

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DESPORTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA**

**Tábata Pereira Pavão**

**EFEITO AGUDO DO CAFÉ NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E  
PARÂMETROS DE RIGIDEZ ARTERIAL DE INDIVÍDUOS COM  
SOBREPESO E OBESIDADE: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Santa Maria, RS  
2020

**Tábata Pereira Pavão**

**EFEITO AGUDO DO CAFÉ NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E PARÂMETROS DE RIGIDEZ ARTERIAL DE INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Gerontologia**.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Patrícia Chagas

Coorientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Diego Chemello

Santa Maria, RS  
2020

Pavão, Tábata Pereira  
EFEITO AGUDO DO CAFÉ NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E PARÂMETROS  
DE RIGIDEZ ARTERIAL DE INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E  
OBESIDADE: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO / Tábata  
Pereira Pavão.- 2020.  
72 p.; 30 cm

Orientadora: Patrícia Chagas  
Coorientador: Diego Chemello  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Educação Física e desportos, Programa de  
Pós-Graduação em Gerontologia, RS, 2020

1. Dilatação mediada pelo fluxo 2. Endotélio vascular  
3. Doenças cardiovasculares 4. Rigidez Arterial 5. Cafeína  
I. Chagas, Patrícia II. Chemello, Diego III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

---

© 2020

Todos os direitos autorais reservados a Tábata Pereira Pavão. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

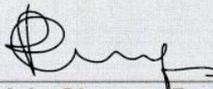
E-mail: tabatapavao@gmail.com

**Tábata Pereira Pavão**

**EFEITO AGUDO DO CAFÉ NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E PARÂMETROS DE  
RIGIDEZ ARTERIAL DE INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE: UM  
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Gerontologia**.

Aprovado em 24 de janeiro de 2020



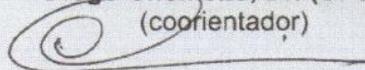
---

**Patrícia Chagas, Dra. (UFSM)**  
(presidente/orientadora)



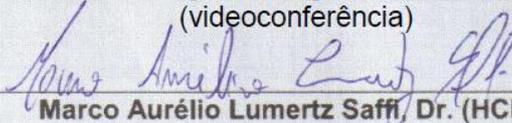
---

**Diego Chemello, Dr. (UFSM)**  
(coorientador)



---

**Emilio Hideyuki Moriguchi, Dr. (UFRGS)**  
(videoconferência)



---

**Marco Aurélio Lumertz Saffi, Dr. (HCPA)**

Santa Maria, RS  
2020

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pelo dom da vida e aos meus **guardiões** pela proteção e amparo em todas as dificuldades, por me auxiliarem a ter discernimento ao fazer as escolhas mais complexas, por me permitirem errar, e com isso aprender e amadurecer.

Aos meus pais, **Luiz Paulo** e **Guacira**, que fazem o seu melhor para me criar e educar com todo o amor e dignidade, mesmo em muitas vezes se abstendo de suas necessidades. A eles que me ensinam os valores da vida e a nunca desistir dos meus sonhos. Obrigada por sempre acreditarem em mim e nunca medirem esforços para me auxiliar e apoiar. Hoje eu sou o fruto que vocês plantaram e semearam, por isso, serei eternamente grata. Amo vocês!

A minha irmã, **Maiara**, que sempre está comigo. Obrigada por me apoiar e incentivar, por respeitar as minhas escolhas e me defender nas dificuldades.

Ao meu noivo, **Fernando**, que sempre me incentiva e apoia, mesmo quando as minhas escolhas nos deixam a quilômetros de distância e por entender os momentos em que estive ausente para que este sonho se concretizasse. Obrigada por me amar e cuidar.

A minha orientadora professora **Patrícia Chagas**, a quem sempre me encorajou e acreditou no meu trabalho durante esses anos de pesquisa. Obrigada, por trilhar esse caminho comigo.

Ao meu coorientador professor **Diego Chemello**, por acreditar e me guiar na prática. Pela disponibilidade e pela paciência durante todo esse processo.

A minha amiga e parceira de pesquisa **Ariélen Ferigollo**, agradeço a cada conquista que alcançamos juntas e por todas as dificuldades que conseguimos superar.

Agradeço também pela contribuição da banca de qualificação e a banca examinadora de defesa, em especial ao **Marco Saffi**, que compartilhou seus conhecimentos e experiências e sempre esteve disponível para sanar nossas dúvidas.

E por fim, agradeço a **Universidade Federal de Santa Maria**, por me proporcionar este crescimento profissional. Sou grata a cada membro do corpo docente, à direção e a administração dessa instituição de ensino. É um orgulho ser parte dessa grande família!

## RESUMO

### EFEITO AGUDO DO CAFÉ NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E PARÂMETROS DE RIGIDEZ ARTERIAL DE INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Autora: Tábata Pereira Pavão  
Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Patrícia Chagas  
Coorientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Diego Chemello

O café é consumido mundialmente e conhecido pelo seu sabor agradável. Em pessoas saudáveis, o consumo de café tem apresentado resultados controversos quando associado à função endotelial e rigidez arterial, bem como pouco se sabe sobre o efeito do café nestes parâmetros em indivíduos com sobrepeso e obesidade. A rigidez arterial tem sido avaliada em pesquisas clínicas por técnicas não invasivas da avaliação da pressão central. Já a função endotelial tem sido avaliada pela técnica da dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (DMF). O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito agudo da ingestão de café cafeinado e de café descafeinado sobre a função endotelial e parâmetros de rigidez arterial de indivíduos com sobrepeso e obesidade. Trata-se de um ensaio clínico randomizado, cruzado e duplo-cego, no qual os participantes foram submetidos a dois tratamentos (café cafeinado e café descafeinado), sendo os tratamentos separados por um período livre (*washout*) de sete dias. As coletas foram realizadas em uma clínica de cardiologia privada da cidade de Santa Maria – RS. Participaram 18 pessoas saudáveis, com média de idade de  $37,4 \pm 10$  anos e média de índice de massa corporal  $28,96 \pm 2,42$ , a maioria do sexo feminino (61,1%), com baixo risco cardiovascular (88,8%) que foram randomizadas para consumir 220ml de café cafeinado e descafeinado. A função endotelial foi mensurada através da DMF avaliada por ultrassonografia. A rigidez arterial foi avaliada por meio de aparelho oscilométrico automático. Variáveis sociodemográficas foram avaliadas por meio de questionário estruturado. Amostras de sangue foram coletadas para a avaliação do perfil lipídico e óxido nítrico plasmáticos. Quanto aos resultados, o café cafeinado elevou a pressão arterial sistólica central ( $P < 0,001$ ), a pressão arterial diastólica central ( $P < 0,001$ ), a pressão de pulso central ( $P = 0,009$ ), a resistência vascular total ( $P = 0,002$ ) e a velocidade de onda de pulso ( $P < 0,001$ ). Nem o café cafeinado, nem o descafeinado, alteraram a função endotelial. Em indivíduos com sobrepeso e obesidade, o café cafeinado possui efeitos desfavoráveis nos parâmetros de rigidez arterial e não exerceu alteração na função endotelial. Já o café descafeinado não exerceu nenhuma influência nos parâmetros de rigidez arterial avaliados, nem na função endotelial.

**Palavras-chave:** Dilatação mediada pelo fluxo. Endotélio vascular. Doenças cardiovasculares. Cafeína.

## ABSTRACT

### ACUTE EFFECT OF COFFEE ON ENDOTHELIAL FUNCTION AND ARTERIAL STIFFNESS PARAMETERS OF OVERWEIGHT AND OBESITY INDIVIDUALS: A RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

AUTHOR: Tábata Pereira Pavão  
ADVISOR: Prof. Dr. Patrícia Chagas  
COADVISOR: Prof. Dr. Diego Chemello

Coffee is consumed worldwide and known for its pleasant taste. In healthy people, coffee consumption has shown controversial results when associated with endothelial function and arterial stiffness, as well as little is known about the effect of coffee on these parameters in overweight and obese individuals. Arterial stiffness has been evaluated in clinical trials by noninvasive central pressure assessment techniques. Endothelial function has been evaluated by the brachial artery flow-mediated dilation flow (FMD) technique. The objective of this study was to verify the acute effect of caffeinated and decaffeinated coffee intake on endothelial function and arterial stiffness parameters of overweight and obese individuals. This was a randomized, double-blind, crossover clinical trial in which participants underwent two treatments (caffeinated coffee and decaffeinated coffee), and the treatments were separated by a seven-day washout period. The samples were taken at a private cardiology clinic in Santa Maria - RS. Eighteen healthy people participated, with a mean age of  $37.4 \pm 10$  years and a mean body mass index of  $28.96 \pm 2.42$ , mostly female (61.1%), with low cardiovascular risk (88, 8%) that were randomized to consume 220ml of caffeinated and decaffeinated coffee. Endothelial function was measured by FMD assessed by ultrasound. Arterial stiffness was assessed by an automatic oscillometric device. Sociodemographic variables were assessed using a structured questionnaire. Blood samples were collected for the evaluation of plasma lipid and nitric oxide profile. As for the results, caffeinated coffee elevated central systolic blood pressure ( $P < 0.001$ ), central diastolic blood pressure ( $P < 0.001$ ), central pulse pressure ( $P = 0.009$ ), total vascular resistance ( $P = 0.002$ ) and the pulse wave velocity ( $P < 0.001$ ). Neither caffeinated nor decaffeinated coffee changed endothelial function. In overweight and obese individuals, caffeinated coffee has unfavorable effects on arterial stiffness parameters and did not affect endothelial function. Decaffeinated coffee, on the other hand, had no influence on the arterial stiffness parameters evaluated or on endothelial function.

