Se não, vá para o item C.

A partir daqui, se a resposta escolhida estiver marcada com asterisco vá direto ao item B.

2. Tem dor quando sobe escada/ lomba ou caminha rápido?

Sim (1)

Não (2) \*

Nunca se apressa ou sobe degraus (3)

3. Você tem dor no peito quando caminha a passo normal em nível plano?

Sim (1)

Não (2)

4. O que você faz se tem a dor enquanto está caminhando:

pára ou diminui a marcha (1)

continua caminhando igual (2) \*

5. Se você permanece imóvel, o que acontece ?

a dor alivia (1)

a dor não alivia (2) \*

6. Quanto tempo leva ?

10 minutos ou menos (1)

mais de 10 minutos (2) \*

7. Pode me mostrar onde é a dor?

esterno região superior ou média (1)

esterno na região inferior (2)

tórax anterior esquerdo (3)

braço esquerdo (4)

outra (s) (5) \_\_\_\_\_

8. Você sente mais alguma coisa ?

Sim (1) \_\_\_\_\_

Não (2)

**B) Possível IAM**

9. Você já teve forte dor no peito por meia hora ou tempo mais prolongado?

Sim (1)

Não (2)

### C) Claudicação Intermitente

A partir daqui, se a resposta escolhida estiver marcada com asterisco nenhuma outra pergunta é necessária

**10.** Você tem dores nas pernas ao caminhar ?

Sim (1). Não (2) \*

10<sup>a</sup>) Em que perna?

Direita (1)

Esquerda (2)

**11.** Esta dor sempre inicia quando você está imóvel ou sentado?

Sim (1) \*

Não (2)

**12.** Em que parte da sua perna você sente a dor?

a dor inclui a panturrilha (1)

a dor não inclui a panturrilha (1) \*

se a panturrilha não for mencionada perguntar: Algum outro local mais?

**13.** Tem dor quando sobe escada/ lomba ou caminha rápido?

Sim (1)

Não (2) \*

**14.** Você sente a dor quando caminha a passo normal em nível plano?

Sim (1)

Não (2)

**15.** A dor sempre desaparece enquanto você está caminhando?

Sim (1) \*

Não (2)

**16.** O que você faz se tem a dor enquanto está caminhando:

pára ou diminui a marcha (1)

continua caminhando igual (2) \*

**17.** O que acontece com a dor se você permanece imóvel?

a dor alivia (1)

a dor não alivia (2) \*

**18.** Em quanto tempo?

10 minutos ou menos (1)

mais de 10 minutos (2)

## Anexo III

### QUESTIONÁRIO DE ATIVIDADE FÍSICA

Gostaríamos de saber como é seu estilo de vida em relação à atividade física. Pense nas atividades que você realiza durante uma semana normal. Leia as 4 frases abaixo, escolha a que mais se encaixa em sua condição de atividade física e marque com um X a alternativa correta:

1. ( ) Eu leio, assisto televisão e trabalho em casa sem muito esforço físico.
2. ( ) Eu caminho, ando de bicicleta e faço outros exercícios leves não mais que 4 horas por semana.
3. ( ) Faço exercícios para manter a forma física: jogos com bola, corrida, academia de ginástica, natação, não mais do que 3 horas por semana.
4. ( ) Faço exercícios de maneira competitiva muitas vezes na semana, correndo, jogando ou com outros esportes que exigem grande esforço.

Fonte (adaptado): Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M: Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 344 (18):1343-50, 2001.

## Anexo IV

### QUESTIONÁRIO ALIMENTAR

1. Nome: \_\_\_\_\_
2. Data: \_\_\_\_\_
3. Refeições que faz diariamente:  
 café da manhã       lanche da manhã       almoço  
 lanche da tarde       jantar       lanche da noite
4. Além das refeições relacionadas no item 3, você come diariamente algum alimento em outros horários? Se positivo, escreva os horários e os tipos de alimentos consumidos na maior parte das vezes (pastel; empada; doce dietético; leite; iogurte; chocolate dietético; frutas; etc..)
5. Costuma fazer todas as refeições em casa? Se a resposta for negativa, escreva quais as refeições que são feitas fora e onde.
6. Dos grupos de alimentos relacionados a seguir, escreva ao lado os tipos e cortes (carnes) que prefere normalmente:

Verduras e legumes: \_\_\_\_\_

Frutas: \_\_\_\_\_

Carne de vaca: \_\_\_\_\_

Carne de galinha: \_\_\_\_\_

Peixe: (fresco ou congelado) \_\_\_\_\_

Queijo: \_\_\_\_\_

Leite: \_\_\_\_\_

Arroz: \_\_\_\_\_

Feijão: \_\_\_\_\_

**Macarrão:** \_\_\_\_\_

7. Quais os locais que costumam ser compradas as carnes:  
\_ carne bovina:       açougue       supermercado( ) mercado público  
\_ carne de frango: ( ) açougue ( ) supermercado( ) mercado público  
\_ peixe: ( ) açougue ( ) supermercado( ) mercado público
8. Assinale abaixo o(s) tipo (s) de gordura usada (s) para cozinhar os alimentos:  
 óleo de soja       óleo de girassol       óleo de milho       óleo de oliva  
 óleo de algodão       óleo de canola       óleo de arroz       banha de porco  
 banha vegetal       gordura de côco       manteiga       margarina

OBS: Quanto tempo dura 1 garrafa/lata de óleo e/ou outra gordura para a família?

9. Utiliza diariamente no pão ou bolacha:  
 margarina (tipo: \_\_\_\_\_)

( ) manteiga ( ) patê (tipo: \_\_\_\_\_)

( ) outros (\_\_\_\_\_)

10. Costuma comer a gordura da carne?

11. Quais os temperos usados para cozinhar?

12. Assinale o tipo de pão consumido mais frequentemente:

( ) pão d'água (cacetinho) ( ) pão de forma branco ( ) pão de cachorro-quente

( ) pão caseiro ( ) pão integral ( ) pão de centeio ( ) outros (descreva)

No caso de usar o pão caseiro, descreva a receita e o rendimento.

13. Que adoçante você utiliza?

14. Utiliza doces e gelatinas dietéticas? De que tipo e marca?

15. Costuma tomar chá regularmente? Qual? Com ou sem adoçante?

16. Toma bebida alcoólica? Se positivo, preencha abaixo o tipo e as quantidades ingeridas habitualmente.

a) bebidas destiladas: ( ) uísque ( ) vodca ( ) cachaça ( ) conhaque

quantidade: \_\_\_\_\_ dose(s) \_\_\_\_\_ copo (s) \_\_\_\_\_ martelinho (s)

frequência : \_\_\_\_\_ vezes/dia \_\_\_\_\_ vezes/semana \_\_\_\_\_ vezes/mês

b) bebidas fermentadas:

( ) vinho tinto suave

( ) vinho tinto seco

( ) vinho branco suave

( ) vinho branco seco

( ) cerveja preta

( ) cerveja comum

quantidade: \_\_\_\_\_ copo (s) \_\_\_\_\_ taça (s)

frequência : \_\_\_\_\_ vezes/dia \_\_\_\_\_ vezes/semana \_\_\_\_\_ vezes/mês

17. Você é alérgico (a) a alimentos? Quais?

18. Relacione abaixo os alimentos que não gosta.

## Anexo V

<b>REGISTRO ALIMENTAR</b>			
<b>Nome:</b>			
<b>Data:</b>			
<b>Dia da semana:</b> ( ) segunda ( ) terça ( ) quarta ( ) quinta ( ) sexta ( ) sábado ( ) domingo			
	<b>ALIMENTO</b>	<b>MEDIDA</b>	<b>SOBRAS</b>
<b>CAFÉ DA MANHÃ</b>			
<b>COLAÇÃO</b>			
<b>ALMOÇO</b>			
<b>LANCHE DA TARDE</b>			
<b>JANTAR</b>			
<b>CEIA</b>			
<b>Observações:</b>			

**W432e** Weiss, Tanara

Estudo de associação entre a composição de gorduras da dieta usual e a presença de disfunção endotelial em pacientes com diabetes melito tipo 2 / Tanara Weiss ; orient. Themis Zelmanovitz ; co-orient. Luis Eduardo Paim Rohde. – 2010.  
63 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

1. Diabetes mellitus tipo 2 2. Gorduras na dieta 3. Endotélio vascular 4. Complicações do diabetes I. Zelmanovitz, Themis II. Rohde, Luis Eduardo Paim III. Título.

NLM: WK 818

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA