



MINISTÉRIO DA SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA
COORDENAÇÃO DE ENSINO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES

SILAS ESCOBAR ARAUJO

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MICROVASCULAR SISTÊMICA EM
INDIVÍDUOS COM OBESIDADE METABOLICAMENTE SAUDÁVEL:
estudo transversal observacional

RIO DE JANEIRO
2022

SILAS ESCOBAR ARAUJO

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MICROVASCULAR SISTÊMICA EM
INDIVÍDUOS COM OBESIDADE METABOLICAMENTE SAUDÁVEL:
estudo observacional transversal

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Cardiovasculares, do Instituto Nacional de
Cardiologia, como pré-requisito à obtenção
do título de Mestre em Ciências
Cardiovasculares.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Tibiriçá

Coorientadora: Prof^a. Dra. Andrea Rocha de Lorenzo

Rio de Janeiro

2022

A663a Araujo, Silas Escobar.

Avaliação da função microvascular sistêmica em indivíduos com obesidade metabolicamente saudável: estudo observacional transversal / Silas Escobar Araujo – Rio de Janeiro, 2022.

86 f.

Dissertação (Mestrado Profissional em Ciências Cardiovasculares) Instituto Nacional de Cardiologia – INC

1. Obesidade metabolicamente benigna; 2. Microcirculação;
3. Rarefação microvascular. I. Título.

SILAS ESCOBAR ARAUJO

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MICROVASCULAR SISTÊMICA EM
INDIVÍDUOS COM OBESIDADE METABOLICAMENTE SAUDÁVEL:**
estudo observacional transversal

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Cardiovasculares, do Instituto Nacional de
Cardiologia, como pré-requisito à obtenção
do título de Mestre em Ciências
Cardiovasculares.

Aprovada em 15 de setembro de 2022.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Tibiriçá
Orientador
Instituto Nacional de Cardiologia

Prof^a. Dra. Andrea Rocha de Lorenzo
Coorientadora
Instituto Nacional de Cardiologia

Prof. Dr. Luiz Fernando Rodrigues Junior
Membro interno
Instituto Nacional de Cardiologia

Prof^a. Dra. Aurora Felice Castro Issa
Membro interno
Instituto Nacional de Cardiologia

Prof. Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar
Membro externo
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Prof^a. Dra. Valéria Verri
Membro interno (suplente)
Instituto Nacional de Cardiologia

Prof^a. Dra. Elisa Maia dos Santos
Membro externo (suplente)
Instituto Nacional de Cardiologia

Aos meus pais Sérgio e Célia por serem os maiores incentivadores na minha educação.

À minha esposa Camile, companheira nas alegrias e dificuldades da vida.

Aos meus irmãos Saulo, Sérgio e Wallace.

*Às minhas queridas avós Erotildes e Nelza que partiram em meio à pandemia,
enquanto eu escrevia esta dissertação.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço esta Dissertação de Mestrado a todos os colaboradores deste projeto.

Ao meu orientador Dr. Eduardo Tibiriçá que idealizou este estudo e por toda a sua disponibilidade e paciência comigo.

À Dra. Andrea de Lorenzo que me apresentou ao programa de Mestrado e me convidou para participar, pela sua ajuda nas modificações pertinentes.

Ao Márcio Gonzalez que realizou a quase totalidade das coletas de sangue e exames de microcirculação e capilaroscopia, grande motivador do projeto.

À minha amiga doutoranda Daniela Olegário Peçanha tanto na motivação em finalizar o Mestrado quanto no recrutamento de voluntários.

À pesquisadora Maíra Duque, amiga que ajudou em todos os aspectos, desde o início desta pesquisa.

Ao Vinicius Crahim de Araujo, estudante de medicina e estudante de Iniciação Científica, pela ajuda.

À bibliotecária Cyntia pela ajuda com as referências bibliográficas e formatação desta dissertação.

À Dra. Isabel Cristina pela assistência e dedicação em relação ao uso de plataforma RedCap.

À Prof^a. Maria Lucia Brandão pela ajuda incomensurável na revisão metodológica deste trabalho, e ao meu amigo Bernardo Brandão Harboe por ter me apresentado esta pessoa maravilhosa.

A todos os voluntários funcionários do Instituto Nacional de Cardiologia e voluntários externos que dedicaram seu tempo para conclusão deste projeto, minha eterna gratidão.

Ratifico que todas essas pessoas dedicaram seu tempo e trabalho mesmo diante de uma pandemia e, por isso, reforço minha gratidão.

Por fim, agradeço à minha esposa Camile, família e amigos pela ajuda emocional e companheirismo que fornecem a força propulsora para seguir em frente.

Tudo pode parecer difícil, até que você pense o contrário.

Betinho

Este estudo foi realizado com apoio financeiro da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro.

RESUMO

Introdução: A obesidade é considerada um dos fatores de risco para doenças cardiovasculares. No entanto, nem todos os indivíduos com obesidade apresentam o mesmo risco cardiovascular. Indivíduos com obesidade metabolicamente saudável (ObMS) parecem ter risco cardiovascular intermediário entre indivíduos eutróficos metabolicamente saudáveis (EMS) e indivíduos com obesidade metabolicamente não saudável (ObMNS). Sabe-se que a disfunção endotelial constitui uma etapa inicial do processo aterosclerótico. Entretanto, pouco tem sido estudado sobre a função endotelial nos indivíduos ObMS. **Objetivo:** Este estudo tem por objetivo investigar o impacto da obesidade metabolicamente saudável na microcirculação. **Métodos:** Realizado estudo transversal observacional com 111 voluntários (média de idade $33,2 \pm 7,6$ anos) sem doença cardiovascular prévia. Os indivíduos foram classificados em três grupos fenotípicos: EMS ($n=32$), ObMS ($n=24$) e ObMNS ($n=55$). Os dados coletados e analisados foram: informações clínicas e demográficas; medidas antropométricas e bioimpedância; avaliação do perfil metabólico; avaliação da densidade capilar; medida da pressão arterial; avaliação da reatividade microvascular. O desfecho primário avaliado foi o aumento da condutância vascular cutânea induzido por acetilcolina (CVC ACh pico-basal) que representa a vasodilatação dependente de endotélio. **Resultados:** A CVC ACh pico-basal nos grupos EMS, ObMS e ObMNS foram, respectivamente: $0,24 \pm 0,17$ UAP/mmHg, $0,23 \pm 0,19$ UAP/mmHg e $0,30 \pm 0,20$ UAP/mmHg; $p=0,18$. O grupo ObMNS apresentou menor fluxo microvascular basal em relação ao grupo EMS (CVC basal: EMS $0,33 \pm 0,12$ UAP/mmHg vs. ObMS $0,30 \pm 0,10$ UAP/mmHg vs. ObMNS $0,25 \pm 0,20$ UAP/mmHg; $p=0,005$). A densidade capilar cutânea média nos grupos EMS, ObMS e ObMNS foram, respectivamente: 70 ± 14 capilares/mm², 73 ± 16 capilares/mm² e 68 ± 19 capilares/mm²; $p=0,57$. **Conclusões:** A reatividade microvascular dependente e independente de endotélio, assim como a densidade capilar e o recrutamento capilar foram estatisticamente semelhantes entre os indivíduos com ObMS, com ObMNS e EMS na população estudada. Indivíduos com ObMNS apresentaram menor fluxo microvascular sistêmico basal em comparação com indivíduos EMS no presente estudo.

Palavras-chave: Obesidade metabolicamente benigna; Microcirculação; Rarefação microvascular.

ABSTRACT

Background: Obesity is considered one of the risk factors for cardiovascular disease. However, not all individuals with obesity have the same cardiovascular risk. Individuals with metabolically healthy obesity (MHO) appear to have an intermediate cardiovascular risk between metabolically healthy normal weight (MHNW) and metabolically unhealthy obese individuals (MUO). It is known that endothelial dysfunction constitutes an initial stage of the atherosclerotic process. However, little has been studied about endothelial function in MHO individuals. **Objective:** This study aims to investigate the impact of metabolically healthy obesity on microcirculation. **Methods:** An observational cross-sectional study was carried out with 111 volunteers (mean age 33.2 ± 7.6 years) without previous cardiovascular disease. Individuals were classified into three phenotypic groups: MHNW (n=32), MHO (n=24) and MUO (n=55). The data collected and analyzed were: clinical and demographic information; anthropometric measurements and bioimpedance; assessment of the metabolic profile; evaluation of capillary density; blood pressure measurement; assessment of microvascular reactivity. The primary endpoint assessed was acetylcholine-induced increase in cutaneous vascular conductance (peak-basal CVC ACh) which represents endothelium-dependent vasodilation. **Results:** The peak-basal CVC ACh in the MHNW, MHO and MUO groups were respectively: 0.24 ± 0.17 AUP/mmHg, 0.23 ± 0.19 AUP/mmHg and 0.30 ± 0.20 AUP/mmHg; $p=0.18$. The MUO group had lower baseline microvascular flow compared to the MHNW group (baseline CVC: MHNW 0.33 ± 0.12 AUP/mmHg vs. MHO 0.30 ± 0.10 AUP/mmHg vs. MUO 0.25 ± 0.20 AUP/mmHg; $p=0.005$). The mean cutaneous capillary density in the MHNW, MHO and MUO groups were respectively: 70 ± 14 capillaries/mm², 73 ± 16 capillaries/mm² and 68 ± 19 capillaries/mm²; $p=0.57$. **Conclusions:** Endothelium-dependent and endothelium-independent microvascular reactivity, as well as capillary density and capillary recruitment were statistically similar between subjects with MHO, with MUO and with MHNW in the study population. Subjects with MUO had lower baseline systemic microvascular flow compared with subjects MHNW in the present study.

Keywords: Obesity, metabolically benign; Microcirculation; Microvascular rarefaction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Prevalência estimada de obesidade metabolicamente saudável com base no número de critérios adotados	19
Figura 2 –	Transição entre quatro diferentes fenótipos em seguimento de 11 anos	20
Figura 3 –	Mecanismos de ação da ACh e do NPS	26
Figura 4 –	Seleção da população estudada	33
Figura 5 –	Etapas sequenciais da avaliação inicial dos voluntários	36
Figura 6 –	Sistema de fluxometria <i>laser speckle</i>	40
Figura 7 –	Registro representativo da resposta do fluxo microvascular à acetilcolina	40
Figura 8 –	Esquema de um dispositivo de iontoforese	41
Figura 9 –	Condutância microvascular cutânea nos grupos estudados	49
Figura 10 –	Diferença entre a condutância vascular cutânea máxima e a condutância vascular cutânea basal após iontoforese	50
Figura 11 –	Condutância vascular cutânea basal e índices de reatividade microvascular após iontoforese	52
Figura 12 –	Índices de reatividade microvascular após manobra de hiperemia reativa pós-oclusiva	53
Figura 13 –	Valores da densidade capilar cutânea basal e após manobra de hiperemia reativa pós-oclusiva em capilares/mm ²	55
Quadro 1 –	Critérios para a presença de síndrome metabólica pela <i>International Diabetes Federation</i>	34
Quadro 2 –	Descrição dos fenótipos metabólicos da população estudada	35
Quadro 3 –	Variáveis mensuradas pelo método LSCI e suas definições	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características da população estudada	46
Tabela 2 –	Índices de reatividade microvascular pela técnica de <i>laser speckle contrast imaging</i>	51

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
ATP III	<i>Adult Treatment Panel III</i>
AVE	Acidente vascular encefálico
BH 4	Tetra-hidrobiopterina
CVC	Condutância vascular cutânea
CV	Cardiovascular
DM	Diabetes mellitus
DCV	Doenças cardiovasculares
EDHF	<i>Endothelial-derived hyperpolarizing factors</i>
EMS	Eutrófico metabolicamente saudável
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ERK1/2	Quinases reguladas por sinais extracelulares
ESAT	Estudo da Saúde do Trabalhador
FC	Frequência cardíaca
GCs	Guanilato ciclase solúvel
GMPc	Guanosina-3,5-monofosfato cíclico
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HOMA-IR	<i>Homeostatic model assessment for insulin resistance</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusiva
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
INC	Instituto Nacional de Cardiologia
IRS-1	<i>Insulin receptor substrate-1</i>

LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LSCI	<i>Laser speckle contrast imaging</i>
MAPA	Monitorização ambulatorial da pressão arterial
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
MRPA	Monitorização residencial da pressão arterial
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
NO	Óxido nítrico
NOO-	Peroxinitrito
NPS	Nitroprussiato de sódio
ObMNS	Obesidade metabolicamente não saudável
ObMS	Obesidade metabolicamente saudável
OMS	Organização Mundial da Saúde
oxLDL	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C-Reativa
PGC	Percentual de gordura corporal
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase
PVAT	<i>Perivascular adipose tissue</i>
SM	Síndrome metabólica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicerídeos
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor-alfa</i>
TSH	Hormônio tireoestimulante
UAP	Unidade arbitrária de perfusão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
	2.1 Obesidade metabolicamente saudável	18
	2.2 ObMS e risco cardiovascular	21
	2.3 Outros estudos sobre ObMS	23
	2.4 Microcirculação	25
	2.5 Obesidade e disfunção endotelial microvascular	26
3	JUSTIFICATIVA	30
4	OBJETIVOS	31
	4.1 Objetivo Geral	31
	4.2 Objetivos Específicos	31
5	MÉTODOS	32
	5.1 Caracterização do estudo	32
	5.2 População estudada	32
	5.3 Procedimentos de investigação	34
	5.3.1 Etapas sequenciais de avaliação inicial dos voluntários	35
	5.3.2 Desfechos	42
	5.4 Análise Estatística	43
6	RESULTADOS	45
	6.1 Recrutamento	45
	6.2 Dados da população estudada	45
	6.3 Reatividade microvascular	48
	6.4 Densidade capilar cutânea	54
7	DISCUSSÃO	56
	7.1 Limitações do estudo	63
8	CONCLUSÕES	65
	REFERÊNCIAS	66
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	77
	APÊNDICE B – IMAGENS DE VIDEOCAPILAROSCOPIA	80
	APÊNDICE C – CORRELAÇÕES ENTRE OS DESFECHOS E AS VARIÁVEIS IDADE, SEXO, MENOPAUSA E COVID-19	81
	APÊNDICE D – REGRESSÕES LINEARES SIMPLES	82
	APÊNDICE E – NÚMERO DE FATORES DE RISCO PARA SÍNDROME METABÓLICA NO GRUPO OBESO METABOLICAMENTE NÃO SAUDÁVEL CONFORME CLASSIFICAÇÃO DA INTERNATIONAL DIABETES ASSOCIATION	83
	ANEXO – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	84

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo, responsáveis anualmente por mais de 17 milhões de mortes.¹ O sobrepeso e a obesidade constituem importantes fatores de risco modificáveis e contribuidores para a carga de doença cardiovascular.² O índice de massa corporal (IMC) elevado representa o quinto maior fator atribuível à doença cardiovascular em ordem de importância, perdendo apenas para hipertensão arterial sistêmica, dieta inadequada, colesterol-LDL (LDL, em inglês, *low density lipoprotein*) elevado e poluição do ar, de acordo com o *ranking* da *Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors* 2019.³ Além disso, a obesidade contribui para a redução da expectativa de vida em até ~ 20 anos.⁴

A obesidade é definida quando o IMC é $\geq 30 \text{ kg/m}^2$.⁵ De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade quase triplicou no mundo desde 1975. Em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos com 18 anos ou mais apresentavam sobrepeso (IMC $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ e $< 30 \text{ kg/m}^2$) e, entre estes, 650 milhões eram portadores de obesidade.⁶ Sobrepeso e obesidade já correspondem a 2/3 da população total dos Estados Unidos.⁷

No Brasil, a prevalência da obesidade está aumentando em um ritmo alarmante. Em 1975, a prevalência era de 2,1% em homens adultos e de 6,0% em mulheres adultas; em 2019, 21,8% em homens adultos e 29,5% em mulheres adultas.⁸ No mundo, a obesidade é responsável por 41% dos cânceres de útero, mais de 10% dos cânceres de vesícula biliar, fígado, rim e cólon, 40% dos casos de doenças cardiovasculares e a maioria dos casos de diabetes mellitus (DM) tipo 2.⁹ Portanto, trata-se de um problema prevalente e de incidência crescente no Brasil e no mundo.

A obesidade é também conceituada pela OMS como o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que apresenta risco à saúde.⁶ Porém o termo obesidade caracteriza-se cada vez mais como uma doença e não somente um fator de risco.¹⁰ Além disso, desde a sexta edição do Código Internacional de Doenças (CID) em 1948, o termo obesidade passa a constar na lista de doenças e continua em vigência, muito embora tenha sido alvo de críticas constantes referente ao que se considerou doença, causa de morte ou sintoma ao longo de sua história.¹¹

A síndrome metabólica, como um conjunto de fatores de risco cardiovascular (aumento da glicemia sérica, aumento da circunferência abdominal, aumento da pressão arterial e alterações no perfil lipídico), acarreta um risco adicional. Estima-se que 20-25% da população mundial tenha síndrome metabólica, apresentando duas

vezes mais risco de morte, três vezes mais risco de acidente vascular encefálico (AVE) ou infarto agudo do miocárdio (IAM) e cinco vezes mais risco de desenvolver DM tipo 2. Apesar de a causa da síndrome metabólica permanecer um desafio, a obesidade central e a resistência insulínica parecem contribuir significativamente.¹²

Entretanto, nem todos os indivíduos com obesidade apresentam anormalidades metabólicas. Nesse sentido, foi criado o conceito de obesidade metabolicamente saudável (ObMS). Este grupo inclui os indivíduos sem resistência insulínica, dislipidemia, intolerância à glicose, hipertensão arterial sistêmica ou elevado estado inflamatório.¹³ Para estes, descreve-se um perfil de risco intermediário entre a obesidade com alterações metabólicas associadas e a eutrofia sem alterações metabólicas.^{14,15} Todavia, há muitas controvérsias a respeito, geradas por resultados conflitantes em termos de risco de eventos cardiovasculares e mortalidade geral dos indivíduos com ObMS,¹⁶⁻¹⁸ o que torna essa condição um campo ainda bastante fértil para estudos e novas evidências.

Uma vez que a aterosclerose é uma condição frequentemente subjacente à obesidade e fatores de risco associados, e a formação das placas ateroscleróticas, por sua vez, tem a disfunção endotelial como etapa inicial,¹⁹ torna-se importante conhecer a função endotelial entre os diferentes fenótipos de obesidade. Poucos estudos compararam a função endotelial microvascular entre indivíduos com obesidade saudável, obesidade não saudável e indivíduos sem obesidade. O maior conhecimento da função endotelial nos diversos cenários do excesso de peso e alterações metabólicas pode auxiliar a melhor compreender as diferenças fisiopatológicas e os perfis de risco de indivíduos em cada um desses cenários, inclusive possibilitando intervenções apropriadas para cada grupo de indivíduos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade metabolicamente saudável

O conceito de ObMS desenvolveu-se a partir das observações de Jean Vague,²⁰ na década de 1950, nas quais diferentes distribuições de gordura corporal (ginecoide vs androide) poderiam acarretar diferentes predisposições para diabetes e aterosclerose. O termo obesidade metabolicamente normal (em inglês, *obese metabolically normal - OBMN*) foi assim descrito pela primeira vez em artigo de revisão, em 2001, por Ethan A. H. Sims²¹ que cunhou este termo reciprocamente ao termo metabolicamente obeso de peso normal (em inglês, *metabolically obese normal weight – MONW*) descrito por Ruderman et al.²² em 1982.

A ObMS é um conceito derivado de observações clínicas de que um subgrupo de pessoas com obesidade não apresenta anormalidades cardiometabólicas evidentes.²³ Na década de 1980, alguns estudos começaram a descrever um fenótipo dito benigno, representando obesidade sem comorbidades tais como hipertensão arterial sistêmica, doenças cardiovasculares, resistência insulínica, dislipidemia ou síndrome metabólica. Entretanto, ainda não está claro se esse fenótipo é realmente favorável ou apenas uma transição para a obesidade metabolicamente não saudável (ObMNS).²⁴

Não existe critério universalmente aceito para definir ObMS (Figura 1). Duque et al.²⁴ descreveram 17 diferentes critérios utilizados em estudos para definição de ObMS. Revisão sistemática que avaliou prevalência de ObMS encontrou 30 definições diferentes na literatura. Nesse mesmo estudo, devido à heterogeneidade da definição, a prevalência de ObMS entre a população com obesidade variou de 6% a 75%.²⁵ A prevalência parece ser maior em mulheres e reduzir com a idade.²⁶ A tentativa de propor critérios padronizados para ObMS foi abordada pelo projeto BioShare-EU²⁶ e por Lavie et al.²⁷ O Projeto Obeso Saudável avaliou fatores clínicos e metabólicos para definir ObMS em 10 estudos de coorte europeus, incluindo mais de 163 000 adultos com idade entre 18-80 anos. Os autores propuseram duas definições com diferentes níveis de rigor. Lavie et al.²⁷ propuseram uma definição muito semelhante ao critério mais estrito do Projeto Obeso Saudável. Essa definição consistiu no diagnóstico de obesidade (índice de massa corpórea - IMC ≥ 30 kg/m²) e atendendo a todos os critérios: triglicerídeos séricos $\leq 1,7$ mmol/L (≤ 150 mg/dL), concentrações séricas de HDL-colesterol $> 1,0$ mmol/L (> 40 mg/dL) em homens ou $> 1,3$ mmol/L (> 50 mg/dL) em

mulheres, pressão arterial sistólica (PAS) ≤ 130 mmHg, pressão arterial diastólica ≤ 85 mmHg e nenhum tratamento anti-hipertensivo, glicemia de jejum $\leq 5,6$ mmol/L (≤ 100 mg/dL) e nenhum medicamento antidiabético. Esta definição é semelhante à usada no presente estudo, conforme será discutido posteriormente.

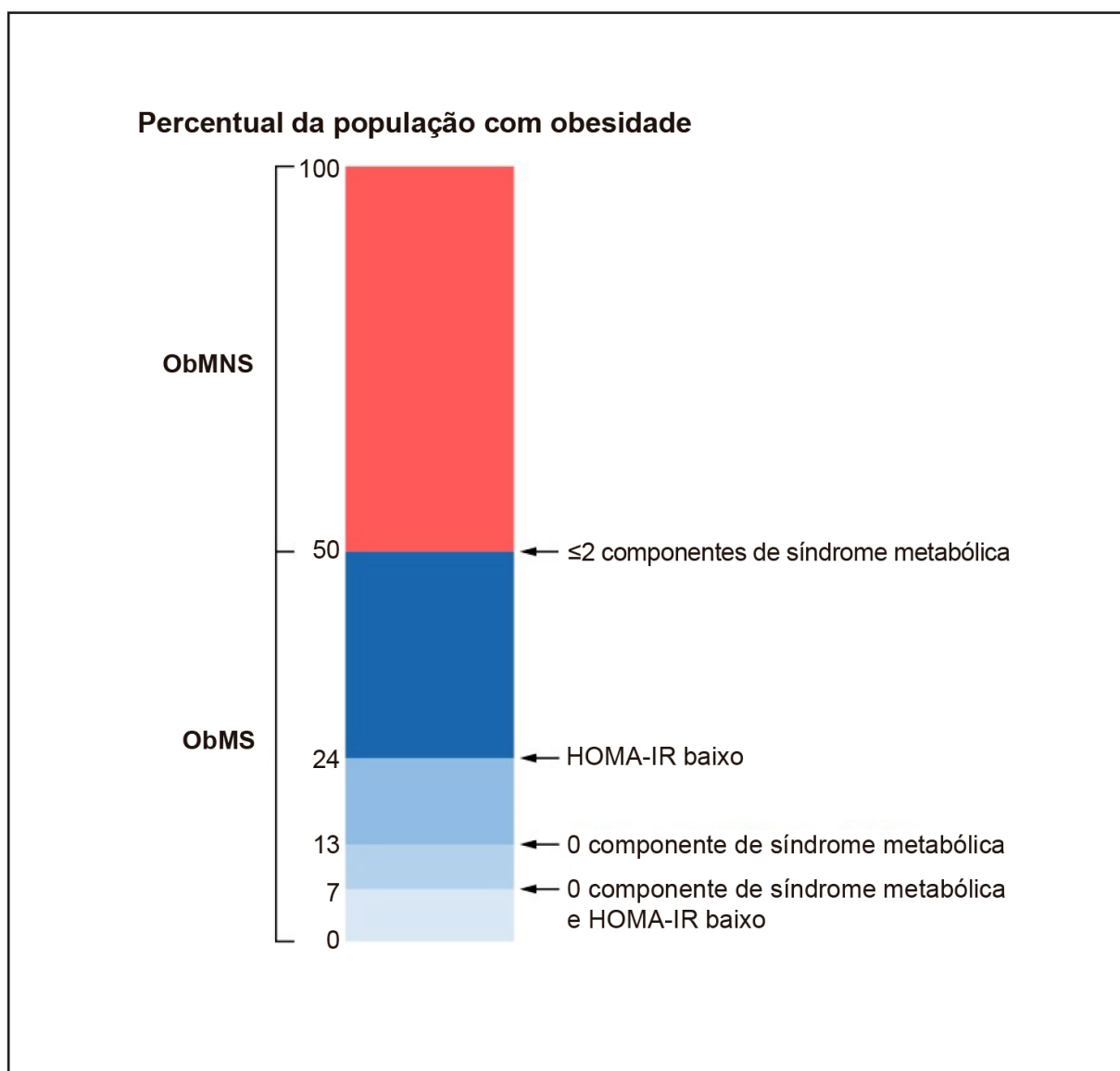


Figura 1 – Prevalência estimada de obesidade metabolicamente saudável com base no número de critérios adotados

Legenda: ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; HOMA-IR – *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*

Fonte: Adaptado de Smith et al., 2019.²⁸

Indivíduos com ObMS, em relação à ObMNS, tendem a ter menor gordura visceral e hepática, maior teor de gordura subcutânea nas pernas, maior aptidão cardiorrespiratória e atividade física, maior sensibilidade à insulina, níveis mais baixos de marcadores inflamatórios e função normal do tecido adiposo.²³

No banco de dados MEDLINE, no vocabulário indexado MeSH (do inglês, *Medical subject heading*), o termo escolhido foi obesidade metabolicamente benigna (do inglês: *metabolically benign obesity*), tendo sido introduzido em 2016. O termo é definido como um subfenótipo da obesidade com risco cardiovascular intermediário entre os indivíduos saudáveis de peso normal e indivíduos não saudáveis com obesidade. Porém, ao longo dos anos, o termo que caracteriza o maior número de publicações incluídas no banco de dados é obesidade metabolicamente saudável (do inglês: *metabolically healthy obesity*).

Cabe ressaltar, também, que a ObMS deve ser considerada uma condição dinâmica, podendo ser modificada com mudança nos hábitos de vida, envelhecimento, mudanças hormonais, tratamentos médicos, entre outros. Um indivíduo pode transitar entre um fenótipo ou outro,²⁹ assim como um indivíduo com peso normal ou com sobrepeso pode transitar entre um fenótipo saudável e não saudável (Figura 2). Optou-se, a fim de padronização, nomear como eutróficos metabolicamente saudáveis (EMS) os indivíduos classificados como metabolicamente saudáveis com peso normal em estudos descritos ao longo do texto.

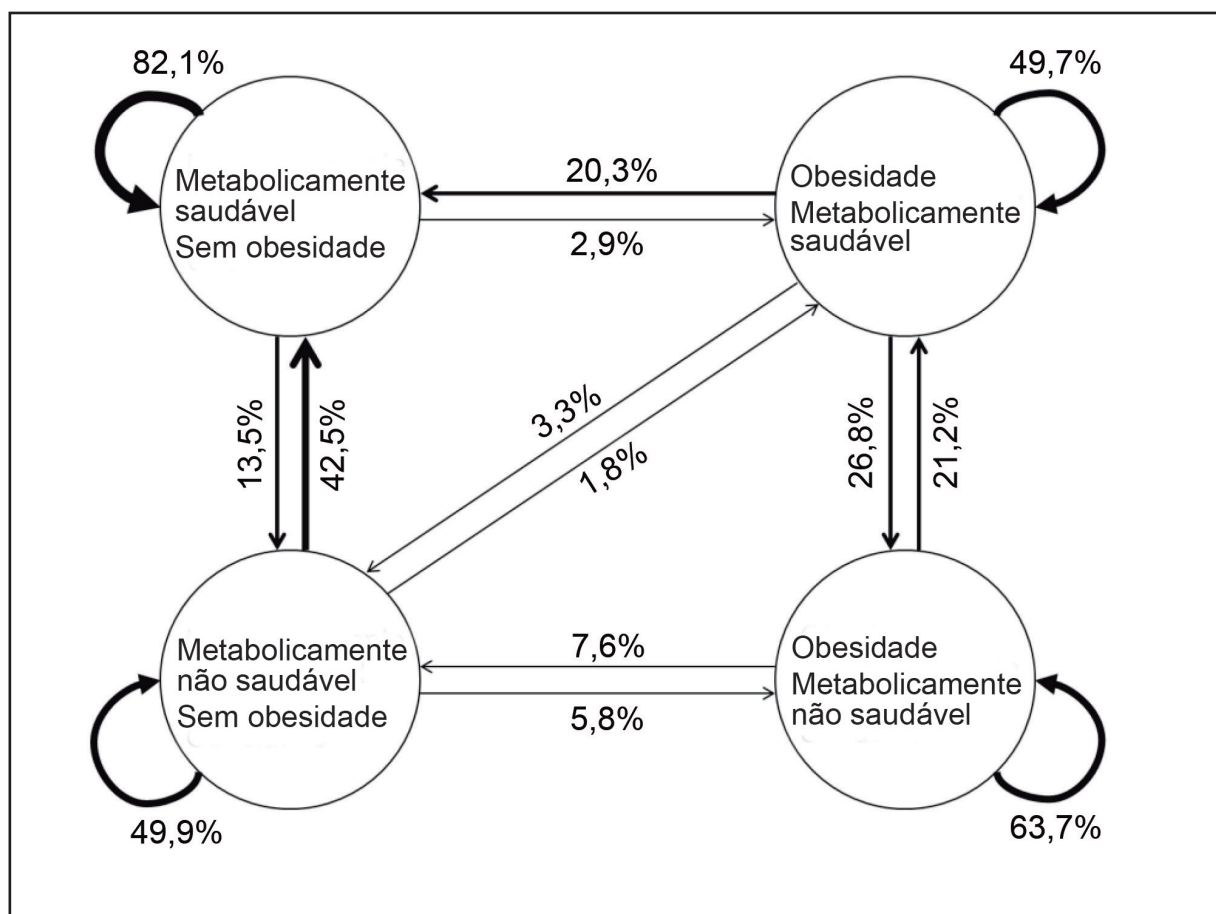


Figura 2 – Transição entre quatro diferentes fenótipos em seguimento de 11 anos

Fonte: Adaptado de Zhou et al., 2021.³⁰

Tendo em vista que a ObMS pode ser uma transição para ObMNS questiona-se se os primeiros já poderiam ter alterações subclínicas em comparação com os segundos. Portanto, sendo a disfunção endotelial uma manifestação subclínica das doenças cardiovasculares é de fundamental relevância estudá-la dentro dos diferentes fenótipos de obesidade.

2.2 ObMS e risco cardiovascular

Vários estudos de coorte mostraram que o fenótipo ObMS associa-se a maior risco cardiovascular em comparação com o fenótipo EMS.^{16,29,31} No entanto, resultados inconsistentes têm sido relatados em outros estudos, equiparando o risco CV nos dois fenótipos supracitados.^{17,32-36} Já o risco de desenvolvimento de DM tipo II em indivíduos com ObMS em comparação com EMS parece mais consistente na literatura.^{33,37-39} É importante notar que a inconsistência dos resultados decorre de variações do desenho do estudo, da população, do tempo de seguimento e da definição de ObMS utilizada.

Tzu-Lin Yeh et al.⁴⁰ publicaram, em 2019, na revista *Journal of Clinical Medicine*, uma revisão sistemática e meta-análise de 43 estudos e quase 5 milhões de indivíduos avaliando a relação entre ObMS e risco cardiovascular. Obesidade foi definida por IMC, circunferência abdominal e gordura corporal. Já o *status* metabólico foi definido por resistência insulínica, síndrome metabólica ou doenças metabólicas diagnosticadas por glicemia, pressão arterial e perfil lipídico. O desfecho primário avaliado foi doença cardiovascular como um composto de doença arterial coronariana fatal e não fatal, IAM, AVE, insuficiência cardíaca e doença arterial oclusiva periférica. O desfecho secundário foi mortalidade por qualquer causa. A média de idade foi 49,9 anos e o tempo de seguimento médio 10,6 anos. Os autores encontraram tanto maior risco CV (OR: 1,52; IC95%: 1,38 – 1,66) quanto maior mortalidade por todas as causas (OR: 1,23; IC95%: 1,05 – 1,43) quando indivíduos com ObMS foram comparados com EMS. Esse estudo também demonstrou que a cada aumento de uma unidade no IMC, acarretou um aumento de 2% no risco de DCV.

Ruizhi Zheng et al.¹⁸ publicaram uma meta-análise para avaliar risco cardiovascular (CV) e mortalidade por todas as causas no fenótipo ObMS envolvendo 22 estudos prospectivos com 584 799 indivíduos. Indivíduos com ObMS em comparação com indivíduos EMS tiveram maior risco de eventos cardiovasculares (HR: 1,60; IC95%: 1,38 – 1,84), porém não houve aumento na mortalidade geral (HR: 1,07; IC95%: 0,92 – 1,25). Os autores observaram na análise de subgrupo que o aumento do risco CV no grupo ObMS se deu com seguimento superior a 10 anos

e que não houve aumento do risco de eventos quando este acompanhamento foi menor que 10 anos. Esses achados sugerem que o risco CV associado à obesidade isoladamente possa ter mais impacto a muito longo prazo. Os autores também demonstraram que quando critérios mais estritos eram usados para definir ObMS, ou seja, ausência de todos os critérios para síndrome metabólica segundo classificação da *International Diabetes Federation* (IDF) e *Adult Treatment Panel III* (ATP III), não havia diferença significativa em relação ao grupo-controle em relação ao risco CV (HR: 1,17; IC95%: 0,28 – 4,91).

Assim como Zheng et al.,¹⁸ meta-análise publicada por Opio et al.⁴¹ em 2020 na *Obesity Review*, incluindo 23 estudos de coortes prospectivos com mais de 4 milhões de indivíduos, também identificou risco cardiovascular maior em indivíduos com ObMS em comparação com EMS (RR: 1,58; IC95%: 1,34 – 1,85; I²: 92,2%) apesar da alta heterogeneidade entre os estudos. Esse risco aumentado foi independente do critério adotado para definir o fenótipo metabolicamente saudável e do número de fatores metabólicos usados. Porém, ao contrário da meta-análise anteriormente citada, os autores encontraram um aumento do risco de morte por todas as causas no grupo ObMS em comparação com o grupo EMS (RR: 1,59; IC95%: 1,02 – 2,47; I²: 86,2%).

De modo semelhante, Eckel et al.,⁴² em meta-análise publicada na *European Journal of Preventive Cardiology* em 2016, identificaram diferentes riscos CV no grupo ObMS em comparação com o EMS conforme o tempo de acompanhamento. Apesar de o grupo ObMS ter apresentado maior risco de eventos CV que no grupo EMS (RR: 1,45; IC95%: 1,20 – 1,75, p=0,004), considerando somente estudos com seguimento curto (<8 anos), essa diferença não foi estatisticamente significativa, apresentou baixa precisão e alta heterogeneidade (RR: 1,44; IC95%: 0,77 – 2,69; I²: 76%). Por outro lado, considerando apenas estudos com seguimento longo (>12 anos), o risco de eventos CV foi mais pronunciado e menos heterogêneo (RR: 1,87; IC95%: 1,43 – 2,45; I²: 0%).

Outra meta-análise e revisão sistemática, publicada em 2013 na revista *Annals of Internal Medicine* avaliou risco CV entre diferentes fenótipos.⁴³ Os autores classificaram indivíduos com peso normal, sobrepeso e obesidade e correlacionaram com os fenótipos metabolicamente saudável e não saudável conforme presença ou ausência de síndrome metabólica conforme definição da IDF e ATP III. Incluíram 12 estudos com um total de 67 127 indivíduos. Indivíduos com ObMS quando comparados com EMS tiveram similar risco CV e mortalidade por todas as causas (RR: 1,19; IC95%: 0,98 – 1,38; I²: 15,1%). Porém, assim como encontrado nos

resultados da meta-análise de Zheng et al.,¹⁸ após restringir a análise somente aos estudos com mais de 10 anos de acompanhamento, indivíduos com ObMS, de fato, apresentaram maior risco CV e de mortalidade em comparação com EMS (RR: 1,24; IC95%: 1,02- 1,55; I²: 33,6%). Os dados sugerem que ObMS a longo prazo tem risco CV e mortalidade maior que indivíduos EMS e que talvez a curto prazo esse risco seja semelhante.

Meng Gao et al.²⁹ publicaram um estudo de coorte com 458 246 voluntários de cinco regiões urbanas e cinco regiões rurais da China. Os indivíduos foram categorizados pelo IMC (peso normal IMC: 18,5–23,9 kg/m²; sobrepeso IMC 24–27,9 kg/m² e obesidade IMC ≥28 kg/m²) e classificados em fenótipos metabolicamente saudável ou não saudável. Ao longo de 10 anos, foi avaliada a associação entre os diferentes fenótipos e risco CV (desfecho primário “eventos vasculares maiores”: IAM, doença cardíaca isquêmica e AVE). Além disso, foi avaliada a transição entre os fenótipos ao longo do tempo. Comparado com o fenótipo EMS, o ObMS foi associado à razão de risco (HR) maior para todos os desfechos CV avaliados. No entanto, quase 40% desses participantes transitaram para um estado metabolicamente não saudável.

Portanto, embora haja resultados conflitantes em estudos de coorte, as evidências apontam para um maior risco de eventos CV e, em menor magnitude, um aumento na mortalidade do fenótipo ObMS em relação ao EMS. De forma consistente nas meta-análises citadas, o risco CV no fenótipo ObMNS foi maior que no fenótipo ObMS. Entende-se, pelos dados apresentados, que o fenótipo ObMS representa um estágio intermediário de risco entre EMS e ObMNS.

2.3 Outros estudos sobre ObMS

Uma subanálise do estudo ELSA – Brasil (Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto), coorte longitudinal de 15 105 servidores públicos entre 35-74 anos de seis cidades brasileiras avaliou a relação da ObMS com espessamento médio-intimal de carótida.⁴⁴ O estudo definiu obesidade como IMC >30 kg/m² e fenótipo metabolicamente saudável como ausência de todos os componentes da síndrome metabólica, exceto circunferência abdominal. Dados de 10 335 indivíduos foram avaliados, sendo a prevalência de obesidade nessa população de 21,2% (n=2 191) e a prevalência de ObMS de 5,6% (n=124). A média de espessamento médio-intimal foi 0,70 mm (±0,13) em metabolicamente saudáveis sem obesidade e 0,76 mm (±0,13) naqueles com ObMS (p<0,001). Essa diferença permaneceu estatisticamente significativa mesmo após ajuste para sexo, idade, etnia e tabagismo.

Meta-análise de estudos prospectivos e estudos transversais realizada por Yu-wen Hsueh et al.⁴⁵ com 23 553 indivíduos procurou investigar se ObMS estava associada a um maior risco de calcificação em artérias coronárias através de escore de cálcio. Em relação aos indivíduos EMS, indivíduos com ObMS tiveram maior risco de apresentar calcificação em artérias coronárias (OR: 1,36; IC95%: 1,11 – 1,66, I²: 39%) sendo essa associação significativa. Resultados semelhantes foram descritos em recente estudo denominado *CARDIA study*.⁴⁶

Chien-Ju Lin et al.,⁴⁷ em meta-análise de oito estudos, incluindo mais de 12 milhões de indivíduos, encontraram um aumento de risco de desenvolvimento de câncer em ObMS em comparação com EMS (OR: 1,14; IC95%: 1,05 – 1,23; p=0,003 e I²: 39%). Outra recente meta-análise, avaliando risco de câncer entre indivíduos com obesidade, demonstrou que indivíduos com ObMS têm menor risco de câncer comparado com indivíduos com ObMNS (OR: 0,71; IC95%: 0,61 – 0,84).⁴⁸ Goodarzi et al.⁴⁹ encontraram também resultados semelhantes em meta-análise que avaliou especificamente risco de câncer colorretal, sendo o fenótipo ObMS um intermediário de risco entre EMS e ObMNS.

Lee et al.⁵⁰ avaliaram o risco de fibrilação atrial (FA) nova entre diferentes fenótipos antropométricos-metabólicos em uma grande coorte retrospectiva da Coreia do Sul. Com seguimento médio de 7,5 anos, indivíduos com ObMS tiveram risco maior de FA que indivíduos EMS, mesmo na análise multivariada (OR: 1,30; IC95%: 1,14 – 1,48). Ao longo do seguimento, aproximadamente 1/4 do fenótipo ObMS tornou-se ObMNS. Verificou-se que a obesidade era um fator de risco independente para FA e aumentou esse risco em aproximadamente 20%.

Jokela et al.⁵¹ avaliaram se ObMS estava associada a maior risco de sintomas depressivos⁵¹. Meta-análise incluindo oito estudos e mais de 30 mil indivíduos comparou, através de entrevistas clínicas e escalas padronizadas, sintomas depressivos entre indivíduos de diferentes fenótipos metabólicos. Os autores observaram maior razão de chances de sintomas depressivos no grupo ObMS comparado com o grupo-controle de EMS (OR: 1,29; IC95%: 1,12 – 1,50). Essa associação com sintomas depressivos foi ainda mais significativa no grupo ObMNS (OR: 1,71; IC95%: 1,40 – 2,09).

Há descrição de risco aumentado em indivíduos com ObMS em comparação com EMS para outras comorbidades tais como: doença renal crônica,⁵² doenças respiratórias,³⁰ doença hepática gordurosa não alcoólica,⁵³ colelitíase,⁵⁴ cistite em homens com hiperplasia prostática benigna,⁵⁵ entre outras.

2.4 Microcirculação

A microcirculação é amplamente utilizada para se referir a vasos <150 micrômetros de diâmetro, incluindo arteríolas, capilares e vênulas.⁵⁶ Pequenos vasos, compostos de capilares e vênulas pós-capilares, constituem os principais locais de troca de oxigênio entre vasos e tecidos, com diâmetros que variam entre 0-20 micrômetros de diâmetro.⁵⁷ Além disso, é na microcirculação que a maioria das outras funções importantes da circulação acontecem: transporte de nutrientes e hormônios, remoção de excrementos celulares e mecanismos de autorregulação que garantem a pressão arterial e o retorno venoso. O número de capilares perfundidos variam de acordo com a atividade metabólica tecidual e representam a densidade capilar funcional que, por definição, é o número de capilares preenchidos por hemácias em uma dada unidade de área.⁵⁸

Um interesse cada vez maior tem sido dado à microcirculação na fisiopatologia das doenças cardiovasculares.⁵⁹ Várias técnicas foram desenvolvidas para acessar a microcirculação cutânea, principalmente combinando uma técnica de *laser Doppler* ou *laser speckle contrast imaging* (LSCI) a algum teste de reatividade, seja fisiológico como hiperemia pós-oclusão arterial ou farmacológica, através do uso de fármacos vasodilatadores, como o nitroprussiato de sódio (NPS) e acetilcolina (ACh).⁶⁰ Nos últimos anos a microcirculação cutânea tem sido considerada um leito vascular representativo e facilmente acessível para se avaliar a função microcirculatória sistêmica.⁶¹ Na pele humana os capilares podem ser vistos de forma paralela no leito ungueal e de forma perpendicular no dorso dos dedos, sendo possível serem avaliados facilmente nessas duas localizações através da videocapilaroscopia.⁶²

O uso de fármacos como NPS e ACh em estudos que avaliam microcirculação possibilita analisar a vasodilatação endotélio-dependente (através da ACh) e endotélio-independente (através do NPS) (Figura 3). O NPS reage com grupos sulfidríla nos tecidos e funciona como doador de óxido nítrico (NO) que diretamente estimula o relaxamento das células musculares lisas vasculares sem a necessidade de vias de sinalização nas células endoteliais.⁶³ Ao contrário do NPS, a ACh necessita da ligação com receptores muscarínicos nas células endoteliais. Através da ligação com esses receptores, ativam-se vias de sinalização responsáveis pelo relaxamento do músculo liso vascular. Em humanos, as principais vias responsáveis pela vasodilatação dependente de endotélio via ACh são a ativação da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e através de prostaglandinas, embora outros mecanismos via EDHFs (*endothelial-derived hyperpolarizing factors*) também contribuam para esse papel.⁶⁴

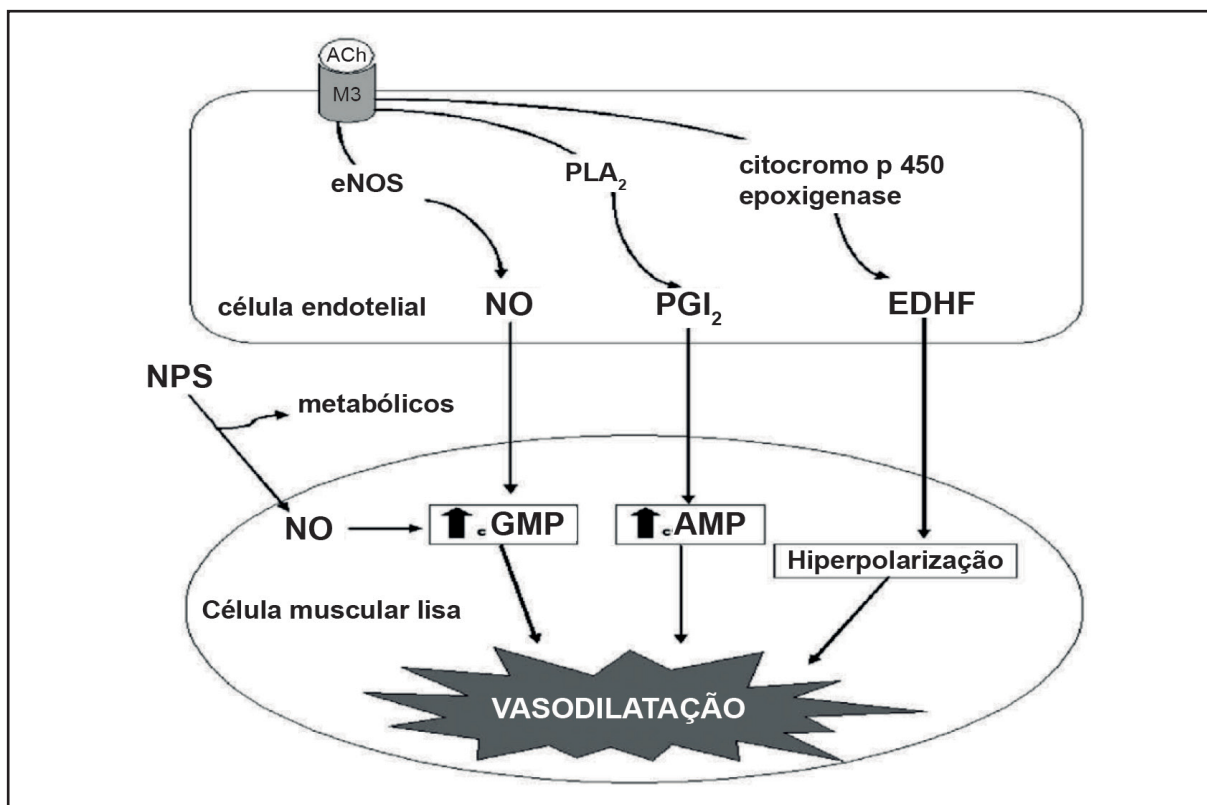


Figura 3 – Mecanismos de ação da ACh e do NPS

Legenda: ACh – acetilcolina; NPS – nitroprussiato de sódio; NO – óxido nítrico; M3 – receptor muscarínico M3; eNOS – óxido nítrico sintase endotelial; PGI₂ – prostaciclina; PLA₂ – fosfolipase A₂; EDHF – fator hiperpolarizante derivado de endotélio; cGMP – monofosfato cíclico de guanosina; cAMP – monofosfato cíclico de adenosina

Fonte: Adaptado de Turner et al., 2008.⁶³

Outro método de avaliar a função microvascular é através da manobra de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO). A HRPO proporciona um aumento do fluxo sanguíneo transitório após um breve período de oclusão arterial. Essa resposta de hiperemia é decorrente do estresse de cisalhamento causado por forças tangenciais atuando nas células endoteliais secundário à oclusão arterial. O aumento de fluxo após manobra de HRPO envolve tanto mecanismos dependentes quanto independentes de endotélio. Vários fatores parecem estar relacionados à vasodilatação proporcionada pela oclusão arterial transitória: miogênicos, neurogênicos, humoral e outros fatores locais como íons de potássio, prostaglandinas, catecolaminas e adenosina.⁶⁵

2.5 Obesidade e disfunção endotelial microvascular

Os vasos sanguíneos são compostos por três camadas: íntima, média e adventícia. A camada mais interna da camada íntima é constituída por células endoteliais que constituem uma monocamada, interface entre o lúmen vascular e as

células do músculo liso vascular. As células endoteliais controlam o tônus vascular através da síntese e liberação de fatores vasoativos que exercem seus efeitos sobre as células musculares lisas vizinhas. Além disso, as células endoteliais também exercem outras funções tais como: controle da hemostasia, permeabilidade, filtração de fluidos, trânsito de hormônios e mediação da resposta imune crônica ou aguda a vários tipos de injúria. Existem várias moléculas que controlam o tônus vascular, mas nenhuma é tão importante quanto o óxido nítrico (NO). O NO é uma pequena molécula, um gás solúvel, potente vasodilatador e com papel central na homeostase vascular. O NO é formado, a nível endotelial, a partir do aminoácido L-arginina pela isoforma endotelial do óxido nítrico sintase (eNOS). A eNOS converte L-arginina em L-citrulina utilizando como cossubstratos o oxigênio e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH) e utilizando como cofatores a flavina adenina dinucleotídeo, flavina mononucleotídeo, tetra-hidrobiopterina (BH 4) e calmodulina. A meia-vida do NO é muito curta (menos de 4 segundos). O NO se difunde para as células musculares lisas vasculares e ativa um receptor intracelular chamado guanilato ciclase solúvel (GCs), produzindo níveis aumentados de guanosina-3,5-monofosfato cíclico (GMPc) e, conseqüentemente, relaxamento das células musculares lisas e vasodilação. Os mecanismos propostos de relaxamento da musculatura lisa mediados por GMPc são: (1) inibição da síntese de inositol 1,4,5-trifosfato, (2) aumento do fluxo de cálcio citosólico, (3) desfosforilação da miosina quinase de cadeia leve, (4) diminuição do influxo de cálcio, (5) ativação de proteína quinase, (6) estimulação de cálcio-ATPase de membrana e (7) abertura de canais de potássio.⁶⁶ O NO é rapidamente metabolizado em nitrito e depois em nitrato antes de ser excretado na urina.⁶⁷

A disfunção endotelial é definida bioquimicamente como uma diminuição da quantidade de NO biodisponível a nível vascular.⁶⁸ Em um sentido mais amplo, a disfunção do endotélio engloba diversas alterações não adaptativas em seu fenótipo funcional normal, com importantes implicações na regulação da hemostasia e trombose, tônus vascular local, equilíbrio redox e na orquestração da resposta inflamatória aguda e crônica.¹⁹ Além das alterações em nível celular, a disfunção endotelial representa um marcador de doença vascular precoce e aumento do risco de eventos cardiovasculares.⁶⁹

Existem evidências robustas indicando que a obesidade está associada à disfunção endotelial, tanto em modelos animais^{70,71} quanto em humanos.^{72,73} Steinberg et al.⁷⁴ fizeram o primeiro relato de disfunção endotelial induzido pela obesidade, em 1996. Os autores demonstraram um embotamento do fluxo sanguíneo medido por cateter na veia femoral direita após infusão de doses graduais de metacolina

(vasodilatação dependente de endotélio) em indivíduos obesos em comparação com controles com peso normal. Os principais agentes participantes da disfunção endotelial na obesidade incluem resistência insulínica, forma oxidada de lipoproteína de baixa densidade (oxLDL), inflamação relacionada ao tecido adiposo e diminuição da biodisponibilidade de NO.⁷⁵ A hipertrofia dos adipócitos secundária à obesidade determina hipóxia, necrose de adipócitos e perturba o equilíbrio das citocinas derivadas do tecido adiposo. Além disso, o aumento de citocinas inflamatórias e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) causa infiltração de macrófagos ativados aumentando o processo inflamatório. A superexpressão de citocinas pró-inflamatórias é considerada a ligação entre a inflamação induzida pela obesidade e a disfunção endotelial.⁷⁵

Nas células endoteliais, a insulina, através da ligação em seu receptor de membrana e ativação de vias intracelulares que envolvem o substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1, do inglês: *Insulin receptor substrate-1*), pode ativar a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), resultando em ativação da eNOS, produção de NO e vasodilatação. Por outro lado, a insulina também pode ativar a via das quinases reguladas por sinais extracelulares (ERK1/2), acarretando aumento de endotelina e vasoconstrição. Na microcirculação saudável a ativação de eNOS induzida por insulina predomina. Entretanto, na obesidade, a ativação da PI3K encontra-se seletivamente reduzida, enquanto a ativação de endotelina permanece intacta, favorecendo resistência vascular e disfunção endotelial.^{72,76}

Sabe-se que o tecido adiposo produz uma série de quimiocinas chamadas adipocinas que controlam vários processos fisiológicos de maneira autócrina, parácrina e endócrina dentre elas a leptina, resistina e adiponectina. A leptina, cujos níveis séricos encontram-se mais elevados na obesidade, estimula o tecido adiposo perivascular (PVAT, do inglês: *perivascular adipose tissue*) a aumentar a produção de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α , do inglês: *tumor necrosis factor-alfa*) e interleucina-6 (IL-6) que, por sua vez, favorecem a disfunção endotelial através do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês: *reactive oxygen species*).⁷⁷ O TNF- α estimula a produção de ROS por meio da ativação da enzima NAD(P)H oxidase; já a IL-6, através dessa mesma enzima, além da estimulação da enzima xantina oxidase. As ROS, por sua vez, reduzem a atividade do NO, promovendo disfunção endotelial. As ROS incluem o ânion superóxido, o radical hidroxila, radicais lipídicos, peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso e peroxinitrito.⁶⁷ O estresse oxidativo leva ao desacoplamento da eNOS, um processo em que a eNOS é convertida de uma enzima produtora de NO em uma enzima que gera o ânion superóxido. Os mecanismos implicados no desacoplamento da eNOS

incluem oxidação de BH 4, depleção do substrato enzimático L-arginina e acúmulo de metilargininas endógenas. A resistina, produzida na adipogênese, aumenta a produção de endotelina-1 que possui ação vasoconstrictora no endotélio vascular. A adiponectina, por sua vez, produz efeitos opostos à leptina e resistina, desempenhando ação protetiva a nível microvascular. A adiponectina pode aumentar a ativação da eNOS através da proteína quinase dependente de AMP (AMPK) e melhorar a função endotelial através do aumento da expressão da ciclo-oxigenase-2.⁷⁸ No entanto, tem sido demonstrada reduzida produção e atividade de adiponectina na obesidade, o que poderia contribuir para desenvolvimento de resistência insulínica, disfunção endotelial e aterosclerose.

Outro mecanismo proposto para disfunção endotelial na obesidade está relacionado às arginases. As arginases são metaloenzimas que hidrolisam a L-arginina em ureia e L-ornitina. Existem duas isoformas – arginases I e II – amplamente expressadas em uma gama de tecidos incluindo o sistema cardiovascular. Tendo em vista que as arginases e a eNOS utilizam o mesmo substrato para a ação enzimática (L-arginina), um aumento da concentração ou atividade das arginases reduzem a quantidade disponível de L-arginina para produção de NO pela eNOS induzindo disfunção endotelial.⁷⁷ Indivíduos com obesidade apresentam aumento da expressão de arginases a nível vascular.

3 JUSTIFICATIVA

O estudo da função endotelial nos diferentes fenótipos de obesidade é relevante pela relativa escassez de dados a esse respeito, bem como por permitir a distinção entre perfis de portadores de obesidade com maior ou menor risco cardiovascular, o que pode levar ao direcionamento de estratégias de prevenção ou tratamento mais intensivas nos grupos com risco aumentado, com o potencial de melhorar a saúde cardiovascular desses grupos.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Investigar o impacto da obesidade metabolicamente saudável na microcirculação.

4.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar os grupos de indivíduos com obesidade metabolicamente saudável, metabolicamente não saudável e eutróficos metabolicamente saudáveis quanto aos índices de reatividade microvascular dependente e independente de endotélio, quanto à densidade capilar cutânea e quanto ao recrutamento microvascular cutâneo.
- Comparar os grupos de indivíduos com obesidade metabolicamente saudável, metabolicamente não saudável e eutróficos metabolicamente saudáveis quanto aos índices de reatividade microvascular dependente e independente de endotélio, quanto à densidade capilar cutânea e quanto ao recrutamento microvascular cutâneo.

5 MÉTODOS

5.1 Caracterização do estudo

Trata-se de estudo observacional transversal, realizado com 111 voluntários portadores de obesidade metabolicamente saudável, obesidade metabolicamente não saudável e eutróficos metabolicamente saudáveis, no Instituto Nacional de Cardiologia (INC), no período de dezembro 2019 a janeiro de 2022.

Este estudo deriva de outro projeto denominado Estudo da Saúde do Trabalhador (ESAT), cujo objetivo geral é “avaliação de indicadores de estresse, composição corporal e perfil metabólico em funcionários de hospital de referência em Cardiologia: contribuições para a qualidade de vida” (Parecer CEP/INC – CAAE: 96222718.7.0000.5272). O ESAT tem por objetivo investigar a qualidade de vida, nível de atividade física, percepção de estresse, consumo alimentar, antropometria e composição corporal, autoimagem relatada, flexibilidade, força, lipidograma e glicemia de jejum e função autonômica de todos os trabalhadores.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição sob o número CEP/CAAE: 13959019.0.0000.5272 (ANEXO). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo CEP/INC (APÊNDICE A) de acordo com a Resolução CNS 466/12.

5.2 População estudada

Foram estudados 111 indivíduos, de ambos os sexos, entre 18 anos e 55 anos, voluntários, portadores de obesidade metabolicamente saudável, obesidade metabolicamente não saudável e eutróficos metabolicamente saudáveis, funcionários ativos do INC e voluntários externos.

O recrutamento dos indivíduos do INC se deu por convite para participar da pesquisa de forma voluntária. Dada a dificuldade de inclusão entre funcionários do INC, foram recrutados voluntários externos através das mídias sociais ou por meio de contato direto feito pelos participantes da pesquisa, devidamente autorizado por emenda do CEP/INC.

O cálculo amostral foi baseado em estudo anterior do mesmo grupo do laboratório de microcirculação do INC, utilizando a técnica de LSCI.⁷⁹ Essa análise indicou que um tamanho de amostra de 31 indivíduos por grupo teria 80% de poder ao nível de significância de 5% para detectar uma diferença média de 0,156 UAP/mmHg na diferença máxima e basal da condutância vascular cutânea induzida por acetilcolina, com um desvio-padrão de 0,219 UAP/mmHg.

Os critérios de inclusão adotados foram: idade ≥ 18 anos e < 55 anos.

Os critérios de exclusão foram:

- Sobrepeso (IMC ≥ 25 kg/m² e < 30 kg/m²)
- Baixo peso (IMC $< 18,5$ kg/m²)

- Gestação ou lactação
- Doenças endócrinas, exceto diabetes
- Doenças cardiovasculares, exceto hipertensão sem uso de anti-hipertensivos
- Doenças autoimunes
- Neoplasias malignas

Foram excluídos os voluntários hipertensos em uso de medicações anti-hipertensivas (n=10), após a análise parcial dos resultados em 2021 ter mostrado que as curvas de vasodilatação, induzidas pela acetilcolina nesse grupo, apresentaram valores maiores comparados aos voluntários ObMNS não tratados com anti-hipertensivos, afastando assim o viés do efeito da medicação e não do fenótipo.

Aplicados os critérios de inclusão e exclusão nos voluntários, foram selecionados 111 indivíduos para compor a população do estudo, estratificados em três grupos (Figura 4): EMS – eutrófico metabolicamente saudável (n=32 - 29%); ObMS – obesidade metabolicamente saudável (n=24 - 21%); ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável (n=55 - 50%).

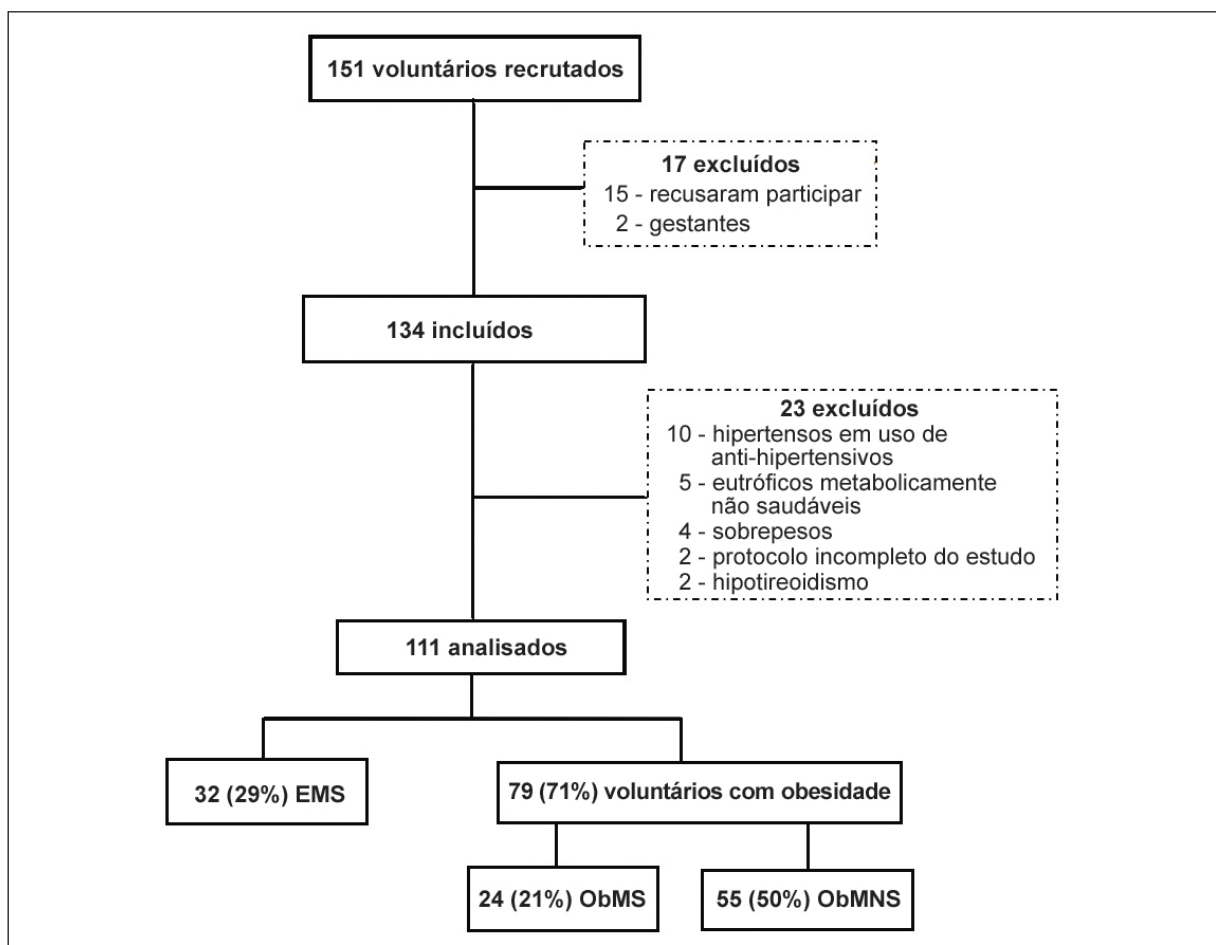


Figura 4 – Seleção da população estudada

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável

5.3 Procedimentos de investigação

Todos os voluntários foram avaliados em uma única consulta, no INC, sempre no período da manhã entre 8h e 11h, no laboratório de microcirculação. As etapas realizadas nessa única visita consistiram em: assinatura do TCLE; avaliação de peso, altura e realização da bioimpedância; coleta de sangue; videocapilaroscopia basal e após manobra de hiperemia reativa pós-oclusiva; medida da pressão arterial e frequência cardíaca e avaliação da reatividade microvascular através da técnica de LSCI.

A definição de obesidade utilizada neste estudo foi IMC ≥ 30 kg/m², conforme adotado pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A *International Diabetes Federation* (IDF)¹² define síndrome metabólica como a presença obrigatória de uma circunferência abdominal aumentada mais a presença de dois dos quatro critérios listados no Quadro 1. Neste estudo, para a definição de fenótipo “metabolicamente saudável” foi utilizado por convenção a ausência de quaisquer dos componentes da síndrome metabólica pelos critérios da IDF, exceto a circunferência abdominal.

Quadro 1 – Critérios para a presença de síndrome metabólica pela *International Diabetes Federation*

Crítérios	Valores
*Aumento da circunferência abdominal	≥ 90 cm para homens e ≥ 80 cm para mulheres**
Aumento de triglicerídeos	≥ 150 mg/dL ou tratamento específico para dislipidemia
Redução do HDL colesterol	<40 mg/dL para homens <50 mg/dL para mulheres ou tratamento específico para dislipidemia
Aumento da pressão arterial	PA sistólica ≥ 130 mmHg ou PA diastólica ≥ 85 mmHg ou tratamento de hipertensão previamente diagnosticada
Aumento de glicemia	Glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL ou diabetes tipo 2 diagnosticada previamente

Legenda: PA – pressão arterial; HDL – *high-density lipoprotein*

Nota: *critério obrigatório; ** valores referentes à população do Sul Asiático são utilizados como referência para a população da América do Sul, conforme recomendado pela diretriz da IDF.

Fonte: *International Diabetes Federation*, 2006.¹²

A população estudada foi estratificada, em função dos exames feitos, em três grupos de acordo com o fenótipo metabólico: EMS, ObMS, ObMNS, cuja descrição se encontra no Quadro 2.

Quadro 2 – Descrição dos fenótipos metabólicos da população estudada

Fenótipos metabólicos	IMC	Definição conforme SM
EMS	$\geq 18,5 \text{ kg/m}^2$ e $\leq 24,9 \text{ kg/m}^2$	Ausência de qualquer critério de SM segundo classificação da IDF, exceto circunferência abdominal
ObMS	$\geq 30 \text{ kg/m}^2$	Ausência de qualquer critério de SM segundo classificação da IDF, exceto circunferência abdominal
ObMNS	$\geq 30 \text{ kg/m}^2$	Presença de um ou mais critérios de SM segundo classificação da IDF, exceto circunferência abdominal

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; IMC – índice de massa corpórea; IDF – *International Diabetes Association*; SM – síndrome metabólica

Foram considerados hipertensos os voluntários que informaram essa comorbidade no questionário que será detalhado adiante.

Foram considerados diabéticos os voluntários que informaram essa comorbidade no questionário ou que apresentaram os seguintes critérios laboratoriais: glicemia plasmática de jejum $\geq 126 \text{ mg/dL}$ e hemoglobina glicada $\geq 6,5\%$.⁸⁰

Foram considerados dislipidêmicos os voluntários que apresentaram ao exame laboratorial as seguintes alterações: LDL-colesterol $\geq 160 \text{ mg/dL}$ ou triglicerídeos séricos $\geq 150 \text{ mg/dL}$ ou HDL-colesterol $< 40 \text{ mg/dL}$ em homens ou HDL-colesterol $< 50 \text{ mg/dL}$ em mulheres ou uso de medicamento redutor de colesterol ou triglicerídeos.⁸¹

Foram considerados portadores de hipotireoidismo os voluntários que mencionaram ter tal comorbidade ao questionário, assim como os voluntários que apresentaram valores de TSH acima do limite superior de normalidade ($\text{TSH} > 4,94 \text{ mUI/L}$) associado a um T4 livre abaixo do limite inferior do laboratório do INC ($\text{T4L} < 0,8 \text{ ng/dL}$).

5.3.1 Etapas sequenciais de avaliação inicial dos voluntários

As etapas sequenciais de avaliação inicial dos voluntários estão na Figura 5.

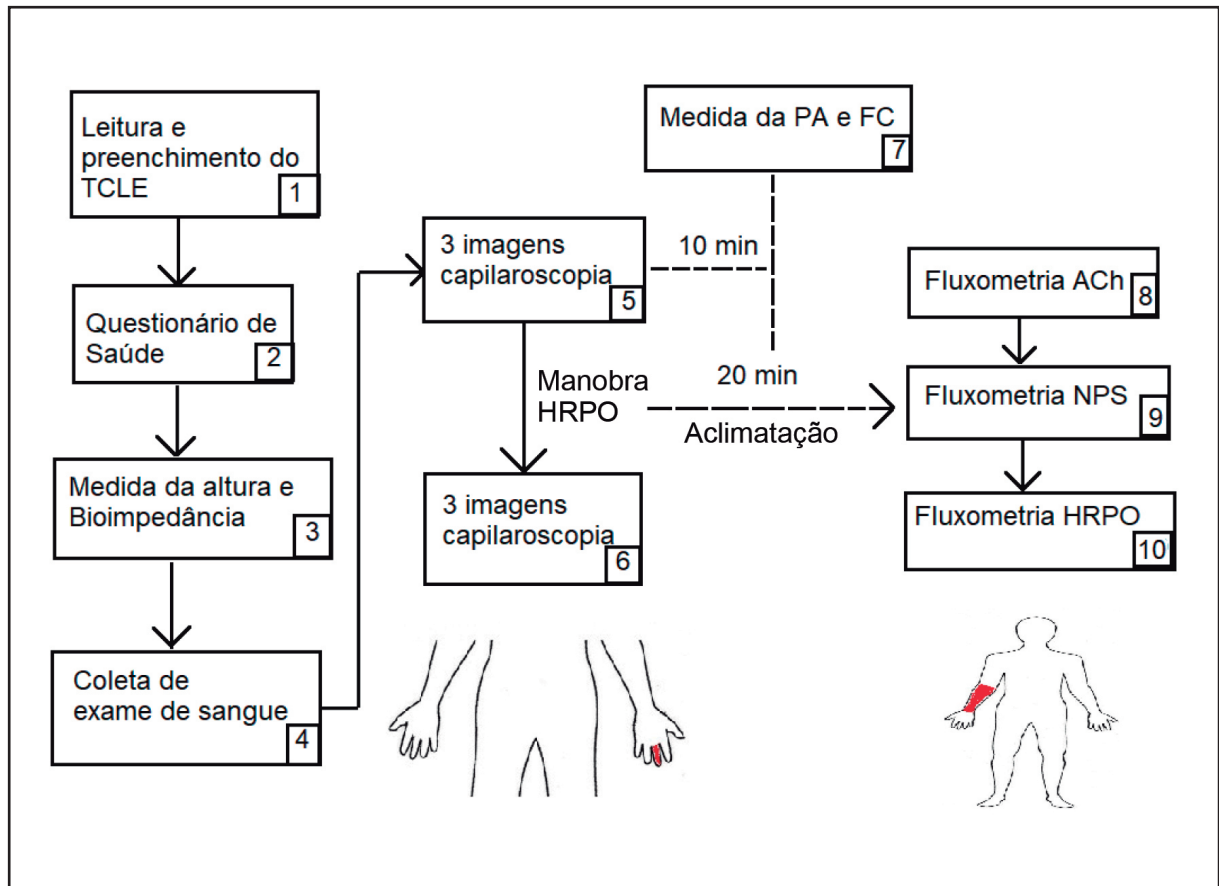


Figura 5 – Etapas sequenciais da avaliação inicial dos voluntários

Legenda: TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; PA – pressão arterial; FC – frequência cardíaca; ACh – acetilcolina; NPS – nitroprussiato de sódio; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva

Essas etapas estão descritas a seguir:

a) Questionário

Todos os voluntários preencheram um questionário com informações clínicas e demográficas: escolaridade; renda familiar; etilismo atual (sim/não); presença de comorbidades: hipertensão, diabetes mellitus, dislipidemia, menopausa, doença pulmonar obstrutiva crônica, hipotireoidismo, depressão; outras doenças não mencionadas; medicamentos em uso; atividade física (sim ou não); tabagismo (sim ou não); diagnóstico de Covid-19 (sim ou não).

Houve necessidade de perguntar o diagnóstico pregresso de infecção por Covid-19 a partir da data de 26 de fevereiro de 2020, após o registro do primeiro caso no Brasil. Posteriormente, ao final do recrutamento de todos os indivíduos, foi realizado contato telefônico com os voluntários que haviam respondido SIM para diagnóstico de Covid-19 para atualizar as informações.

b) Medidas antropométricas e bioimpedância

A altura foi medida em balança clínica com estadiômetro (Líder – LD1050 – Brasil). Não foi realizada medida da circunferência abdominal tendo em vista que esse critério não foi utilizado para definição de obesidade e foi excluído da definição do fenótipo “metabolicamente saudável”.

A bioimpedância foi realizada através de aparelho multifrequencial tetrapolar com oito eletrodos tácteis da marca *Bioespace*, modelo *Inbody 720®*. Os voluntários receberam instruções preparativas específicas para a realização do exame.

Os dados emitidos pelo equipamento são: peso total (kg), massa muscular esquelética total (kg), massa de gordura total (kg), percentual de gordura corporal (PGC), água intra e extracelular (kg).

c) Avaliação do perfil metabólico

Para avaliação do perfil metabólico foi realizada coleta de sangue. Os exames avaliados foram: Colesterol total (método: colorimétrico enzimático, unidade: mg/dL); HDL-colesterol (método: colorimétrico enzimático, unidade: mg/dL); LDL-colesterol (método: imunoensaio, unidade: mg/dL); Triglicerídeos (método: colorimétrico enzimático, unidade: mg/dL); Glicose (método: hexoquinase, unidade: mg/dL); Hemoglobina glicada (método: HPLC, unidade: %); Insulina (método: quimioluminescência, unidade: μ UI/mL); Ureia (método: urease, unidade: mg/dL); Creatinina (método: cinético, unidade: mg/dL); Ácido úrico (método: uricase, unidade: mg/dL); Transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) (método: UV cinético, unidade: U/L); Transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) (método: UV cinético, unidade: U/L); Hormônio tireoestimulante (TSH) (método: quimioluminescência, unidade: mUI/mL); T4 livre (método: Eletroquimioluminescência, unidade: ng/dL). Calculou-se a resistência insulínica pelo HOMA-IR (*Homeostatic model assessment for Insulin resistance*) através da fórmula: $\text{HOMA-IR} = (\text{glicemia de jejum}) \times (\text{insulina em jejum}) / 405$, de acordo com as unidades descritas acima.⁸²

As análises de hemoglobina glicada, insulina, transaminases, ureia, creatinina e ácido úrico, embora não tenham sido determinantes para fins de classificação dos fenótipos metabólicos, foram analisadas para se conhecer de modo mais abrangente o perfil metabólico da população estudada.

d) Avaliação da densidade capilar

A densidade capilar cutânea, definida como o número de capilares presentes em determinada área, foi analisada em 1 mm² na pele do dorso da segunda falange do dedo médio da mão esquerda (terceiro quirodáctilo esquerdo),^{83,84} foi realizada utilizando videomicroscópio, equipado com um microscópio de fibra óptica epi-iluminado contendo uma fonte de luz de lâmpada de vapor de mercúrio de 100 W e uma objetiva M200 (*Moritex Micro-Scopeman MS-500C; Moritex, Tóquio, Japão*) para uma ampliação final de 200 ×. A aquisição assim como o registro em disco e análise posterior das imagens foi realizada através de sistema integrado (*Microvision Instruments, Evry, France*) (Apêndice B).

A densidade capilar cutânea média de cada paciente foi obtida pelo cálculo da média aritmética do número de capilares contados em três campos microscópicos contíguos. Foram realizados 6 registros de imagem em cada voluntário, 3 basais (B1, B2 e B3) e 3 após uma manobra de HRPO para induzir recrutamento capilar (H1, H2 e H3). Os registros H1, H2 e H3 foram realizados em até 1 minutos após a manobra de HRPO.

Por experiência do laboratório, foi escolhida a hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO) como manobra de escolha para induzir o recrutamento capilar. A manobra de HRPO consistiu em manter o manguito de pressão arterial insuflado em 200 mmHg durante 3 minutos seguida de súbita desinsuflação do mesmo. A manobra de HRPO foi realizada com esfigmomanômetro manual (*ADC Diagnostix 750W Wall Aneroid Sphygmomanometer – Made in USA/Braçadeira Premium – Made in China*). Todas as imagens de cada voluntário foram contadas pelo pesquisador deste estudo.

e) Medida da pressão arterial

A avaliação da pressão arterial (PA) e da frequência cardíaca (FC) foi realizada antes da realização da fluxometria através de uma única medida com o aparelho automático *Omron* modelo HEM-705CP e manguito de tamanho apropriado, após um tempo mínimo de repouso de 10 minutos em posição supina. A pressão arterial média foi calculada pela fórmula: $PAM = PAD + [(PAS - PAD) \div 3]$.

f) Avaliação da reatividade microvascular

A reatividade microvascular cutânea foi avaliada através da técnica de fluxometria *laser speckle* (*Laser speckle contrast imaging - LSCI*, tradução

em português “imagem por contraste de granulação por *laser*”), padronizada e validada em dois centros de investigação clínica da França.^{85,86} O LSCI é baseado no princípio de que a luz retroespalhada de um tecido que é iluminado com luz *laser* coerente forma um padrão de interferência aleatório no detector, o chamado padrão de manchas. Esse embaçamento pode estar relacionado ao fluxo sanguíneo se as flutuações forem causadas pelo movimento dos glóbulos vermelhos.⁸⁷

Um sistema de fluxometria *laser speckle* (comprimento de onda de 780 nm; *PeriCam PSI-NR*, *Perimed AB*, *Järfälla*, Suécia) acoplado a um sistema farmacológico de microiontoforese (*Perilont*, *Perimed AB*) (Figura 6A) foi utilizado para a avaliação não invasiva e em tempo real das variações de fluxo microvascular dependentes (acetilcolina) e independentes (nitroprussiato de sódio) de endotélio.

Os exames foram realizados no turno da manhã, no laboratório de microcirculação do INC, em sala com temperatura controlada ($23\pm1^{\circ}\text{C}$) e ambiente silencioso, após 20 minutos de período de repouso em posição supina, após o término da aquisição das imagens por videocapilaroscopia.

Os eletrodos de microiontoforese foram colados à face ventral da pele do antebraço direito através de adesivos dupla-face fornecidos pelo fabricante (LI611 *electrodes*, *Perimed*, *Järfälla*, Suécia) (Figura 6B). Os eletrodos foram posicionados sempre no braço contralateral ao utilizado para a realização da capilaroscopia para evitar alteração do fluxo microvascular decorrente da manobra de HRPO. Os eletrodos foram preenchidos com 200 μl de solução de 2% de acetilcolina (cloreto de acetilcolina) ou 2% nitroprussiato de sódio (*Sigma Chemical CO*, *St. Louis*, *USA*) e os eletrodos neutros (dispersão da corrente) foram instalados 15 cm acima dos eletrodos de infusão. Após registro da linha de base do fluxo microvascular cutâneo durante 5 minutos, 6 doses de acetilcolina (corrente anódica) ou nitroprussiato de sódio (corrente catódica) de intensidades crescentes de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 μA e tempo de infusão de 10 segundos foram administradas de maneira cumulativa a cada 60 segundos (Figura 7). As cargas totais para as correntes acima foram 0,3, 0,6, 0,9, 1,2, 1,5 e 1,8 mC, respectivamente. Após a última corrente, o fluxo sanguíneo microvascular foi registrado durante 120 segundos, resultando em um tempo total de registro de 540 segundos para todas as curvas de ACh e NPS. Utilizou-se um coxim a vácuo (AB Germa, *Kristianstad*, *Sweden*) para moldar o contorno do antebraço direito com a intenção de ser um restritor de movimentos para evitar artefatos no registro do fluxo.

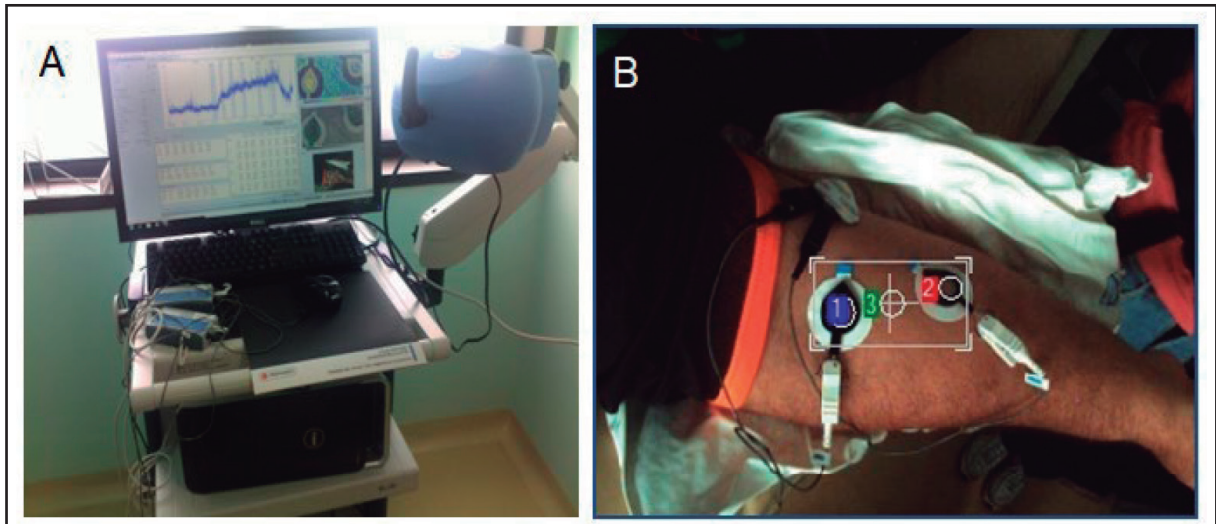


Figura 6 – Sistema de fluxometria *laser speckle*

Em A: Aparelho de LSCI e software *Perisoft*.

Legenda: *LSCI* – *laser speckle contrast imaging*

Nota: O registro do sinal do *laser speckle* é feito por um computador e as imagens são analisadas através de um software de aquisição automática de dados.

Em B: Posicionamento dos eletrodos na pele do antebraço e da almofada a vácuo.

Nota: 1 - eletrodo neutro; 2 - eletrodo de infusão; 3 - distância entre os dois eletrodos.

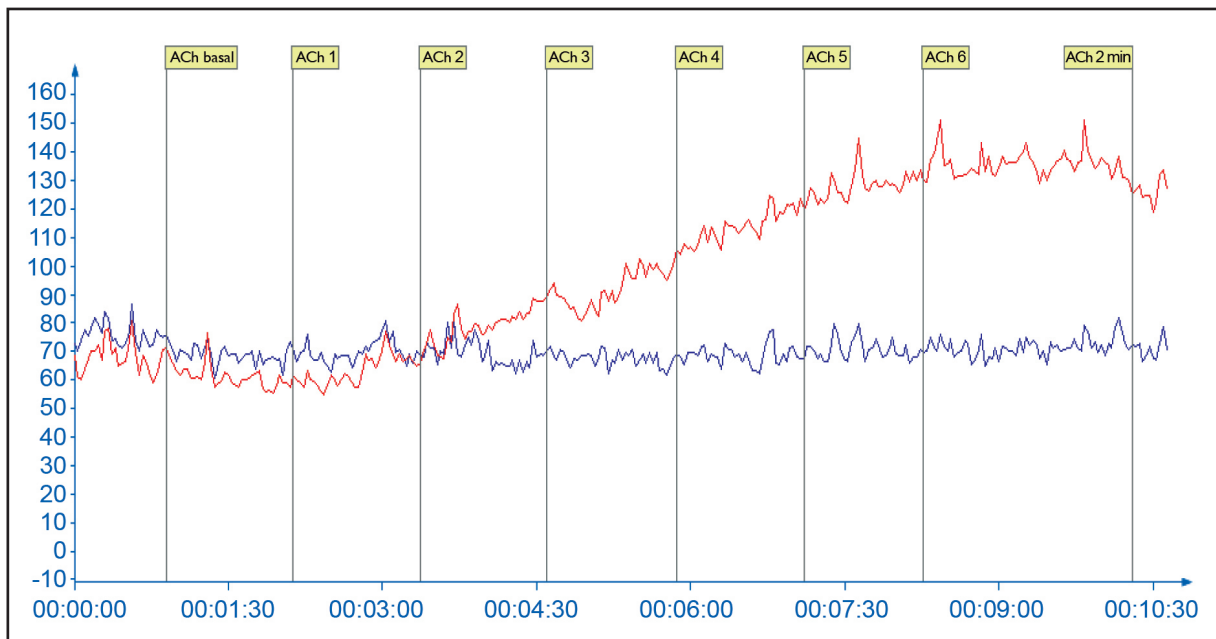


Figura 7 – Registro representativo da resposta do fluxo microvascular à acetilcolina

Legenda: ACh – acetilcolina

Nota: Após estímulo com doses cumulativas de acetilcolina (linha vermelha), ocorre aumento do fluxo microvascular, comparado a uma área não estimulada (linha azul) em que o registro do fluxo é linear.

O sinal é semiquantitativo e expresso em unidades arbitrárias de perfusão (UAP), de acordo com o consenso europeu (*European Laser Doppler Users Groups, London 1992*). O sinal de *laser speckle*, que representa o fluxo microvascular

cutâneo, foi registrado em computador de forma contínua através de *software* de aquisição automática de dados (*Perisoft for Windows*).

Para os testes de hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO), a oclusão arterial foi realizada com pressão suprassistólica através de manguito pneumático insuflado no braço direito em 200 mmHg durante 3 minutos, e ao fim dos 3 minutos desinsuflado subitamente. Após a liberação do manguito, foi medido o fluxo microvascular cutâneo máximo. O teste de HRPO foi realizado após a iontoforese com ACh e NPS para evitar interferência com esses testes farmacológicos, que se limitam a respostas locais na pele. Ao contrário, a resposta hiperêmica é global, estendendo-se por toda a pele do antebraço e, portanto, pode interferir nos testes subsequentes de reatividade microvascular.

A iontoforese é definida como a permeação de moléculas de drogas ionizadas através de membranas biológicas sob a influência de corrente elétrica (derivado do grego “ionto” que significa “íon” e “forese” que significa “carregar”). É um método não invasivo usado para aumentar a concentração de uma substância carregada, geralmente agentes bioativos, transdermicamente por força eletromotriz repulsiva usando uma pequena corrente elétrica aplicada à uma câmara iontoforética, um agente ativo de carga semelhante e seu veículo. Esse sistema permite a penetração de fármacos através da camada mais externa da pele (o estrato córneo), que representa o principal contribuinte para a impermeabilidade da pele. Para uma entrega eficaz via iontoforese, a câmara carregada positivamente, denominada ânodo, irá repelir um produto químico carregado positivamente, enquanto o cátodo carregado negativamente irá repelir um produto químico carregado negativamente na pele (Figura 8).⁸⁸

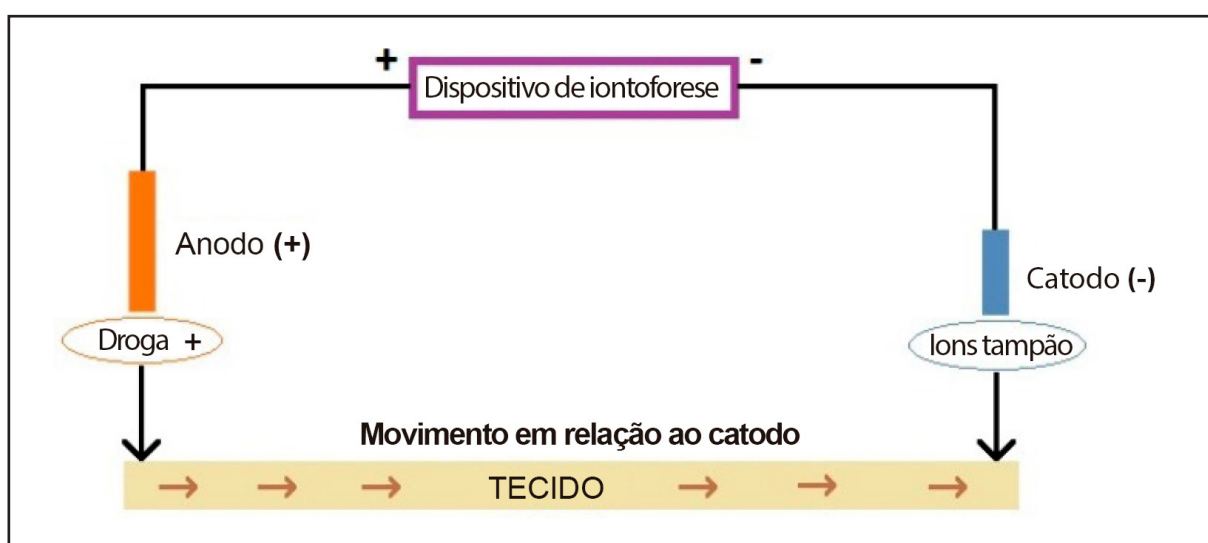


Figura 8 – Esquema de um dispositivo de iontoforese

Fonte: Adaptado de Dhote et al., 2012.⁸⁸

5.3.2 Desfechos

Desfecho primário

O desfecho primário avaliado no presente estudo foi o valor do aumento da condutância vascular cutânea induzida por iontoforese de acetilcolina (CVC ACh pico-basal). A condutância representa o valor em unidades arbitrárias de perfusão (UAP) dividido pela pressão arterial média (PAM). Portanto o valor do aumento da condutância vascular cutânea induzida por iontoforese de acetilcolina representa a diferença de fluxo máxima obtida pelo método subtraída pelo seu valor basal (em repouso) em razão da pressão arterial média do indivíduo.

$\text{CVC ACh pico-basal} = (\text{fluxo máx-basal})/(\text{PAM})$, sendo,

- fluxo máx: o fluxo sanguíneo máximo após iontoforese com acetilcolina na dose máxima (unidades em UAP)
- fluxo basal: o fluxo sanguíneo basal (unidades em UAP)
- PAM: pressão arterial média (unidade em mmHg)
- CVC ACh pico – basal: o desfecho primário (em UAP / mmHg)

Desfechos secundários

Os índices de reatividade microvascular, suas siglas e definições avaliados pelo LSCI foram listados e encontram-se no Quadro 3. Foram selecionadas oito variáveis da fluxometria e isoladamente foram comparadas entre os três grupos e utilizadas como desfechos secundários. Os índices de reatividade microvascular utilizados como desfechos secundários foram:

- CVC basal
- ASC ACh
- CVC ACh pico
- CVC NPS pico-basal
- ASC NPS
- CVC NPS pico
- CVC pico HRPO
- CVC pico-basal HRPO

Além dos índices de reatividade microvascular como desfechos secundários foram utilizados os dados da densidade capilar cutânea:

- Densidade capilar cutânea média basal
- Densidade capilar cutânea média após HRPO
- Recrutamento capilar cutâneo médio após HRPO

Quadro 3 – Variáveis mensuradas pelo método LSCI e suas definições

Variáveis	Definições
<u>CVC basal</u>	Fluxo microvascular após aclimação ao laboratório e antes de qualquer estímulo farmacológico ou fisiológico. CVC basal representa o valor acima dividido pela PAM. Unidade: UAP/mmHg
CVC ACh dose 1-6 CVC NPS dose 1-6	Fluxo microvascular nas doses 1, 2, 3, 4, 5 e 6 de acetilcolina e nitroprussiato de sódio, respectivamente. As doses representam correntes elétricas de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 microampères (μ A). A CVC ACh ou NPS doses 1 – 6 representa cada um desses valores divididos pela PAM. Unidade: UAP/mmHg
<u>CVC ACh pico</u> <u>CVC NPS pico</u>	Representa o fluxo microvascular após a dose 6 de ACh e NPS (180 μ A), respectivamente, dividido pela PAM. Unidade: UAP/mmHg
<u>CVC ACh Pico-basal</u> <u>CVC NPS pico-basal</u>	Diferença entre a condutância máxima alcançada com a maior dose (dose 6) de ACh e NPS, respectivamente, e a CVC basal. Unidade: UAP/mmHg
<u>ASC ACh</u> <u>ASC NPS</u>	Área sob a curva de vasodilatação microvascular induzida por ACh e NPS, respectivamente. Unidade: UAP/segundo
CVC Basal HRPO	Representa o valor do fluxo microvascular imediatamente antes da manobra de HRPO, dividido pela PAM. Unidade: UAP/mmHg
<u>CVC Pico HRPO</u>	Valor do fluxo microvascular máximo após manobra de HRPO dividido pela PAM. Unidade: UAP/mmHg
<u>CVC Pico-basal HRPO</u>	Representa a diferença entre o fluxo sanguíneo microvascular cutâneo máximo induzido pela manobra de HRPO e a CVC basal HRPO basal corrigido pela pressão arterial média. Unidade: UAP/mmHg

Legenda: CVC – condutância vascular cutânea; ACh – acetilcolina; NPS – nitroprussiato de sódio; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva; ASC – área sob a curva

Nota: As variáveis sublinhadas são os desfechos secundários considerados.

5.4 Análise Estatística

A tabulação dos dados foi realizada utilizando-se a plataforma REDcap (*Research Eletronic Data Capture*).

Todos os parâmetros analisados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Variáveis com distribuição paramétrica foram descritos como médias e desvio-padrão e variáveis com distribuição não paramétricas como medianas e intervalo interquartil, percentis 25-75.

A análise estatística das diferenças entre os três grupos de voluntários foi realizada através da análise da variância de uma entrada (one way ANOVA) com pós-teste de Tukey para as variáveis com distribuição paramétrica. As variáveis com

distribuição não paramétrica foram comparadas com o teste Kruskal-Wallis e pós-teste de comparações múltiplas de Dunn. As variáveis categóricas foram descritas em percentagem analisadas através do teste Fisher ou qui-quadrado.

Para a análise estatística das curvas de vasodilatação utilizou-se ANOVA de duas vias, seguida de comparações múltiplas (teste de múltiplas comparações de Tukey).

Para a análise estatística da densidade capilar cutânea foi utilizado o teste *one way* ANOVA para comparar as médias da densidade capilar cutânea basal e após manobra de HRPO entre os três grupos. A análise do recrutamento capilar cutâneo entre cada grupo (grupos pareados, dependentes e de distribuição não paramétrica) foi realizada pelo teste de Wilcoxon.

Os *outliers* foram identificados através do método ROUT (coeficiente $Q=1\%$) e removidos para as análises dos desfechos primários e secundários.

A análise foi processada pelo programa estatístico *Graph Pad Prism version 7.0* (GraphPad Software Inc. La Jolla, CA, USA) e estabelecido o nível de significância $p<0,05$.

Analisaram-se as associações ou correlações entre as variáveis sexo, idade, menopausa e diagnóstico prévio de Covid-19 com as variáveis de reatividade microvascular da técnica de LSCI. As correlações com a idade foram realizadas através do teste de correlação de Pearson. As associações com sexo, menopausa e diagnóstico prévio de Covid-19 foram realizadas através do teste t de Student para as variáveis de distribuição paramétrica e do teste de Mann Whitney para as variáveis de distribuição não paramétrica. Para as variáveis que apresentaram correlação ou associação significativa ($p<0,05$), realizou-se regressão linear simples. Para essa análise utilizou-se o programa Jamovi versão 2.3.

6 RESULTADOS

6.1 Recrutamento

Foram recrutados 151 voluntários entre dezembro de 2019 e janeiro de 2022. Dos voluntários recrutados, 15 se recusaram a participar e 2 foram excluídas por gestação. No total, 134 voluntários foram incluídos. Destes, 23 foram excluídos pelos critérios adotados e 111 foram analisados: 32 no grupo EMS, 24 no grupo ObMS e 55 no grupo ObMNS.

Os motivos para a exclusão dos 23 voluntários foram: hipertensos em uso de anti-hipertensivos ($n=10$), eutróficos metabolicamente não saudáveis ($n=5$), sobrepeso ($n=4$), dados incompletos ($n=2$) e hipotireoidismo ($n=2$). Dos voluntários excluídos por hipotireoidismo, um deles foi por critérios laboratoriais e outro por relato no questionário.

Entre os 111 analisados, 34 foram voluntários internos (funcionários do INC) e 77 voluntários externos. Dos 34 funcionários do INC, 16 haviam participado do estudo ESAT.

6.2 Dados da população estudada

As características clínicas, antropométricas e socioeconômicas da população estudada estão apresentadas na Tabela 1. A média de idade foi $33,1 \pm 7,64$ anos, sendo 52% do sexo feminino. Não houve diferença significativa em relação à idade ($p=0,23$) e ao sexo ($p=0,54$) entre os três grupos estudados.

Os grupos ObMS e ObMNS apresentaram maiores valores de peso ($p<0,0001$), IMC ($p<0,0001$) e PGC ($p<0,0001$) em relação ao grupo EMS. Não houve diferença significativa entre os dois grupos com obesidade em relação ao peso ($p=0,50$), IMC ($p=0,14$) e PGC ($p>0,99$).

Voluntários do grupo ObMNS apresentaram maiores valores de glicemia de jejum ($p<0,0001$), triglicérides ($p<0,0001$), pressão arterial sistólica ($p<0,0001$) e ácido úrico ($p<0,0001$), e menores valores de HDL-colesterol ($p<0,0001$) em relação aos demais grupos. Ambos os grupos com obesidade também apresentaram maiores valores de insulina ($p<0,0001$), HOMA-IR ($p<0,0001$), pressão arterial diastólica ($p<0,0001$) e pressão arterial média ($p<0,0001$) do que o grupo EMS. O grupo ObMNS apresentou maiores valores de hemoglobina glicada ($p<0,0001$), LDL-colesterol ($p=0,0003$), TGP ($p=0,0009$) e ureia ($p=0,03$) em relação ao grupo EMS. O percentual de obesidade grau I, II e III entre os grupos ObMS e ObMNS foi respectivamente: 67% vs. 47% ($p=0,14$); 21% vs. 33% ($p=0,42$); 12% vs. 20% ($p=0,53$).

Tabela 1 – Características da população estudada

	EMS (n=32)	ObMS (n=24)	ObMNS (n=55)	p-valor
Idade (anos)	33 ± 10	34 ± 5	33 ± 7	0,23
Sexo masculino n (%)	13 (40)	11 (46)	29 (53)	0,54
Peso corporal (kg)	65 ± 10	102 ± 15 ****	105 ± 15 ****	<0,0001
Índice de massa corporal (kg/m ²)	23,6 (21,5-24,3)	32,8 (31,5-36,1) ****	36,3 (33,9-39,4) ****	<0,0001
Percentual de gordura corporal (%)	24,4 ± 8	40,5 ± 8 ****	42,6 ± 7,6 ****	<0,0001
Obesidade grau I n (%)	n/a	16 (67)	26 (47)	0,14
Obesidade grau II n (%)	n/a	5 (21)	19 (33)	0,42
Obesidade grau III n (%)	n/a	3 (12)	11 (20)	0,53
Glicemia em jejum (mg/dL)	85 ± 7	88 ± 7	94 ± 11 ****†	<0,0001
Hemoglobina glicada (%)	5,0 ± 0,3	5,2 ± 0,3	5,5 ± 0,5 ****	<0,0001
Insulina em jejum (μUI/mL)	7,0 (5,9-10,5)	16,7 (10,8-26,8) ***	22,4 (17,5-32,2) ****	<0,0001
HOMA-IR	1,6 (1,2-2,3)	3,8 (2,2-5,8) ***	5,2 (3,9-7,4) ****	<0,0001
Colesterol total (mg/dL)	178 (167-201)	173 (154-197)	189 (171-205)	0,22
Colesterol LDL (mg/dL)	101 (91-118)	115 (91-132)	128 (114-149) ***	0,0003
Colesterol HDL (mg/dL)	67 (54-80)	55 (47-61)	42 (37-49) ****†††	<0,0001
Triglicerídeos (mg/dL)	65 (49-82)	71 (57-103)	118 (90-168) ****†††	<0,0001
Creatinina (mg/dL)	0,86 ± 0,16	0,84 ± 0,21	0,85 ± 0,18	0,91
Ureia (mg/dL)	28 (23-36)	24 (21-29)	24 (22-28) *	0,03
TSH (μUI/mL)	1,9 ± 0,9	2,1 ± 0,8	2,2 ± 1,0	0,31
T4 livre (ng/dL)	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,24
TGO (U/L)	20,1 ± 5,5	19,5 ± 5,2	21,6 ± 8,9	0,50
TGP (U/L)	17,3 ± 6,8	23,6 ± 12,3	28,4 ± 15,2 ***	0,0009
Ácido úrico (mg/dL)	4,6 (3,7-5,0)	4,5 (3,9-5,6)	5,7 (4,8-6,7) ***†	<0,0001
Pressão arterial sistólica (mmHg)	112 ± 9	117 ± 8	126 ± 12 ****††	<0,0001

continua

conclusão

	EMS (n=32)	ObMS (n=24)	ObMNS (n=55)	p-valor
Pressão arterial diastólica (mmHg)	69 ± 6	74 ± 7 *	80 ± 10 ****	<0,0001
Pressão arterial média (mmHg)	83 ± 6	89 ± 7 *	96 ± 10 ****†	<0,0001
Frequência cardíaca (bpm)	63 ± 9	67 ± 9	66 ± 8	0,32
Diabetes mellitus n (%)	0	0	1 (2)	1
Hipertensão arterial sistêmica n (%)	0	0	1 (2)	1
Dislipidemia n (%)	1 (3)	2 (8)	40 (73)	<0,001
Menopausa n (%)	2 (6)	0	0	0,12
DPOC	0	0	0	n/a
Hipotireoidismo	0	0	0	n/a
Diagnóstico prévio de depressão n (%)	2 (6)	5 (21)	10 (18)	0,23
Etilismo atual n (%)	20 (62)	12 (50)	29 (53)	0,58
Tabagismo n (%)	0	2 (8)	7 (13)	0,08
Atividade física n (%)	18 (56)	6 (25)	16 (29)	0,01
Diagnóstico prévio de Covid-19 n (%)	7 (22)	4 (17)	12 (22)	0,90
Escolaridade				
>12 anos estudo n (%)	29 (91)	16 (67)	29 (53)	0,0014
9-12 anos estudo n (%)	2 (6)	7 (29)	24 (44)	0,008
<9 anos de estudo n (%)	1 (3)	1 (4)	2 (3)	0,97
Renda familiar (em salários-mínimos)	7,9 (4,3-12,5)	4,5 (3,6-9,3)	3,2 (1,8-5,0) ****	0,0001

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; HOMA-IR – *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*; Colesterol LDL – *low density lipoprotein*; Colesterol HDL – *high density lipoprotein*; TSH – hormônio tireoestimulante; T4 livre – tiroxina livre; TGO – transaminase glutâmico-oxalacética; TGP – transaminase glutâmico-pirúvica; DPOC – doença pulmonar obstrutiva crônica; n/a – não aplicável

Nota: Os resultados estão expressos em médias±desvios-padrão.

* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001 comparado com EMS.

† p<0,05; †† p<0,01; ††† p<0,001 comparado com ObMS.

Valor de p em negrito indica significância estatística.

Nenhum dos 111 voluntários referiu ser portador de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Apenas um voluntário no grupo ObMNS declarou ser portador de hipertensão arterial, porém sem fazer uso de medicação anti-hipertensiva. Apenas um voluntário apresentou critérios laboratoriais compatíveis com diagnóstico de diabetes mellitus, porém não fazia uso de medicação antidiabética.

Um voluntário do grupo EMS e um voluntário do grupo ObMS referiram ser portadores de dislipidemia e nenhum referiu esse diagnóstico no grupo ObMNS. Ambos eram portadores de dislipidemia do tipo hipercolesterolemia isolada (LDL colesterol ≥ 160 mg/dL) e não faziam uso de medicação redutora do colesterol. Já no grupo ObMNS, 40 (73%) dos 55 voluntários apresentaram diagnóstico de dislipidemia pelos critérios laboratoriais.

Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à depressão, como também em relação ao etilismo e ao tabagismo atual. Os voluntários do grupo EMS relataram fazer mais atividade física que os demais grupos ($p=0,01$). O grupo ObMNS apresentou renda familiar menor em relação ao grupo EMS (7,9 vs. 3,2 salários-mínimos, $p<0,0001$). Já o grupo ObMS também teve uma renda familiar menor que o grupo EMS, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,35$).

Entre os 111 voluntários analisados, 23 relataram infecção por Covid-19 previamente ao dia da visita: 7 eram do grupo EMS, 4 do grupo ObMS e 12 do grupo ObMNS. Em relação à internação hospitalar, 19 informaram não terem sido hospitalizados, 1 informou que precisou ser internado e 3 não responderam. Em relação ao diagnóstico, 16 informaram ter confirmado o diagnóstico por exame de PCR, 3 por meio de exames sorológicos, 1 paciente referiu ter feito diagnóstico apenas através de tomografia de tórax, 1 voluntário informou não ter feito exame laboratorial confirmatório e 3 voluntários não responderam.

6.3 Reatividade microvascular

A iontoforese cutânea de ACh e NPS induziu aumentos dependentes da corrente nos valores de condutância microvascular cutânea em todos os grupos de voluntários (Figura 9 A e B). Não houve diferença significativa em relação à reatividade microvascular dependente de endotélio (ACh) e independente de endotélio (NPS) entre os grupos (Figura 10 A e B). Os valores dos desfechos primário e secundários estão listados na Tabela 2.

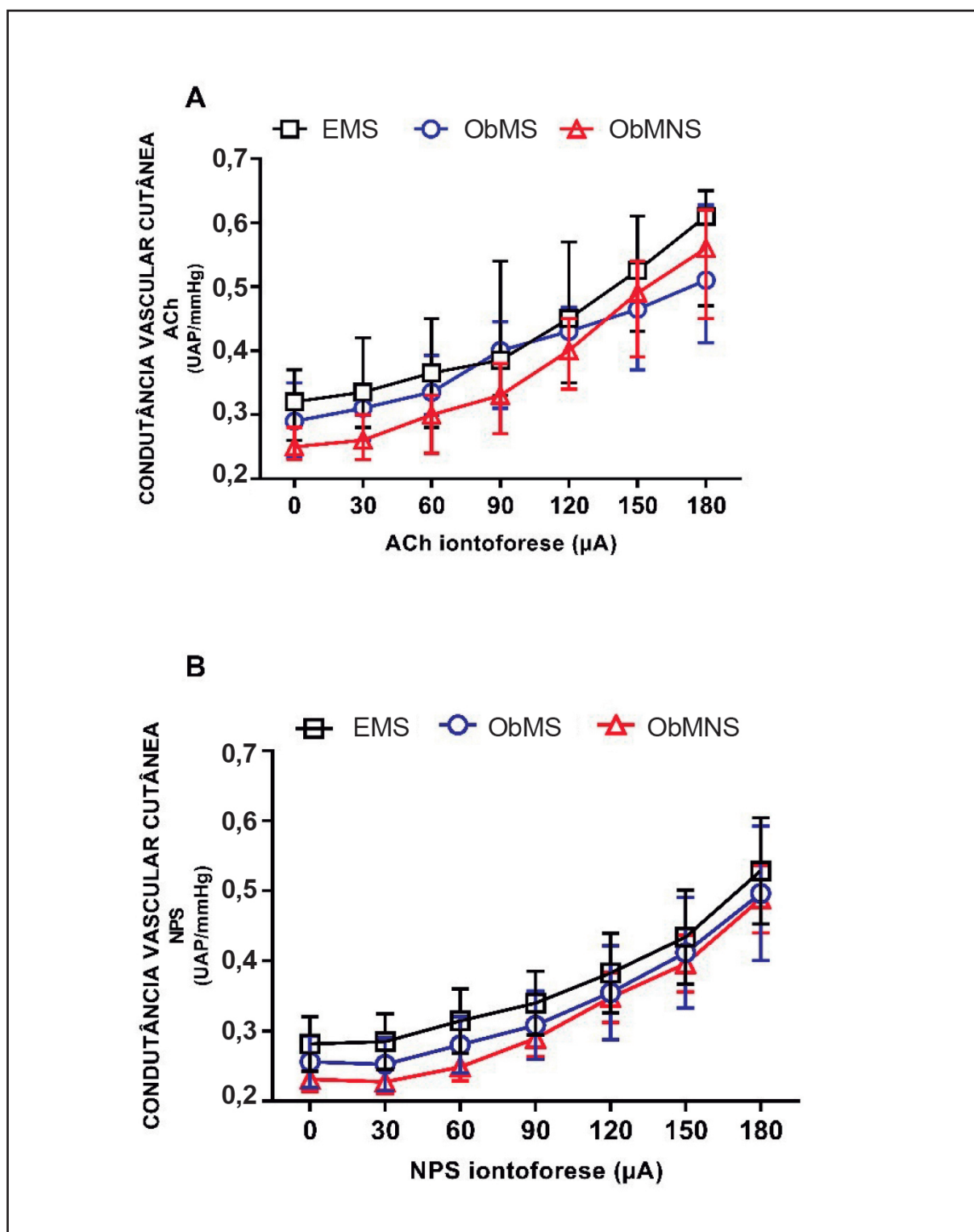


Figura 9 – Condutância microvascular cutânea nos grupos estudados

Em A: Efeitos da iontoforese com acetilcolina (ACh).

Em B: Efeitos da iontoforese com nitroprussiato de sódio (NPS).

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável

Nota: Resultados expressos em unidades arbitrárias de perfusão (UAP) divididos pela pressão arterial média em mmHg, representando a vasodilatação dependente de endotélio (ACh) e independente de endotélio (NPS).

Os valores estão representados por medianas (IC95%).

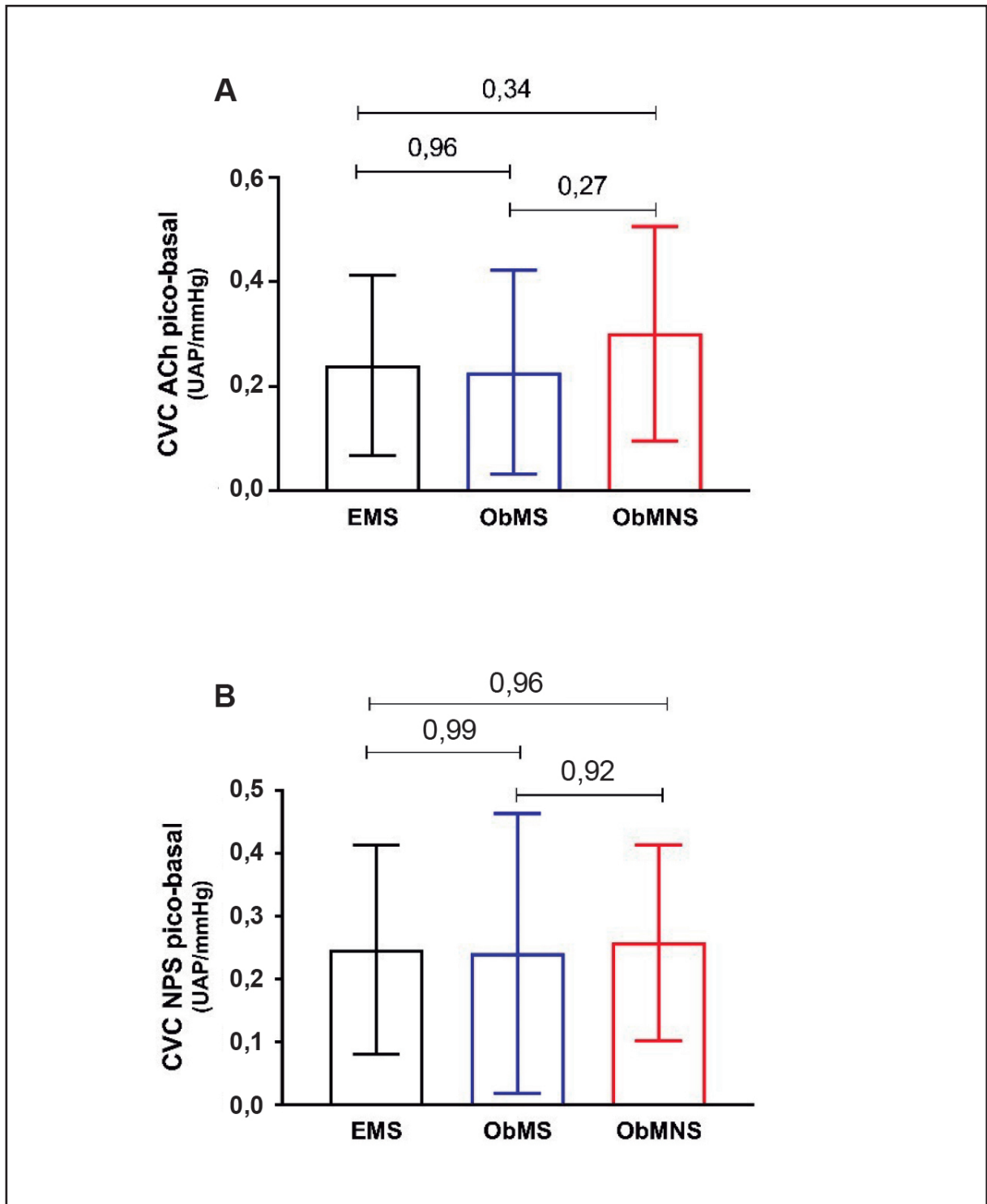


Figura 10 – Diferença entre a condutância vascular cutânea máxima e a condutância vascular cutânea basal após iontoforese

Em A: Diferença entre a CVC máxima e a CVC basal após iontoforese com acetilcolina (ACh).

Nota: Resultados expressos em unidades arbitrárias de perfusão (UAP) divididos pela pressão arterial média em mmHg, representando vasodilatação dependente de endotélio.

Em B: Diferença entre a CVC máxima e a CVC basal após iontoforese com nitroprussiato de sódio (NPS).

Nota: Resultados expressos em médias $\pm$ desvios-padrão.

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; CVC – condutância vascular cutânea; ACh – acetilcolina; NPS – nitroprussiato de sódio

Tabela 2 – Índices de reatividade microvascular pela técnica de *laser speckle contrast imaging*

	EMS (n=32)	ObMS (n=24)	ObMNS (n=55)	p-valor
CVC ACh pico-basal (UAP/mmHg)	0,24 ± 0,17	0,23 ± 0,19	0,30 ± 0,20	0,19
CVC basal (UAP/mmHg)	0,33 ± 0,12	0,30 ± 0,10	0,25 ± 0,08 ***	0,001
ASC ACh (UAP/s)	18652 ± 5843	18100 ± 5047	18537 ± 6643	0,73
CVC ACh pico (UAP / mmHg)	0,58 ± 0,22	0,53 ± 0,18	0,55 ± 0,23	0,73
CVC NPS pico-basal (UAP / mmHg)	0,25 ± 0,17	0,24 ± 0,22	0,26 ± 0,16	0,91
ASC NPS (UAP/s)	16193 ± 5548	15608 ± 524	15968 ± 4553	0,91
CVC NPS pico (UAP/mmHg)	0,53 ± 0,21	0,50 ± 0,23	0,49 ± 0,18	0,66
CVC HRPO pico (UAP/mmHg)	0,83 ± 0,20	0,76 ± 0,20	0,81 ± 0,23	0,54
CVC HRPO pico-basal (UAP/mmHg)	0,47 ± 0,17	0,43 ± 0,17	0,51 ± 0,22	0,21

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; CVC – condutância vascular cutânea; ACh – acetilcolina; UAP – unidades arbitrárias de perfusão; ASC – área sob a curva; NPS – nitroprussiato de sódio; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva

Nota: Resultados expressos em médias±desvios-padrão.

*** p<0,001 comparado com EMS.

Valor de p em negrito indica significância estatística.

A condutância vascular cutânea basal, registrada antes do estímulo farmacológico, foi menor no grupo ObMNS (0,25±0,08 UAP/mmHg) do que nos grupos ObMS (0,30±0,10 UAP/mmHg; p=0,10) e EMS (0,33±0,12 UAP/mmHg; p=0,0008) (Figura 11A; p=0,001, one-way ANOVA entre os grupos). As áreas sob a curva (ASC) de vasodilatação microvascular induzida por iontoforese por ACh foram: 18 652±5 843 UAP/s (EMS), 18 100±5 047 UAP/s (ObMS) e 18 537±6 643 (ObMNS) (Figura 11B; p=0,73, one-way ANOVA entre os grupos).

Os valores da condutância vascular cutânea máxima induzida por iontoforese com ACh (CVC ACh pico) foram: 0,58±0,22 UAP/mmHg (EMS), 0,53±0,18 UAP/mmHg (ObMS) e 0,55±0,23 UAP/mmHg (ObMNS) (Figura 11C; p=0,73, one-way ANOVA entre os grupos).

As ASC de vasodilatação microvascular induzida por iontoforese com NPS foram: 16 193±5 548 UAP/s (EMS), 15 608±5 224 UAP/s (ObMS) e 15 968±4 553 UAP/s (ObMNS) (Figura 11D; p=0,91, one-way ANOVA entre os grupos). Os valores de condutância vascular cutânea máxima induzida por iontoforese com NPS (CVC pico NPS) foram: 0,53±0,21 UAP/mmHg (EMS), 0,50±0,23 UAP/mmHg (ObMS) e 0,49±0,18 UAP/mmHg (ObMNS) (Figura 11E; p=0,66, one-way ANOVA entre os grupos).

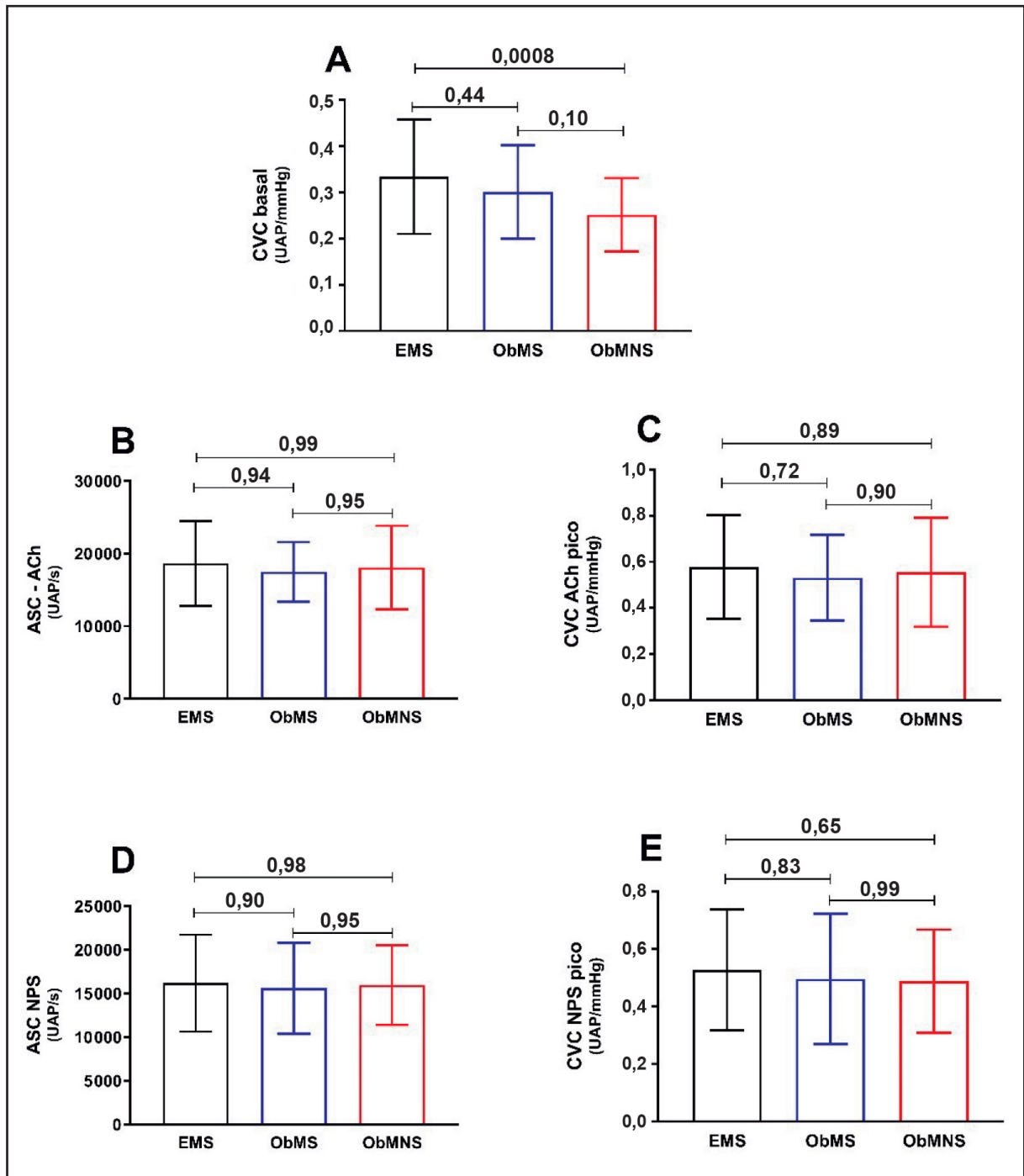


Figura 11 – Condutância vascular cutânea basal e índices de reatividade microvascular após iontoforese

Em A: Condutância vascular cutânea basal antes da iontoforese cutânea.

Nota: Resultados expressos em unidades arbitrárias de perfusão (UAP) divididos pela pressão arterial média em mmHg.

Em B: Área sob a curva de vasodilatação microvascular.

Em C: Pico do efeito da iontoforese cutânea induzida pela acetilcolina (ACh).

Em D: Área sob a curva da vasodilatação microvascular.

Em E: Pico de efeito da iontoforese induzida pelo nitroprussiato de sódio (NPS).

Nota: Resultados expressos em médias±desvios-padrão.

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; CVC – condutância vascular cutânea; ACh – acetilcolina; NPS – nitroprussiato de sódio

Os valores da condutância vascular cutânea máxima induzida pela HRPO (CVC HRPO pico) foram: $0,83 \pm 0,20$ UAP/mmHg (EMS), $0,76 \pm 0,20$ UAP/mmHg (ObMS) e $0,81 \pm 0,23$ (ObMNS) (Figura 12A; $p=0,54$, one-way ANOVA entre os grupos). Os valores da diferença entre condutância vascular cutânea máxima induzida pela manobra de HRPO e a condutância vascular cutânea basal (CVC HRPO pico-basal) foram: $0,47 \pm 0,17$ UAP/mmHg (EMS), $0,43 \pm 0,17$ UAP/mmHg (ObMS) e $0,51 \pm 0,22$ UAP/mmHg (ObMNS) (Figura 12B; $p=0,21$, one-way ANOVA entre os grupos).

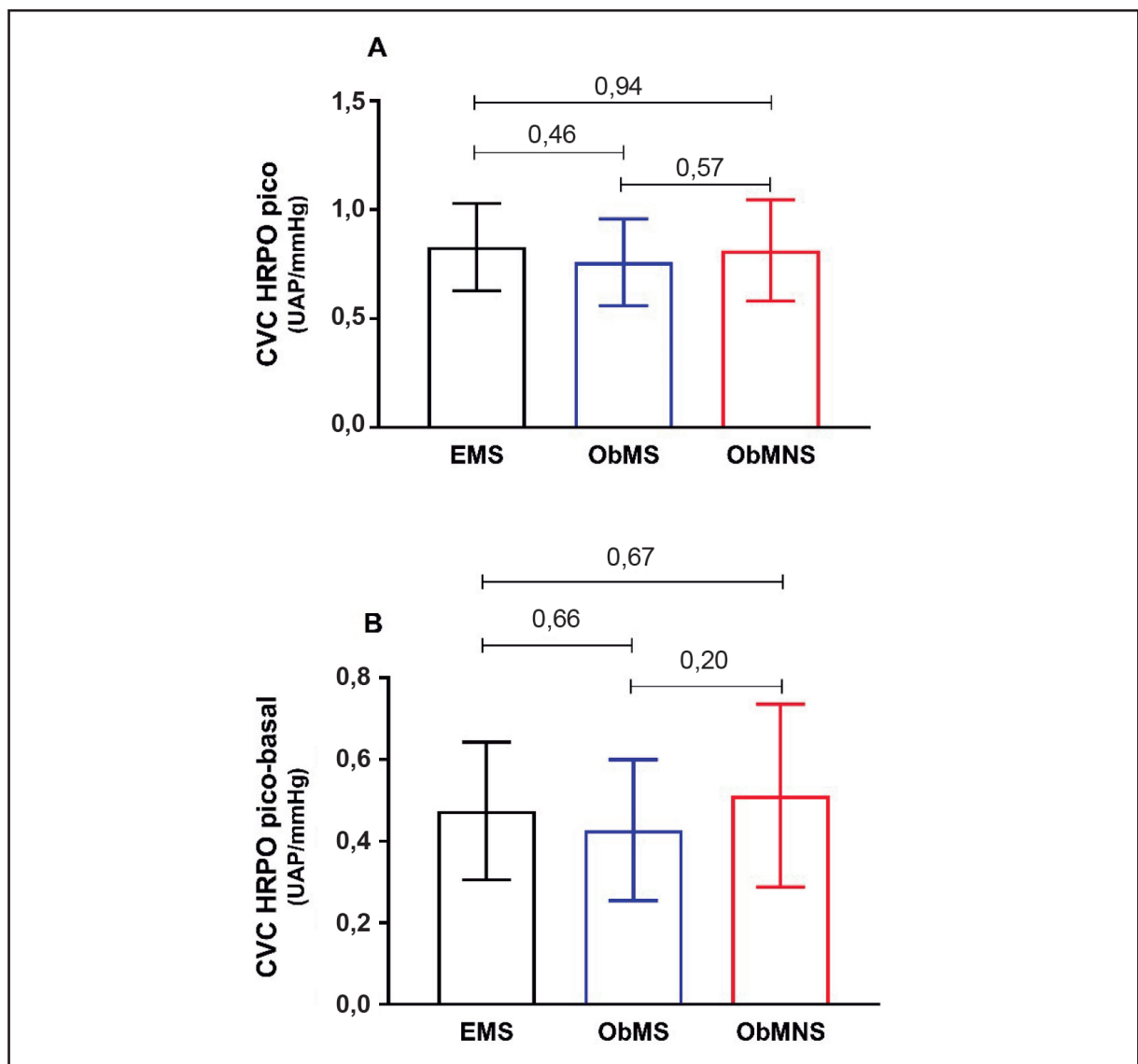


Figura 12 – Índices de reatividade microvascular após manobra de hiperemia reativa pós-oclusiva

Em A: Condutância vascular cutânea (CVC) máxima após hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO).

Nota: Resultados expressos em unidades arbitrárias de perfusão (UAP) divididos pela pressão arterial média em mmHg.

Em B: Diferença entre a CVC máxima após HRPO e a CVC basal.

Nota: Resultados expressos em médias $\pm$ desvios-padrão.

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; CVC – condutância vascular cutânea; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva

Analizou-se a associação ou correlação entre as variáveis idade, menopausa e diagnóstico progresso de Covid-19 e não foi identificada nenhuma associação/correlação com os índices de reatividade microvascular (Apêndice C).

Em relação à variável sexo, houve associação com as variáveis CVC basal ($p < 0,001$, teste de Mann-Whitney), CVC HRPO pico-basal ($p = 0,002$, teste t de Student).

Foram realizadas regressões lineares simples separadamente para CVC basal e CVC HRPO pico-basal visto que foram as duas variáveis que apresentaram associação com o sexo (Apêndice D).

A regressão linear simples com CVC basal como variável dependente identificou que o sexo feminino possui associação positiva com a CVC basal (coeficiente $\beta = 0,07$, $p < 0,001$). Porém a capacidade do modelo de prever o resultado da CVC basal é baixa tendo em vista o baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,11$) (Tabela 1 do Apêndice D).

Na regressão linear simples com CVC HRPO pico-basal como variável dependente, o sexo feminino teve associação negativa com a CVC HRPO pico-basal (coeficiente $\beta = -0,116$, $p = 0,002$). Porém a capacidade do modelo de prever o resultado da CVC HRPO pico-basal é baixa tendo em vista o baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,08$) (Tabela 2 do Apêndice D).

6.4 Densidade capilar cutânea

A densidade capilar cutânea basal média dos grupos foi: 70 ± 14 capilares/mm² (EMS), 73 ± 16 capilares/mm² (ObMS) e 68 ± 19 capilares/mm² ($p = 0,57$; one-way ANOVA).

Após manobra de HRPO, a densidade capilar cutânea média dos grupos foi: 69 ± 11 capilares/mm² (EMS), 70 ± 20 capilares/mm² (ObMS) e 66 ± 20 capilares/mm² (ObMNS) ($p = 0,67$; one-way ANOVA). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à densidade capilar cutânea basal ou após manobra de HRPO. Não houve diferença entre as densidades capilares cutâneas basal e após HRPO no grupo EMS ($p = 0,85$; teste de Wilcoxon), ObMS ($p = 0,13$; teste de Wilcoxon) e ObMNS ($p = 0,11$; teste de Wilcoxon) (Figura 13).

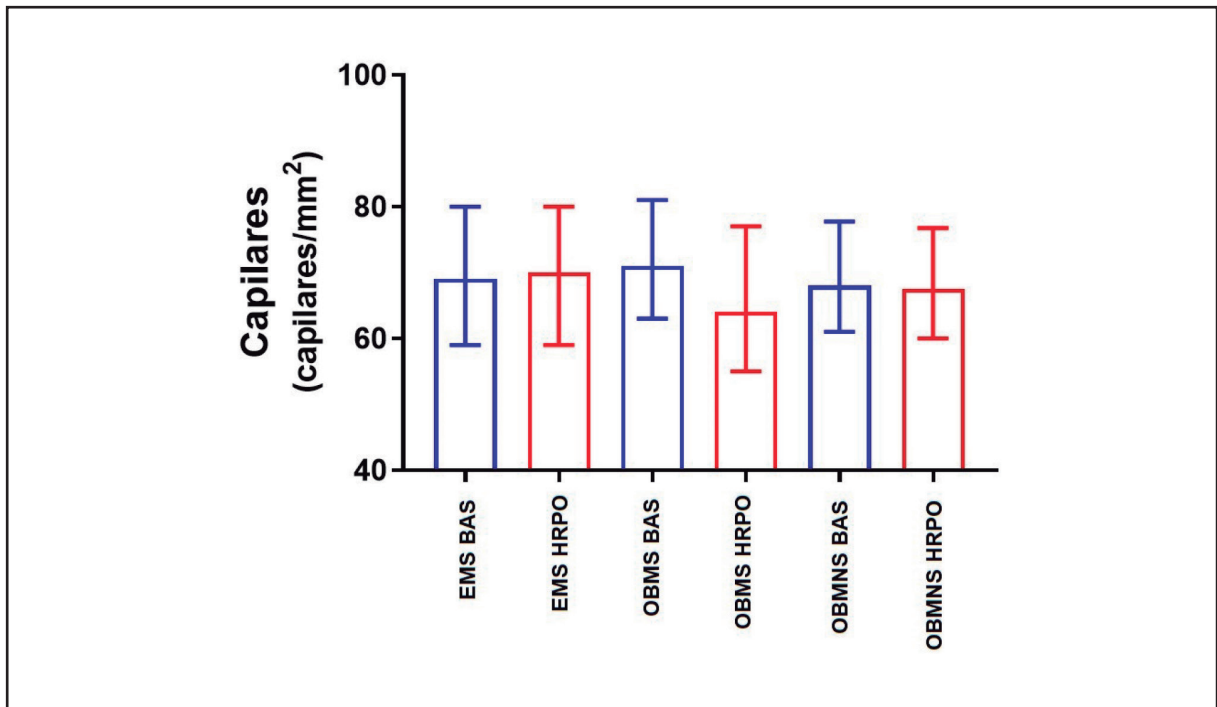


Figura 13 – Valores da densidade capilar cutânea basal e após manobra de hiperemia reativa pós-oclusiva em capilares/mm²

Nota: Resultados expressos em médias±desvios-padrão.

Legenda: EMS – eutrófico metabolicamente saudável; ObMS – obesidade metabolicamente saudável; ObMNS – obesidade metabolicamente não saudável; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva; BAS – basal; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva

7 DISCUSSÃO

Este estudo comparou a função endotelial entre três fenótipos metabólicos: dois com obesidade e um eutrófico saudável, através de duas técnicas. Os principais resultados mostraram que indivíduos ObMNS apresentaram menor fluxo basal microvascular que indivíduos EMS e que reatividade microvascular dependente e independente de endotélio, assim como a densidade capilar cutânea não foram alteradas nos grupos ObMS e ObMNS quando comparados com o grupo EMS.

Os três grupos fenotípicos avaliados não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação à idade e ao sexo, tornando os grupos mais comparáveis em relação a essas variáveis. Os indivíduos do grupo EMS foram mais fisicamente ativos e tiveram maior renda familiar quando comparados aos demais grupos. De fato, populações de baixa renda apresentam maiores taxas de obesidade, principalmente nos países desenvolvidos e em desenvolvimento como o Brasil.⁸⁹ Ainda não está claro se a baixa renda causa obesidade ou se indivíduos com obesidade se deslocam para empregos de baixa renda (causalidade reversa) devido à estigmatização pública, discriminação no mercado de trabalho, entre outros motivos. Uma revisão sistemática e meta-análise explorou essa questão e identificou que há evidências mais consistentes para a hipótese da causalidade reversa.⁹⁰

A análise metabólica aqui realizada mostrou que um dos marcadores significativamente maior em indivíduos ObMNS em relação aos ObMS foi o ácido úrico. Esse resultado também foi encontrado em outro estudo que avaliou marcadores laboratoriais e antropométricos de risco entre crianças e jovens de 6-18 anos que pudessem estar associados à ObMNS.⁹¹ Ácido úrico foi uma variável associada a maior risco de a criança/adolescente ser classificado como ObMNS (OR 1,61 IC95% 1,1–2,6; p 0,004). Outros estudos em adultos também demonstraram que o fenótipo ObMNS, em comparação com ObMS, está significativamente associado à hiperuricemia assintomática,⁹² principalmente entre as mulheres.⁹³

Apesar de nenhum dos pacientes ObMNS referir dislipidemia no questionário de saúde, 40 (73%) dos 55 voluntários desse grupo foram classificados como dislipidêmicos, conforme Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose de 2017 da Sociedade Brasileira de Cardiologia.⁸¹ Dentre esses 40 voluntários, o principal tipo (n=31) foi HDL-colesterol baixo, em segundo lugar (n=7) hiperlipidemia mista (LDL-colesterol ≥ 160 mg/dL e TG ≥ 150 mg/dL) e, por último, hipertrigliceridemia isolada (n=2). Três voluntários, dois no grupo ObMS e um no grupo EMS, apresentaram valores de LDL-colesterol ≥ 160 mg/dL, sendo,

portanto, classificados como portadores de hipercolesterolemia isolada. Porém, como o LDL não foi utilizado para classificar o fenótipo como metabolicamente não saudável, segundo o critério adotado, ambos permaneceram nos grupos metabolicamente saudáveis. Os dados acima refletem o baixo reconhecimento dessa comorbidade na população.

Apenas dois voluntários do grupo ObMNS tinham critério para DM com valor de glicemia em jejum ≥ 126 mg/dL ou hemoglobina glicada $\geq 6,5\%$. Um dos voluntários tinha ambos os exames alterados, sendo, portanto, classificado como diabético. Porém como o diagnóstico de DM, em indivíduos assintomáticos, requer uma segunda coleta para confirmação laboratorial em caso de apenas um exame alterado, não é possível afirmar que ele seria portador dessa comorbidade.⁸⁰

Dez voluntários do grupo ObMNS apresentaram valores elevados de pressão arterial (PAS ≥ 140 mmHg ou PAD ≥ 90 mmHg). Porém como o diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica requer a presença de valores elevados em duas ou mais medidas em diferentes momentos, não é possível dizer se esses voluntários seriam hipertensos.⁹⁴

No presente estudo, os indivíduos com ObMNS apresentaram níveis plasmáticos significativamente maiores de TGP e HbA1c, associados a um valor do índice HOMA-IR maior, do que os voluntários EMS. Kühn et al.⁹⁵ demonstraram que a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) pode ser prevista por uma combinação dos valores de circunferência da cintura, TGP, HbA1c e HOMA-IR em uma área sob a curva ROC de 0,85 (após validação interna) entre adultos obesos livres de complicações metabólicas manifestas. A DHGNA é definida como o acúmulo de gordura no fígado em indivíduos sem consumo excessivo de álcool e considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica.^{96,97}

O grupo ObMNS também apresentou maiores valores de TG que os demais grupos. Pérez-Martinez et al.⁹⁸ demonstraram que, além dos valores séricos basais aumentados, os indivíduos com ObMNS apresentaram uma cinética de aumento dos níveis de TG pós-prandiais quando submetidos à uma sobrecarga oral de refeição rica em gorduras, comparados aos indivíduos com ObMS. Esse aumento mais exacerbado de TG pós-prandial poderia estar relacionado a um risco cardiovascular pior nesses indivíduos.

Outro estudo que fez uma avaliação bioquímica mais ampla e com maior número de indivíduos (n=1042) entre os fenótipos EMS, ObMS e ObMNS também encontrou valores maiores e estatisticamente significativos de PAS, PAD, CT, TG, LDL e TGP no grupo ObMNS em relação aos demais.⁹⁹ Esse estudo utilizou a mesma definição de ObMS e teve uma média de idade semelhante ao presente estudo.

Embora a obesidade tenha sido definida pelo IMC, observa-se que quase todos os voluntários dos grupos com obesidade apresentaram valores elevados de PGC. Somente dois voluntários do grupo ObMS e um do grupo ObMNS apresentaram PGC abaixo dos valores de corte propostos por Macek et al.¹⁰⁰ (25,8% para homens e 37,1% para mulheres). De outro modo, três voluntários do grupo EMS apresentaram PGC acima dos valores de corte acima mencionados. Os pontos de corte propostos por Macek et al.¹⁰⁰ se referem ao risco de predizer fatores de risco cardiovascular relacionados à obesidade (hipertensão arterial, DM e dislipidemia), tendo em vista que até o momento não existem limites bem definidos de PGC para a definição de obesidade.¹⁰¹

Em relação à função microvascular, o menor fluxo microvascular basal observado no grupo ObMNS pode ser atribuído à disfunção microvascular. Esse achado se compara aos resultados de Maranhão et al.¹⁰² Por outro lado, a reatividade microvascular em resposta aos estímulos utilizados, tanto dependente quanto independente do endotélio, não foi significativamente diferente entre os grupos.

O fato de que indivíduos ObMS não tiveram qualquer diferença dos parâmetros microcirculatórios em comparação aos indivíduos EMS pode corroborar as evidências de um fenótipo “favorável” de obesidade. No entanto, algumas hipóteses devem ser discutidas para explicar os resultados encontrados. Em primeiro lugar, a idade relativamente jovem (média 33 ± 7 anos) da população estudada pode ter sido um importante fator, visto que a idade influencia fortemente a função microvascular.^{103,104} Indivíduos mais jovens têm menor probabilidade de desenvolver tanto aterosclerose quanto disfunção endotelial.¹⁰⁵ Em segundo lugar, é que mesmo os voluntários do grupo ObMNS apresentavam poucas comorbidades: entre os 55 voluntários desse grupo, apenas um era portador de diabetes mellitus e apenas um referiu ser hipertenso. Em terceiro lugar, a maioria dos voluntários com obesidade foi classificada como grau I, o que poderia indicar uma população mais saudável. Por fim, ainda entre os voluntários do grupo ObMNS, o número de fatores de risco presentes segundo a classificação de síndrome metabólica foram: um fator de risco ($n=30$, 55% do grupo), dois fatores de risco ($n=19$, 34%), três fatores de risco ($n=5$, 9%) e quatro fatores de risco ($n=1$, 2%) (Apêndice E). Verifica-se que a maioria dos voluntários do grupo ObMNS preencheu apenas um critério para SM. Spring et al.¹⁰⁶ demonstraram que quanto maior o número de componentes de SM, menor a dilatação mediada por fluxo da artéria braquial em resposta a um estímulo isquêmico em indivíduos portadores de obesidade.

Ao contrário do presente estudo, Brant et al.¹⁰⁷ demonstraram que indivíduos com ObMS apresentavam função endotelial comprometida em relação aos indivíduos

EMS, e comprometimento menos acentuado que indivíduos com ObMNS. Os autores avaliaram 16 830 indivíduos de três diferentes coortes geograficamente diferentes: Brasil, Estados Unidos e Europa (Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELISA, *Framingham Heart Study* e *Gutenberg Heart Study*). Trata-se, porém, de um estudo com outra técnica para avaliação da função endotelial e classificação diferente de ObMS. A função endotelial foi medida através de tonometria arterial periférica (TAP) no dedo indicador, após manobra de hiperemia pós-oclusiva.¹⁰⁸ A variável razão TAP, que representa o aumento do fluxo vascular após manobra de hiperemia reativa, entre os grupos EMS, ObMS e ObMNS foram, respectivamente: $0,76 \pm 0,01$; $0,58 \pm 0,01$ e $0,49 \pm 0,01$; $p < 0,0001$. O fenótipo metabolicamente não saudável foi definido pela presença de síndrome metabólica conforme classificação da ATP III. A média de idade dos participantes (53 ± 6 anos) assim como o percentual de tabagismo, hipertensão, diabetes e dislipidemia foram maiores na população estudada que a amostra do presente estudo.

Schinzari et al.¹⁰⁹ demonstraram, através da avaliação do fluxo sanguíneo medido no antebraço por pletismografia que, comparando a indivíduos de peso normal, indivíduos com obesidade apresentaram menor reatividade vascular à infusão intra-arterial de acetilcolina e de nitroprussiato. Os autores também compararam a reatividade vascular entre indivíduos com ObMS e indivíduos com obesidade portadores de síndrome metabólica (SM): os indivíduos com ObMS apresentaram maior reatividade vascular em resposta à acetilcolina em relação ao grupo SM, porém sem diferença em relação ao nitroprussiato. No entanto, o método utilizado pelos autores mede a função micro e macrovascular, diferente do presente estudo. A definição de ObMS utilizada foi a mesma utilizada no presente estudo, adotando os critérios da IDF para a presença de síndrome metabólica e requerendo a ausência de todos os critérios, exceto circunferência abdominal. No entanto, a média de idade foi maior que no presente estudo (grupo ObMS, média 44 ± 2 anos) e 35% dos indivíduos do grupo obesidade com SM tinham DM.

Outro estudo, também realizado por Schinzari et al.,¹¹⁰ avaliou a reatividade vascular no antebraço por meio de pletismografia, através da infusão arterial de acetilcolina e nitroprussiato em quatro grupos fenotípicos diferentes: EMS ($n=38$), ObMS ($n=45$), ObMNS não diabéticos ($n=72$) e ObMNS diabéticos ($n=37$). As respostas vasodilatadoras dos grupos ObMS e ObMNS foram menores em relação aos indivíduos EMS ($p < 0,0001$), tanto com acetilcolina quanto com nitroprussiato, sem diferença entre os grupos com obesidade ($p=0,88$ e $p=0,76$, respectivamente para vasodilatação induzida por ACh e NPS). Os autores compararam a reatividade vascular estratificando todos os voluntários do estudo em três grupos em relação ao

valor de glicemia: glicemia de jejum normal (<100 mg/dL), glicemia de jejum alterada (glicemia >100 mg/dL e ≤ 125 mg/dL) e DM (glicemia ≥ 126 mg/dL). Os voluntários com glicemia de jejum normal e alterada não apresentaram diferenças em relação ao fluxo vascular no antebraço, porém o grupo DM apresentou redução em relação ao demais grupos, tanto no fluxo induzido por ACh quanto por NPS. Esse achado sugere que a presença de DM seja um importante fator determinante da disfunção vascular na obesidade e que pode ter contribuído para os resultados do presente estudo, haja vista a baixa prevalência dessa comorbidade na população estudada.

Outro estudo avaliou a vasodilatação endotélio-dependente com iontoforese com ACh e endotélio-independente com NPS, porém, diferente do presente estudo, através do fluxo sanguíneo cutâneo pela técnica de *laser Doppler*.¹¹¹ Esse estudo comparou a função microvascular entre controles saudáveis (média IMC = $24,0 \pm 3,0$ kg/m²), indivíduos com SM sem DM (média IMC = $32,2 \pm 5,3$ kg/m²) e indivíduos com SM e DM (média IMC = $34,6 \pm 3,3$ kg/m²). A média de idade da população (estimada em 59 anos) foi mais alta que a do presente estudo. A vasodilatação endotélio-dependente foi significativamente menor nos grupos com SM em relação ao grupo-controle. A vasodilatação endotélio-independente mostrou-se reduzida apenas no grupo com SM e DM.

Relato de caso publicado por Tamas Csipo et al.¹¹² avaliou o efeito da perda de peso no fluxo microvascular através do mesmo método LSCI. Os autores submeteram um indivíduo de 45 anos, portador de obesidade (IMC= $31,8$ kg/m²), caucasiano e hipertenso a uma dieta hipocalórica por 30 dias e realizaram a avaliação da função microvascular antes e depois de 30 dias, através da hiperemia reativa pós-oclusiva (vasodilatação endotélio-dependente). Ao final dos 30 dias, o indivíduo tinha perdido 14 kg (de 103 kg para 89 kg), reduziu seu IMC de $31,8$ kg/m² para $27,5$ kg/m², acompanhado por melhora dos níveis de colesterol e triglicerídeos. Após a perda ponderal, o indivíduo apresentou tendência de melhora da função endotelial pelo método, porém estatisticamente não significante. Os autores concluíram de forma preliminar que a perda de peso pode reverter a disfunção endotelial induzida pela obesidade.

Os resultados do presente estudo também são diferentes dos encontrados por Canpolat et al.¹¹³ Os autores compararam a rigidez arterial através de velocidade de onda de pulso (VOP) em 150 voluntários, estratificados nos seguintes grupos fenotípicos: EMS (n=50), ObMS (n=50) e ObMNS (n=50). A VOP é um indicador de rigidez arterial e de risco CV. Os valores de VOP encontrados foram $5,44 \pm 1,94$ m/s no grupo EMS; $6,66 \pm 1,46$ m/s no grupo ObMS; e $14,72 \pm 2,8$ m/s no grupo ObMNS

(ObMNS>ObMS>EMS, $p<0,05$). Diferente do presente estudo, a média de idade dos três grupos foi >55 anos e o número de diabéticos no grupo ObMNS foi maior (40%).

Em outro estudo que também avaliou rigidez arterial pela VOP, mas em indivíduos mais jovens (média de 40 anos) que o estudo anterior, não demonstrou aumento do risco de rigidez arterial nos indivíduos com ObMS em comparação com indivíduos metabolicamente saudáveis sem obesidade no seguimento de 12 anos.¹¹⁴ No entanto, outro estudo evidenciou presença de rigidez arterial através da VOP em crianças pré-púberes com ObMS,¹¹⁵ mostrando que alterações subclínicas de aterosclerose podem ser encontradas mesmo em idades precoces.

Quanto à densidade capilar cutânea, o presente estudo não demonstrou nenhuma diferença entre os grupos EMS, ObMS e ObMNS. A idade relativamente jovem dos voluntários e poucas comorbidades no grupo ObMNS podem estar relacionadas aos resultados encontrados. A não demonstração de recrutamento capilar entre os grupos pode estar relacionada à limitação do método.

A rarefação capilar cutânea já foi demonstrada em alguns contextos clínicos tais como: doença coronariana de início precoce,¹¹⁶ presença de diabetes mellitus e doença renal crônica,¹¹⁷ doença arterial periférica de membros inferiores,¹¹⁸ gestantes com pré-eclâmpsia,¹¹⁹ adultos com deficiência de GH.¹²⁰ Pacientes diabéticos tipo 1 com ou sem complicações vasculares apresentam recrutamento capilar reduzido.¹²¹

No campo da hipertensão arterial existe maior gama de evidências sobre o assunto. É fato que indivíduos hipertensos não tratados com anti-hipertensivos apresentam menor densidade capilar cutânea em comparação com indivíduos não hipertensos.^{122,123} No entanto, indivíduos hipertensos tratados tendem a reverter a rarefação capilar e terem densidade capilar semelhante a indivíduos não hipertensos.^{123,124} Estudo mostrou que indivíduos com sobrepeso não hipertensos e hipertensos tratados com bloqueadores do sistema renina-angiotensina não apresentaram diferenças na densidade capilar cutânea.¹²⁵

Existem evidências na literatura de redução do recrutamento capilar cutâneo tanto em indivíduos com obesidade^{126,127} quanto sobrepeso¹²⁸ em comparação com eutróficos saudáveis. A rarefação capilar induzida pela obesidade também pode ocorrer em outros tecidos-alvo tais como: tecido adiposo, musculoesquelético, coração, rins, cérebro e pâncreas.¹²⁹ A rarefação capilar nos órgãos específicos, por sua vez, pode contribuir para a redução da função desses tecidos.

Poucos estudos têm correlacionado rarefação e recrutamento capilar e risco cardiovascular, sendo a maioria limitada a poucos indivíduos e estudos transversais.¹³⁰

Um estudo correlacionou risco de doença coronariana através do tradicional escore de risco de Framingham com recrutamento capilar, através da videocapilaroscopia cutânea, em 46 indivíduos saudáveis entre 30-70 anos.¹³¹ Os indivíduos foram estratificados em quatro quartis de risco que variou de 1% a 37% (probabilidade de doença coronariana em 10 anos). Esse estudo demonstrou de forma consistente uma redução do recrutamento capilar nos grupos com maior quartil de risco cardiovascular.

Francischetti et al.¹²⁷ compararam a densidade capilar cutânea entre 30 indivíduos eutróficos saudáveis, 25 voluntários com ObMS e 20 voluntários com obesidade que preencheram critérios para SM. A região avaliada também foi a pele do dorso da falange média do dedo, assim como no presente estudo. Em repouso, os três grupos apresentaram densidade capilar estatisticamente semelhante, porém após hiperemia pós-oclusiva e congestão venosa os grupos apresentaram respostas diferentes. No grupo com obesidade e SM não houve aumento significativo após os dois testes utilizados. Ao contrário, naqueles com ObMS houve aumento significativo após oclusão venosa e hiperemia pós-oclusiva, porém menor que no grupo eutrófico saudável. Em relação ao presente estudo, um dos grupos preencheu critérios para SM, conforme o critério da ATP III, sendo, portanto, voluntários com mais fatores de risco. No grupo obesidade sem SM, além de apresentarem valores mais elevados de glicose e perfil lipídico menos favorável, os voluntários desse grupo tinham média de idade maior que o presente estudo (40,1±2,3 anos). De Jongh et al.¹²⁶ como também o presente estudo não evidenciaram diferenças na densidade capilar cutânea basal entre mulheres voluntárias saudáveis (não hipertensas e não diabéticas) sendo 12 portadoras de obesidade (IMC >30 kg/m²) e 16 com peso normal (IMC <24 kg/m²), porém encontraram menor recrutamento capilar nas voluntárias com obesidade. Entretanto, os autores avaliaram a densidade capilar cutânea na prega ungueal, diferente do presente estudo.

Maranhão et al.¹⁰² investigaram qual o melhor método de videocapilaroscopia para avaliar disfunção microvascular entre 18 mulheres eutróficas e 19 mulheres com obesidade (não hipertensas e não diabéticas). Os autores avaliaram a densidade capilar cutânea no dorso do dedo em repouso e após duas manobras de recrutamento (HRPO e após oclusão venosa) e a videocapilaroscopia do leito ungueal dinâmica. Este último método avalia além da densidade capilar, parâmetros dinâmicos como velocidade das hemácias em repouso e velocidade das hemácias máxima após manobra de HRPO. Assim como o presente estudo, os autores não identificaram diferenças entre os grupos em relação à densidade capilar cutânea basal e após manobras de recrutamento capilar entre os grupos, pelo método de

videocapilaroscopia cutânea no dorso do dedo. Porém os autores encontraram reduções dos parâmetros micro-hemodinâmicos em voluntárias com obesidade, comparando com voluntárias eutróficas no método de videocapilaroscopia do leito ungueal. Os achados sugerem que esse método seja mais apropriado para identificar alterações microvasculares precoces em indivíduos com obesidade.

7.1 Limitações do estudo

Devido à prolongada ausência de voluntários, possivelmente ocasionada pela pandemia de Covid-19, o recrutamento do estudo foi encerrado antes de ter sido atingido o número calculado de sujeitos no grupo ObMS, o que pode reduzir o poder do estudo. Todavia, os outros grupos atingiram o número previsto, e o atingido nos ObMS (77% do previsto) pode ainda ser considerado relativamente adequado para as inferências aqui realizadas.

É importante notar que, por ser um estudo transversal, todas as limitações inerentes ao desenho do estudo devem ser consideradas como: analisar a amostra em um único ponto no tempo, incapacidade de avaliar inferência causal e viés de amostragem.¹³² Como já mencionado, o fenótipo metabolicamente saudável pode ser dinâmico ao longo dos anos,³⁰ observações não possíveis de serem identificadas em um estudo transversal. Sabe-se que o tempo que um indivíduo permanece metabolicamente saudável pode impactar em seu risco cardiovascular.⁴³

Uma outra limitação do presente estudo foi a mensuração menos rigorosa da pressão arterial. Devido à medida da PA ter sido realizada uma única vez, alguns voluntários classificados como PAS ≥ 130 mmHg ou PAD ≥ 85 mmHg talvez não preenchessem os critérios para SM com a aferição da PA realizada de outra maneira tais como: média de duas ou mais aferições, realização de MAPA (medida ambulatorial da pressão arterial) e MRPA (medida residencial da pressão arterial). A Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial sugere realizar três medidas de PA, com intervalo de 1 a 2 minutos e realizar a média das duas últimas medidas sem “arredondamentos”.⁹⁴ Essa limitação de protocolo pode ter classificado como ObMNS voluntários que talvez fossem classificados como ObMS, adotando protocolos mais rigorosos de aferição de PA.

Neste estudo também não foi avaliada a aptidão cardiorrespiratória ou o grau de atividade física por algum questionário padronizado. Avaliou-se somente através de uma pergunta dicotômica se o voluntário praticava ou não exercício físico. Sabe-se que diferenças entre risco cardiovascular entre os diferentes fenótipos

metabólicos podem ser explicados por diferenças da aptidão cardiorrespiratória e grau de atividade física entre esses grupos.¹³³

Por fim, diferenças da distribuição de gordura corporal, parâmetro não avaliado neste estudo, podem estar relacionadas a diferenças na microcirculação de diferentes fenótipos de obesidade. Grizelj et al.¹³⁴ demonstraram que as arteríolas do tecido adiposo visceral apresentaram menor dilatação induzida pelo fluxo e vasodilatação induzida pela ACh, em comparação com as arteríolas do tecido adiposo subcutâneo. Isso pode ser outro substrato para os variados padrões de reatividade microcirculatória entre indivíduos com obesidade, que podem ter uma resposta microcirculatória “melhor” na presença de mais gordura distribuída periféricamente do que a gordura predominantemente visceral.

8 CONCLUSÕES

A reatividade microvascular dependente e independente de endotélio e a densidade capilar cutânea basal, após HRPO e recrutamento capilar, não foram alteradas em adultos jovens com obesidade metabolicamente saudável e não saudável, em comparação com o grupo-controle.

Nos três fenótipos metabólicos estudados, o estímulo dependente de endotélio com ACh e independente de endotélio com NPS, através de iontoforese cutânea, foi capaz de induzir vasodilatação corrente-dependente verificada através dos valores da condutância vascular cutânea.

O estímulo fisiológico de HRPO foi capaz de promover vasodilatação nos três grupos de voluntários estudados.

Indivíduos com ObMNS apresentaram menor fluxo microvascular sistêmico basal em comparação com indivíduos EMS.

REFERÊNCIAS

1. GBD 2017 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392(10159):1736-88. Erratum in: *Lancet*. 2018;392(10160):2170.
2. Kivimäki M, Kuosma E, Ferrie JE, Luukkonen R, Nyberg ST, Alfredsson L, et al. Overweight, obesity, and risk of cardiometabolic multimorbidity: pooled analysis of individual-level data for 120 813 adults from 16 cohort studies from the USA and Europe. *Lancet Public Health*. 2017;2(6):e277-85.
3. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and risk factors, 1990-2019: update from the GBD 2019 study. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(25):2982-3021.
4. Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. Years of life lost due to obesity. *JAMA*. 2003;289(2):187-93.
5. Apovian CM. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am J Manag Care*. 2016;22(7 Suppl):s176-85.
6. World Health Organization (WHO). [Internet]. Obesity and overweight. [cited 2021 Jul 07]. Available from: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>
7. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. *N Engl J Med*. 2017;376(3):254-66.
8. Oliveira GMM, Brant LCC, Polanczyk CA, Malta DC, Biolo A, Nascimento BR, et al. Estatística cardiovascular – Brasil 2021. *Arq Bras Cardiol*. 2022;118(1):115-373.
9. Kumanyika S, Dietz WH. Solving population-wide obesity - progress and future prospects. *N Engl J Med*. 2020;383(23):2197-200.
10. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev*. 2017;18(7):715-23.
11. Santolin CB. História da obesidade na Classificação Internacional de Doenças (CID): de 1900 a 2018. *Arq Ciências Saúde UNIPAR*. 2021;25(3):167-72.
12. International Diabetes Federation. [Internet]. The IDF Consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Last update: 2020. [cited 2021 Aug 07]. Available from: <<https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome.html>>
13. Velho S, Paccaud F, Waeber G, Vollenweider P, Marques-Vidal P. Metabolically healthy obesity: different prevalences using different criteria. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(10):1043-51.

14. Phillips CM. Metabolically healthy obesity across the life course: epidemiology, determinants, and implications. *Ann N Y Acad Sci.* 2017;1391(1):85-100.
15. Guerreiro VA, Carvalho D, Freitas P. Obesity, adipose tissue, and inflammation answered in questions. *J Obes.* 2022;2252516.
16. Eckel N, Li Y, Kuxhaus O, Stefan N, Hu FB, Schulze MB. Transition from metabolic healthy to unhealthy phenotypes and association with cardiovascular disease risk across BMI categories in 90,257 women (the Nurses' Health Study): 30 year follow-up from a prospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018;6(9):714-24.
17. Hamer M, Stamatakis E. Metabolically healthy obesity and risk of all-cause and cardiovascular disease mortality. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(7):2482-8.
18. Zheng R, Zhou D, Zhu Y. The long-term prognosis of cardiovascular disease and all-cause mortality for metabolically healthy obesity: a systematic review and meta-analysis. *J Epidemiol Community Health.* 2016;70(10):1024-31.
19. Gimbrone MA Jr, García-Cardena G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circ Res.* 2016;118(4):620-36.
20. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am J Clin Nutr.* 1956;4(1):20-34.
21. Sims EA. Are there persons who are obese, but metabolically healthy? *Metabolism.* 2001;50(12):1499-504.
22. Ruderman NB, Berchtold P, Schneider S. Obesity-associated disorders in normal-weight individuals: some speculations. *Int J Obes.* 1982;6(Suppl 1):151-7.
23. Blüher M. Metabolically healthy obesity. *Endocr Rev.* 2020;41(3):bnaa004.
24. Duque AP, Rodrigues Jr LF, Mediano MFF, Tibiriça E, De Lorenzo A. Emerging concepts in metabolically healthy obesity. *Am J Cardiovasc Dis.* 2020;10(2):48-61.
25. Rey-López JP, Rezende LF, Pastor-Valero M, Tess BH. The prevalence of metabolically healthy obesity: a systematic review and critical evaluation of the definitions used. *Obes Rev.* 2014;15(10): 781-90.
26. van Vliet-Ostaptchouk JV, Nuotio ML, Slagter SN, Doiron D, Fischer K, Foco L, et al. The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: a collaborative analysis of ten large cohort studies. *BMC Endocr Disord.* 2014;14:9.
27. Lavie CJ, Laddu D, Arena R, Ortega FB, Alpert MA, Kushner RF. Healthy weight and obesity prevention: JACC Health Promotion Series. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(13):1506-31.

28. Smith GI, Mittendorfer B, Klein S. Metabolically healthy obesity: facts and fantasies. *J Clin Invest.* 2019;129(10):3978-89.
29. Gao M, Lv J, Yu C, Guo Y, Bian Z, Yang R, et al. Metabolically healthy obesity, transition to unhealthy metabolic status, and vascular disease in Chinese adults: A cohort study. *PLoS Med.* 2020;17(10):e1003351.
30. Zhou Z, Macpherson J, Gray SR, Gill JMR, Welsh P, Celis-Morales C, et al. Are people with metabolically healthy obesity really healthy? A prospective cohort study of 381,363 UK Biobank participants. *Diabetologia.* 2021;64(9):1963-72.
31. Ärnlöv J, Ingelsson E, Sundström J, Lind L. Impact of body mass index and the metabolic syndrome on the risk of cardiovascular disease and death in middle-aged men. *Circulation.* 2010;121(2):230-6.
32. Ogorodnikova AD, Kim M, McGinn AP, Muntner P, Khan U, Wildman RP. Incident cardiovascular disease events in metabolically benign obese individuals. *Obesity (Silver Spring).* 2012;20(3):651-9.
33. Appleton SL, Seaborn CJ, Visvanathan R, Hill CL, Gill TK, Taylor AW, et al. Diabetes and cardiovascular disease outcomes in the metabolically healthy obese phenotype: a cohort study. *Diabetes Care.* 2013;36(8):2388-94.
34. Hosseinpanah F, Barzin M, Sheikholeslami F, Azizi F. Effect of different obesity phenotypes on cardiovascular events in Tehran Lipid And Glucose Study (TLGS). *Am J Cardiol.* 2011;107(3):412-6.
35. Meigs JB, Wilson PW, Fox CS, Vasan RS, Nathan DM, Sullivan LM, et al. Body mass index, metabolic syndrome, and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(8):2906-12.
36. Mørkedal B, Vatten LJ, Romundstad PR, Laugsand LE, Janszky I. Risk of myocardial infarction and heart failure among metabolically healthy but obese individuals: HUNT (Nord-Trøndelag Health Study), Norway. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(11):1071-8.
37. Hashimoto Y, Hamaguchi M, Tanaka M, Obora A, Kojima T, Fukui M. Metabolically healthy obesity without fatty liver and risk of incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Res Clin Pract.* 2018;12(1):4-15.
38. Bell JA, Kivimaki M, Hamer M. Metabolically healthy obesity and risk of incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Rev.* 2014;15(6):504-15.
39. Wu Q, Xia MF, Gao X. Metabolically healthy obesity: Is it really healthy for type 2 diabetes mellitus? *World J Diabetes.* 2022;13(2):70-84.
40. Yeh TL, Chen HH, Tsai SY, Lin CY, Liu SJ, Chien KL. The relationship between metabolically healthy obesity and the risk of cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Med.* 2019;8(8):1228.

41. Opio J, Croker E, Odongo GS, Attia J, Wynne K, McEvoy M. Metabolically healthy overweight/obesity are associated with increased risk of cardiovascular disease in adults, even in the absence of metabolic risk factors: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Rev*. 2020;21(12):e13127.
42. Eckel N, Meidtner K, Kalle-Uhlmann T, Stefan N, Schulze MB. Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol*. 2016;23(9):956-66.
43. Kramer CK, Zinman B, Retnakaran R. Are metabolically healthy overweight and obesity benign conditions?: A systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2013;159(11):758-69.
44. Romagnolli C, Bensenor IM, Santos IS, Lotufo PA, Bittencourt MS. Impact of metabolically healthy obesity on carotid intima-media thickness - The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2020;30(6):915-21.
45. Hsueh YW, Yeh TL, Lin CY, Tsai SY, Liu SJ, Lin CM, et al. Association of metabolically healthy obesity and elevated risk of coronary artery calcification: a systematic review and meta-analysis. *Peer J*. 2020;8:e8815.
46. Gao JW, You S, Liu ZY, Hao QY, Wang JF, Vuitton DA, et al. Different metabolic phenotypes of obesity and risk of coronary artery calcium progression and incident cardiovascular disease events: the CARDIA Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022;42(5):677-88.
47. Lin CJ, Chang YC, Cheng TY, Lo K, Liu SJ, Yeh TL. The association between metabolically healthy obesity and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Rev*. 2020;21(10):e13049.
48. Zheng X, Peng R, Xu H, Lin T, Qiu S, Wei Q, et al. The association between metabolic status and risk of cancer among patients with obesity: metabolically healthy obesity vs. metabolically unhealthy obesity. *Front Nutr*. 2022;9:783660.
49. Goodarzi G, Mozaffari H, Raeisi T, Mehravar F, Razi B, Ghazi ML, et al. Metabolic phenotypes and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *BMC Cancer*. 2022;22(1):89.
50. Lee H, Choi EK, Lee SH, Han KD, Rhee TM, Park CS, et al. Atrial fibrillation risk in metabolically healthy obesity: a nationwide population-based study. *Int J Cardiol*. 2017;240:221-7.
51. Jokela M, Hamer M, Singh-Manoux A, Batty GD, Kivimäki M. Association of metabolically healthy obesity with depressive symptoms: pooled analysis of eight studies. *Mol Psychiatry*. 2014;19(8):910-4.
52. Anand S, Chertow GM, Beddhu S. obesity and incident kidney disease: busting the myth of metabolically healthy obesity. *Am J Kidney Dis*. 2022;79(1):7-8.

53. Chen TP, Lin WY, Chiang CH, Shen TH, Huang KC, Yang KC. Metabolically healthy obesity and risk of non-alcoholic fatty liver disease severity independent of visceral fat. *J Gastroenterol Hepatol*. 2021;36(10):2903-10.
54. Man S, Gao Y, Lv J, Tong M, Yin J, Wang B, et al. Metabolically healthy obesity was significantly associated with increased risk of gallstones. *Eur J Endocrinol*. 2022;186(2):275-83.
55. Chen W, Man S, Wang B, Kadeerhan G, Huang X. Metabolically healthy obesity is associated with increased risk of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: a cohort study of Chinese elderly males. *Low Urin Tract Symptoms*. 2022;14(3):170-7.
56. Jonk AM, Houben AJ, De Jongh RT, Serné EH, Schaper NC, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda)*. 2007;22:252-60.
57. Massey MJ, Shapiro NI. A guide to human in vivo microcirculatory flow image analysis. *Crit Care*. 2016;20:35.
58. Souza MGC, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Inflammation-induced microvascular dysfunction in obesity - a translational approach. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2016;64(4):645-54.
59. Strain WD, Paldánus PM. Diabetes, cardiovascular disease and the microcirculation. *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17(1):57. Erratum in: *Cardiovasc Diabetol*. 2021;20(1):120.
60. Cracowski JL, Roustit M. Current methods to assess human cutaneous blood flow: an updated focus on laser-based-techniques. *Microcirculation*. 2016;23(5):337-44.
61. Holowatz LA, Thompson-Torgerson CS, Kenney WL. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J Appl Physiol (1985)*. 2008;105(1):370-2.
62. Maranhão PA, Souza MGC, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Dynamic nailfold videocapillaroscopy may be used for early detection of microvascular dysfunction in obesity. *Microvasc Res*. 2016;106:31-5.
63. Turner J, Belch JJ, Khan F. Current concepts in assessment of microvascular endothelial function using laser Doppler imaging and iontophoresis. *Trends Cardiovasc Med*. 2008;18(4):109-16.
64. Jarrett C, Lekic M, Smith CL, Pusec CM, Sweazea KL. Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilation in systemic arteries from mourning doves (*Zenaidura macroura*). *J Comp Physiol B*. 2013;183(7):959-67.
65. Balasubramanian G, Chockalingam N, Naemi R. A systematic evaluation of cutaneous microcirculation in the foot using post-occlusive reactive hyperemia. *Microcirculation*. 2021;28(5):e12692.

66. Mónica FZ, Bian K, Murad F. The endothelium-dependent nitric oxide–cGMP pathway. *Adv Pharmacol.* 2016;77:1-27.
67. Sena CM, Pereira AM, Seíça R. Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1832(12):2216-31.
68. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric oxide and endothelial dysfunction. *Crit Care Clin.* 2020;36(2):307-21.
69. Grassi D, Desideri G, Ferri C. Cardiovascular risk and endothelial dysfunction: the preferential route for atherosclerosis. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011;12(9):1343-53.
70. Elmarakby AA, Imig JD. Obesity is the major contributor to vascular dysfunction and inflammation in high-fat diet hypertensive rats. *Clin Sci (London).* 2010;118(4):291-301.
71. Erdei N, Tóth A, Pásztor ET, Papp Z, Edes I, Koller A, et al. High-fat diet-induced reduction in nitric oxide-dependent arteriolar dilation in rats: role of xanthine oxidase-derived superoxide anion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;291(5):H2107-15.
72. Sorop O, Olver TD, van DeWouw J, Heinonen I, van Duin RW, Duncker DJ, et al. The microcirculation: a key player in obesity-associated cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2017;113(9):1035-45.
73. Viridis A, Neves MF, Duranti E, Bernini G, Taddei S. Microvascular endothelial dysfunction in obesity and hypertension. *Curr Pharm Des.* 2013;19(13):2382-9.
74. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest.* 1996;97(11):2601-10.
75. Kwaifa IK, Bahari H, Yong YK, Noor S. Endothelial dysfunction in obesity-induced inflammation: molecular mechanisms and clinical implications. *Biomolecules.* 2020;10(2):291.
76. Campia U, Tesauro M, Cardillo C. Human obesity and endothelium-dependent responsiveness. *Br J Pharmacol.* 2012;165(3):561-73.
77. Viridis A, Masi S, Colucci R, Chiriaco M, Uliana M, Puxeddu I, et al. Microvascular endothelial dysfunction in patients with obesity. *Curr Hypertens Rep.* 2019;21(4):32.
78. Achari AE, Jain SK. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *Int J Mol Sci.* 2017;18(6):1321.
79. Cordovil I, Huguenin G, Rosa G, Bello A, Köhler O, Moraes R, et al. Evaluation of systemic microvascular endothelial function using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res.* 2012;83(3):376-9.