**Key words:** Flow-mediated dilation. Vascular endothelium. Cardiovascular diseases. Caffeine.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	11
2.1 CAFÉ .....	11
<b>2.1.1 Café, polifenóis e doenças cardiovasculares</b> .....	13
2.2. DOENÇAS CARDIOVASCULARES .....	14
2.3. SOBREPESO E OBESIDADE .....	15
2.4 RIGIDEZ ARTERIAL .....	16
<b>2.4.1 Rigidez arterial e café</b> .....	17
2.5 FUNÇÃO ENDOTELIAL .....	17
<b>2.5.1 Dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial</b> .....	19
<b>2.5.2 Função endotelial e café</b> .....	21
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	23
3.1 OBJETIVO GERAL .....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>4 MÉTODOS</b> .....	23
4.1 TIPO DE ESTUDO .....	23
4.2 POPULAÇÃO, AMOSTRA E LOCAL DO ESTUDO .....	23
4.3 PROTOCOLO DO ESTUDO .....	24
4.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE .....	26
<b>4.4.1 Critérios de inclusão</b> .....	26
<b>4.4.2 Critérios de exclusão</b> .....	26
4.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO .....	27
<b>4.5.1 Variáveis sociodemográficas</b> .....	27
<b>4.5.2 Variáveis antropométricas e laboratoriais</b> .....	27
<b>4.5.2.1 Avaliação Antropométrica</b> .....	27
<b>4.5.2.2 Dosagem dos exames sanguíneos</b> .....	28
4.6 PREPARO DA INFUSÃO DE CAFÉ E ADMINISTRAÇÃO .....	28
4.7 AVALIAÇÃO DA RIGIDEZ ARTERIAL .....	29
4.8 TESTE DA FUNÇÃO ENDOTELIAL (DILATAÇÃO MEDIADA PELO FLUXO DA ARTÉRIA BRAQUIAL).....	29
<b>5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS</b> .....	31
<b>6 ASPECTOS ÉTICOS</b> .....	31
<b>7 RESULTADOS</b> .....	32
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	51
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	52

## APRESENTAÇÃO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, sob o número do CAEE 01563618.9.0000.5346, parecer 3.156.059 de 20/02/2019 e incluído na Plataforma do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos sob o número RBR-65cxtr.

A presente dissertação estará dividida em seis partes principais, sendo elas: INTRODUÇÃO, a qual contextualiza a problemática, discutindo o processo de desenvolvimento da doença aterosclerótica, com início na disfunção endotelial, métodos de avaliação desta, pressão central e parâmetros de rigidez arterial e abordagens nutracêuticas para prevenção e/ou tratamento; REFERENCIAL TEÓRICO, que abrange o café e seu consumo no Brasil e no mundo, bem como sua relação com as doenças cardiovasculares; prevalência da obesidade e sobrepeso no Brasil e no mundo e sua relação com as doenças cardiovasculares; o que é e como podem ser avaliados parâmetros de rigidez arterial não invasivos e a associação do consumo do café nestes parâmetros; o que é e como avaliar a função endotelial e por fim, substâncias contidas no café que podem interferir na função endotelial; OBJETIVOS do estudo, que aborda o objetivo geral e os específicos; os MÉTODOS, que apresentam a metodologia e materiais utilizados para o desenvolvimento da pesquisa, as variáveis investigadas, a população e amostra, critérios de inclusão e exclusão, logística do estudo, análise estatística, riscos, benefícios e aspectos éticos; os RESULTADOS, que são apresentados sob a forma de um manuscrito científico. Foi incluído o artigo na íntegra, inclusive com as referências; as CONSIDERAÇÕES FINAIS abordam um fechamento dos principais resultados encontrados, assim como opiniões dos pesquisadores. Na sequência, são apresentados os elementos pós-textuais.

## 1 INTRODUÇÃO

No mundo ocidental, as doenças cardiovasculares (DCVs) lideram os índices de mortalidade, representando cerca de 17,5 milhões de mortes por doença cardíaca coronária ou acidente vascular cerebral (AVC) a cada ano (OLIVEIRA; AVEZUM; ROEVER, 2015).

Os fatores de risco como a obesidade, dislipidemia, hipertensão arterial (HAS), diabetes mellitus (DM) tipo 2, síndrome metabólica (SM) e o tabagismo, bem como os hábitos alimentares inadequados e o sedentarismo, causam uma agressão ao endotélio vascular. Como consequência final desse processo, há a formação de uma placa aterogênica, atualmente a principal responsável pelo desenvolvimento das DCVs (ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005; SBC, 2017).

A formação e desenvolvimento da placa aterosclerótica é influenciada pelas alterações glicêmicas, lipídicas, estados inflamatórios, oxidativos e isquêmicos que levam a complicações importantes, como geração de trombina, ativação plaquetária e formação de trombo, que determinam as principais causas de mortalidade por DCVs: o infarto agudo do miocárdio (IAM) e o AVC (SBC, 2017).

A disfunção endotelial é uma característica chave e precoce no desenvolvimento e progressão da placa aterogênica. Desta forma tem-se buscado entender este processo, tornando possível a busca de alvos terapêuticos. A determinação da função endotelial consiste na análise de sua responsabilidade a estímulos vasodilatadores ou vasoconstritores. Em humanos, uma das técnicas mais utilizadas é a dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (DMF), que é caracterizada por ser simples, não invasiva e de baixo custo. Essa técnica consiste na avaliação da imagem da artéria braquial em resposta a uma hiperemia reativa, induzindo o aumento de fluxo local e esperada dilatação dependente do endotélio (STORCH, et al. 2017).

Outro parâmetro utilizado em pesquisas clínicas é a análise da onda de pulso e da pressão arterial central, em especial a velocidade da onda de pulso (VOP), que é capaz de medir a rigidez arterial. Estudos recentes tem relacionado a VOP como um forte preditor de eventos cardiovasculares (CECELJA;CHOWIENCYK, 2009; ROCHA, 2011).

Ainda, pesquisadores buscam incessantemente uma abordagem nutracêutica para combater o número crescente de casos de doenças cardiovasculares. O

consumo de alimentos ricos em polifenóis tem sido relacionado com redução dos riscos de eventos cardiovasculares, tais como o IAM e AVC, tanto na população em geral como também em pessoas em risco de desenvolver DCV (ESTRUCH, et al. 2013; WIDMER, et al. 2015).

Os polifenóis formam uma classe de substâncias bioativas naturais com diversas propriedades anti-aterogênicas, como atividade anti-inflamatória, vasodilatadora, proteção contra a agregação plaquetária, capacidade em reduzir os níveis pressóricos, evitar a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e melhorar os perfis lipídicos e de glicose (LUDOVICI, et al. 2017).

O café é uma das principais fontes de polifenóis e um alimento com grande consumo mundial. Estudo realizado por Fukushima et al. (2009) demonstrou que o café representava cerca de 50% do consumo diário de polifenóis da população japonesa. No Brasil, segundo o Inquérito Nacional de Alimentação, o café é o segundo alimento mais consumido pela população, sendo que 79% dos brasileiros bebem café diariamente (SOUZA, et al. 2013).

Estudos tem demonstrado que um aumento do consumo diário de café está associado, não só com um menor risco de morte por DCV, mas como também, pela redução do risco de desenvolver obesidade, síndrome metabólica, diabetes, hipertensão, disfunção hepática e doença de Parkinson (VAN DAM; HU, 2005; SUGIYAMA, et al. 2010; TAKAMI, et al. 2013).

Entretanto, a relação entre o consumo de café e função endotelial ainda é controversa. Alguns estudos associam o café com uma melhor função endotelial pelo seu alto teor de antioxidantes (BUSCEMI, et al. 2009; BOON, et al. 2017). Em contrapartida, estudos também sugerem que o café, em especial o cafeinado, está relacionado com uma piora da função endotelial e que o café descafeinado não influencia na função endotelial (PAPAMICHAEL, et al. 2005). Além disso, o café cafeinado parece elevar a pressão central e piorar os parâmetros de rigidez arterial em adultos saudáveis (KARATZIS, et al. 2005; AHMANIEMI, et al. 2017; IOAKEIMIDIS, et al. 2018).

Contudo, os estudos publicados até o momento são realizados apenas com indivíduos saudáveis e não obesos. Ao melhor do nosso conhecimento, não encontramos estudos que avaliem o consumo da bebida café, função endotelial e parâmetros de rigidez arterial em indivíduos com obesidade. Desta forma, este trabalho tem como objetivo verificar o efeito agudo da ingestão de café cafeinado e

descafeinado sobre a função endotelial e parâmetros de rigidez arterial de indivíduos com sobrepeso e obesidade.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CAFÉ

O café é um dos alimentos em que o consumo anual mais cresceu mundialmente nos últimos 20 anos. Grande parte do consumo da bebida é realizada no domicílio, embora o consumo fora de casa também esteja crescendo. No Brasil, o café é a segunda bebida mais consumida, perdendo somente para água e estima-se que os brasileiros consumam em torno de três a quatro xícaras de café por dia. No ano de 2014 o consumo de café no Brasil passou de 20,085 milhões de sacas de 60kg para 20,333 milhões. O consumo per capita aumentou de 4,87 para 4,89kg por habitante no ano, valores equivalentes a 81 litros de café por habitante no ano (BRASIL, 2014).

Já em 2017 o Brasil se destacou como o segundo maior consumidor de café a nível mundial, sendo precedido apenas pelos Estados Unidos (EUA). O consumo de café neste ano foi estimado em 21,5 milhões de sacas, correspondendo aproximadamente em 1,07 milhões de toneladas. Nos EUA o consumo foi em torno de 25,8 milhões de sacas. Até o ano de 2021 a Associação Brasileira da Indústria do Café (ABIC) espera que o volume de consumo do Brasil alcance os EUA, considerando uma projeção de taxa média anual de crescimento de 3,3% para café em pó solúvel, 4,3% torrado e 9% para cafés em cápsulas (BRASIL, 2018).

O café é consumido há mais de mil anos e sua popularidade mundial é decorrente do sabor agradável e pelos seus efeitos estimulantes, a despeito dos controversos efeitos benéficos para a saúde. Alguns estudos associam aumento do consumo diário de café com um menor risco de morte por doenças cardiovasculares e com redução do risco de desenvolver obesidade, síndrome metabólica e diabetes (SUGIYAMA, 2010; TAKAMI, et al. 2013; GROSSO, et al. 2014; VAN DAM; HU, 2005; AGARDTH, et al. 2018).

No café existem inúmeras substâncias, mas são a cafeína, os diterpenos de cafestol, o *kahweol* e os polifenóis os elementos de maior importância na

comunidade científica. O cafestol e o *kahweol* estão relacionados com a inflamação endotelial, doença arterial coronariana, hipertensão arterial, arritmias cardíacas, acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio (SUDANO, et al. 2005), enquanto os polifenóis parecem ter efeito protetor contra as DCV (BADIMON, et al. 2017).

Em relação à cafeína, estima-se que em uma xícara de 150ml de café contenha de 66 a 99mg de cafeína no café feito por infusão, 66 a 81mg de cafeína no instantâneo, 48 a 86mg de cafeína no fervido, de 58 a 76mg de cafeína no expresso e de 1,3 a 1,7mg de cafeína no descafeinado (LIMA, et al. 2010).

Embora o efeito agudo da ingestão de cafeína esteja relacionado com aumento modesto dos níveis pressóricos, insulinemia e glicemia em indivíduos sensíveis a esta substância, o consumo em longo prazo desta tem se demonstrado como fator redutor da probabilidade de desenvolver obesidade e DM tipo 2 e como fator protetor contra as arritmias cardíacas (O'KEEFE; DINICOLATONIO; JAVIE, 2018; THELLE, 2018).

Já o teor de cafestol e *kahweol* contidos na bebida varia de acordo com o modo de preparo e estão sendo indicadas como agentes hipercolesterolêmicos (LIMA, et al. 2010). O aumento do colesterol LDL é o que ocorre com maior significância com o consumo dessas substâncias, em menor extensão, ocorre também um aumento das VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) e uma pequena diminuição do colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidade) (DEFAZIO, et al. 2007).

Ainda, o café é um dos alimentos mais ricos em polifenóis encontrados na natureza. Uma porção de café (200ml) pode conter entre 27 e 121mg de compostos fenólicos (BADIMON, et al. 2017). Em especial, os ácidos clorogênicos (ACG) tem sido considerados os mais abundantes polifenóis presentes no café. Estes compostos podem desempenhar um papel fundamental na inibição da peroxidação lipídica de colesterol LDL e na modulação do estresse oxidativo, reduzindo assim, o risco de aterosclerose (MILLS, et al. 2013). Ainda, acredita-se que alguns compostos fenólicos possuem ação hipocolesterolêmica por mediar a redução da absorção de colesterol no intestino e aumentar a excreção destes nos ácidos biliares (HOELZL, 2010).

### 2.1.1 Café, polifenóis e doenças cardiovasculares

Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas e vegetais de cor amarelo à violeta e são compostos por um anel aromático com uma ou mais ligações hidroxilas, que tem sido de especial interesse para mais de 500 moléculas diferentes. São basicamente divididos em dois grupos: flavonoides e não-flavonoides, de acordo com o número de anéis de fenol e de elementos estruturais que se ligam nestes anéis (BADIMON, et al. 2017).

Os polifenóis são os antioxidantes mais abundantes na dieta humana. Entretanto, devido a sua baixa disponibilidade e sua instabilidade, não há dados convincentes sobre os seus efeitos *in vivo*. Por outro lado, efeitos antioxidantes desses agentes foram impressionantemente comprovados *in vitro* (BADIMON, et al. 2017).

A relação dos polifenóis como fator de proteção às DCV origina-se a partir de sua atividade anti-inflamatória, através da inibição da via fator nuclear kappa B (NF-Kb), diminuindo assim a produção de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1-beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6), assim como de outras interleucinas e da proteína-C-reativa (PCR). Ainda, os polifenóis demonstraram inibir a agregação plaquetária e a trombose, ativar o processo de angiogênese e o reparo de células endoteliais, além de promover a produção de óxido nítrico (ON) nas células endoteliais diretamente induzidas por sobreexpressão da enzima endotélio-óxido-nítrico-sintase I ou aumentando a atividade destas (BADIMON, et al. 2017).

Mais de 4.000 tipos de flavonóides foram identificados na natureza, sendo as principais classes: flavonóis, flavonas, flavononas, isoflavonas, dihidroflavonois, antocianinas, catequinas e chalconas (YAO, et al., 2004). São facilmente encontrados em vegetais (especialmente alho, cebola roxa, repolho roxo, berinjela, batata-doce e soja), frutas frescas (laranja, morango, jabuticaba e uva rosada), sementes, noz, caules, folhas, alguns tipos de ervas e especiarias, cafés, chás e vinho tinto (ACKER, et al., 1996; RIQUE, et al. 2002).

A possível redução de risco para DCV dos flavonoides se dá através da ação antioxidante na LDL e modesta atividade antiplaquetária e anti-inflamatória. Ainda, sugere-se que alguns compostos fenólicos possam ter ação hipocolesterolêmica

mediada por redução na absorção de colesterol pelo intestino e aumento na excreção de ácidos biliares (CRAIG, 2001).

## 2.2. DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2015) as DCV além de liderarem os índices de morbidade e mortalidade no Brasil e no mundo são responsáveis por gastos exorbitantes na assistência médica-hospitalar.

Diante disso, busca-se entender os fatores de risco associados ao desenvolvimento e a evolução das DCV, sendo os principais: a dislipidemia, a obesidade, a HAS, a SM, DM e o tabagismo aliados a maus hábitos alimentares e sedentarismo (ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005). Embora a genética e a idade desempenhem um importante papel nessa evolução, a grande parte dos fatores de risco é influenciada pelo estilo de vida. Desta forma, modificações no estilo de vida poderão reduzir os eventos cardiovasculares e aumentar a sobrevida de pacientes portadores ou em risco de cardiopatias (O'KEEFE, et al. 1996).

As dislipidemias, a HAS, e o DM são considerados fatores de risco maiores, pois determinam o envelhecimento dos vasos em maior grau (SIMÃO, et al. 2002), em consequência do grande número de mudanças prejudiciais à biologia vascular, incluindo a diminuição da biodisponibilidade de ON, aumento da formação de radicais livres (RL) e aumento da atividade endotelial. Essas mudanças podem prejudicar a uma capacidade vasodilatadora do endotélio, contribuindo para o processo aterogênico (TSAO, et al. 1998).

Ademais, a exposição prolongada ou repetida a estes fatores de risco, pode exaurir o efeito protetor dos sistemas anti-inflamatórios entre as células endoteliais. Conseqüentemente, não somente o endotélio se torna disfuncional, mas também as células endoteliais podem perder sua integridade, podendo progredir para a senescência e se destacar para a circulação (WOYWODT, et al. 2002).

### 2.3. SOBREPESO E OBESIDADE

Nos últimos 50 anos a prevalência de indivíduos com sobrepeso e obesidade aumentou significativamente no mundo. Entre 1980 e 2013 o percentual de pessoas com índice de massa corporal (IMC) maior ou igual a 25 kg/m<sup>2</sup> aumentou de 28,8% para 36,9% no sexo masculino e de 29,8 para 38% no sexo feminino (VEST, et al. 2019).

No Brasil, nos últimos 13 anos houve um aumento de 67,8% de pessoas obesas, representando 19,8% da população brasileira. Considerando o sobrepeso, mais da metade da população (55,7%) possui excesso de peso. Houve um aumento de 30,8% quando comparado com percentual de 42,6% no ano de 2006 (BRASIL, 2019).

A obesidade é uma doença de origem multifatorial e é um dos principais fatores responsáveis pelo aumento da prevalência de doenças crônicas não transmissíveis, pois está associada frequentemente com as doenças cardiovasculares, tais como HAS, AVC, dislipidemias, intolerância à glicose e DM, (ORTEGA, et al. 2016; VEST, et al. 2019).

O risco de desenvolver DCVs é maior quando há obesidade na região abdominal, pois este padrão de distribuição de gordura associa-se a modificações no metabolismo de lipídeos e carboidratos, doença arterial coronariana e HAS (AOYAGI, et al. 2006). As células do tecido adiposo abdominal são capazes de sintetizar e secretar várias citocinas inflamatórias, como o TNF- $\alpha$ , IL-6, e adiponectina, que, em conjunto com a PCR são marcadores de inflamação plasmática e associam-se com o elevado índice de gordura corporal e com os fatores de risco cardiovascular (ESPOSITO, et al. 2003).

Com relação à função endotelial, a obesidade (por iniciar um processo inflamatório) reduz a liberação de vasodilatadores e fatores antitrombóticos e aumenta a liberação de substâncias vasoconstritoras e pró-trombóticas, resultando assim, em lesões no endotélio vascular que, por consequência, contribuem para o processo aterogênico (TROMBA, et al. 2019).

## 2.4 RIGIDEZ ARTERIAL

Apesar de a HAS ser um dos principais fatores de risco associados com DCVs, a análise da pressão arterial por métodos tradicionais pode não refletir da maneira mais precisa o risco de um indivíduo. Nesse sentido, a procura por novos métodos, que permitam o diagnóstico precoce e a monitorização das alterações estruturais e funcionais das artérias é prioritária no estudo contemporâneo da pressão arterial (VLACHOPOULOS, O'ROURKE, 2002). Grande atenção tem sido dispendida ao comprometimento das grandes artérias na HAS, sendo os métodos mais modernos de medida realizados de forma não invasiva (NELSON, et al. 2010).

As pressões fisiologicamente mais relevantes para efeitos cardíacos e vasculares são as pressões centrais uma vez que a pressão sistólica central é a pressão que o ventrículo esquerdo precisa arcar, já a pressão central determina o fluxo nas artérias coronárias através da diástole (VLACHOPOULOS, et al. 2001).

A análise da onda de pulso tem sido uma técnica utilizada em pesquisas científicas, que é capaz de revelar informações adicionais sobre efeitos hemodinâmicos das substâncias vasoativas e rigidez arterial que aparentemente não são demonstradas na medição de pressão arterial periférica comumente utilizada (VLACHOPOULOS, et al. 2001; SAFAR, et al. 2002). A ejeção ventricular gera uma onda de pressão que percorre os vasos arteriais em determinada velocidade, denominada velocidade da onda de pulso (VOP), a qual aumenta com o enrijecimento arterial e gera aumento de mortalidade (NELSON, et al. 2010).

A pressão central e os parâmetros de rigidez arterial podem ser medidos tanto por métodos invasivos, através de cateteres intra-arteriais, como também por métodos não invasivos como a tonometria de aplanção que estima a pressão central por registro direto da artéria carótida, por meio de registro de pressão sobre a parede arterial por um transdutor, e a tonometria da artéria braquial que é a aplicação de funções de transferência generalizadas para estimativa indireta das ondas de pressão aórtica central (BORTOLOTTI, 2009).

Entretanto, existem equipamentos automáticos capazes de estimar a pressão aórtica central e a VOP por meio de um algoritmo a partir de medidas na artéria braquial, os quais captam estas através da oscilometria e que tem a vantagem de ser menos dependentes de operadores. Desta forma, por meio de um modelo matemático, podem ser estimados uma série de parâmetros hemodinâmicos como

as medidas das ondas de reflexão e da pressão (PINTO; RODRIGUES-MACHADO, 2019).

#### **2.4.1 Rigidez arterial e café**

Pesquisas com indivíduos saudáveis e com peso adequado tem demonstrado que o café, em especial o cafeinado, quando consumido de forma aguda, é capaz de elevar a pressão sistólica central e a pressão diastólica central (KARATZIS, et al. 2005; AHMANIEMI, et al. 2017; IOKEIMIDIS, et al. 2018).

O efeito do agudo café na VOP possui resultados divergentes. Ioakeimidis, et al (2018), verificou que a VOP aumentou significativamente após o consumo do café cafeinado, sugerindo que o café cafeinado aumenta a rigidez arterial, reflexão das ondas e os parâmetros hemodinâmicos. Entretanto, estudo de Ahmaniemi, et al. (2017), com indivíduos saudáveis verificou que o consumo de café cafeinado não tem influência estatisticamente significativa na VOP.

#### **2.5 FUNÇÃO ENDOTELIAL**

O endotélio é a monocamada celular que reveste o interior das artérias, veias e as câmaras do coração, formando uma camada protetora entre os demais tecidos e o sangue circulante (STORCH, et al. 2017). O endotélio não se constitui apenas em uma camada celular, mas um regulador essencial da homeostase vascular, apresentando-se como uma função de barreira protetora e também como transdutor ativo dos sinais e alterações circulatórias que geram modificações no fenótipo das paredes dos vasos (VITA; KEANEY, 2002).

A ação protetora do endotélio se dá através de estímulos fisiológicos, como o estresse de cisalhamento exercido pelo fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais, os quais resultam na formação do ON, cuja função é manter o vaso sanguíneo dilatado constantemente, além de ser um potente inibidor da adesão e agregação plaquetária, pois possui propriedades anti-inflamatórias e antiproliferativas (DEANFIELD, et al. 2007) ao contrário da endotelina-1 (ET-1) que possui ação vasoconstritora (TEIXEIRA, et al. 2014).

Um endotélio saudável e funcional é o mais importante regulador vascular de inflamação e remodelação, pois um endotélio intacto é crucial para prevenir que as células circulantes no sangue sejam expostas a matriz subendotelial pró-trombótica e assim inibir a formação de trombos por limitação da ativação da adesão e agregação plaquetária (LEKAKIS, et al. 2011). Em contrapartida, a presença de fatores de risco cardiovasculares induz uma agressão ao endotélio ocasionando, por consequência, uma resposta inflamatória, levando a um quadro de disfunção endotelial, enrijecimento da parede vascular e formação da placa aterosclerótica (FAVERO, et al. 2014; BADIMON, et al. 2017).

A disfunção endotelial é uma das alterações que precedem o desenvolvimento da placa aterosclerótica e é caracterizada pela redução na biodisponibilidade de vasodilatadores do endotélio e por um aumento da biodisponibilidade de vasoconstritores (DEANFIELD, 2007; STORCH, 2017). Esse desequilíbrio na produção endotelial de mediadores causa alterações no tônus vascular, na agregação plaquetária, na coagulação, na fibrinólise e na piora no relaxamento dependente do endotélio. Tais alterações são causadas, pelo menos em parte pela perda da biodisponibilidade do ON (PALMER, et al. 1987).

No endotélio vascular, vários oxidantes podem se originar a partir de fontes celulares, extracelulares e de rotas enzimáticas e não enzimáticas. Na DCV, os principais radicais livres envolvidos na inflamação da parede vascular são: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase, óxido nítrico sintase induzível (iNOS), óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) desacoplada e mieloperoxidase, xantina oxidase (XO), lipoxigenase/ciclooxigenase e cadeia respiratória/fosforilação oxidativa (SINGH; JIALAL, 2006).

Com o aumento da inflamação, ocorre uma elevação na síntese de citocinas e proteínas pró-inflamatórias, tais como neutrófilos, monócitos, IL-6, TNF- $\alpha$ , PCR, entre outras. Assim, com a elevação dos macrófagos e neutrófilos em resposta a inflamação, ocorre uma maior síntese de IL-6, que por consequência eleva a produção de PCR no fígado. A PCR por sua vez, diminui a atividade da eNOS, reduzindo assim a disponibilidade de ON e aumenta a concentração de ET-1, ocasionando uma diminuição no processo de vasodilatação dependente do endotélio, gerando maior estresse de cisalhamento, maior dano aos vasos sanguíneos e desenvolvimento do processo aterogênico (TEIXEIRA, et al. 2014).

Ainda, estudos sugerem que o estresse oxidativo altera a função endotelial pela inativação do óxido nítrico pelos ânions superóxidos e lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (LDLs-ox). Tais radicais livres desativam os receptores endoteliais para acetilcolina, serotonina, trombina, bradicinina e outros mediadores, diminuindo a estimulação do óxido nítrico sintase (ONS) nas células endoteliais, reduzindo a produção de ON e prejudicando o relaxamento das células musculares lisas, predispondo à formação da placa aterosclerótica (ANTONIADES, et al. 2003).

Além disso, existem condições agudas que podem causar alterações na função endotelial, tais como, privação do sono, estresse mental, ciclo menstrual, exercício físico e hábitos alimentares, além de alguns agentes infecciosos, como a *clamídia*, *helicobacter*, *citomegalovírus* e vírus do *Herpes* (MELO, et al. 2014).

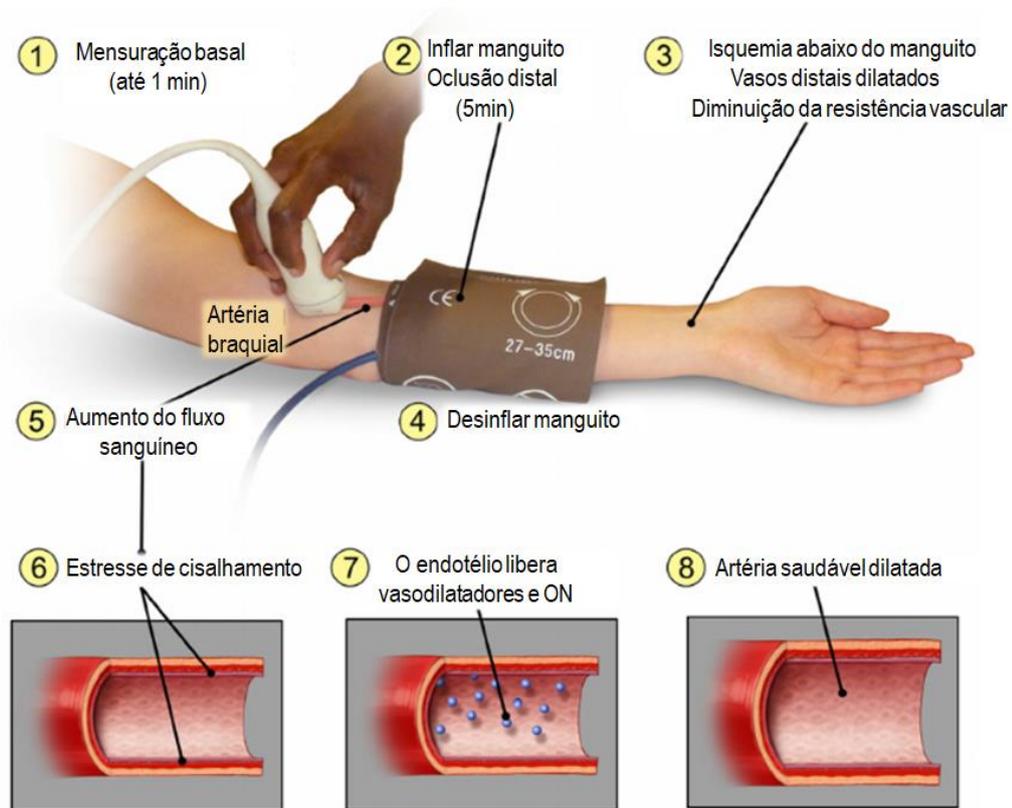
### **2.5.1 Dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial**

A análise da função endotelial se dá através de sua responsividade a estímulos vasodilatadores ou vasoconstritores. *In vivo* a função endotelial é avaliada através da mensuração da dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial, que tem sido um método preditor de eventos cardiovasculares (ANTONIADES, et al. 2003).

A técnica da DMF é considerada um método seguro e de baixo custo, podendo ser utilizada em crianças, adultos, gestantes e idosos, e está sendo muito aplicada em estudos desenvolvidos mundialmente, pois permite uma investigação precoce da aterosclerose em pesquisa clínica e com resultados confiáveis (MELO, et al. 2014). A DMF combina a análise de imagens da artéria braquial (ultrassom) em resposta a uma hiperemia reativa, que é induzida pelo aumento de fluxo local e esperada dilatação dependente do endotélio (BROCQ, et al. 2008).

A técnica da DMF (Figura 1) consiste em ocluir os vasos distais do antebraço por um determinado tempo (média 5 minutos) com o auxílio de manguito pneumático ou torniquete e posteriormente liberação da oclusão. A liberação da oclusão ocasionará em uma hiperemia reativa nos leitos vasculares distais e proximais, como consequência de uma dilatação local. O aumento do fluxo nas artérias proximais ocorre devido ao aumento do estresse de cisalhamento e da dilatação induzida por ON (STORCH, et al. 2017).

Figura 1 - Técnica da Dilatação Mediada pelo Fluxo (DMF)



Fonte: (WEISSGERBER, 2015)

Ressalta-se que uma DMF prejudicada é considerada como uma das primeiras manifestações potencialmente reversíveis de doença cardiovascular, sendo uma medida de alto impacto na avaliação dos danos do endotélio. A disfunção endotelial detectada pela DMF pode prever um fator de risco mesmo na ausência de diagnóstico de doenças cardiovasculares ou em pacientes assintomáticos (STORCH, et al. 2017).

Em uma metanálise realizada por Witte et al. (2005) que analisou 211 estudos sobre a associação entre DMF e riscos cardiovasculares, constatou que a DMF está relacionada com o principal fator de risco cardiovascular, com um tempo estimado de 10 anos para o aparecimento da DCV nas populações de baixo risco.

### 2.5.2 Função endotelial e café

Existem poucos estudos na literatura que avaliam os efeitos do café na função endotelial em humanos. *In vitro*, pesquisadores avaliaram a capacidade antioxidante de uma xícara (25ml) de café espresso cafeinado e descafeinado. Os achados sugerem que a atividade antioxidante do café é responsável pelo aumento da DMF. Entretanto, os autores sugerem que os efeitos desfavoráveis observados após a ingestão de café são ocasionados pela cafeína (MUKAMAL, et al. 2004).

Em humanos, o estudo duplo-cego, randomizado e cruzado, conduzido por Buscemi, et al. (2010) avaliou a função endotelial, pressão arterial e tolerância à glicose oral em 20 indivíduos saudáveis e não obesos. Os indivíduos ingeriram uma xícara de 25 ml de café cafeinado (CC) e outra de café espresso italiano descafeinado (DC) em ordem aleatória em intervalos de 5 a 7 dias. Após a ingestão de CC, a DMF diminuiu progressivamente e significativamente, mas não aumentou significativamente após a ingestão de DC. Da mesma forma, o CC aumentou significativamente a pressão arterial sistólica e diastólica, entretanto, este efeito não foi observado após a ingestão de DC. As concentrações de glicose no sangue permaneceram inalteradas após a ingestão de CC e DC, mas as concentrações sanguíneas de insulina diminuíram significativamente apenas após a ingestão de CC. Os autores sugerem que os efeitos cardiovasculares desfavoráveis do café na função endotelial ocorreram devido a presença da cafeína. Corroborando com estes achados, o estudo realizado por Papamichaelet al. (2005) verificou que o café cafeinado possui um efeito desfavorável na função endotelial e que o café descafeinado não influenciou na performance endotelial de 17 indivíduos saudáveis.

Ainda, Buscemi, et al. (2009), avaliaram o efeito na função endotelial ao consumo de uma e duas xícaras de café espresso italiano descafeinado (25ml) em ordem aleatória, também em indivíduos saudáveis. Como resultados, a DMF não alterou após a ingestão de uma xícara de café descafeinado, mas aumentou significativamente no grupo que ingeriu duas xícaras deste. Isto presuppõe que o café descafeinado em doses maiores, melhora a função endotelial.

Em contrapartida, estudo realizado por Noguchi, et al (2015), avaliou a função endotelial por hiperemia reativa dos dedos, pressão sanguínea e frequência cardíaca ao consumo de uma xícara contendo 150ml de água quente acrescida de

dois gramas de café instantâneo com cafeína e descafeinado. Os autores verificaram que a ingestão de café com cafeína aumentou ligeiramente a pressão arterial e a diminuição do fluxo sanguíneo dos dedos em comparação com o consumo de café descafeinado. Não houve diferença significativa na frequência cardíaca entre a ingestão de café com cafeína e descafeinado. Porém, a ingestão de café com cafeína aumentou significativamente a hiperemia reativa pós-oclusiva do fluxo sanguíneo dos dedos, concluindo que a cafeína contida em uma xícara de café aumenta a função microvascular em indivíduos saudáveis.

Outro estudo randomizado, controlado por placebo e cruzado conduzido por Boon, et al (2017), demonstrou que o consumo de café com cafeína resultou em uma melhora significativa da função endotelial em 18 indivíduos saudáveis, entretanto, não houve evidência de benefício quando ao metabolismo da glicose ou pressão arterial.

Os ácidos clorogênicos do café foram avaliados por Agudelo-Ochoa, et al. (2016), onde duas marcas de café foram selecionadas de acordo com a quantidade de ácidos clorogênicos. Após seu consumo por indivíduos saudáveis, verificou-se que embora ambos os cafés tivessem baixas quantidades de cafeína e diferentes teores de ácidos clorogênicos, não foi observado melhora no perfil de lípidos e na DMF.

A maior parte dos estudos que avaliaram o consumo do café com a função endotelial foram realizados em indivíduos saudáveis. Já o estudo de Ochiai R. et al (2009) utilizou como critérios de inclusão, indivíduos com risco de DCV, como HAS leve, tabagismo intenso, valores séricos de triglicerídeos, colesterol total e LDLc aumentados, circunferência da cintura aumentada e glicemia em jejum alterada. Neste estudo, os autores ofereceram café acrescido de ácidos clorogênicos e com redução de hidroxihidroquinona (HHQ), a qual é uma substância gerada por grãos de cafés assados e que inibe o efeito anti-hipertensivo dos ácidos clorogênicos no café pronto pra beber. Como resultados, o café reduzido promoveu uma melhora da DMF, sendo correlacionada com o efeito anti-hipertensivo da bebida.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito agudo da ingestão de café cafeinado e descafeinado sobre a função endotelial e parâmetros de rigidez arterial de indivíduos com sobrepeso e obesidade.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nos indivíduos com sobrepeso e obesidade:

- Avaliar a dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial antes e após o consumo do café cafeinado e descafeinado
- Avaliar o óxido nítrico e perfil lipídico antes e após os dois tratamentos com café;
- Verificar os parâmetros de rigidez arterial antes e após o consumo do café cafeinado e descafeinado.

### 4 MÉTODOS

#### 4.1 TIPO DE ESTUDO

Ensaio clínico randomizado, cruzado e duplo-cego. Cada participante foi submetido a dois tratamentos (café cafeinado e café descafeinado), sendo os tratamentos separados por um período livre (*washout*) de sete dias (FIGURA 2).

#### 4.2 POPULAÇÃO, AMOSTRA E LOCAL DO ESTUDO

A população consistiu em pacientes com sobrepeso e obesidade, com baixo a intermediário risco cardiovascular.

A seleção da amostra foi caracterizada como não probabilística de abordagem por julgamento e as coletas foram realizadas entre janeiro a outubro de 2019.

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no Programa PS (*Power and Sample Size Program*) através do T-test. Por não existirem estudos que avaliem a função endotelial por DMF em indivíduos com sobrepeso e obesidade, a amostra foi calculada com base em dados de estudo de Buscemi et al. (2010). Foram considerados os resultados da avaliação da DMF em 60 minutos do café com cafeína ( $6.0 \pm 0.8$ ) e descafeinado ( $8.5 \pm 0.9$ ) e desvio padrão de 3.57.

Empregando um poder de 80%, um nível de significância de 0,05 e um erro amostral de 10%, indicou-se serem necessários 18 indivíduos em cada grupo.

Foram recrutados 21 indivíduos para participar do estudo, entretanto, apenas 18 finalizaram a pesquisa. Dois participantes foram excluídos, pois apresentaram níveis pressóricos elevados durante os exames prévios e foram classificados com alto risco cardiovascular. Um participante foi excluído devido aumento de peso e respectivo IMC ficou acima dos critérios de inclusão para participar do estudo.

Os indivíduos não receberam nenhum tipo de pagamento para participar da pesquisa.

A coleta de dados para o estudo foi realizada no Laboratório de Doenças Autonômicas do Instituto do Coração de Santa Maria (ICOR).

#### 4.3 PROTOCOLO DO ESTUDO

Para o rastreamento dos indivíduos do estudo, foi realizado um *check-list* por um cardiologista integrante da pesquisa com os critérios de elegibilidade. Aqueles indivíduos que estiveram aptos a participar da pesquisa, apresentando risco cardiovascular baixo ou intermediário, bem como sobrepeso e/ou obesidade, foram convidados a participar do estudo e receberam orientações prévias para participar deste.

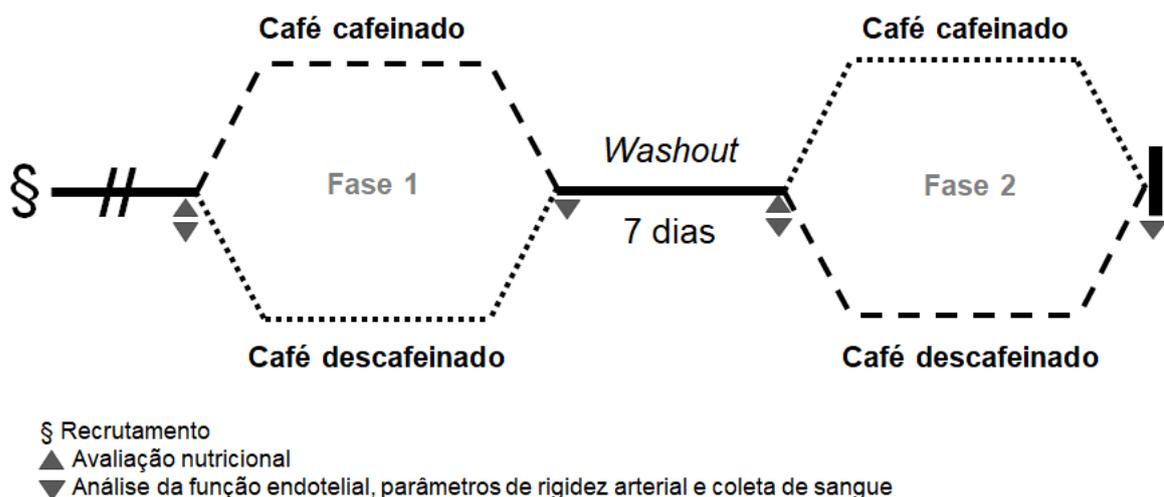
O risco cardiovascular foi calculado conforme o Escore de Risco Global (ERG) (D'AGOSTINO et al., 2008; FALUDI et al., 2017) que estima o risco de infarto do miocárdio, AVC ou insuficiência cardíaca (fatais ou não fatais) ou insuficiência

vascular periférica em 10 anos. O ERG classifica os indivíduos em quatro níveis estimados de risco cardiovascular: baixo, intermediário, alto e muito alto.

Os indivíduos que aceitaram participar do estudo através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram randomizados por uma pessoa cegada para receber 220ml de café cafeinado ou a mesma quantidade contendo café descafeinado. A randomização foi feita através de uma lista gerada por um site de randomização e controlada por uma pessoa cegada.

