

BIOTRANS

Programa de Pós - Graduação em
Biomedicina Translacional
Mestrado e Doutorado



SANTRINE BEZERRA TRINDADE PIRES

“AVALIAÇÃO DOS TRANSPORTADORES ATIVOS PRIMÁRIOS DE SÓDIO DE ERITRÓCITOS DE INDIVÍDUOS OBESOS E COM SOBREPESO”

Duque de Caxias

2020

SANTRINE BEZERRA TRINDADE PIRES

AVALIAÇÃO DOS TRANSPORTADORES ATIVOS PRIMÁRIOS DE SÓDIO DE
ERITRÓCITOS DE INDIVÍDUOS OBESOS E COM SOBREPESO

Dissertação apresentada ao Programa de Biomedicina Translacional, da Universidade do Grande Rio, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo André da Silva.

Duque de Caxias

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UNIGRANRIO – NÚCLEO DE COORDENAÇÃO DE BIBLIOTECAS

P667a Pires, Santrine Bezerra Trindade.
Avaliação dos transportadores ativos primários de sódio de eritrócitos de indivíduos obesos e com sobrepeso / Santrine Bezerra Trindade Pires. – Duque de Caxias, 2020.
47 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Biomedicina Translacional) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciências da Saúde, 2020.
“Orientador: Prof. Dr. Paulo André da Silva”

Referências: f. 23-27.

1. Biomedicina. 2. Obesidade. 3. Hipertensão arterial. 4. Transporte ativo. 5. Eritrócitos. I. Silva, Paulo André da. II. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”. III. Título.

CDD – 610.28

SANTRINE BEZERRA TRINDADE PIRES

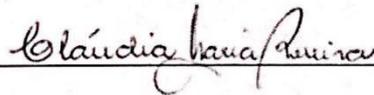
**AVALIAÇÃO DOS TRANSPORTADORES ATIVOS PRIMÁRIOS DE SÓDIO
DE ERITRÓCITOS DE PACIENTES OBESOS E COM SOBREPESO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, da Universidade do Grande Rio, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo André da Silva.

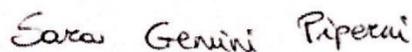
Aprovada em 17 de dezembro de 2020.

BANCA EXAMINADORA



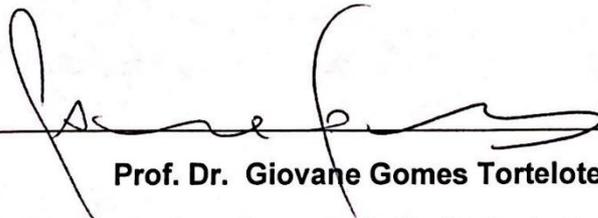
Prof^ª. Dra. Cláudia Maria Pereira

Prof^ª. Adjunto do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional
Universidade do Grande Rio



Prof^ª. Dra. Sara Gemini Piperni

Prof^ª. Adjunto do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional
Universidade do Grande Rio



Prof. Dr. Giovane Gomes Tortelote

Prof. Assistente do Departamento de Pediatria da Escola de Medicina
Universidade de Tulane - USA

Resumo

A obesidade é considerada um dos maiores problemas de saúde pública mundial, estando envolvida na gênese de diversas outras patologias como: hipertensão arterial, doença vascular encefálica e doenças renais. O excesso de peso e a obesidade se associam à hipertensão através de inúmeros mecanismos, entre os quais estão o aumento de reabsorção de sódio renal, a hiperatividade simpática e do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA). Os eritrócitos são células altamente sensíveis às modificações das concentrações sanguíneas de sódio e potássio, que por sua vez são moduladas pelos sistemas transportadores dos cátions. O objetivo do presente trabalho é avaliar a atividade dos transportadores ativos primários de sódio (Na^+ -ATPase e a Na^+ + K^+ -ATPase) localizados na membrana dos eritrócitos em uma população multi-étnica de indivíduos obesos, com sobrepeso e eutróficos, com o intuito de utilizar estes parâmetros como biomarcadores de hipertensão arterial associado a obesidade. Os grupos foram formados por funcionários e estudantes da Unigranrio, que serão classificados, de acordo com o índice de massa corporal (IMC). A população do estudo é formada 29 indivíduos, classificados pelo IMC e divididos em seus respectivos grupos. A determinação da atividade dos transportadores ativos primários de sódio (Na^+ -ATPase e a Na^+ + K^+ -ATPase) localizadas nas membranas dos eritrócitos foi mensurada a partir da quantificação do fosfato inorgânico liberado pela hidrólise do ATP. Como resultados, verificamos que existe uma redução da atividade das ATPases transportadoras de Na^+ nos indivíduos obesos e com sobrepeso em comparação com a dos eutróficos (Na^+ + K^+ -ATPase: n = 5–9; eutróficos: $44,7 \pm 6,1$; sobrepesos: $29,8 \pm 3,4$; obeso: $14,2 \pm 4,5$ nmol Pi \times mg \times h) (Na^+ -ATPase: n = 4–6; eutróficos: $28,8 \pm 4,5$; sobrepesos: $14,6 \pm 2,4$; obeso: $8,7 \pm 2,1$ nmol Pi \times mg \times h). Podemos concluir que a atividade Na^+ + K^+ -ATPásica e a Na^+ -ATPásica seriam importantes biomarcadores para as modificações ocorridas na obesidade.

Palavras-chave: Obesidade, Transportadores Ativos Primários de Na^+ , Na^+ -ATPase, Na^+ + K^+ -ATPase, Hipertensão Arterial.

Abstract

The Obesity is considered one of the biggest public health problems worldwide, being involved in the genesis of several other pathologies such as: arterial hypertension, cerebral vascular disease and kidney diseases. Overweight and obesity are associated with hypertension through numerous mechanisms, among which are the increase in renal sodium reabsorption, sympathetic hyperactivity and the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS). Erythrocytes are cells highly sensitive to changes in blood sodium and potassium concentrations, which in turn are modulated by the cation transport systems. The objective of the present study is to evaluate the activity of primary active sodium transporters (Na^+ -ATPase and Na^+ + K^+ -ATPase) located on the erythrocyte membrane in a multi-ethnic population of obese, overweight and eutrophic individuals, with the in order to use these parameters as biomarkers of hypertension associated with obesity. The groups were formed by Unigranrio employees and students, who will be classified according to the body mass index (BMI). The study population was formed by 29 subjects, classified by BMI and divided into their respective groups. The determination of the activity of the primary active sodium transporters (Na^+ -ATPase and Na^+ + K^+ -ATPase) located in the erythrocyte membranes was measured from the quantification of the inorganic phosphate released by ATP hydrolysis. As a result, we found that there is a reduction in the activity of Na^+ transporting ATPases in obese and overweight individuals compared to that of eutrophic individuals (Na^+ + K^+ -ATPase: n = 5–9; eutrophic: 44.7 ± 6.1 ; overweight: 29.8 ± 3.4 ; obese: 14.2 ± 4.5 nmol Pi \times mg \times h) (Na^+ -ATPase: n = 4–6; eutrophic: 28.8 ± 4.5 ; overweight: 14.6 ± 2.4 ; obese: 8.7 ± 2.1 nmol Pi \times mg \times h). We can conclude that Na^+ + K^+ -ATPase activity and Na^+ -ATPase activity would be important biomarkers for changes in obesity.

Keywords: Obesity, Na^+ Transporters, Na^+ -ATPase, Na^+ + K^+ -ATPase, Arterial Hypertension.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IMC	Índice de massa corporal
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
WHO	World Health Organization
ECA	Enzima conversora da angiotensina
ANG II	Angiotensina II
PKC	Proteína kinase C
PKA	Proteína Kinase A
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
CC	Circunferência da cintura
CQ	Circunferência do quadril
DAS	Diâmetro abdominal sagital
PA	Pressão arterial
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
HOMA-IR	Homeostasis model assessment insulin resistance
CT	Colesterol total
TG	Triglicerídeos

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Obesidade no mundo.....	1
Figura 2. Diferenças estruturais entre os adipócitos branco, bege e marrom bege.5	
Figura 3. Fatores que levam a hipertensão associada a obesidade.....	9
Figura 4. Modelo de vias de transporte iônico no eritrócito humano.....	11
Figura 5. Colesterol total sérico dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.....	19
Figura 6. Colesterol-HDL sérico dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.....	20
Figura 7. Colesterol-LDL sérico dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.....	20
Figura 8. Triglicerídeos séricos dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.....	21
Figura 9. Glicose sérica de indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.....	22
Figura 10. Aumento da Insulina sanguínea a partir do aumento do IMC.....	23
Figura 11. Diminuição da atividade $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPásica}$ de eritrócitos a partir do aumento do IMC.....	23
Figura 12 – Atividade $\text{Na}^+\text{-ATPásica}$ de eritrócitos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos.....	24
Figura 13. Volume corpuscular médio (VGM) de eritrócitos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos.....	25
Figura 14. Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (RDW) de eritrócitos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos.....	25
Tabela 1. Classificação da proporção peso por altura pelo índice de massa corporal.....	3
Tabela 2. Dados demográficos e clínicos.....	18
Tabela 3. Eletrólitos, ureia e creatinina dos indivíduos obesos e sobrepeso.....	26

SUMÁRIO

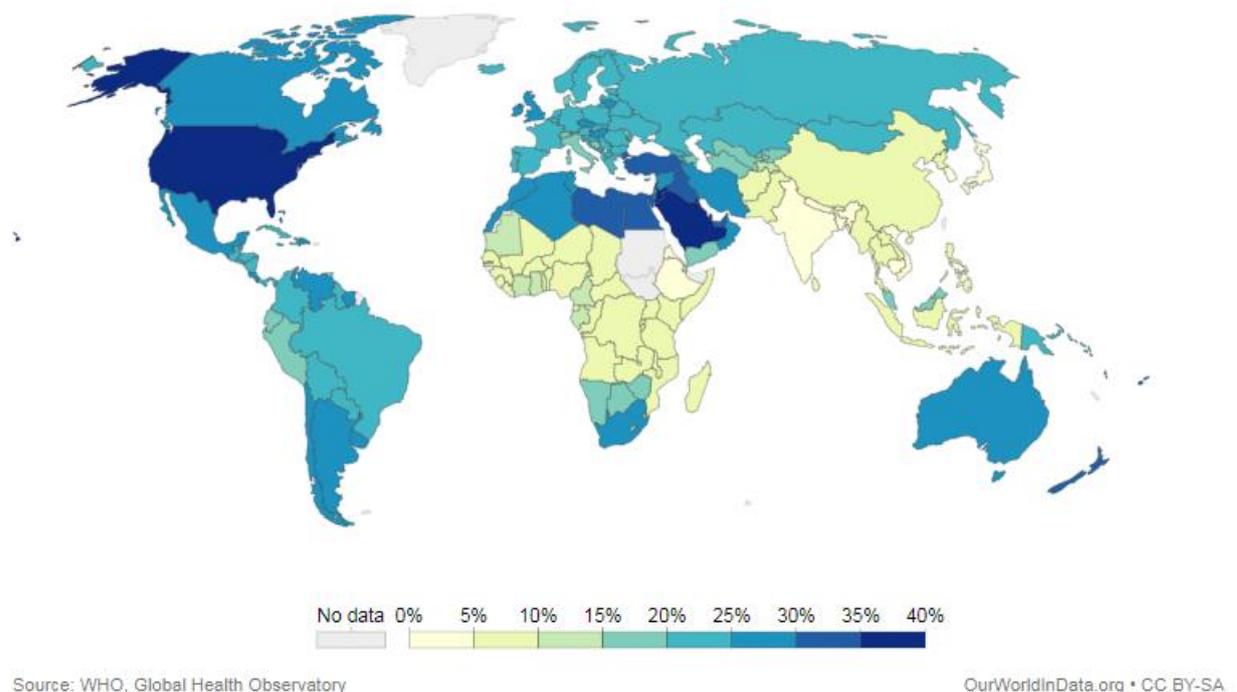
1. Introdução	01
1.2 Obesidade e sobrepeso: causas e consequências	03
1.3 Papel da leptina e adiponectina na hipertensão arterial associada ao excesso de peso e obesidade	05
1.4 O Papel do SRAA na hipertensão associada ao excesso de peso	07
1.5 Mecanismos de transporte iônico nos eritrócitos.....	10
2. Justificativa	12
3. Objetivo Geral	13
3.1. Objetivos Específicos	13
4. Metodologia	14
4.1. Casuística	14
4.2. Avaliação antropométrica	14
4.3. Determinação da pressão arterial (PA)	15
4.4. Coleta de sangue e ensaios bioquímicos	15
4.5. Determinação da atividade das ATPases transportadoras de sódio	16
4.6. Análise Estatística	17
5. Resultados	18
6. Discussão	27
7. Conclusões	31
8. Bibliografia	32
Anexo I – TCLE	38

Anexo II – Ficha de anamnese 40

1. Introdução

Nas últimas décadas o número de pessoas com sobrepeso e obesidade no mundo aumentaram de forma significativa, atingindo todas as classes sociais, idades e vários países de mundo (**Figura 1**) (www.worldobesity.org, 2020). O número de indivíduos com sobrepeso no mundo gira em torno de 2,7 bilhões de indivíduos e destes 1 bilhão são obesos (Yach *et al.*, 2016). No Brasil, esta condição não é diferente, em um período de dez anos a obesidade e o sobrepeso aumentaram significativamente, em 2008–2009 (IBGE, 2009), a obesidade atingia 12% da população, que passou para 20% em 2018, enquanto o sobrepeso, que atingia 43% da população em 2008-2009, passou para 56% em 2018 (Vigitel, 2018).