80. Cobas R, Rodacki M, Giacaglia L, Calliari LEP, Noronha RM, Valerio C, et al. Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2022.
81. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A, et al. Atualização da Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. *Arq Bras Cardiol.* 2017;109(2 supl. 1):1-76.
82. Placzowska S, Pawlik-Sobecka L, Kokot I, Piwowar A. Indirect insuline resistance detection: current clinical trends and laboratory limitations. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czeck Repub.* 2019;163(3):187-99.
83. Antonios TF, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension.* 1999;33(4):998-1001.
84. Antonios TF, Rattray FE, Singer DR, Markandu ND, Mortimer PS, MacGregor GA. Maximization of skin capillaries during intravital video-microscopy in essential hypertension: comparison between venous congestion, reactive hyperaemia and core heat load tests. *Clin Sci (Lond).* 1999;97(4):523-8.
85. Roustit M, Millet C, Blaise S, Dufournet B, Cracowski JL. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. *Microvasc Res.* 2010;80(3):505-11.
86. Rousseau P, Mahé G, Haj-Yassin F, Durand S, Humeau A, Leftheriotis G, et al. Increasing the “region of interest” and “time of interest”, both reduce the variability of blood flow measurements using laser speckle contrast imaging. *Microvasc Res.* 2011;82(1):88-91.
87. Heeman W, Steenbergen W, van Dam G, Boerma EC. Clinical applications of laser speckle contrast imaging: a review. *J Biomed Opt.* 2019;24(8):1-11.
88. Dhote V, Bhatnagar P, Mishra PK, Mahajan SC, Mishra DK. Iontophoresis: a potential emergence of a transdermal drug delivery system. *Sci Pharm.* 2012;80(1):1-28.
89. Levine JA. Poverty and obesity in the U.S. *Diabetes.* 2011;60(11):2667-8.
90. Kim TJ, von dem Knesebeck O. Income and obesity: what is the direction of the relationship? A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2018;8(1):e019862.
91. Rocha EPAA, Vogel M, Stanik J, Pietzner D, Willenberg A, Körner A, et al. Serum uric acid levels as an indicator for metabolically unhealthy obesity in children and adolescents. *Horm Res Paediatr.* 2018;90(1):19-27.
92. Yu J, Sun H, Zhu J, Wei X, Shi H, Shen B, et al. Asymptomatic hyperuricemia and metabolically unhealthy obesity: a cross-sectional analysis in the tianning cohort. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2021;14:1367-74.

93. Tian S, Liu Y, Feng A, Zhang S. Sex-specific differences in the association of metabolically healthy obesity with hyperuricemia and a network perspective in analyzing factors related to hyperuricemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:573452.
94. Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa ADM, et al. Brazilian guidelines of hypertension - 2020. *Arq Bras Cardiol*. 2021;116(3):516-658.
95. Kühn T, Nonnenmacher T, Sookthai D, Schübel R, Quintana Pacheco DA, von Stackelberg O, et al. Anthropometric and blood parameters for the prediction of NAFLD among overweight and obese adults. *BMC Gastroenterol*. 2018;18(1):113.
96. Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(11):686-90.
97. Duseja A, Chalasani N. Epidemiology and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Hepatol Int*. 2013;7(Suppl 2):755-64.
98. Perez-Martinez P, Alcala-Diaz JF, Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Gomez-Delgado F, Marin-Hinojosa C, et al. Metabolic phenotypes of obesity influence triglyceride and inflammation homeostasis. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(11):1053-64.
99. Fu J, Wang Q, Zhang L, Liu J, Wang G. Serum bilirubin level is increased in metabolically healthy obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;12:792795.
100. Macek P, Biskup M, Terek-Derszniak M, Stachura M, Krol H, Gozdz S, et al. Optimal body fat percentage cut-off values in predicting the obesity-related cardiovascular risk factors: a cross-sectional cohort study. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020;13:1587-97.
101. Ho-Pham LT, Campbell LV, Nguyen TV. More on body fat cutoff points. *Mayo Clin Proc*. 2011;86(6): 584.
102. Maranhão PA, Souza MGC, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Dynamic nailfold videocapillaroscopy may be used for early detection of microvascular dysfunction in obesity. *Microvasc Res*. 2016;106:31-5.
103. Groen BB, Hamer HM, Snijders T, van Kranenburg J, Frijns D, Vink H, et al. Skeletal muscle capillary density and microvascular function are compromised with aging and type 2 diabetes. *J Appl Physiol (1985)*. 2014;116(8):998-1005.
104. Ungvari Z, Tarantini S, Donato AJ, Galvan V, Csiszar A. Mechanisms of vascular aging. *Circ Res*. 2018;123(7):849-67.
105. Versari D, Daghini E, Viridis A, Ghiadoni L, Taddei S. The ageing endothelium, cardiovascular risk and disease in man. *Exp Physiol*. 2009;94(3):317-21.

106. Sprung VS, Bowden Davies KA, Norman JA, Thompson A, Mitchell KL, Wilding JPH, et al. Metabolic syndrome is associated with reduced flow mediated dilation independent of obesity status. *Eur J Endocrinol*. 2020;183(2):211-20.
107. Brant LCC, Wang N, Ojeda FM, LaValley M, Barreto SM, Benjamin EJ, et al. Relations of metabolically healthy and unhealthy obesity to digital vascular function in three community-based cohorts: a meta-analysis. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(3):e004199.
108. Hamburg NM, Benjamin EJ. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. *Trends Cardiovasc Med*. 2009;19(1):6-11.
109. Schinzari F, Iantorno M, Campia U, Mores N, Rovella V, Tesauro M, et al. Vasodilator responses and endothelin-dependent vasoconstriction in metabolically healthy obesity and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(9):E787-92.
110. Schinzari F, Tesauro M, Bertoli A, Valentini A, Veneziani A, Campia U, et al. Calcification biomarkers and vascular dysfunction in obesity and type 2 diabetes: influence of oral hypoglycemic agents. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2019;317(4):E658-66.
111. Walther G, Obert P, Dutheil F, Chapier R, Lesourd B, Naughton G, et al. Metabolic syndrome individuals with and without type 2 diabetes mellitus present generalized vascular dysfunction: cross-sectional study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(4):1022-9.
112. Csipo T, Fulop GA, Lipecz A, Tarantini S, Kiss T, Balasubramanian P, et al. Short-term weight loss reverses obesity-induced microvascular endothelial dysfunction. *Geroscience*. 2018;40(3):337-46.
113. Gökçay Canpolat A, Demir Ö, Şahin M, Emral R, Çorapçıoğlu D. The missing link between inflammation and arterial stiffness among different metabolic phenotypes. *Int J Clin Pract*. 2021;75(11):e14727.
114. Yuan Y, Mu JJ, Chu C, Zheng WL, Wang Y, Hu JW, et al. Effect of metabolically healthy obesity on the development of arterial stiffness: a prospective cohort study. *Nutr Metab (Lond)*. 2020;17:50.
115. Ruiz-Moreno MI, Vilches-Perez A, Gallardo-Escribano C, Vargas-Candela A, Lopez-Carmona MD, Pérez-Belmonte LM, et al. Metabolically healthy obesity: presence of arterial stiffness in the prepubescent population. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(19):6995.
116. Tibiriçá E, Souza EG, De Lorenzo A, Oliveira GM. Reduced systemic microvascular density and reactivity in individuals with early onset coronary artery disease. *Microvasc Res*. 2015;97:105-8.
117. Schoina M, Loutradis C, Theodorakopoulou M, Dimitroulas T, Triantafillidou E, Doumas M, et al. The presence of diabetes mellitus further impairs structural and functional capillary density in patients with chronic kidney disease. *Microcirculation*. 2021;28(2):e12665.

118. Lamah M, Mortimer PS, Dormandy JA. Quantitative study of capillary density in the skin of the foot in peripheral vascular disease. *Br J Surg*. 1999;86(3):342-8.
119. Hasan KM, Manyonda IT, Ng FS, Singer DR, Antonios TF. Skin capillary density changes in normal pregnancy and pre-eclampsia. *J Hypertens*. 2002;20(12):2439-43.
120. Oomen PHN, Beentjes JAM, Bosma E, Smit AJ, Reitsma WD, Dullaart RPF. Reduced capillary permeability and capillary density in the skin of GH-deficient adults: improvement after 12 months GH replacement. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;56(4):519-24.
121. Tibiriçá E, Rodrigues E, Cobas R, Gomes MB. Increased functional and structural skin capillary density in type 1 diabetes patients with vascular complications. *Diabetol Metab Syndr*. 2009;1(1):24.
122. Prasad A, Dunnill GS, Mortimer PS, MacGregor GA. Capillary rarefaction in the forearm skin in essential hypertension. *J Hypertens*. 1995;13(2):265-8.
123. Kaiser SE, Sanjuliani AF, Estado V, Gomes MB, Tibiriçá E. Antihypertensive treatment improves microvascular rarefaction and reactivity in low-risk hypertensive individuals. *Microcirculation*. 2013;20(8):703-16.
124. Debbabi H, Uzan L, Mourad JJ, Safar M, Levy BI, Tibiriçá E. Increased skin capillary density in treated essential hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 2006;19(5):477-83.
125. Aellen J, Dabiri A, Heim A, Liaudet L, Burnier M, Ruiz J, et al. Preserved capillary density of dorsal finger skin in treated hypertensive patients with or without type 2 diabetes. *Microcirculation*. 2012;19(6):554-62.
126. de Jongh RT, Serné EH, Ijzerman RG, de Vries G, Stehouwer CD. Impaired microvascular function in obesity: implications for obesity-associated microangiopathy, hypertension, and insulin resistance. *Circulation*. 2004;109(21):2529-35.
127. Francischetti EA, Tibiriçá E, Silva EG, Rodrigues E, Celoria BM, Abreu VG. Skin capillary density and microvascular reactivity in obese subjects with and without metabolic syndrome. *Microvasc Res*. 2011;81(3):325-30.
128. Altintas AA, Aust MC, Krämer R, Vogt PM, Altintas MA. In vivo reflectance-mode confocal microscopy assessments: impact of overweight on human skin microcirculation and histomorphology. *J Biomed Opt*. 2016;21(3):36009.
129. Paavonsalo S, Hariharan S, Lackman MH, Karaman S. Capillary rarefaction in obesity and metabolic diseases-organ-specificity and possible mechanisms. *Cells*. 2020;9(12):2683.

130. Triantafyllou A, Anyfanti P, Pyrpasopoulou A, Triantafyllou G, Aslanidis S, Douma S. Capillary rarefaction as an index for the microvascular assessment of hypertensive patients. *Curr Hypertens Rep.* 2015;17(5):33.
131. IJzerman RG, de Jongh RT, Beijk MA, van Weissenbruch MM, Delemarre-van de Waal HA, Serné EH, et al. Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(7):536-42.
132. Wang X, Cheng Z. Cross-sectional studies: strengths, weaknesses, and recommendations. *Chest.* 2020;158(1S):S65-S71.
133. Ortega FB, Cadenas-Sanchez C, Migueles JH, Labayen I, Ruiz JR, Sui X, et al. Role of physical activity and fitness in the characterization and prognosis of the metabolically healthy obesity phenotype: a systematic review and meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis.* 2018;61(2):190-205.
134. Grizelj I, Cavka A, Bian JT, Szczurek M, Robinson A, Shinde S, et al. Reduced flow-and acetylcholine-induced dilations in visceral compared to subcutaneous adipose arterioles in human morbid obesity. *Microcirculation.* 2015;22(1):44-53.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**
DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA

Nome: _____

Sexo: Masculino () Feminino () Data Nascimento:/...../.....

Endereço: _____

Cidade: _____

Telefone: () _____

Email: _____

Título do Protocolo de Pesquisa: “AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR SISTÊMICA EM OBESOS METABOLICAMENTE SAUDÁVEIS”.

Pesquisadores Responsáveis: Eduardo Tibiriçá (21) 99914-6075, Andrea de Lorenzo (21) 99531-6994.

Contatos do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Cardiologia:

Endereço: Rua das Laranjeiras 374, Laranjeiras, 22240-002, Rio de Janeiro, 5º andar, telefone (21) 3037-2307, endereço eletrônico: cepinclaranjeiras@gmail.com, coordenador Dr. Eduardo Tibiriçá.

Prezado (a),

Você está sendo convidado para participar de um estudo clínico. Antes de fornecer seu consentimento, solicitamos que você leia estas informações com atenção. É importante que você leia e compreenda os procedimentos propostos. Leve o tempo que for necessário para fazer todas as perguntas que você queira. O médico/equipe de estudo lhe explicará todas as palavras ou informações que não estejam claros para você.

Objetivos do estudo:

O objetivo do presente estudo é verificar, em pessoas jovens que apresentam sobrepeso (peso corporal acima do esperado), mas que tem os exames de sangue usuais com valores normais, como está o funcionamento dos seus vasos sanguíneos.

Os resultados dos exames de sangue utilizados para este estudo serão os mesmos que você fez no estudo “Avaliação de indicadores de estresse, composição corporal e perfil metabólico em funcionários de hospital de referência em Cardiologia: contribuições para a qualidade de vida”.

Se você não é funcionário do INC, mas participará do estudo, será feita uma coleta de sangue venoso, na dobra do cotovelo, onde serão examinados os níveis de açúcar e de gorduras no sangue, além da dosagem de moléculas que servem de marcadores de processos inflamatórios no seu corpo. O procedimento é o mesmo utilizado para exames de sangue que você já faz habitualmente. A coleta de sangue será realizada com material descartável, existindo apenas risco de dor leve ou pequeno hematoma.

Se você já coletou sangue no estudo descrito acima, para a realização desse estudo os seguintes procedimentos e exames serão realizados:

- Medição da pressão arterial.
- Exame do funcionamento dos seus vasos sanguíneos superficiais da pele com uma técnica de luz laser, sendo que sua pele não vai ser perfurada, nenhuma substância será injetada e você não vai sentir nenhuma dor ou desconforto. O exame exige somente que você fique deitado durante meia hora, sem se movimentar muito, para que o exame mostre como estão funcionando os pequenos vasos sanguíneos na sua pele.
- Exame dos capilares (vasos sanguíneos microscópicos) em um dedo da sua mão, utilizando um microscópio que será apenas encostado na sua pele para visualização dos capilares.

Riscos e inconveniências:

Não existem riscos significativos decorrentes das técnicas de investigação do funcionamento dos seus vasos sanguíneos da pele, apenas o fato de ter que ficar deitado sem se mexer muito por aproximadamente 30 minutos.

Informações Adicionais:

- Para esta pesquisa, não haverá nenhum custo do participante em qualquer fase do estudo. Para voluntários externos (que não sejam funcionários do hospital) será disponibilizada uma ajuda de custo no valor de 100 reais para transporte e alimentação. Você terá total e plena liberdade para se recusar em participar, bem como retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa.
- Os seus dados obtidos durante o estudo são confidenciais e o acesso aos dados é exclusivo dos pesquisadores responsáveis pela pesquisa.
- O presente estudo não traz benefícios diretos para você. Ele tem a função de gerar conhecimentos sobre o funcionamento dos seus vasos sanguíneos, que serão úteis no diagnóstico e tratamento de obesidade e doenças cardiovasculares.

- Os testes de função microvascular feitos na sua pele no presente estudo não resultam em diagnóstico de doença. No caso de alguma alteração nesses testes, você receberá informações e orientações sobre medidas a serem tomadas por você, tais como orientação nutricional e de atividade física. Se alguma alteração observada nos seus exames necessite tratamento médico, você será encaminhado (a) para tratamento no INC.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: “Avaliação da função endotelial microvascular sistêmica em obesos metabolicamente saudáveis”.

Os objetivos desta pesquisa são claros para mim. Do mesmo modo, estou ciente dos procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente na minha participação, sabendo que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízos.

Este Termo será assinado em 02 (duas) vias de igual teor, uma para o participante da pesquisa e outra para o responsável pela pesquisa.

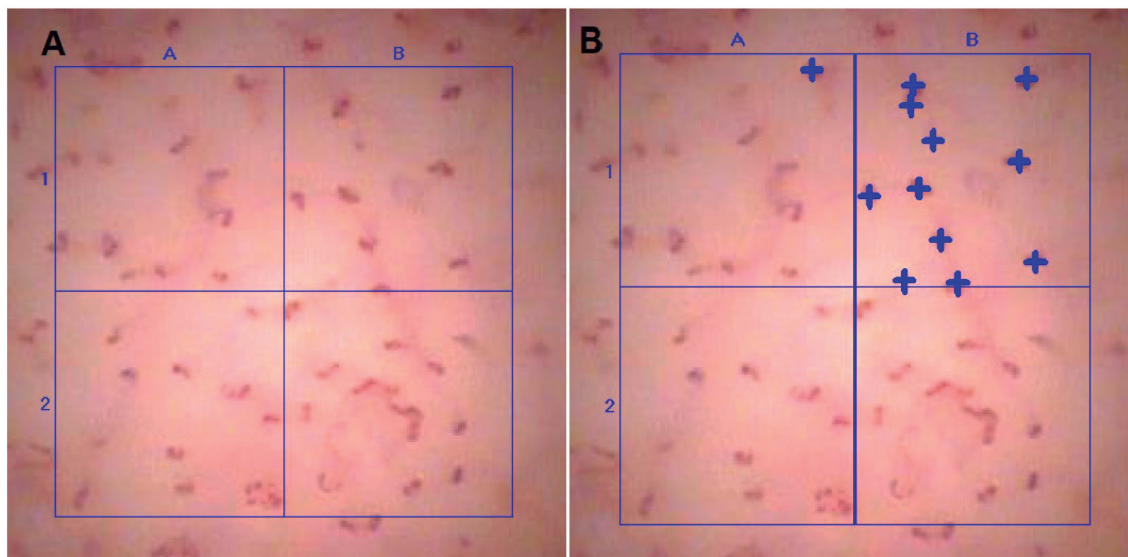
As informações obtidas sobre você neste estudo só serão utilizados para os objetivos do presente estudo.

Rio de Janeiro, _____ / _____ / _____

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Responsável pela Pesquisa

APÊNDICE B – IMAGENS DE VIDEOCAPILAROSCOPIA



Em A: Representação da imagem gerada pela videocapilaroscopia em um dos voluntários e capilares delimitados por campo de 1 mm² em microscópio com ampliação de 200x.

Em B: Representação da marcação manual dos capilares. Ao final da contagem, o *software* calculou de forma automática o número de capilares contados na área delimitada.

APÊNDICE C – CORRELAÇÕES ENTRE OS DESFECHOS E AS VARIÁVEIS IDADE, SEXO, MENOPAUSA E COVID-19

Esta tabela representa os valores de p calculados pelos testes estatísticos avaliando a correlação entre as variáveis idade, sexo, menopausa e Covid-19 e os índices de reatividade microvascular

	Idade	Sexo	Menopausa	Covid-19
CVC ACh pico-basal	p=0,186	p=0,227	p=0,357	p=0,959
CVC ACh basal	p=0,981	p<0,001	p=0,066	p=0,369
ASC ACh	p=0,939	p=0,359	p=0,833	p=0,369
CVC ACh pico	p=0,248	p=0,593	p=1	p=0,796
CVC NPS pico-basal	p=0,442	p=0,969	p=0,505	p=0,640
ASC NPS	p=0,749	p=0,104	p=0,643	p=0,758
CVC NPS pico	p=0,478	p=0,128	p=0,520	p=0,686
CVC HRPO pico	p=0,822	p=0,220	p=0,056	p=0,422
CVC HRPO pico-basal	p=0,744	p=0,002	p=0,195	p=0,478

Legenda: CVC – condutância vascular cutânea; ACh – acetilcolina; ASC – área sob a curva; NPS – nitroprussiato de sódio; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva

Nota: Em negrito as correlações estatisticamente significativas.

Correlação entre idade e variáveis de microcirculação: cálculo de p através do teste de correlação de Pearson.

Correlação entre sexo, menopausa e Covid-19 e as variáveis de microcirculação: cálculo de p através do teste de t de Student para as variáveis de distribuição paramétrica e do teste de Mann-Whitney para as variáveis de distribuição não paramétrica.

APÊNDICE D – REGRESSÕES LINEARES SIMPLES

Tabela 1: Regressão linear simples: variável dependente CVC basal e preditor sexo

Coeficientes do Modelo – CVC basal				
Preditor	Estimativas	Erro-padrão	t	p
Intercepto	0.2502	0.0136	18.44	<.001
Sexo:				
2 – 1	0.0688	0.0188	3.66	<.001
Medidas de Ajustamento do Modelo				
Modelo	R	R ²		
1	0.331	0.110		

Legenda: CVC – condutância vascular cutânea

Tabela 2: Regressão linear simples: variável dependente CVC HRPO pico-basal e preditor sexo

Coeficientes do Modelo – CVC HRPO pico-basal				
Preditor	Estimativas	Erro-padrão	t	p
Intercepto	0.543	0.0264	20.58	<.001
Sexo:				
2 – 1	-0.116	0.0365	-3.18	0.002
Medidas de Ajustamento do Modelo				
Modelo	R	R ²		
1	0.292	0.0851		

Legenda: CVC – condutância vascular cutânea; HRPO – hiperemia reativa pós-oclusiva

APÊNDICE E – NÚMERO DE FATORES DE RISCO PARA SÍNDROME METABÓLICA NO GRUPO OBESO METABOLICAMENTE NÃO SAUDÁVEL CONFORME CLASSIFICAÇÃO DA *INTERNATIONAL DIABETES ASSOCIATION*

Número de fatores de risco	Número de voluntários	Percentual em relação ao grupo
1 fator de risco	30	55%
2 fatores de risco	19	34%
3 fatores de risco	5	9%
4 fatores de risco	1	2%

ANEXO – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



INSTITUTO NACIONAL DE
CARDIOLOGIA - INC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR SISTÊMICA EM OBESOS METABOLICAMENTE SAUDÁVEIS

Pesquisador: Eduardo Vera Tibiriçá

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 13959019.0.0000.5272

Instituição Proponente: Instituto Nacional de Cardiologia - INC

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.445.028

Apresentação do Projeto:

Os pesquisadores propõem-se a estudar a microcirculação e a (dis)função endotelial em indivíduos com obesidade metabolicamente saudável (ObMS). De acordo com a definição do termo, a ObMS representa a obesidade que ocorre segregada dos critérios de síndrome metabólica definidos pela International Diabetes Federation. Como ainda há divergências acerca da definição sobre ObMS, o risco cardiovascular desses indivíduos também é incerto. Esse fenótipo pode se apresentar como um risco intermediário entre indivíduos metabolicamente saudáveis de peso normal e indivíduos obesos metabolicamente não saudáveis (ObMNS) ou como um estágio de transição, que quando evolui para ObMNS, representa maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A hipótese do presente estudo é de que os indivíduos obesos classificados como metabolicamente saudáveis apresentem pior função endotelial vascular quando comparados aos indivíduos não obesos, demonstrando aumento do risco cardiovascular mesmo nesse subgrupo considerado de "baixo risco". A detecção de disfunção endotelial em obesos metabolicamente saudáveis pode auxiliar na prevenção, tratamento e acompanhamento desses indivíduos, objetivando reduzir o desenvolvimento e a morbimortalidade das doenças cardiovasculares.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral da pesquisa é avaliar a função endotelial e a densidade microvascular sistêmica em obesos metabolicamente saudáveis; os objetivos específicos são: i) Comparar os índices de

Endereço: Rua das Laranjeiras 374 - 5º andar

Bairro: Laranjeiras

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

CEP: 22.240-008

Telefone: (21)3037-2307

E-mail: cepinclaranjeiras@gmail.com



INSTITUTO NACIONAL DE
CARDIOLOGIA - INC



Continuação do Parecer: 3.445.028

reatividade microvascular entre indivíduos obesos metabolicamente saudáveis, obesos metabolicamente não saudáveis e não obesos metabolicamente saudáveis; ii) avaliar a densidade microvascular cutânea através de vídeo-capilaroscopia.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Estão definidos no TCLE e no projeto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é interessante e relevante, o projeto muito bem escrito.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador principal retirou do projeto a dosagem de metabólitos do óxido nítrico no sangue dos participantes da pesquisa, desse modo todos os termos de apresentação obrigatória estão adequados.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto não tem pendências em sua forma atual.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme Resolução CNS/MS 466/12 Capítulo XI Item 2.d cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e final ao Comitê de Ética em que foi submetido o projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1351404.pdf	02/07/2019 15:29:11		Aceito
Outros	respostapendenciasMHOjulho2019.pdf	02/07/2019 15:28:27	Eduardo Vera Tibiriçá	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOjulho2019.pdf	02/07/2019 15:27:33	Eduardo Vera Tibiriçá	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEMHOversao2.pdf	13/06/2019 17:34:32	Eduardo Vera Tibiriçá	Aceito
Outros	comissaoeticamho.pdf	16/05/2019	Eduardo Vera	Aceito

Endereço: Rua das Laranjeiras 374 - 5º andar

Bairro: Laranjeiras

CEP: 22.240-008

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3037-2307

E-mail: cepinclaranjeiras@gmail.com



INSTITUTO NACIONAL DE
CARDIOLOGIA - INC



Continuação do Parecer: 3.445.028

Outros	comissaocientificamho.pdf	19:19:19	Tibiriçá	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTOMHO.pdf	16/05/2019 19:17:07	Eduardo Vera Tibiriçá	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 09 de Julho de 2019

Assinado por:
monica mouro de vasconcellos
(Coordenador(a))

Endereço: Rua das Laranjeiras 374 - 5º andar

Bairro: Laranjeiras

CEP: 22.240-006

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3037-2307

E-mail: cepinclaranjeiras@gmail.com