Primeiramente foi confirmado o índice de massa corporal, avaliada a pressão arterial e coletado o sangue para avaliação do óxido nítrico e perfil lipídico dos participantes. Na sequência foram avaliados os parâmetros de rigidez arterial e em seguida iniciada a avaliação da função endotelial que levou em torno de 30 minutos. Em seguida os participantes ingeriram o café, em no máximo 15 minutos, e, uma hora após foi realizada nova aferição da função endotelial. Na sequência foi feita nova aferição dos parâmetros de rigidez arterial e, ao final, realizada uma nova coleta dos exames laboratoriais. Estes passaram por um período livre de uma semana de *washout*, e foram cruzados para o próximo tratamento, onde se repetiu o protocolo anterior. O protocolo do estudo está descrito no diagrama da figura 2.

Figura 2 - Desenho do estudo



## 4.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

### 4.4.1 Critérios de inclusão

- Indivíduos com idade  $\geq 25$  anos e  $< 60$  anos;
- Ambos os sexos;
- Índice de massa corporal entre 25 e  $< 35\text{kg/m}^2$ ;
- Baixo risco ou risco intermediário cardiovascular caracterizado pelo ERG.

### 4.4.2 Critérios de exclusão

- Indivíduos de alto e muito alto risco cardiovascular, segundo a Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (FALUDI et al., 2017);
- Não ter realizado exame do perfil lipídico no último ano;
- Impossibilidade de ingerir cafeína;
- Doenças infecciosas ativas ou tratadas nos últimos 30 dias;
- Insuficiência renal crônica grave ( $\text{ClCr} < 50 \text{ ml/min}$ );
- Diagnóstico de cirrose hepática moderada ou grave (Escore CHILD B ou C);
- Doença pulmonar obstrutiva crônica grave (Escore GOLD C ou D);
- Doença arterial coronariana (angina pectoris, ou teste funcional positivo, ou cateterismo com lesões  $> 70\%$  em pelo menos uma artéria coronária, ou sinais de infarto do miocárdio prévio);
- Insuficiência cardíaca ( $\text{FE} < 50\%$ ) ou internação prévia por insuficiência cardíaca;
- Fibrilação atrial persistente ou permanente;
- Insuficiência arterial periférica grave (claudicação intermitente, ou revascularização prévia ou amputação de membro);
- Doença neurológica (acidente vascular cerebral ou AIT prévio);
- Diabetes mellitus tipo 1 ou tipo 2;
- Dislipidemia familiar;
- Tabagistas;

- Índice de massa corporal  $< 25\text{Kg/m}^2$  ou  $\geq 35\text{kg/m}^2$ ;
- Internação nos últimos 2 meses.

## 4.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

### 4.5.1 Variáveis sociodemográficas

As variáveis sociodemográficas foram avaliadas através de um questionário estruturado fechado que contemplaram as seguintes questões: data da avaliação, nome completo, telefone para contato, idade, sexo, cor da pele/raça auto referida (branca, preta, parda, amarela ou indígena), estado civil (solteiro(a), casado(a), viúvo(a), separado(a) ou divorciado(a)), ocupação (desempregado(a), empregado(a) com carteira assinada, empregado(a) sem carteira assinada, do lar, aposentado(a), agricultor(a) ou estudante) e nível de escolaridade (menos de 4 anos, 4 a 8 anos, 8 a 12 anos e mais que 12 anos).

### 4.5.2 Variáveis antropométricas e laboratoriais

#### 4.5.2.1 Avaliação Antropométrica

Para a avaliação do sobrepeso e obesidade, foram avaliados o peso, a estatura e calculado o Índice de Massa Corporal (IMC).

A estatura foi aferida utilizando o estadiômetro da balança antropométrica com o indivíduo em posição ereta, com braços pendentes ao longo do corpo, tendo os calcanhares unidos e a região occipital e a glútea tocando o plano vertical da toesa da balança. O resultado foi indicado em metro (m).

O peso foi aferido utilizando balança antropométrica calibrada, da marca Filizola, com capacidade para 150kg e incremento de 100g. O participante foi avaliado vestindo roupas leves e descalço.

O resultado foi indicado em quilograma (kg). Com os resultados da pesagem e aferição da altura, foi realizado o cálculo do índice de massa corpórea, utilizando-se a equação peso (kg) dividido pela altura (m) ao quadrado.

A classificação do estado nutricional seguiu os pontos de cortes específicos da OMS (2004):

Baixo peso:  $\leq 18,5\text{Kg/m}^2$ ;

Peso adequado ou eutrófico: entre 18,5 e 24,9Kg/m<sup>2</sup>;

Sobrepeso: entre 25 e 29,9kg/m<sup>2</sup>;

Obesidade:  $\geq 30\text{kg/m}^2$ ;

Obesidade grau I: entre 30 e 34,9kg/m<sup>2</sup>;

Obesidade grau II: entre 35,0 e 39,9kg/m<sup>2</sup>;

Obesidade grau III:  $>40\text{kg/m}^2$ .

#### 4.5.2.2 Dosagem dos exames sanguíneos

Para a dosagem dos exames bioquímicos foram coletados 3 tubos de 4mL de sangue venoso, sem gel separador. Após 30 minutos foi realizada centrifugação do material, as alíquotas de soro foram armazenadas em duplicata no *freezer* a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

O perfil lipídico foi obtido através do método colorimétrico de *Burtis*, et al (2008) e a dosagem de óxido nítrico (NOx) foi determinada utilizando o método de Griess modificado, em sistema automatizado BS 380 (Mindray, China) conforme descrito por Tatsch et al. (2011) e foi realizada no Laboratório de Bioquímica Clínica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

A coleta foi realizada por profissional capacitado através de punção venosa, com agulha descartável após 1h da recarga de ingestão do café, no momento de pico sanguíneo da substância cafeína.

## 4.6 PREPARO DA INFUSÃO DE CAFÉ E ADMINISTRAÇÃO

Foram selecionados cápsulas com cafés do mesmo lote e data de fabricação, a fim de minimizar as possíveis variações de resultados dos cafés, os mesmos foram identificados como A ou B por uma pessoa cegada. Os pesquisadores e os participantes não souberam qual café estava sendo administrado. As cápsulas utilizadas foram armazenadas e descartadas de acordo com o orientado pelo fabricante.

O café utilizado foi o café expresso em cápsula cafeinado e descafeinado e foi preparado em cafeteira automática. Foram utilizadas duas cápsulas por preparado

de café, correspondendo a 220ml. O participante deveria ingerir o café em no máximo 15 minutos.

A determinação do teor de cafeína e ácidos clorogênicos contidos nos cafés (Tabela 1) foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta performance conforme a técnica padronizada por *Jeon, et al. (2017)* e foi realizada no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (Nidal) da UFSM. Os resultados foram expressos em mg por 100 mL de café.

Tabela1: Determinação do teor de cafeína e ácidos clorogênicos em amostras de café cafeinado e descafeinado.

	$\lambda$ (nm)	Quantidade (mg/100 mL de café)	
		Café cafeinado	Café descafeinado
Cafeína	280 nm	60.5 $\pm$ 0.6	1.2 $\pm$ 0.04
Derivados de ácidos clorogênicos*	320 nm	63.4 $\pm$ 3.6	81.1 $\pm$ 3.1

Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão. \*Soma dos isômeros do ácido 5-cafeoilquinóico e outros ácidos clorogênicos quantificados como equivalentes do ácido 5-cafeoilquinóico.

#### 4.7 AVALIAÇÃO DA RIGIDEZ ARTERIAL

A rigidez arterial foi avaliada através do aparelho oscilométrico *Dyna-MAPA AOP* da marca *Cardios*<sup>®</sup> de acordo com técnica preconizada por *Weber, et al. (2011)* e ratificada por *Hametner, et al. (2013)*. Por meio deste foram avaliados parâmetros hemodinâmicos (pressão sistólica e diastólica central, débito cardíaco, pressão de pulso central, resistência vascular total e índice cardíaco) e parâmetros de rigidez arterial (coeficiente de reflexão, índice de amplificação –  $Alx@75$  e velocidade da onda de pulso).

#### 4.8 TESTE DA FUNÇÃO ENDOTELIAL (DILATAÇÃO MEDIADA PELO FLUXO DA ARTÉRIA BRAQUIAL)

A técnica utilizada para a avaliação da função endotelial foi realizada por um profissional treinado e cegado e obedeceu às Diretrizes para Mensuração da DMF por Ultrassom da *American College of Cardiology (CORRETTI, et al. 2002)*.

Os indivíduos compareceram ao local de teste em jejum de 6 horas. Os mesmos foram instruídos a abster-se do uso de bebidas contendo cafeína por 72 horas (incluindo café, chás, refrigerantes de cola e guaraná, chimarrão, energéticos e achocolatados), além de alguns alimentos como frutas vermelhas (cerejas, framboesas, morangos), cacau ou chocolate escuro, bem como controlar a ingestão de alho, tomate, nozes, soja, canela, orégano, uva, pimenta. Os mesmos deviam manter uma dieta regular e evitar o consumo de produtos ricos em gorduras no dia do exame. Além disso foi solicitado que os participantes não consumissem por 72 horas nenhuma medicação e/ou suplemento com atividade antioxidante, tais como: vitamina C, vitamina E, compostos multivitamínicos e multiminerais, como também evitar o consumo de álcool e não realizar atividade física no dia do exame.

A sala do exame foi mantida em silêncio, com temperatura entre 22-25°C, e baixa luminosidade.

Para o teste da função endotelial foi utilizado o ultrassom *PureWare* HD15 da marca Phillips® que contém um transdutor linear de 7 a 12 Hz de frequência, equipado com doppler colorido e espectral e capacidade de aquisição digital de imagens.

Para o teste, primeiramente foi aferida a pressão arterial dos participantes no braço oposto ao que seria feito a avaliação endotelial, conforme o protocolo descrito na 7ª Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (MALACHIAS, et al., 2016). Neste momento, para fins de comparação e posterior análise, também foi realizada a análise da onda de pulso (PWA).

Posteriormente a isso, foi iniciada mensuração da função endotelial. Os participantes foram dispostos em posição supina com o braço em posição confortável. Um esfigmomanômetro foi colocado no antebraço, abaixo da fossa antecubital. As imagens da artéria braquial foram acessadas em plano acima da fossa antecubital, no plano longitudinal. Foi selecionado o segmento com imagens nítidas das interfaces íntimas das paredes anterior e posterior na escala. Após a seleção do segmento de interesse, a imagem foi ser mantida no mesmo segmento durante todo o estudo.