Figura 1. Obesidade no mundo.



Percentual de adultos obesos no mundo, são considerados obesos os indivíduos que apresentam o índice de massa corporal (IMC) > 30 (<https://ourworldindata.org/obesity>, 2016).

A obesidade é classificada de acordo com o índice de massa corporal (IMC), que é calculado a partir da divisão do peso corporal (em kg) dividido pela altura (em m) ao quadrado, de acordo com a Organização Mundial da Saúde o indivíduo é considerado

obeso quando apresenta um IMC maior ou igual a 30 e com sobrepeso quando apresenta o IMC na faixa de 25 a 29,9 (WHO, 2017).

A obesidade é uma doença crônica que está associada a diversas comorbidades, entre elas estão: a hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo II, doenças cardiovasculares, entre outras (Andolfi & Fisichella, 2018). O aumento da proporção de indivíduos obesos, e conseqüentemente, de suas comorbidades, se tornou um importante problema de saúde pública mundial, levando a grandes gastos financeiros (Madruga *et al.*, 2016).

Segundo Reisin & Jack (2009), aproximadamente 40% dos americanos obesos apresentam hipertensão arterial. O sobrepeso e a obesidade estão diretamente ligados a alterações renais que vão culminar em um aumento da reabsorção renal de Na^+ e conseqüentemente causando o aumento do volume plasmático, estas condições são de extrema importância para desenvolvimento da hipertensão arterial associada à obesidade (Hall *et al.*, 2020). Com grandes aumentos da adiposidade corporal ocorrerá uma ativação simpática que por sua vez vai causar ativação do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) e aumento da pressão intra-renal causada pela obesidade abdominal (Francischetti & Genelhu, 2007).

A partir do aumento da reabsorção renal de sódio a curva pressão/natriurese será alterada, em função disto, ocorre o aumento da pressão arterial, para aumentar a excreção de sódio de modo a manter o equilíbrio entre ingestão e excreção renal deste cátion (Hall, 2000). A atividade simpática aumentada, mediada sistemicamente pelo sistema nervoso simpático e localmente pelo ramo simpático eferente renal, resulta no aumento da resistência arteriolar periférica, um dos principais moduladores do mecanismo de retenção de sódio (Rumantir *et al.*, 1999).

Na hipertensão arterial, o manejo tubular de sódio e a contratilidade das células de músculo liso vascular estão alteradas, promovendo o aumento da pressão arterial. Os eritrócitos são células altamente sensíveis as modificações das concentrações de Na^+ plasmático e são de fácil acesso, por isso, vários pesquisadores procuram uma correlação entre as modificações no transporte de Na^+ nos eritrócitos e a hipertensão arterial (Jean *et al.*, 1989; Golik 1996). Vários estudos mostraram anormalidades no transporte de sódio em eritrócitos de indivíduos hipertensos, entretanto, os resultados que mostraram a concentração de Na^+ intracelular e atividade da $\text{Na}^+\text{+K}^+\text{-ATPase}$

foram distintos (Hilton, 1986; Stephen, 1996). Alguns estudos investigaram a atividade da $\text{Na}^+\text{+K}^+\text{-ATPase}$, entretanto não existem resultados relacionados a atividade da $\text{Na}^+\text{-ATPase}$ nestas condições.

1.2. Obesidade e sobrepeso: causas e consequências

A obesidade é identificada a partir da utilização do IMC, o indivíduo é considerado obeso quando o IMC é igual ou superior a 30 kg/m^2 (WHO, 2017) (Tabela 1). Apesar do IMC ser um bom método e o mais utilizado para identificar e classificar a obesidade e o sobrepeso, ele não indica a localização da gordura corporal nem composição corporal. O local de concentração da adiposidade é de extrema importância para predição de risco cardiometabólico, pois um indivíduo com um IMC classificado como normal pode apresentar um alto risco cardiometabólico se apresentar grande quantidade de gordura visceral (Yusuf *et al.*, 2005).

Tabela 1. Classificação da proporção peso por altura pelo índice de massa corporal.

IMC	Classificação
< 18,5	Baixo Peso
18,5 – 24,9	Peso Normal
25,0 – 29,9	Pré-obesidade
30,0 – 34,9	Obesidade Grau I
35,0 – 39,9	Obesidade Grau II
> 40,0	Obesidade Grau III

As causas da obesidade são complexas e multifatoriais, podendo envolver fatores genéticos, socioeconômicos e culturais (Apovian, 2016). A interação desses fatores ocorre de forma complexa e exerce influência nos padrões de alimentação, comportamentais, que levam a um balanço energético positivo, gerando ganho de peso excessivo e, por consequência, a obesidade (Romieu *et al.*, 2017). Apesar das causas multifatoriais, o desequilíbrio energético entre a ingesta e o gasto de calorias,

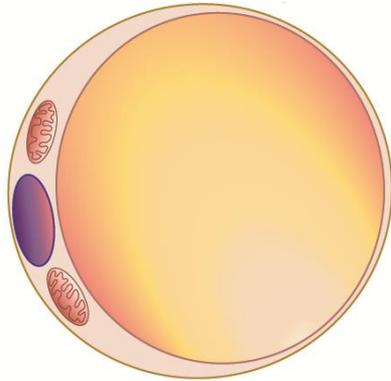
é considerado um fator chave no desenvolvimento da obesidade e o sobrepeso (WHO, 2018). Caso o consumo seja igual ao gasto, o peso corporal vai se manter, caso contrário, o excesso de energia será estocado na forma de gordura, promovendo o aumento de peso (Anderson *et al.*, 2015). Nos dias atuais, este fato pode ser explicado pelos hábitos de vida cada vez mais sedentários, influenciados pela progressão urbana e aumento da ingestão de produtos que apresentam alta concentração de carboidratos e gorduras (WHO, 2018).

Para estudar a obesidade e suas consequências vários fatores devem ser levados em consideração quando se classifica o tecido adiposo, como a localização, seus aspectos histológicos e bioquímicos. Em relação a localização o tecido adiposo pode ser classificado como subcutâneo e visceral (Bartelt & Heeren, 2014). O tecido adiposo subcutâneo é encontrado entre a pele e o músculo, possuindo características antilipolíticas, os ácidos graxos derivados da sua hidrólise são encaminhados para a circulação sistêmica, apresentando baixo risco a saúde (Arner, 1995). O tecido adiposo visceral se localiza entre a parede posterior do músculo reto abdominal e a parede anterior da artéria aorta. Tem uma grande quantidade de receptores adrenérgicos, sendo altamente lipolítico (Ibrahim, 2009). Os ácidos graxos derivados de sua lipólise direcionam-se para a circulação portal, passando, primeiramente pelo fígado e, depois, entrando na circulação sistêmica (Kwok *et al.*, 2016). Esse processo ocorrendo de forma exacerbada causa um aumento de influxo de ácidos graxos para o fígado, sobrecarregando-o. Por produzir uma maior quantidade de adipocinas pró inflamatórias, esse tecido adiposo é mais perigoso e está relacionado a doenças como esteatose hepática não alcoólica, dislipidemias, diabetes mellitos tipo 2 (DM2) e doenças cardiovasculares (Ibrahim, 2009).

Em relação aos aspectos histológicos e bioquímicos, os adipócitos podem ser classificados em três tipos: o adipócito branco, que apresenta uma única gota de gordura que preenche quase todo citosol, com pequenas quantidades de mitocôndrias; o adipócito marrom que apresenta diversas pequenas gotículas de gordura distribuídas por todo citosol com uma grande quantidade de mitocôndrias (**Figura 2**) (Virtanen *et al.*, 2009; Saely *et al.*, 2012; Adamczak & Wiecek, 2013; Bartelt & Heeren, 2014); e o adipócito bege, que possui características intermediárias entre as do branco e do marrom (Wu *et al.*, 2013).

Figura 2. Diferenças estruturais entre os adipócitos branco, bege e marrom bege.

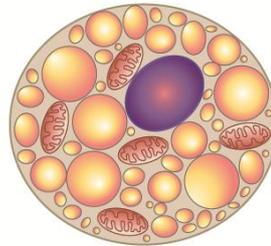
Adipócito branco



Gota lipídica



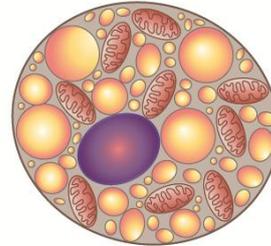
Adipócito bege



Núcleo



Adipócito marrom



Mitocôndria



Fonte: Adaptado de Bartelt & Heeren, 2014.

O tecido adiposo branco está relacionado com as comorbidades provenientes da obesidade, encontra-se distribuído por todo o corpo, principalmente em grandes depósitos na região subcutânea abdominal, região gluteofemoral, músculos, coração e mesentério (Kwok *et al.*, 2016). Esse tecido tem como importante característica a produção de uma grande quantidade de adipocitocinas que terão ação local e sistêmica. Essas adipocitocinas podem exercer diferentes funções no organismo, dentre elas estão o controle dos níveis inflamatórios, o apetite e a pressão arterial, como principal exemplo pode-se citar a leptina e a adiponectina (Costa & Duarte, 2006; Matsuzawa, 2006).

1.3. Papel da leptina e adiponectina na hipertensão arterial associada ao excesso de peso e obesidade

A leptina é uma proteína com 167 aminoácidos em sua forma inativa, em sua forma funcional ela apresenta 146 aminoácidos (Funcke *et al.*, 2014). Ela é produto do gene OB e é expressa e secretada pelos adipócitos proporcionalmente à massa de gordura corporal, a deficiência congênita de leptina e de seu receptor é muito rara

e causa obesidade (Frank *et al.*, 2013; Wabitsch *et al.*, 2015; Wasim & Fakhar, 2015). Este hormônio age no hipotálamo alterando a ingesta energética, diminuindo o apetite e aumentando o gasto energético através da estimulação simpática de vários tecidos (Haynes *et al.*, 1997). Em alguns modelos experimentais, como camundongos e ratos obesos alimentados por dieta rica em gordura e/ou carboidratos, a obesidade foi associada à resistência seletiva à leptina quanto às suas ações de controle do apetite e redução do peso, mas preservada quanto à sua ação sobre a atividade simpática (Rahmouni *et al.*, 2003). Isso ocorre, pois, a resistência a leptina está restrita ao núcleo arqueado, com preservação de sua ação no hipotálamo ventromedial e dorsomedial (Rahmouni *et al.*, 2005).

A leptina promove suas ações a partir da ligação com seu receptor que por sua vez ativa a Janus cinase 2 (JAK2) (Hle & Kerr, 1995). Após sua ligação com a porção extracelular do receptor, ocorre uma alteração conformacional que leva a ativação da JAK2, que então, fosforila outros resíduos de tirosina do receptor ativando diferentes cascatas de sinalização. Três tirosinas podem ser fosforiladas na porção carboxi terminal do receptor: Tyr985, Tyr1077 e Tyr1138 (Cui *et al.*, 2016). A fosforilação do resíduo Tyr985 leva a ativação da kinase SHP2, promovendo assim a ativação da ERK1/2; o resíduo Tyr1077, participa da modulação de aspectos relativos à reprodução ligando-se ao fator de transcrição STAT5; e Tyr1138 promove a ativação do fator de transcrição STAT3. Como mencionado, este é o mecanismo primário pelo qual a leptina controla o balanço energético (Cui *et al.*, 2016).

A ativação do receptor de leptina também pode promover a ativação da fosfatidilinositol-3-kinase (PI3K), uma importante kinase que modula várias vias intracelulares e ativa os receptores de melanocortina do tipo 3 e 4 (MC3/4-R) que são mediadores essenciais da ação da leptina na ativação simpática renal e no aumento da pressão arterial. Além disto, os antagonistas de MC3/4-R e a inibição da PI3K previnem os efeitos crônicos deletérios sobre o sistema cardiovascular e vias metabólicas causados pela leptina (Fruhbeck, 2006).

O receptor de leptina também recebe sinais inibitórios de várias vias de sinalização entre eles estão o supressor da sinalização de citocina 3 (SOCS3), proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), entre outros, isso garante que a ativação do receptor não ultrapasse um ponto fisiologicamente necessário. Na obesidade, os níveis circulantes de leptina aumentam, o que está associado ao transporte diminuído

de leptina através da barreira hematoencefálica e à ativação dos sistemas inibidores de feedback negativo que eventualmente levam à diminuição da sinalização do receptor de leptina (Pedroso *et al.*, 2014; Reed *et al.*, 2010; Cui *et al.*, 2017).

Outra adipocina de papel importante nas alterações metabólicas é a adiponectina, estando relacionada a resposta inflamatória e regulação do balanço energético, apresentando um papel anorexígeno e anti-inflamatório (Zonera *et al.*, 2020). Outra importante ação da adiponectina é aumentar a sensibilidade a insulina e inibir a inflamação vascular (Zonera *et al.*, 2020).

A adiponectina é uma proteína de 30 kDa, formada por 247 aminoácidos e apresenta uma estrutura semelhante a do TNF (Berg *et al.*, 2002). Promove suas funções a partir da interação com seus receptores, AdipoR1 e AdipoR2. O receptor AdipoR1 apresenta uma alta expressão no músculo esquelético, enquanto o AdipoR2 é expresso predominantemente no fígado. Ambos os receptores são expressos nas ilhotas pancreáticas e sua expressão é aumentada com o aumento de ácidos graxos (Berg *et al.*, 2002).

A principal característica da adiponectina para melhorar a captação de glicose e o aumento na oxidação de ácidos graxos seria a ativação da proteína cinase ativada por AMP (AMPK) muscular e hepática (Thomas *et al.*, 2002; Yamauchi *et al.*, 2002). Nas células do músculo esquelético, a adiponectina promove aumento das concentrações de Ca²⁺ intracelular, ativando CaMKK, AMPK e sirtuína 1 (SIRT1), resultando no aumento da expressão e atividade do PPAR γ (Thomas *et al.*, 2002; Yamauchi *et al.*, 2002).

Ao contrário do que ocorre com a leptina, os níveis de adiponectina circulante estão diminuídos na obesidade, e tem uma correlação inversa com IMC, glicemia e níveis de insulina circulante, bem como com o risco de desenvolver DM2 (Berg *et al.*, 2002; Hui *et al.*, 2012). Em relação ao risco cardiovascular, a redução das concentrações de adiponectinemia estão relacionadas a redução da vasorreatividade, disfunção endotelial, hipertensão arterial, doença cardíacas e inflamação valvar (Ouchi *et al.*, 2003; Mohty 2011).

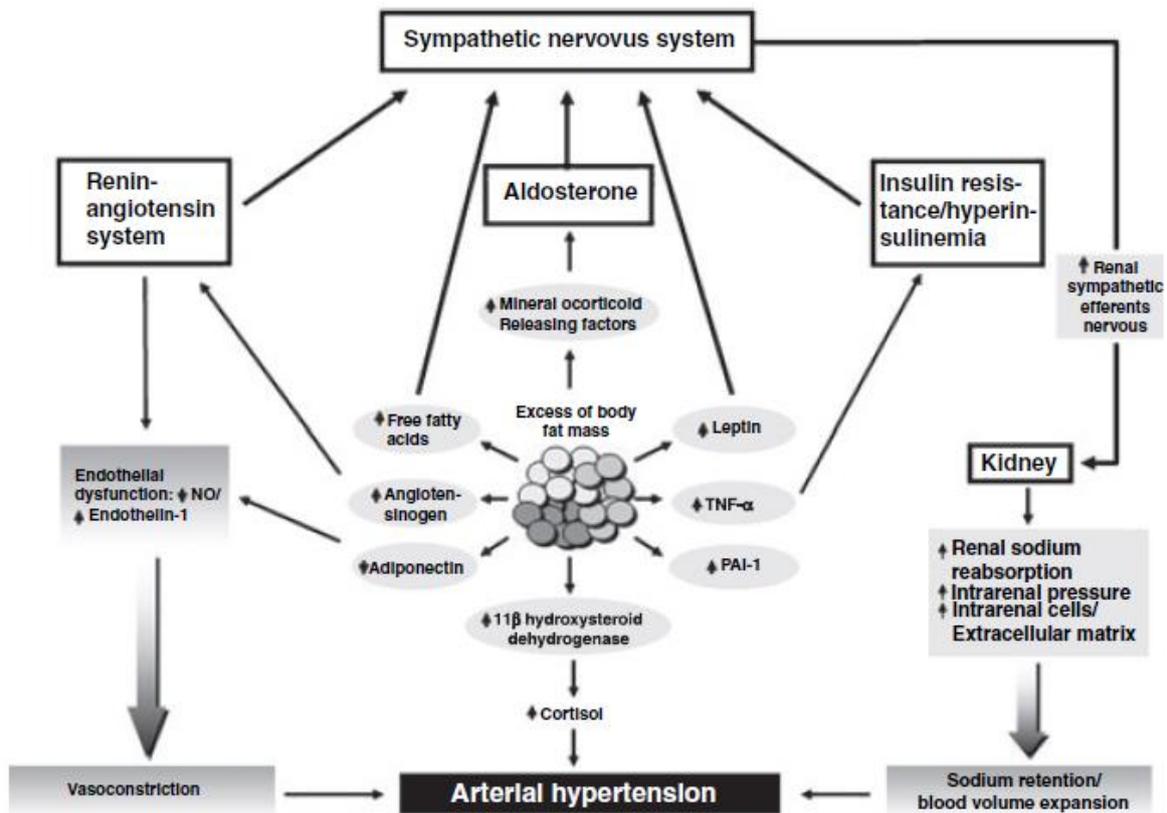
1.4. Papel do SRAA na hipertensão associada ao excesso de peso

A **Figura 3**, mostra de forma resumida os principais mecanismos que levam a hipertensão arterial associada ao excesso de peso. E dentre os principais fatores podemos destacar o aumento da atividade do SRAA.

Indivíduos obesos hipertensos apresentam um aumento do angiotensinogênio circulante, da atividade plasmática da renina e da enzima conversora da angiotensina (ECA) (Umemura *et al.*, 1997). Com isso, ocorre o aumento da angiotensina II (Ang II), que vai exercer um papel autócrino, parácrino e endócrino modulando a reabsorção renal de Na⁺ e a contratilidade dos vasos sanguíneos (Hall *et al.*, 1999). A Ang II tem um papel central na hipertensão associada à obesidade, isto se torna evidente quando pacientes e cães obesos são tratados com inibidor de ECA, observando-se menor retenção de sódio pelo rim e redução da pressão arterial (Robles *et al.*, 1993; Reisin *et al.*, 1997).

Os efeitos da Ang II na reabsorção de Na⁺ em túbulos proximais renais é muito estudada, entretanto, sobre os efeitos da Ang II no transporte de Na⁺ em eritrócitos ainda é pouco esclarecido e com muitas inconsistências. Seus efeitos ocorrem a partir da interação destes peptídeos com seus receptores específicos: AT₁ e AT₂ (Santos *et al.*, 2003; Axelband *et al.*, 2009; Dias *et al.*, 2014) que, quando estimulados, desencadeiam a ativação de vias de sinalização celular, muitas vezes antagônicas, que regulam a atividade de transportadores ativos primários de Na⁺, influenciando, desta forma, a pressão arterial (Silva *et al.*, 2014). Os receptores AT₁, quando estimulados por Ang II (sistêmica ou localmente produzida), ativam vias de sinalização (que notadamente envolvem PKC) (Rangel *et al.*, 2005) que aumentam a atividade da (Na⁺+K⁺) ATPase e da Na⁺-ATPase em túbulos proximais levando a um aumento na reabsorção de Na⁺ (Therien e Blostein, 2000; Rangel *et al.*, 2005). Com relação aos receptores AT₂, a maioria das ações descritas são, de modo geral, um contrabalanço dos efeitos mediados por AT₁ (Miura *et al.*, 2010) com ativação da proteína kinase A (PKA) (de Souza *et al.*, 2004) e de outras vias que ainda não foram elucidadas (Miura *et al.*, 2010). Apesar da atividade das ATPases transportadoras de Na⁺ e sua modulação pelo SRAA serem extensamente estudadas em diferentes modelos de hipertensão arterial pouco se sabe sobre a atividade destes transportadores em eritrócitos nestas condições.

Figura 3. Fatores que levam a hipertensão associada a obesidade.



Na obesidade, a hiperatividade do SRAA, aumento da leptina e ácidos graxos livres, promovem o aumento da atividade simpática, causando uma ativação do nervo simpático eferente renal. Estes processos por sua vez, levariam a um aumento da reabsorção de sódio renal, causando um aumento na expansão de volume levando a hipertensão arterial (reproduzido de Francischetti & Genelhu, 2006).

1.5. Mecanismos de transporte iônico no eritrócito

A manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico é crítica para a sobrevivência do eritrócito. Várias vias controlam a homeostase de água e solutos nos eritrócitos e alterações nestes fatores podem comprometer a integridade da célula, causando uma destruição prematura. Distúrbios adquiridos ou genéticos de hidratação de eritrócitos compõem um grupo diverso de doenças com diferentes fenótipos celulares variando de eritrócitos desidratados a super-hidratados (Gallagher, 2017).

A preservação equilíbrio hidroeletrólítico é um processo dinâmico que envolve vários fatores, dentre deles podemos citar o conteúdo de íons, a concentração de hemoglobina, as vias de transporte de íons, a área de superfície da membrana, as interações complexas entre solutos e a condutância da membrana para ânions e cátions monovalentes (**Figura 4**) (Brugnara 1997; Hoffmann et al., 2009). Várias vias medeiam a homeostase de água e solutos nos eritrócitos, entretanto, o volume celular é controlado principalmente pelo conteúdo de cátions monovalentes (Brugnara 1997; Hoffmann et al., 2009).

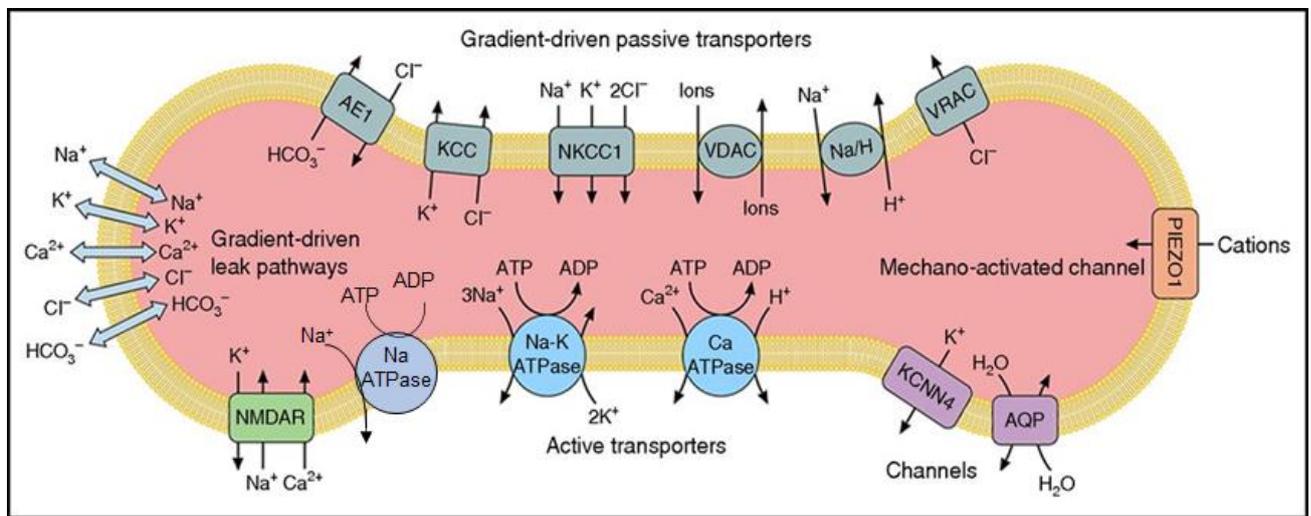
A concentração intracelular de potássio no eritrócito é alta (~ 140 mEq/dl) em comparação com a do plasma (4-5 mEq/dl), enquanto a concentração de sódio é baixa (~ 10mEq/dl), em comparação com a do plasma (~ 140mEq/dl). Estes gradientes de concentração levam ao movimento passivo do sódio para dentro e do potássio para fora do eritrócitos. O ambiente interno com baixo teor de sódio e alto potássio do eritrócito é mantido pela $\text{Na}^+\text{+K}^+\text{-ATPase}$ (Tosteson and Hoffman, 1960).