Após obtenção da imagem da artéria braquial em estado basal, foi dado início a fase de hiperemia reativa. Inicialmente, a oclusão da artéria braquial foi obtida inflando-se o esfigmomanômetro 50mmHg acima da pressão arterial sistólica, mantendo-se isquemia por 5 minutos. Após este período, a pressão do manguito foi

completamente aliviada, gerando-se vasodilatação (hiperemia reativa). A imagem arterial foi obtida 1 minuto após a deflação do manguito, sendo mantida gravação da imagem durante 30 segundos.

A aquisição das medidas do endotélio foi realizada no início da onda R do ECG, o que coincide com o período final da diástole. Foram obtidas pelo menos 3 medidas, sendo a variação entre elas < 10%, sendo considerado a média das medidas válidas. Os resultados obtidos foram registrados no questionário.

## **5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS**

Os dados foram armazenados em planilha Excel e analisados com o software Statistical Package for the Social Sciences. A normalidade da distribuição dos dados numéricos foi verificada com o Teste de Kolmogorow-Smirnov e as variáveis óxido nítrico, triglicerídeos, pressão de amplificação, índice de amplificação e todos os percentuais de diferença não eram normalmente distribuídos.

Os resultados foram descritos por medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio-padrão e intervalo interquartil). A comparação entre as medidas contínuas foi realizada por meios dos testes T de Student e Mann-Whitney e a associação entre variáveis categóricas foi verificada com os testes Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fischer.

Para a comparação das variáveis contínuas entre os grupos, antes de depois dos tratamentos foi utilizado o modelo de Equações de Estimativa Generalizadas e o Post Hoc de Bonferroni, Sidak e Diferença Mínima Significativa. Foram consideradas significativas as análises com  $P < 0,05$ .

## **6 ASPECTOS ÉTICOS**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFSM, CAEE 01563618.9.0000.5346, parecer 3.156.059 de 20/02/2019 e incluído na Plataforma do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos sob o número RBR-65cxt.

Foram respeitados todos os aspectos éticos referentes à pesquisa com seres humanos, conforme determina a Resolução n.º 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Os pesquisadores comprometeram-se com a confidencialidade das informações, bem como a preservação da identidade dos indivíduos. Todos os indivíduos convidados a participar desse estudo assinaram livremente o TCLE. Como benefício ao participar do estudo, todos os participantes receberam orientações nutricionais para uma alimentação saudável.

## **7 RESULTADOS**

Os resultados deste estudo serão apresentados sob a forma de manuscrito científico, de acordo com a estrutura apresentada no Manual de Dissertações e Teses da UFSM.

## EFEITO AGUDO DO CAFÉ NA FUNÇÃO ENDOTELIAL E PARÂMETROS DE RIGIDEZ ARTERIAL DE INDIVÍDUOS COM SOBREPESO E OBESIDADE: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

ACUTE EFFECT OF COFFEE ON ENDOTHELIAL FUNCTION AND ARTERIAL STIFFNESS PARAMETERS OF OVERWEIGHT AND OBESITY INDIVIDUALS: A RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

Tábata P. Pavão<sup>1</sup>, Diego Chemello<sup>1,2</sup>, Patricia Chagas<sup>1,3</sup>

### RESUMO

**Introdução:** O café é um dos alimentos mais consumidos mundialmente. O consumo deste tem apresentado resultados controversos quando associado à função endotelial e rigidez arterial de pessoas saudáveis e sabe-se pouco sobre o efeito deste nestes parâmetros em indivíduos com sobrepeso e obesidade. A rigidez arterial tem sido avaliada em pesquisas pela pressão central e a função endotelial pela dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (DMF). **Objetivo:** Verificar o efeito agudo da ingestão de café cafeinado e descafeinado sobre a função endotelial e parâmetros de rigidez arterial de indivíduos com sobrepeso e obesidade. **Metodologia:** Ensaio clínico randomizado, cruzado e duplo-cego. Cada participante submeteu-se a dois tratamentos (café cafeinado e café descafeinado), separados por um *washout* de sete dias. A função endotelial foi mensurada através da DMF avaliada por ultrassonografia. A rigidez arterial foi avaliada por aparelho oscilométrico automático. Amostras sanguíneas foram coletadas para avaliar perfil lipídico e óxido nítrico. **Resultados:** Participaram 18 pessoas com idade de  $37,4 \pm 10,0$  anos, índice de massa corporal médio de  $28,96 \pm 2,42$ , sendo a maioria do gênero feminino (61,1%). O café cafeinado elevou a pressão arterial sistólica central ( $P < 0,001$ ), pressão arterial diastólica central ( $P < 0,001$ ), pressão de pulso central ( $P = 0,009$ ), resistência vascular total ( $P = 0,002$ ) e velocidade de onda de pulso ( $P < 0,001$ ). **Conclusão:** Em indivíduos com sobrepeso e obesidade o café cafeinado piorou os parâmetros de rigidez arterial e não alterou a função endotelial. O café descafeinado não influenciou os parâmetros de rigidez arterial e a função endotelial.

**Palavras-chave:** Dilatação mediada pelo fluxo. Endotélio vascular. Doenças cardiovasculares. Cafeína.

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Gerontologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

<sup>3</sup> Departamento de Alimentos e Nutrição, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

## ABSTRACT

**Introduction:** Coffee is one of the most consumed foods in the world. Its consumption has shown controversial results when associated with endothelial function and arterial stiffness of healthy people and little is known about its effect on these parameters in overweight and obese individuals. Arterial stiffness has been evaluated in studies by central pressure and endothelial function by brachial artery flow-mediated dilation flow (FMD). **Objective:** To verify the acute effect of caffeinated and decaffeinated coffee intake on endothelial function and arterial stiffness parameters in overweight and obese individuals. **Methodology:** Randomized, double-blind, crossover clinical trial. Each participant underwent two treatments (caffeinated coffee and decaffeinated coffee), separated by a seven-day washout. Endothelial function was measured by FMD assessed by ultrasound. Arterial stiffness was assessed by an automatic oscillometric device. Blood samples were collected to evaluate lipid profile and nitric oxide. **Results:** Eighteen people aged  $37.4 \pm 10.0$  years old participated, with a mean body mass index of  $28.96 \pm 2.42$ , most of them female (61.1%). Caffeinated coffee increased central systolic blood pressure ( $P < 0.001$ ), central diastolic blood pressure ( $P < 0.001$ ), central pulse pressure ( $P = 0.009$ ), total vascular resistance ( $P = 0.002$ ) and pulse wave velocity ( $P < 0.001$ ). **Conclusion:** In overweight and obese individuals, caffeinated coffee worsened arterial stiffness parameters and did not alter endothelial function. Decaffeinated coffee did not influence arterial stiffness parameters and endothelial function.

**Key words:** Flow-mediated dilation. Vascular endothelium. Cardiovascular diseases. Caffeine.

## INTRODUÇÃO

O café é consumido há mais de mil anos e sua popularidade mundial é decorrente do sabor agradável e pelos seus potenciais efeitos na saúde. Estudos têm demonstrado que o seu consumo diário pode reduzir a mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV)<sup>1</sup> e reduzir o desenvolvimento da obesidade<sup>2</sup>, síndrome metabólica (SM)<sup>3</sup> e diabetes (DM)<sup>4</sup>. Como as DCV ainda são as principais causas de morte no Brasil e no mundo<sup>5</sup> existe um grande interesse em pesquisar sobre o efeito do café na saúde cardiovascular.

Estudos sugerem que a rigidez arterial<sup>6</sup> e a disfunção endotelial são consideradas as fases precursoras da aterosclerose, que é considerada um fator de risco primordial para desenvolvimento das DCV<sup>7</sup>. O café tem apresentado resultados distintos em parâmetros de rigidez arterial e função endotelial. Alguns estudos demonstram que o café cafeinado eleva a pressão central e piora os parâmetros de rigidez arterial em adultos saudáveis<sup>8,9,10</sup>. Já com relação a função endotelial tanto o café cafeinado<sup>11,12,13</sup> quanto o descafeinado<sup>14</sup> parecem melhorar a função endotelial em indivíduos saudáveis e com DCV<sup>15</sup> por conter antioxidantes e cafeína. Contudo, outros estudos sugerem que o café descafeinado não interfere na função endotelial<sup>11,16,17</sup> ou que o café cafeinado interfere negativamente na função endotelial devido à presença da cafeína<sup>17</sup>.

Uma das técnicas que tem sido bastante utilizada em pesquisas clínicas para avaliação da função endotelial é a dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (DMF), por ser um método seguro e de baixo custo e que permite uma investigação precoce da aterosclerose<sup>18,19</sup>. E para a avaliação da rigidez arterial tem sido utilizadas técnicas não invasivas como a tonometria de aplanção, tonometria da artéria braquial<sup>20</sup> e por aparelhos automáticos que estimam a pressão aórtica central e a velocidade de onda de pulso<sup>21</sup>.

Desta forma verifica-se que a maior parte dos estudos sobre café na função endotelial e rigidez arterial são controversos e geralmente com indivíduos saudáveis. Sabendo que o excesso de peso corporal está fortemente associado a fatores de risco para DCV, como a hipertensão arterial (HAS), o acidente vascular cerebral (AVC), as dislipidemias e o DM<sup>22,23</sup> e que nenhum estudo avaliou exclusivamente a associação do consumo do café em indivíduos com excesso de peso corporal, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito agudo da ingestão de café cafeinado e

descafeinado sobre a função endotelial e rigidez arterial de indivíduos com sobrepeso e obesidade.