No estado estacionário, a permeabilidade iônica através da membrana eritrocitária é muito baixa, evitando a osmose e conseqüentemente alterações no volume celular. Eletro-difusões catiônicas passivas (vazamento) permitem que o potássio saia da célula e o sódio entre. No entanto, a célula tem capacidade limitada para responder a alterações nas concentrações de cátions monovalentes e, se excedido, o volume celular mudará também. Quando a difusão do sódio para o meio intracelular excede a difusão de potássio para meio fora extracelular, os eritrócitos incham. Quando a difusão de potássio para o meio extracelular excede a difusão de sódio para o meio intracelular, os eritrócitos murcham (Brugnara 1997). Mudanças na permeabilidade da membrana são detectados pela mensuração do sódio e potássio intracelular, teor total de cátions, com índices de forma e hidratação dos eritrócitos e

atividade dos transportadores iônicos localizados na membrana (Stewart & Turner, 1999).

Em diferentes patologias, como hipertensão arterial e obesidade, os mecanismos de transporte localizados nas membranas dos eritrócitos se apresentam alterados, podendo ser estudados e futuramente utilizados como biomarcadores de diferentes patologias.

Figura 4. Modelo de vias de transporte iônico no eritrócito humano.



Retirado de Gallagher 2017

2. Justificativa

Nas últimas décadas a obesidade aumentou significativamente em todo o mundo atingindo tanto países desenvolvidos como os em desenvolvimento (www.worldobesity.org, 2020).

Sabe-se que a obesidade está atrelada a diversas comorbidades dentre elas podemos destacar a hipertensão arterial, DM2 e doenças cardíacas. A hipertensão arterial é uma importante comorbidade a ser estudada pois pode causar danos agudos e crônicos a vários órgãos e tecidos. Então, faz-se necessário a descoberta de novos biomarcadores para detectar e controlar as modificações e comorbidades causadas pela obesidade e o excesso de peso (Hall *et al.*, 2020).

As modificações hormonais e metabólicas causadas pela obesidade vão afetar o funcionamento do organismo, como também, diversos mecanismos de homeostase. E entre eles podemos citar o balanço hidroeletrolítico e a pressão arterial. O eritrócito é uma célula muito sensível a modificações das concentrações de eletrólitos, por isso, as ATPases transportadoras de sódio dos eritrócitos seriam bons candidatos a biomarcadores para hipertensão arterial associada à obesidade.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Verificar a atividade dos transportadores ativos primários de Na^+ (Na^+ -ATPase e Na^+ + K^+ -ATPase) nas membranas de eritrócitos de indivíduos obesos e com sobrepeso, no intuito de utilizar estes parâmetros como biomarcadores de hipertensão arterial associada a obesidade.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar os dados antropométricos e os níveis pressóricos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos;
- Determinar o perfil bioquímico de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos;
- Verificar a atividade dos transportadores ativos primários de Na^+ (Na^+ -ATPase e Na^+ + K^+ -ATPase) nos eritrócitos de indivíduos obesos e com sobrepeso.

4. Metodologia

4.1. Casuística

Os grupos experimentais foram formados por funcionários e estudantes da Unigranrio, estes foram classificados em indivíduos com sobrepeso; obesidade e eutróficos. A participação foi voluntária, respeitando-se os critérios de inclusão e exclusão. Foram incluídos no estudo 29 indivíduos e distribuídos, respectivamente, pelos três grupos de acordo com o IMC.

Os indivíduos selecionados foram informados sobre os detalhes do projeto e concordaram em participar do estudo. Estes, foram avaliados clínica e bioquimicamente. Todos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (todos os procedimentos realizados nesta dissertação foram aprovados pelo Comitê de Ética da Unigranrio - CAAE - 07963219.5.0000.5283).

Os Critérios de Inclusão foram: idade entre 18 e 50 anos, sem distinção de sexo e etnia; ser capaz de ler, compreender e assinar o TCLE.

Os indivíduos que foram excluídos do estudo apresentavam as seguintes características: Hipertensão arterial; DM2; Nefropatias, endocrinopatias; neoplasias; doenças cardiovasculares; autoimunes; hematológicas; psiquiátricas e intestinais; indivíduos que utilizam fármacos que interferem no peso corporal, no metabolismo de carboidratos e lipídeos e hipotensores; gestação e lactantes; uso de substâncias ilícitas.

4.2. Avaliação antropométrica

O peso corporal dos indivíduos foi aferido em balança antropométrica e a estatura medida em um estadiômetro. A partir destas medidas, foi calculado o IMC e os indivíduos foram classificados em grupos (eutróficos, sobrepesos e obesos).

O índice circunferência da cintura (CC) e do quadril (CQ) foi calculado a partir das medidas realizadas com fita métrica metálica, graduada em centímetros, com o indivíduo de pé. A CC e a CQ foram medidas, respectivamente, no ponto médio entre a crista ilíaca e o último arco costal e na maior circunferência posterior das nádegas.

O diâmetro abdominal sagital (DAS) foi medido com um estadiômetro abdominal de haste móvel (caliper abdominal Trivium; Trivium Ind. e Com. Ltda; Universidade Federal de Viçosa). O indivíduo se mantém em decúbito dorsal em uma maca de superfície firme, e o DAS corresponderá à medida entre a maca e o limite abdominal superior no plano horizontal.

4.3. Determinação da pressão arterial (PA)

A PA foi aferida pelo método oscilométrico, utilizando-se um monitor automático da marca OMRON. Os manguitos têm tamanho apropriado ao braço dos participantes e os registros são feitos com o indivíduo sentado. Após 5 min de repouso, serão realizadas três medidas sequenciais, com intervalos de 3 min, com vistas ao cálculo da média dos níveis pressóricos. Foram descartados valores que apresentarem diferenças acima de 10 mmHg na PA sistólica e 5 mmHg na PA diastólica.

4.4. Coleta de sangue e ensaios bioquímicos

Foram coletados aproximadamente 25 ml de sangue periférico após 12h de jejum para realização das análises bioquímicas. Destes 25 ml, 15 ml foram utilizados para obtenção das membranas de eritrócitos para medir a atividade das ATPases transportadoras de Na⁺.

As análises bioquímicas foram realizadas em parceria com o LABORAFE – Laboratório de Análises Clínicas da Unigranrio. Dentre as análises bioquímicas foram avaliadas:

- Glicemia de Jejum: pelo método enzimático, amostra coletada em tubos sem anticoagulantes, centrifugadas imediatamente após a coleta. Valores expressos em mg/dL e baseados nos valores de referência fixados pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2017), em que: normoglicêmica < 100 mg/dL, pré-diabetes: ≥ 100 e < 126 mg/dL e diabetes estabelecido ≥ 126 mg/dL;

- Insulina: determinada pelo método de quimioluminescência, valores expressos em mcUI/mL, em que os valores de referência para insulinemia ideal estão entre: 1,90 a 23 mcUI/ml;

- Índice de resistência à insulina: determinado pela aplicação da fórmula do HOMA-IR (homeostasis model assessment- insulin resistance), em que a resistência é determinada pelo produto da insulinemia ($\mu\text{U/mL}$) e pela glicemia de jejum (mg/dL), dividido por 22,5. A RI é determinada pelo $\text{HOMA-IR} \geq 2,71$, de acordo com o observado na amostra da população brasileira de origem multiétnica (GELONEZE, 2006)

- Perfil lipídico: composto por colesterol total (CT), HDL-colesterol (HDL-C) e triglicerídeos (TG), determinados pelo método enzimático colorimétrico. O LDL – colesterol (LDL-C) foi estimado pela fórmula de Friedwald. Os valores de referência adotados foram baseados nas Novas Metas de Colesterol da Diretriz de Dislipidemia da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2017) para adultos com idade > 20 anos, onde os valores de referência são: CT < 190 mg/dL, HDL > 40 mg/dL, triglicerídeos < 150 mg/dL. Os valores do LDL-L colesterol variam de acordo com a risco cardiovascular estimado, em que: < 130 mg/dL baixo risco, < 100 mg/dL risco intermediário, < 70 mg/dL risco alto, < 50 mg/dL risco.

4.5. Determinação da atividade das ATPases transportadoras de sódio

As membranas plasmáticas de eritrócitos para o estudo da atividade das ATPases transportadoras de sódio foram obtidas como descrito por Golik *et al.*, (1996). Foram coletados 15 ml de sangue em tubos contendo EDTA e o sangue foi centrifuga em uma centrifuga clinica por 15 min a $600 \times g$ para separar as células sanguíneas do plasma. Após separar os eritrócitos, eles foram hemolisados em uma solução contendo 10 mM de TrisHCl e 1 mM de EDTA (pH 7,4). Após a hemólise dos eritrócitos, as membranas foram precipitadas com uma centrifugação em uma ultracentrifuga a $27.000 \times g$ por 20 min. Após a precipitação das membranas, elas foram lavadas 3 vezes em uma solução contendo TrisHCl (10 mM, pH 7,4) e reprecipitadas novamente com a mesma centrifugação. Após a última centrifugação as membranas foram resuspendidas em sacarose (250 mM) e armazenadas em freezer a -80°C .

As atividades destas ATPases foram medidas a partir da quantificação do fosfato inorgânico liberado resultante da hidrólise do ATP (Silva *et al.*, 2014). As atividades da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ e $\text{Na}^+\text{-ATPase}$ foram calculadas a partir do delta entre a atividade

na presença e na ausência de seu inibidor (no caso da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ utiliza-se a ouabaína e da $\text{Na}^+\text{-ATPase}$ a furosemida) após 60 min de hidrólise do ATP.

4.6. Análise Estatística

Os dados clínicos e experimentais obtidos foram analisados com auxílio do pacote estatístico IBM-SPSS (versão 19, IBM Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Diferenças significativas nos parâmetros clínicos e experimentais entre os grupos foram avaliadas utilizando ANOVA de um fator seguida de um pós-teste de Tukey. Os resultados são mostrados como média e erro padrão

5. Resultados

A amostra é composta por 29 indivíduos, que foram classificados em eutróficos (n = 10), sobrepesos (n = 14) e obesos (n = 5) de acordo com IMC (**Tabela 2**). A partir dos resultados expostos na **Tabela 2**, podemos verificar existe diferença significativa entre os três grupos nas variáveis peso corporal e IMC. Entretanto, nas variáveis altura e ICQ, não existe diferença entre os grupos controle e sobrepeso, mas estes dois grupos apresentam diferença em relação ao grupo obeso.

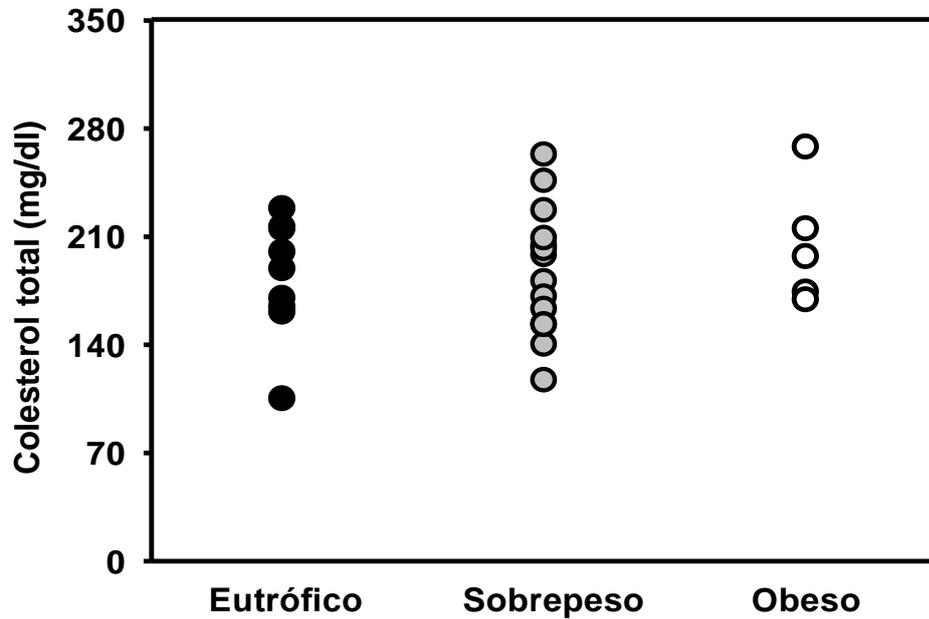
A **Figura 5** mostra o colesterol sanguíneo total, podemos verificar que não ocorreu diferença significativa na comparação entre os três grupos (n = 5–14; eutróficos: $181,2 \pm 11,5$; sobrepesos: $187,6 \pm 11,1$; obesos: $204,6 \pm 17,9$).

Tabela 2. Dados demográficos e clínicos.

	Controle	Sobrepeso	Obeso
n	10	14	5
Sexo F/M	5/5	11/3	0/5
Peso corporal (kg)	$57,9 \pm 3,5^a$	$76,7 \pm 2,1^b$	$124,3 \pm 17,0^c$
Estatura (m)	$1,64 \pm 0,02^a$	$1,67 \pm 0,02^a$	$1,76 \pm 0,03^b$
Idade	23 ± 1	27 ± 1	29 ± 3
IMC (kg/m²)	$21,3 \pm 0,8^a$	$27,4 \pm 0,4^b$	$39,7 \pm 4,4^c$
Relação Cintura/Quadril (cm/cm)	$0,77 \pm 0,02^a$	$0,79 \pm 0,02^a$	$0,98 \pm 0,04^b$
PA sistólica (mm Hg)	$114,4 \pm 3,6^a$	$112,8 \pm 1,6^a$	$122,2 \pm 4,0^a$
PA diastólica (mm Hg)	$72,3 \pm 3,5^a$	$72,1 \pm 2,0^a$	$77,0 \pm 1,6^a$

Letras diferentes representam diferença significativa em relação aos outros grupos ($p < 0,05$)

Figura 5. Colesterol total sérico dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.

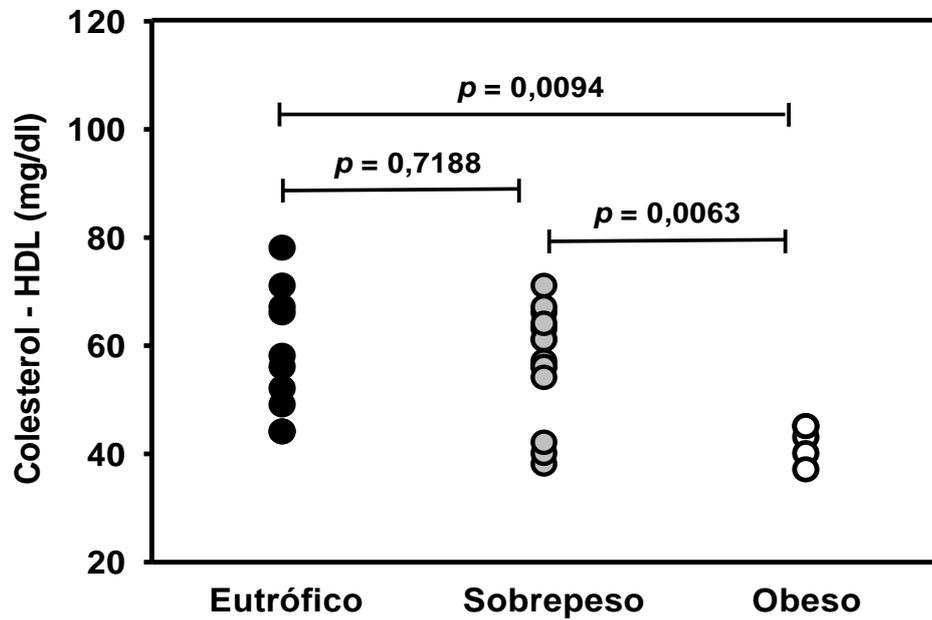


Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-14).

A **Figura 6**, mostra a comparação do HDL-colesterol entre os três grupos. Podemos verificar que existe diferença significativa entre os grupos eutrófico e obeso e sobrepeso e obeso. Porém não existe diferença estatística entre os grupos sobrepeso e obeso (n = 5–14; eutróficos: $58,5 \pm 3,7$; sobrepesos: $56,9 \pm 2,8$; obeso: $42,0 \pm 1,5$ mg/dl).

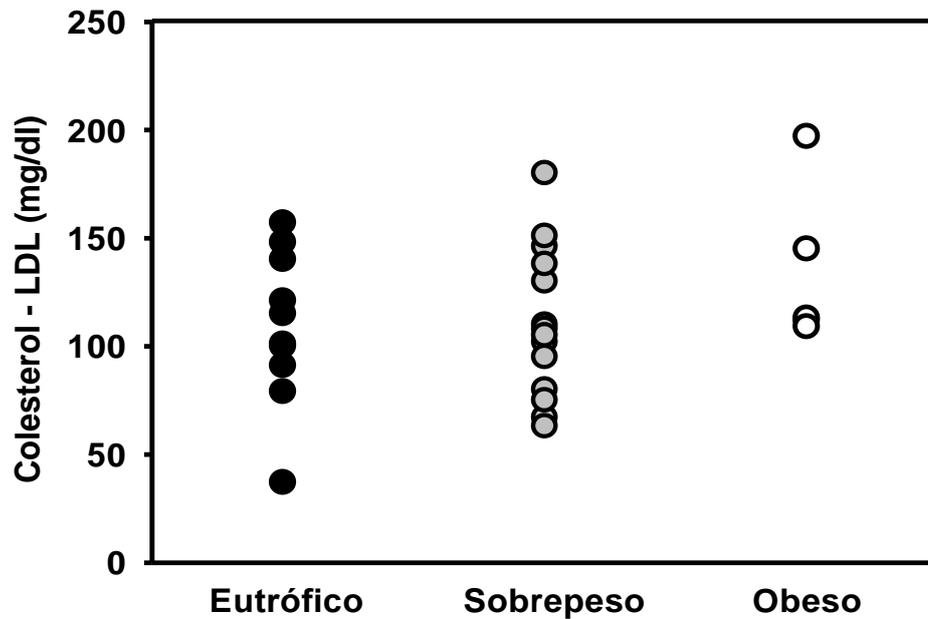
Na **Figura 7**, podemos verificar que apesar de uma tendência ao aumento no grupo obeso, o LDL-colesterol não teve diferença estatística entre os três grupos (n = 5–14; eutróficos: $181,2 \pm 11,5$; sobrepesos: $187,6 \pm 11,1$; obeso: $204,6 \pm 17,9$ mg/dl).

Figura 6. Colesterol-HDL sérico dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-14). Os valores de p são mostrados no gráfico.

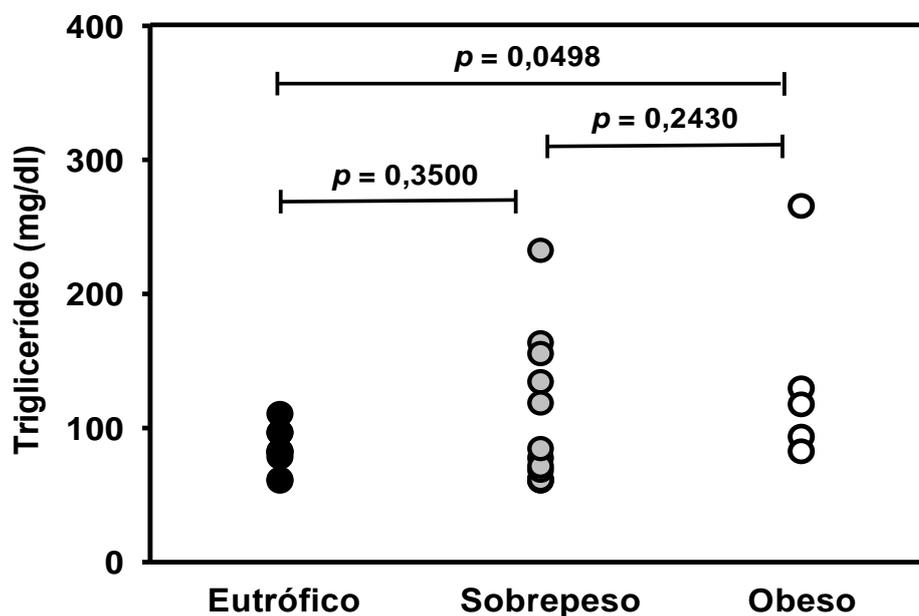
Figura 7. Colesterol-LDL sérico dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-14).

Em relação ao triglicerídeo sérico, ocorreu um aumento significativo no grupo obeso quando comparado ao grupo eutrófico. Entretanto, não existe diferença significativa entre o grupo eutrófico e sobrepeso e os grupos obeso e sobrepeso (**Figura 8**) ($n = 5-14$; eutróficos: $82,9 \pm 5,4$; sobrepesos: $100,4 \pm 14,1$; obeso: $137,2 \pm 33,0$ mg/dl).

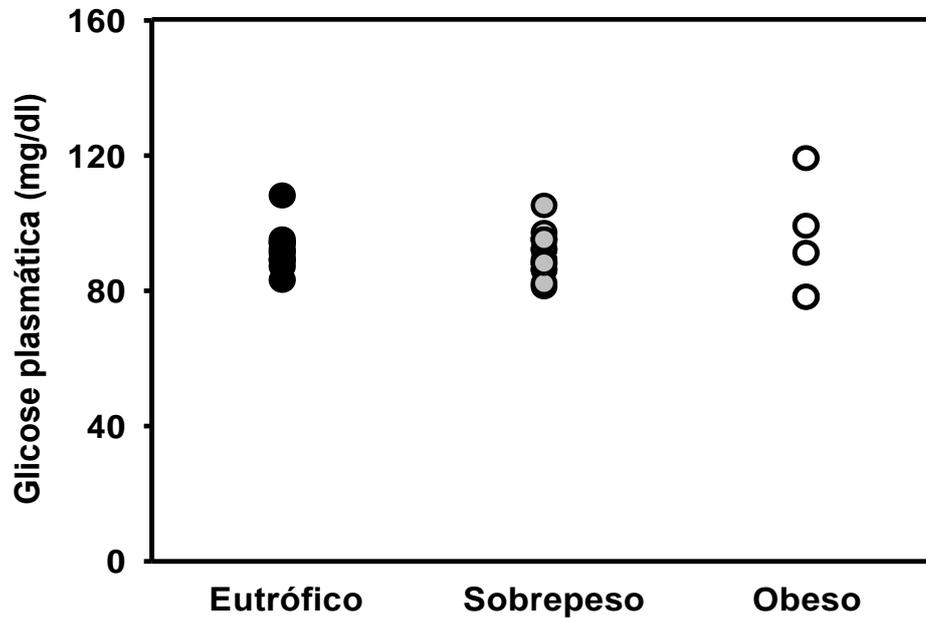
Figura 8. Triglicerídeos séricos dos indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão ($n = 5-14$). Os valores de p são mostrados no gráfico.

Na **Figura 9**, podemos observar que não existe alteração da concentração de glicose plasmática entre os grupos três grupos ($n = 5-14$; eutróficos: $92,2 \pm 2,1$; sobrepesos: $90,8 \pm 1,7$; obeso: $93,0 \pm 7,6$ mg/dl).

Figura 9. Glicose sérica de indivíduos eutróficos, com obesidade e sobrepeso.

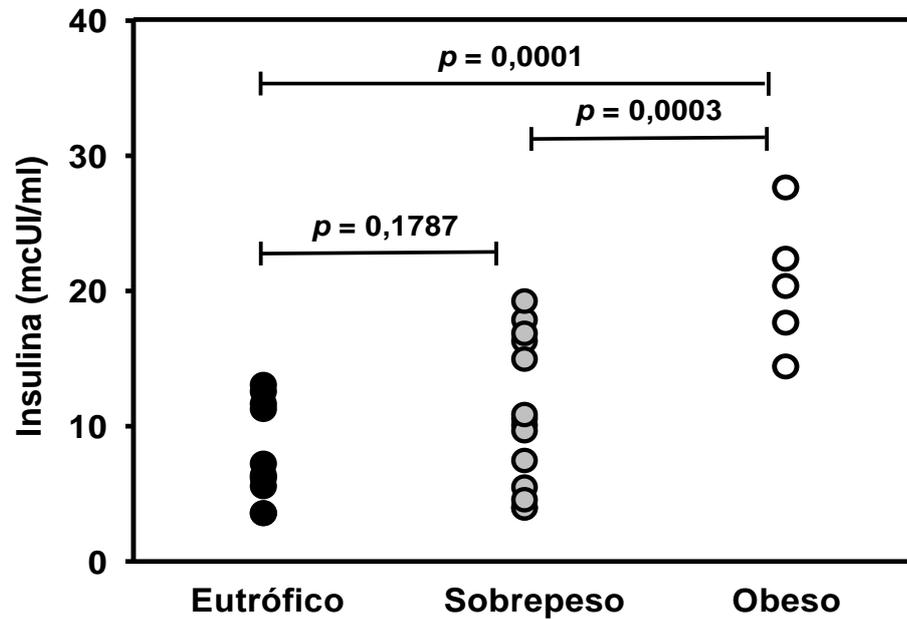


Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-14).

Podemos verificar na **Figura 10**, que os indivíduos obesos apresentam um aumento significativo das concentrações de insulina plasmática em relação grupos eutrófico e sobrepeso. Entretanto, não existe diferença estatística entre os grupos eutrófico e sobrepeso (n = 5-14; eutróficos: $82,9 \pm 5,4$; sobrepesos: $100,4 \pm 14,1$; obeso: $137,2 \pm 33,0$).

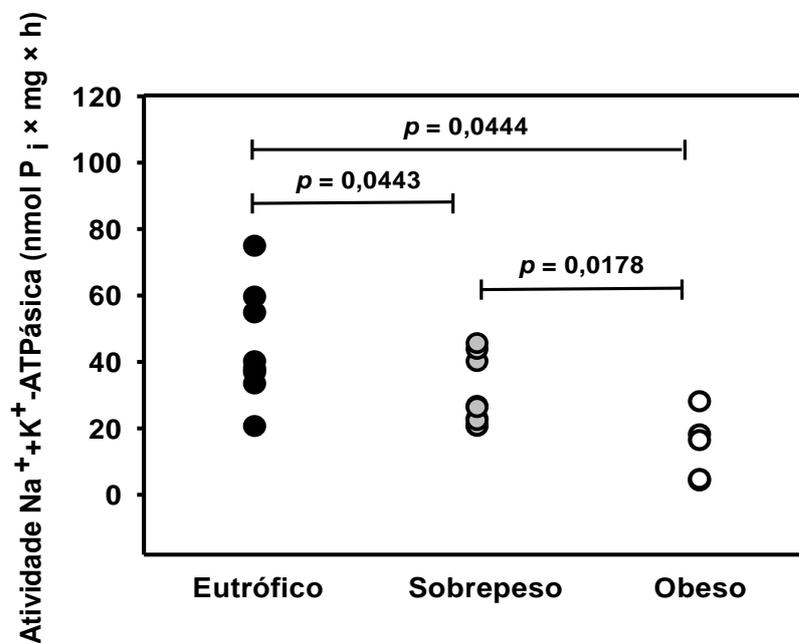
A **Figura 11**, mostra uma redução significativa da atividade $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPásica}$ em relação ao aumento do IMC. Nos grupos sobrepeso e obeso ocorreu uma significativa redução da atividade ATPásica em relação ao grupo eutrófico e do grupo obeso em relação ao sobrepeso (n = 5-14; eutróficos: $44,7 \pm 6,1$; sobrepesos: $29,8 \pm 3,4$; obeso: $14,2 \pm 4,5$ nmol Pi \times mg \times h).

Figura 10. Aumento da Insulina sanguínea a partir do aumento do IMC



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-14). Os valores de p são mostrados no gráfico

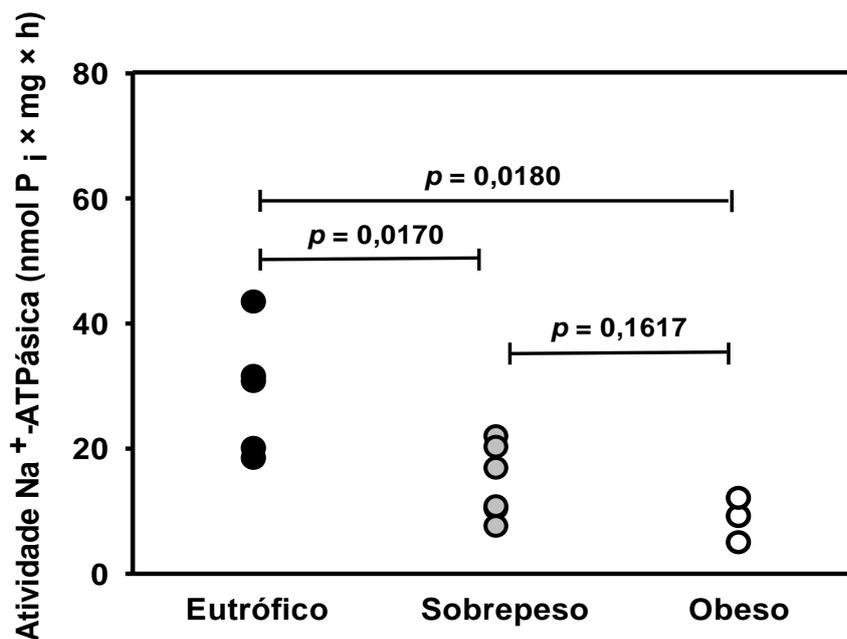
Figura 11. Diminuição da atividade $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPásica}$ de eritrócitos a partir do aumento do IMC.



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-9). Os valores de p são mostrados no gráfico.

Na **Figura 12**, podemos verificar que a atividade Na^+ -ATPásica apresenta uma redução significativa nos grupos sobrepeso e obeso em relação ao grupo eutrófico, entretanto esta diferença não é vista entre os grupos sobrepeso e obeso ($n = 5-14$; eutróficos: $28,8 \pm 4,5$; sobrepesos: $14,6 \pm 2,4$; obeso: $8,7 \pm 2,1$ nmol Pi \times mg \times h).

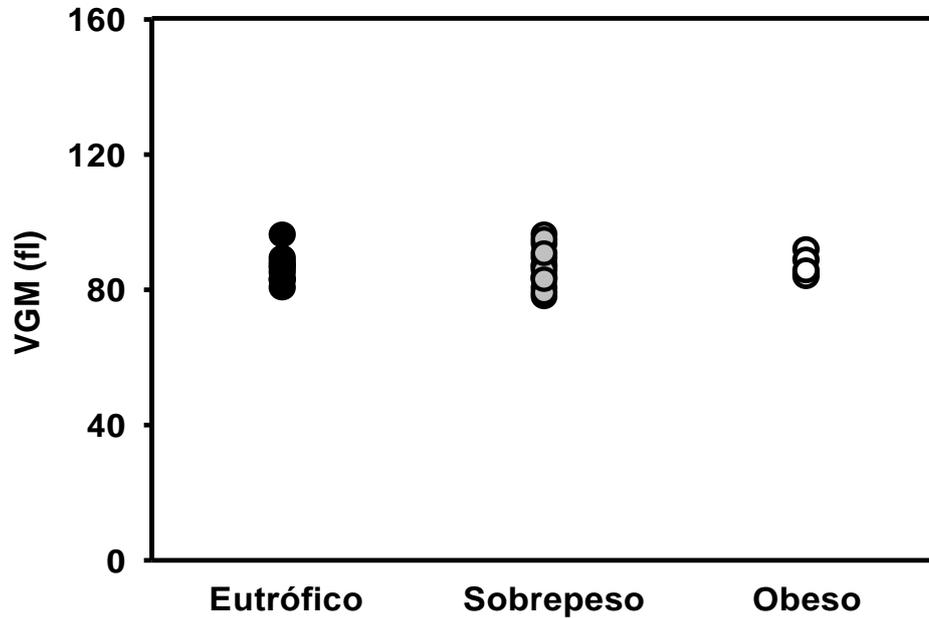
Figura 12. Atividade Na^+ -ATPásica de eritrócitos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos.



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão ($n = 4-6$). Os valores de p são mostrados no gráfico.

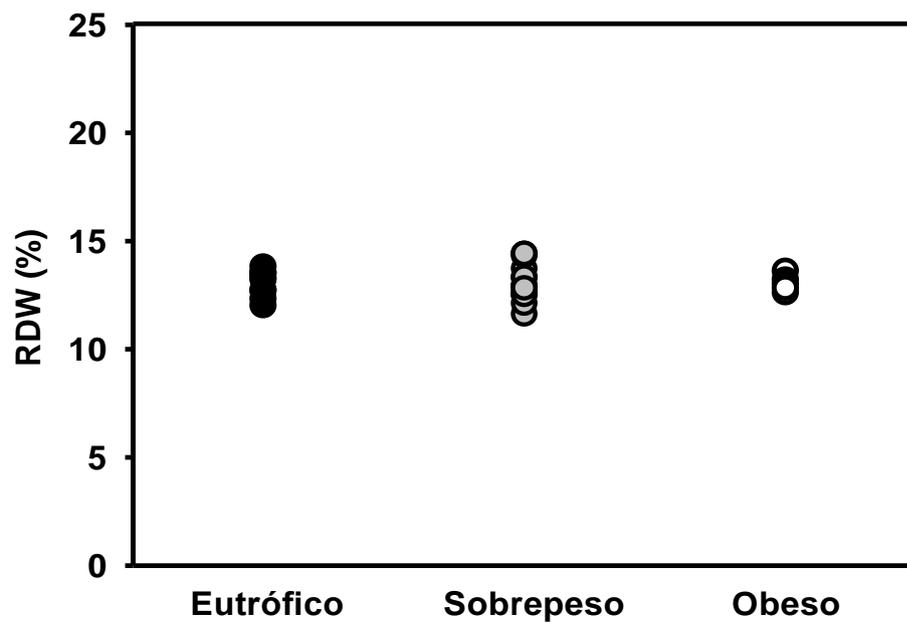
A **Figura 13**, mostra o volume corpuscular médio (VGM) dos eritrócitos dos indivíduos dos três grupos e podemos verificar que não existe diferença significativa entre os grupos ($n = 5-14$; eutróficos: $86,4 \pm 4,5$; sobrepesos: $86,5 \pm 1,5$; obeso: $86,9 \pm 1,5$ fl). Podemos verificar na **Figura 14**, que a variação do tamanho dos eritrócitos (RDW - *Red Cell Distribution Width*) não se modificou a partir do aumento do IMC ($n = 5-14$; eutróficos: $13,0 \pm 0,2$; sobrepesos: $13,1 \pm 0,2$; obeso: $13,0 \pm 0,1$ %). Na **Tabela 3**, são mostrados o sódio, potássio, creatinina e ureia plasmáticos dos indivíduos obesos, com sobrepeso e eutróficos. Esses parâmetros não apresentaram diferença significativas entre os grupos.

Figura 13. Volume corpuscular médio (VGM) de eritrócitos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos.



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-14).

Figura 14. Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (RDW) de eritrócitos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos.



Os resultados são mostrados como média \pm erro padrão (n = 5-14).

Tabela 3. Eletrólitos, ureia e creatinina dos indivíduos obesos e sobrepeso.

	Controle	Sobrepeso	Obeso
n	10	14	5
Sódio	136,7 ± 0,7	137,7 ± 0,7	139,0 ± 0,0
Potássio	4,4 ± 0,1	4,5 ± 0,2	4,6 ± 0,1
Creatinina	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1
Ureia	27,5 ± 5,6	17,8 ± 1,4	23,3 ± 6,4

Os dados são apresentados como média e erro padrão.

6. Discussão

Nas últimas décadas a obesidade e o sobrepeso se tornaram um problema de saúde mundial. Com o aumento do número de indivíduos com obesidade e sobrepeso no mundo, aumentaram também o número de indivíduos acometidos por suas comorbidades gerando impactos econômicos com altos custos, em saúde pública. Dentre as principais comorbidades podemos citar a DM2, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e renais, entre outras (Hall *et al.*, 2020).

Este estudo teve como principal objetivo verificar possíveis alterações na atividade de transportadores ativos primários de sódio, localizados em membranas de eritrócitos. Pois, devido as modificações hormonais geradas pela obesidade, também ocorrem constantes alterações do equilíbrio hidroeletrólítico. Portanto, estes transportadores seriam alvos importantes a serem verificados para avaliação de biomarcador inicial destes desequilíbrios que podem resultar, por exemplo, na hipertensão arterial e a suas consequências.

A população do estudo foi composta por 29 indivíduos, sendo classificados em grupos a partir de seu IMC. O ICQ também foi utilizado pois o IMC, apesar de ser eficiente para classificar a proporção de massa corporal e altura, não indica a localização do tecido adiposo corporal. Uma vez que, um indivíduo pode apresentar um IMC normal e possuir um acúmulo de gordura visceral, um importante fator de risco para as comorbidades causadas pela obesidade.

Os principais fatores envolvidos na hipertensão associada a obesidade são o aumento da atividade simpática, ativação do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona e aumento da reabsorção renal de sódio (Jiang *et al.*, 2016). Apesar da grande probabilidade de apresentar hipertensão arterial, os indivíduos obesos e com sobrepeso não apresentaram hipertensão arterial pois estariam ainda na fase inicial para o desenvolvimento das comorbidades (**Tabela 2**).

Entretanto, os indivíduos obesos apresentaram diversas modificações metabólicas como por exemplo uma possível dislipidemia, com redução do HDL-C, uma tendência a aumentar o LDL-C e aumento dos triglicérides plasmáticos (**Figuras 6, 7 e 8**). Mostrando com esses resultados um possível desenvolvimento de síndrome metabólica, que irá avançar de acordo com o aumento da gordura corporal.

Uma característica comum em indivíduos obesos seria a hiperinsulinemia, com o início da falta de sensibilidade a insulina, ocorre um aumento de sua concentração com o intuito de compensar essa insensibilidade. Entretanto, ocorrem problemas devido a exacerbação de seus efeitos em tecidos que não foram afetados. Os mecanismos moleculares que causam a falta de sensibilidade a insulina ainda não estão totalmente elucidados, mas podemos relacionar ao acúmulo de lipídios, efeito inibitório na oxidação de lipídios, de glicose e aumento da secreção de adipocinas pró-inflamatórias (como a leptina) (Steppan *et al.*, 2001; Ormazabal *et al.*, 2018).

Em condições normais a insulina estimula a captação de glicose em vários tecidos, incluindo coração, músculo esquelético, fígado e tecido adiposo. Nos cardiomiócitos, a insulina promove a captação de glicose e ácidos graxos, mas inibe o uso de ácidos graxos como fonte de energia (Ormazabal *et al.*, 2018). A resistência a insulina esta fortemente associada a diversos tipos de alterações no sistema cardiovascular como desenvolvimento de aterosclerose, alteração da função vascular, hipertensão arterial e ativação de macrófagos (Laakso & Kuusisto, 2014).

Um dos pontos cruciais da hipertensão arterial associada a obesidade seria a hiperativação do SRAA, o principal modulador do balanço hidroeletrolítico e da pressão arterial a longo prazo (Hall *et al.*, 2020). Este sistema vai modular muitas funções celulares e teciduais que podem abranger ativação do sistema imunológico, modulação da vasomotilidade, produção de radicais livres e aumento da atividade de transportadores ativos primários de sódio renais (Hall *et al.*, 2020).

No caso dos transportadores ativos primários de sódio renais ($\text{Na}^+\text{+K}^+\text{-ATPase}$ e $\text{Na}^+\text{-ATPase}$), o SRAA promove ativação destes transportadores principalmente a partir da produção da Ang II, que é um potente vasoconstritor (Silva *et al.*, 2014). A Ang II se liga ao seu receptor AT_1 que ativa uma via intracelular acoplada a uma PLC-PKC, fosforilando por sua vez estas ATPases, promovendo seu aumento de atividade (Therien e Blostein, 2000; Rangel *et al.*, 2005). O papel destas ATPases no rim é promover a reabsorção de sódio, outros íons e nutrientes que também serão reabsorvidos a partir do gradiente de sódio.

Na hipertensão arterial associada a obesidade e em outros modelos de hipertensão este mecanismo e de certa forma comum (Dias *et al.*, 2014, Silva *et al.*, 2015; Luzes *et al.*, 2020). Entretanto, no eritrócito a função destas ATPases não é a mesma das encontradas no rim. No eritrócito, célula que esta suscetível a

modificações iônicas constantes, estes transportados são responsáveis por manter o volume celular e o equilíbrio das concentrações de sódio para sobrevivência da célula (Gallagher, 2017).

A atividade da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ de diferentes células está geralmente alterado em diferentes patologias metabólicas, e a dos eritrócitos apresenta alterações semelhantes às encontradas em células cardíacas e endotélio de indivíduos hipertensos (Simon, 1989). Sendo um ótimo biomarcador para comparação de possíveis alterações em células de endotélio de vaso e em cardiomiócitos de indivíduos hipertensos.

Como pode ser observado na **Figura 11**, a atividade da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ encontra-se reduzida nos indivíduos obesos e com sobrepeso, semelhante ao visto em indivíduos hipertensos (Touyz *et al.*, 1992). Essa atividade reduzida é semelhante a encontrada em células endoteliais de indivíduos hipertensos, pois com o aumento das quantidades intracelulares de sódio, as concentrações de cálcio aumentariam também, promovendo uma contração do músculo liso dos vasos e em cardiomiócitos (Wardener *et al.*, 1983).

Estas alterações podem estar atreladas a modificações hormonais ocorridas na obesidade e excesso de peso. Entretanto, existem poucos trabalhos mostrando a modulação direta da atividade destas ATPases por hormônios como a Ang II nos eritrócitos, como existem em células renais (Silva *et al.*, 2014; Luzes *et al.*, 2020). Este seria um caminho promissor para testar o funcionamento destas ATPases em relação a seu funcionamento a partir da modulação por hormônios alterados na obesidade.

A atividade da $\text{Na}^+\text{-ATPase}$ foi verificada pela primeira vez em eritrócitos de indivíduos obesos nesta dissertação. Em células renais e em cardiomiócitos, esta ATPase tem com papel principal o ajuste fino do transporte de sódio, tendo sua atividade menor do que a da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$. Tanto sua atividade quando sua modulação por Ang II, são diferentes da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$, ela apresenta uma modulação mais rápida por Ang II e a via intracelular também é diferente (Aperia 1994).

A $\text{Na}^+\text{-ATPase}$ se mostra importante no estudo de alterações de patologias metabólicas geradas por obesidade e desnutrição, pois apresenta-se modificadas nestes modelos. Nestas condições ocorre tanto o aumento da pressão arterial quanto

modificações cardíacas (Silva *et al.*, 2014,a,b; Luzes *et al.*, 2020). Sendo então, um bom marcador para visualização de modificações causadas por estas condições.

Como pode ser visto na **Figura 12**, a atividade da Na⁺-ATPase, semelhante ao que ocorreu com a Na⁺+K⁺-ATPase, também reduziu. Isso mostra que as duas enzimas podem ser utilizadas como biomarcadores para possíveis alterações causadas pela obesidade. Entretanto, a Na⁺-ATPase apresenta uma particularidade, suas vias de sinalização celular encontram-se acopladas a membrana celular, diferente da Na⁺+K⁺-ATPase que necessita do citoesqueleto íntegro para ter sua atividade modulada pela Ang II (Aperia 1994, Rangel *et al.*, 2005). Essa característica facilitaria o estudo da modulação da Na⁺-ATPase por hormônios como a Ang II nas membranas de eritrócitos, podendo melhorar sua função como biomarcador a partir de seu comportamento pela modulação destes hormônios.

Com a modificação da atividade das ATPase transportadoras de sódio dos eritrócitos, o próximo passo é verificar parâmetros relacionados ao volume celular. Na **Figura 13**, os indivíduos obesos e com sobrepesos não apresentaram alterações no VGM e no RDW, mostrando que ocorre uma compensação pela redução da atividade das ATPases pois esperava-se que, esta modificação causaria um aumento do volume celular.

7. Conclusões

A partir dos resultados obtidos, verificamos que os indivíduos obesos apresentaram dislipidemias e hiperinsulinemia. As alterações provenientes da obesidade e do sobrepeso levam à redução da atividade dos transportadores ativos primários de sódio localizados nos eritrócitos. Estas modificações bioquímicas seriam um reflexo de alterações hormonais que levariam a modificações na homeostase de sódio e conseqüentemente a geração da hipertensão arterial associada a obesidade. Indicando que a redução na atividade da Na^+ -ATPase e a Na^+ + K^+ -ATPase de eritrócitos seriam importantes biomarcadores para sinalizar modificações iniciais que levariam a hipertensão arterial associada a obesidade e ao sobrepeso.

8. Referências Bibliográficas

1. Adamczak M, Wiecek A. The adipose tissue as an endocrine organ. *Semin Nephrol.* 2013; 33: 2-13.
2. Anderson AS, Key TJ, Norat T, Scocciati C, Cecchini M, Berrino F, Boutron Ruault MC, Espina C, Leitzmann M, Powers H, Wiseman M, Romieu I. European Code against Cancer 4th Edition: Obesity, body fatness and cancer. *Cancer Epidemiol.* 2015; 39: S34-45.
3. Andrew R, Westerbacka J, Wahren J, *et al.* The contribution of visceral adipose tissue to splanchnic cortisol production in health humans. *Diabetes.* 2005; 54: 1364–70.
4. Arner P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. *Ann Med.* 1995; 27: 435-8.
5. Assunção-Miranda I, Guilherme AL, Reis-Silva C, *et al.* Protein kinase C-mediated inhibition of renal Ca^{2+} ATPase by physiological concentrations of angiotensin II is reversed by AT_1 - and AT_2 -receptor antagonists. *Regul Pept.* 2005; 15: 151-7.
6. Axelband F, Dias J, Miranda F, *et al.* A scrutiny of the biochemical pathways from Ang II to Ang-(3–4) in renal basolateral membranes. *Regul Pept.* 2009; 27: 47-56.
7. Axelband F, Dias J, Miranda F, *et al.* Angiotensin-(3–4) counteracts the Angiotensin II inhibitory action on renal Ca^{2+} -ATPase through a cAMP/PKA pathway. *Regul Pept.* 2012; 177: 27-34.
8. Banegas, JR Banegas. Epidemiología de la hipertensión arterial en España. Situación actual y perspectivas. *Hipertension y riesgo vascular.* 2005; 22: 353-362.
9. Bartelt, A., & Heeren, J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2014; 10: 24–36.
10. Berg, A.H.; Combs, T.P.; Scherer, P.E. ACRP30/adiponectin: An adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2002; 13, 84–89.
11. Brugnara C. Erythrocyte membrane transport physiology. *Curr Opin Hematol.* 1997; 4:122-127.

12. Cooper, Edward S.; LECHNER, Edith; BELLET, Samuel. Relation between serum and cerebrospinal fluid electrolytes under normal and abnormal conditions. *The American Journal of Medicine*. 1955; 18: 613-621.
13. Dias J, Ferrão FM, Axelband F, *et al.* Ang-(3-4) inhibits renal Na⁺-ATPase in hypertensive rats through a mechanism that involves dissociation of Ang II receptors heterodimers and PKA. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014, doi:10.1152/ajprenal.00488.2013.
14. Ehrhart-Bornstein M, Lamounier-Zepter V, Shraven A, *et al.* Human adipocytes secrete mineralocorticoid – releasing factors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 14211–6.
15. Francischetti EA, Genelhu VA. Obesity-hypertension: an ongoing pandemic. *Int J Clin Pract*. 2007; 61: 269–80.
16. Fruhbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J*. 2006; 393:7–20.
17. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes - Sódio / ILSI Brasil (2009)
18. Golik A, Weissgarten J, Evans S, Cohen N, Averbukh Z, Zaidenstein R, Cotariu D, Modai D. Erythrocyte Na⁺, K⁺ and Ca²⁺, Mg(2+)-ATPase activities in hypertensives on angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Clin Biochem*. 1996; 29: 249-54.
19. González, Sergio A. *et al.* Sodium intake is associated with parasympathetic tone and metabolic parameters in mild hypertension. *American journal of hypertension*. 2012; 25: 620-624.
20. Goodfriend TL, Calhoun DA. Resistant hypertension, obesity, sleep apnea, and aldosterone: theory and therapy. *Hypertension*. 2004; 43: 518–24.
21. Hall JE, Brands MW, Henegar JR. Mechanisms of hypertension and kidney disease in obesity. *Ann N Y Acad Sci*. 1999; 892: 91–107.
22. Hall JE, Carmo JM, Alexandre A. da Silva, Zhen Wang, Michael E. Hall. Obesity, kidney dysfunction and hypertension: mechanistic links. *Nat Rev Nephrol*. 2019; 15: 367–385.
23. Hall JE. Pathophysiology of obesity hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2000; 2: 139–147.
24. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, *et al.* Receptor-mediated sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest*. 1997; 100: 270–8.

25. Hoffmann EK, Lambert IH, Pedersen SF. Physiology of cell volume regulation in vertebrates. *Physiol Rev.* 2009; 89:193-277.
26. <http://www.worldobesity.org>. Acessado em 24/11/2015.
27. Hui, X.; Lam, K.S.L.; Vanhoutte, P.M.; Xu, A. Adiponectin and cardiovascular health: An update. *Br. J. Pharmacol.* 2012, 165, 574–590.
28. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev.* 2010; 11:11-8.
29. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) – Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2008-2009. www.ibge.gov.br.
30. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, *et al*; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; Obesity Society. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(25 Pt B):2985-3023.
31. Kawarazaki, Wakako; Fujita, Toshiro. The role of aldosterone in obesity-related hypertension. *American journal of hypertension.* 2016; 29: 415-423.
32. Kherd, Ali A., *et al*. Changes in erythrocyte ATPase activity under different pathological conditions. *African health sciences.* 2017; 17: 1204-1210.
33. Kwok KHM, Lam KSL, Xu A. Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications. *Exp Mol Med.* 2016; 48: e215.
34. Levy J, Rempinski D. Decreased activity of (Ca²⁺ + Mg²⁺)-adenosine triphosphatase (ATPase) and a hormone-specific defect in insulin regulation of ATPase in kidney basolateral membranes from obese *fa/fa* rats. *Metabolism.* 1994; 43:1055-61.
35. Madruga, Juliana Gomes; SILVA, Flávia Moraes; ADAMI, Fernanda Scherer. Associação positiva entre razão cintura-estatura e presença de hipertensão em adolescentes. *Revista Portuguesa de Cardiologia.* 2016; 35: 479-484.
36. Mohty, D.; Pibarot, P.; Côté, N.; Cartier, A.; Audet, A.; Després, J.P.; Mathieu, P. Hypoadiponectinemia Is Associated with Valvular Inflammation and Faster Disease Progression in Patients with Aortic Stenosis. *Cardiology.* 2011; 118: 140–146
37. Murray CJL, Lopez AD. Global Comparative Assessment in the Health Sector. Geneva, Switzerland: WHO, 1994.

38. Ouchi, N.; Ohishi, M.; Kihara, S.; Funahashi, T.; Nakamura, T.; Nagaretani, H.; Kumada, M.; Ohashi, K.; Okamoto, Y.; Nishizawa, H.; *et al.* Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension*. 2003; 42, 231–234.
39. Rahmouni K, Correia MLG, Haynes WG, *et al.* Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms. *Hypertension*. 2005; 45: 9–14.
40. Rahmouni K, Correia MLG, Haynes WG, *et al.* Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms. *Hypertension*. 2005; 45: 9–14.
41. Rahmouni K, Haynes WG, Morgan DA, *et al.* Selective resistance to central neural administration of leptin in agout obese mice. *Hypertension*. 2003; 39: 486–90.
42. Rangel LB, Lopes AG, Lara LS, *et al.* PI - PLC beta is involved in the modulation of the proximal tubule Na⁺-ATPase by angiotensin II. *Regul. Pept.* 2005; 127: 177-182.
43. Reeves PG, Rossow KL, Lindlauf J. Development and testing of the AIN-93 purified diets for rodents: results on growth, kidney calcification and bone mineralization in rats and mice. *J Nutr.* 1993; 123:1923-31.
44. Reisin E, Weir MR, Falkner B, *et al.* Lisinopril versus hydrochlorothiazide in obese hypertensive patients: a multicenter placebocontrolled trial. Treatment in Obese Patients With Hypertension (TROPHY) Study Group. *Hypertension*. 1997; 30: 140–5.
45. Reisin, Efrain; JACK, Avanelle V. Obesity and hypertension: mechanisms, cardio-renal consequences, and therapeutic approaches. *Medical Clinics of North America*. 2009; 93: 733-751.
46. Robles RG, Villa E, Santirso R, *et al.* Effects of captopril on sympathetic activity, lipid and carbohydrate metabolism in a model of obesity-induced hypertension in dogs. *Am J Hypertens*. 1993; 6: 1009–105.
47. Romieu I, Dossus L, Barquera S, Blotière HM, Franks PW, Gunter M, Hwalla N, Hursting SD, Leitzmann M, Margetts B, Nishida C, Potischman N, Seidell J, Stepien M, Wang Y, Westerterp K, Winichagoon P, Wiseman M, Willett WC; IARC working group on Energy Balance and Obesity. Energy balance and obesity: what are the main drivers? *Cancer Causes Control*. 2017; 28: 247-258

48. Rumantir MS, Vaz M, Jennings GL, *et al.* Neural mechanisms in human obesity related hypertension. *J Hypertens.* 1999; 17: 1125–33
49. Saely CH, Geiger K, Drexel H. Brown versus white adipose tissue: a mini-review. *Gerontology* 2012;58(1):15-23
50. Santos RA, Simões-e-Silva AC, Maric C, *et al.* Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor MAS. *Proc. Natl. Acad. Soc.* 100: 8258-8263, 2003.
51. Silva PA, Monnerat-Cahli G, Pereira-Acácio, *et al.* Mechanisms involving Ang II and MAPK/ERK1/2 signaling pathways underlie cardiac and renal alterations during chronic undernutrition. *PLOS ONE.* 2014; 9:e100410.
52. Sinitskaya N, Gourmelen S, Schuster-Klein C, *et al.* Increasing the fat-to-carbohydrate ratio in a high-fat diet prevents the development of obesity but not a prediabetic state in rats. *Clinical Science.* 2007; 113: 417-25.
53. Therien AG, Blostein R. Mechanisms of sodium pump regulation. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2000; 279: 541-566.
54. Tomas E, *et al.* Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002; 99:16309–16313.
55. Tosteson DC, Hoffman JF. Regulation of cell volume by active cation transport in high and low potassium sheep red cells. *J Gen Physiol.* 1960; 44:169-194.
56. Umemura S, Nyui N, Tamura K, *et al.* Plasma angiotensinogen concentrations in obese patients. *Am J Hypertens.* 1997; 10: 629–33.
57. Vague, Jean. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1956; 4: 20-34.
58. Verrey F. Early aldosterone action: toward filling the gap between transcription and transport *Am. J. Physiol.* 1999; 277:319–27.
59. Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, Taittonen M, Laine, J, Savisto, N-J, Enerbäck S, Nuutila P. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med.* 2009; 9: 15.
60. World Health Organization The Global Burden of Disease: 2004 Update. http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/2004_report_update/en/.

61. Wu J, Cohen P, Spiegelman BM. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes & Dev.* 2013; 27: 234-50.
62. Yach D, Stuckler D, Brownell KD. Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes. *Nature Medicine.* 2006; 12: 62–66.
63. Yamauchi T, *et al.* Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Med.* 2002; 8:1288–1295.
64. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, *et al.* Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet.* 2005; 366: 1640-16499.
65. Zemel MB, Sowers JR, Shehin S, Walsh MF, Levy J. Impaired calcium metabolism associated with hypertension in Zucker obese rats. *Metabolism.* 1990; 39: 704.
66. Zorena K, Jachimowicz-Duda O, Ślęzak D, Robakowska M, Mrugacz M. Adipokines and Obesity. Potential Link to Metabolic Disorders and Chronic Complications. *Int J Mol Sci.* 2020; 8: 3570.

Anexo I



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(De acordo com as normas da Resolução nº 466, do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012)

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **“Avaliação dos Transportadores Ativos Primários de Sódio e Conteúdo de Sódio Intra-eritrocitário em Pacientes Hipertensos, Obesos e Obesos Hipertensos”**. Você foi selecionado por ordem de chegada e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição (Unigranrio). Os objetivos deste estudo são estudar as associações entre as medidas antropométricas, sua massa corporal (peso), pressão arterial, conteúdo de sódio intra-eritrocitário e a atividade dos transportadores ativos primários de sódio localizados no eritrócito.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em responder a um questionário sobre dados pessoais e de saúde geral, fornecer amostras de sangue, ser pesado e medido (altura e circunferência da cintura e do quadril). Os riscos relacionados com sua participação são mínimos. O principal benefício relacionado com a sua participação é o melhor conhecimento de sua saúde no geral.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Os resultados de seus exames serão confidenciais, ou seja, somente o pesquisador terá acesso a suas informações e serão utilizados somente para o presente estudo. Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com o senhor (a), podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento com os pesquisadores responsáveis Paulo André da Silva no telefone (21) 26727776 ou no e-mail paulo.silva@unigranrio.edu.br, ou com Santrine Trindade no telefone (21) 980096964 ou e-mail santrinerj@hotmail.com.

Pesquisador Responsável: Paulo André da Silva

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UNIGRANRIO, localizada na Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – CEP 25071-202 TELEFONE (21).2672-7733 – ENDEREÇO ELETRÔNICO: cep@unigranrio.com.br

Duque de Caxias, _____ de _____ de 20____.

Sujeito da pesquisa

Anexo II



PROJETO DE PESQUISA - FICHA DE ANAMNESE

Nome: _____ Data de Nascimento: ___/___/___

Endereço: _____

Telefone: _____ Estado civil: _____ Profissão: _____

Questionário sociodemográfico

Sua cor ou raça é: () 1 - Branca () 2 - Preta () 3 - Amarela () 4 - Parda () 5 - Indígena

Sua renda familiar é: () 1. Menor de 1 salário mínimo () 2. de 1 salário mínimo () 3. de 1 a 2 salários mínimos () 4. de 2 a 3 salários mínimos () 5. mais de 3 salários mínimos

Nível de escolaridade: Sabe ler e escrever? () Sim () Não

Qual é o curso mais elevado que cursou, no qual concluiu pelo menos uma série? _____

Questionário Médico

1. Nome do seu médico: _____ Telefone: _____

2. Data do último exame médico: _____

3- Você já foi hospitalizado? () sim () não () não sei

4- Em caso de resposta positiva, qual o motivo? _____

5- Você está sob cuidados médicos? () sim () não () não sei

6- Em caso de resposta positiva, qual o motivo? _____

7- Você tem ou já teve alguma das seguintes condições:

8- Doenças congênitas do coração? () sim () não () não sei

9- Doenças cardíacas (ex.: infarto, angina, derrame, pressão alta, pressão baixa?).

() sim () não () não sei

10- Respiração difícil quando deitado ou sem fazer esforço? () sim () não () não sei

11- Inchaço nos pés ou tornozelos? () sim () não () não sei

12- Dor, pressão ou mal estar no peito? () sim () não () não sei

- 13- Febre reumática? () sim () não () não sei
- 14- Endocardite bacteriana? () sim () não () não sei
- 15- Sopro no coração? () sim () não () não sei
- 16- Desmaios, convulsões ou epilepsia? () sim () não () não sei
- 17- Dor de cabeça (2 ou mais vezes por semana)? () sim () não () não sei
- 18- Tratamento nervoso? () sim () não () não sei
- 19- Problemas pulmonares? (ex.: tuberculose , asma, enfisema, bronquite ?
() sim () não () não sei
- 20- Hepatite, doenças hepáticas, icterícia? () sim () não () não sei
- 21- Doenças sexualmente transmissíveis (ex.: sífilis, gonorreia, AIDS)?
() sim () não () não sei
- 22- Artrite ou dores articulares? () sim () não () não sei
- 23- Diabetes? () sim () não () não sei
- 24- Demora na cicatrização dos ferimentos? () sim () não () não sei
- 25- Você urina mais de seis vezes por dia ? () sim () não () não sei
- 26- Você sente sede a maior parte do tempo? () sim () não () não sei
- 27- Problemas sanguíneos (ex.: anemia, fragilidade capilar, coagulação, sangramento, hemoptise, melena, hematêmese, hematúria, epistaxes)? () sim () não () não sei
- 28- Úlceras ou outros problemas estomacais? () sim () não () não sei
- 29- Reação alérgica a: anestésicos, antibióticos (ex.: penicilina, tetraciclina), sulfa, analgésicos, anti-inflamatórios, tranquilizantes, outros (ex.: alimentos, iodo, poeira)? () sim () não () não sei
- 30- Você já sofreu transfusão sanguínea? () sim () não () não sei
- 31- Você está tomando algum medicamento (listar nas observações)? () sim () não () não sei
- 32- Você teve um aumento ou diminuição acentuada do peso? () sim () não () não sei
- 33- Você teve uma variação recente no apetite? () sim () não () não sei
- 34- Você faz algum tipo de dieta ou restrição alimentar? () sim () não () não sei
- 35- Você sofreu tratamento com raios x, rádio ou cobalto? () sim () não () não sei
- 36- Histórico de câncer na família? () sim () não () não sei
- 37- Em caso de resposta positiva, qual tipo de câncer? _____
- 38- Você pratica atividade física? () sim () não

39 - Em caso de resposta positiva, qual tipo de atividade e quantas vezes por semana?

Somente para mulher

40- Você já passou pela menopausa? ()sim () não () não sei

41- Você está tomando algum hormônio? ()sim () não () não sei

Observações : _____

Assinatura

____/____/____

Data

Exame Físico

Pressão Arterial

1ª medida : PAS _____ PAD _____

2ª medida : PAS _____ PAD _____

3ª medida : PAS _____ PAD _____

Peso: _____

Altura: _____

IMC: _____

() Eutrófico () Sobrepeso () Obeso I () Obeso II () Obeso III

Circunferência de Cintura: _____

Circunferencia de Quadril: _____

Relação Cintura – Quadril : _____