## MÉTODOS

### *População*

Este estudo foi realizado com indivíduos com idade  $\geq 25$  anos a 59 anos, de ambos os sexos, com índice de massa corporal (IMC) entre 25 e  $< 35\text{kg/m}^2$  e com baixo ou intermediário risco cardiovascular (caracterizado pelo Escore de Risco Global)<sup>24,25</sup>. Os critérios de exclusão foram: indivíduos de alto e muito alto risco cardiovascular<sup>25</sup>; não ter realizado exame do perfil lipídico no último ano; impossibilidade de ingerir cafeína; doenças infecciosas ativas ou tratadas nos últimos 30 dias; insuficiência renal crônica grave (ClCr  $< 50$  ml/min); diagnóstico de cirrose hepática; doença pulmonar obstrutiva crônica grave (Escore GOLD C ou D); doença arterial coronariana (angina pectoris, ou teste funcional positivo, ou cateterismo com lesões  $> 70\%$  em pelo menos uma artéria coronária, ou sinais de infarto do miocárdio prévio); insuficiência cardíaca (FE  $< 50\%$ ) ou internação prévia por insuficiência cardíaca; fibrilação atrial persistente ou permanente; insuficiência arterial periférica grave (claudicação intermitente, ou revascularização prévia ou amputação de membro); doença neurológica (acidente vascular cerebral ou AIT prévio); diabetes mellitus tipo 1 ou tipo 2; dislipidemia familiar; tabagistas e internação nos últimos 2 meses.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, sob o número do CAEE 01563618.9.0000.5346, parecer 3.156.059 de 20/02/2019 e incluído na Plataforma do Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos sob o número RBR-65cxtr.

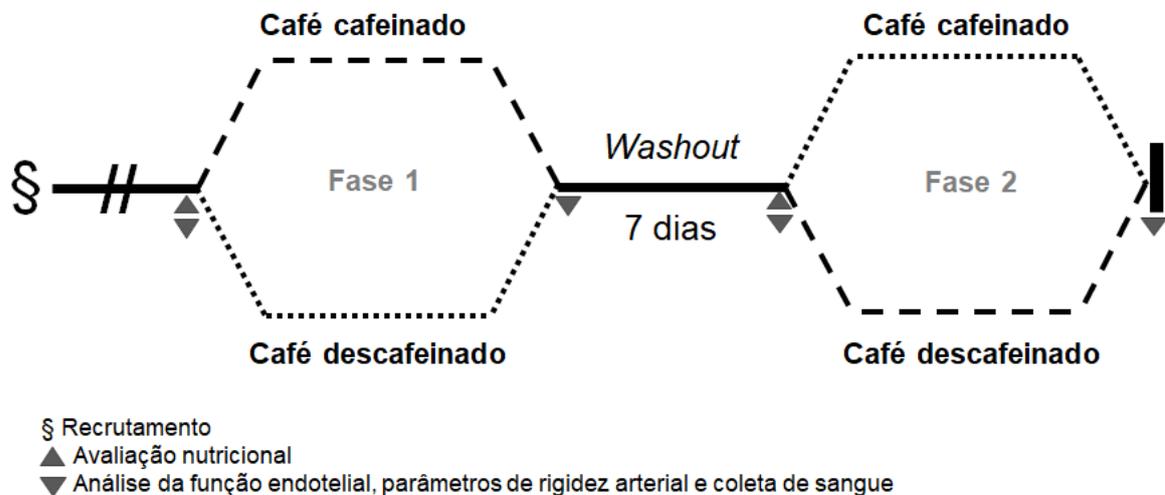
### *Desenho do Estudo*

Este estudo trata-se de um ensaio clínico randomizado, cruzado e duplo-cego. Cada participante foi submetido a dois tratamentos (café cafeinado e café descafeinado), sendo os tratamentos separados por um período *washout* de sete

dias (FIGURA 1). A randomização foi feita através de uma lista gerada por um site de randomização e controlada por uma pessoa cegada.

Primeiramente foi confirmado o índice de massa corporal, avaliada a pressão arterial e coletado o sangue para avaliação do óxido nítrico e perfil lipídico dos participantes. Após isso foi avaliados os parâmetros de rigidez arterial no braço esquerdo e na sequência iniciada a avaliação da função endotelial no braço direito dos participantes. Em seguida os participantes ingeriram o café, em no máximo 15 minutos, e, uma hora após foi realizada nova aferição da função endotelial. Na sequência foi feita nova aferição dos parâmetros de rigidez arterial e, ao final, realizada uma nova coleta dos exames laboratoriais. Estes passaram por um período de uma semana de *washout*, e foram cruzados para o próximo tratamento, onde se repetiu o protocolo. O protocolo do estudo está descrito no diagrama da figura 1.

Figura 1 - Desenho do estudo



### *Análises, Preparo e Administração dos Cafés*

O café utilizado foi o café expresso em cápsula cafeinado e descafeinado e foi preparado em cafeteira automática. Foram utilizadas duas cápsulas por preparado de café, correspondendo a 220ml em cada xícara. Foram selecionados cafés do mesmo lote e data de fabricação. A fim de minimizar as possíveis variações de resultados dos cafés, os mesmos foram identificados como A ou B por uma pessoa cegada. Os pesquisadores e os participantes não souberam qual café estava sendo

administrado. As cápsulas utilizadas foram armazenadas e descartadas de acordo com o orientado pelo fabricante.

A determinação do teor de cafeína e ácidos clorogênicos contidos nos cafés (Tabela 1) foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta performance<sup>26</sup> e foi realizada no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (Nidal) da UFSM. Os resultados foram expressos em mg por 100 mL de café.

Tabela1: Determinação do teor de cafeína e ácidos clorogênicos em amostras de café cafeinado e descafeinado.

	$\lambda$ (nm)	Quantidade (mg/100 mL de café)	
		Café cafeinado	Café descafeinado
Cafeína	280 nm	60.5 $\pm$ 0.6	1.2 $\pm$ 0.04
Derivados de ácidos clorogênicos*	320 nm	63.4 $\pm$ 3.6	81.1 $\pm$ 3.1

Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão. \*Soma dos isômeros do ácido 5-cafeoilquinóico e outros ácidos clorogênicos quantificados como equivalentes do ácido 5-cafeoilquinóico.

### *Avaliação antropométrica*

Este estudo foi realizado com pacientes com sobrepeso e obesidade grau I, de acordo com a classificação do IMC pela Organização Mundial da Saúde<sup>27</sup>. Para o cálculo do IMC foram aferidos o peso e a estatura. O peso foi aferido utilizando balança antropométrica calibrada, da marca Filizola®, com capacidade para 150kg e incremento de 100g. O participante foi avaliado vestindo roupas leves e descalço. O resultado foi indicado em quilograma (kg). A estatura foi aferida utilizando o estadiômetro da balança antropométrica com o indivíduo em posição ereta, com braços pendentes ao longo do corpo, tendo os calcanhares unidos e a região occipital e a glútea tocando o plano vertical da toesa da balança. O resultado foi indicado em metro (m). Com os resultados da pesagem e aferição da estatura, foi realizado o cálculo do índice de massa corporal, utilizando-se a equação peso (kg) dividido pela altura (m) ao quadrado<sup>28</sup>.

### *Parâmetros de Rigidez Arterial*

A rigidez arterial foi avaliada através do aparelho oscilométrico *Dyna-MAPA AOP* da marca *Cardios*<sup>®</sup> de acordo com técnica preconizada por *Weber, et al.* (2011)<sup>29</sup>. Por meio deste foram avaliados parâmetros hemodinâmicos (pressão sistólica central (PAS) e diastólica central (PAD), débito cardíaco (DC), pressão de pulso central (PP), resistência vascular total (RVT) e índice cardíaco (IC)) e parâmetros de rigidez arterial (coeficiente de reflexão (CR), índice de amplificação (AIx@75) e velocidade da onda de pulso (VOP).

### *Avaliação da Função Endotelial*

A técnica utilizada para a avaliação da função endotelial foi realizada por um profissional treinado e cegado e obedeceu às Diretrizes para Mensuração da DMF por Ultrassom da *American College of Cardiology*<sup>30</sup>.

Os indivíduos compareceram ao local de teste em jejum de 6 horas. Os mesmos foram instruídos a abster-se do uso de bebidas contendo cafeína por 72 horas (incluindo café, chás, refrigerantes de cola e guaraná, chimarrão, energéticos e achocolatados), além de alguns alimentos como frutas vermelhas (cerejas, framboesas, morangos), cacau ou chocolate escuro, bem como controlar a ingestão de alho, tomate, nozes, soja, canela, orégano, uva, pimenta. Os mesmos deviam manter uma dieta regular e evitar o consumo de produtos ricos em gorduras no dia do exame. Além disso foi solicitado que os participantes não consumissem por 72 horas nenhuma medicação e/ou suplemento com atividade antioxidante, tais como: vitamina C, vitamina E, compostos multivitamínicos e multiminerais, como também evitar o consumo de álcool e não realizar atividade física no dia do exame.

A sala do exame foi mantida em silêncio, com temperatura entre 22-25°C, e baixa luminosidade. Para o teste da função endotelial foi utilizado o ultrassom *PureWare HD15* da marca *Phillips*<sup>®</sup> que contém um transdutor linear de 7 a 12 Hz de frequência, equipado com doppler colorido e espectral e capacidade de aquisição digital de imagens.

Após obtenção da imagem da artéria braquial em estado basal, foi dado início a fase de hiperemia reativa. Inicialmente, a oclusão da artéria braquial foi obtida inflando-se o esfigmomanômetro 50mmHg acima da pressão arterial sistólica,

mantendo-se isquemia por 5 minutos. Após este período, a pressão do manguito foi completamente aliviada, gerando-se vasodilatação (hiperemia reativa). A imagem arterial foi obtida 1 minuto após a deflação do manguito, sendo mantida gravação da imagem durante 30 segundos.

A aquisição das medidas do endotélio foi realizada no início da onda R do ECG, o que coincide com o período final da diástole. Foram obtidas pelo menos 3 medidas, sendo a variação entre elas < 10%, sendo considerado a média das medidas válidas.

### *Análises bioquímicas*

O perfil lipídico foi obtido através do método colorimétrico de *Burtis, et al* (2008) e a dosagem de óxido nítrico (NOx) foi determinada utilizando o método de Griess modificado, em sistema automatizado BS 380 (Mindray, China) conforme descrito por Tatsch et al. (2011)<sup>31</sup>.

### *Análise estatística*

Os dados foram armazenados em planilha Excel e analisados com o software Statistical Package for the Social Sciences. A normalidade da distribuição dos dados numéricos foi verificada com o Teste de Kolmogorow-Smirnov e as variáveis óxido nítrico, triglicerídeos, pressão de amplificação, índice de amplificação e todos os percentuais de diferença não eram normalmente distribuídos. Os resultados foram descritos por medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio-padrão e intervalo interquartil). A comparação entre as medidas contínuas foi realizada por meios dos testes T de Student e Mann-Whitney e a associação entre variáveis categóricas foi verificada com os testes Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fischer. Para a comparação das variáveis contínuas entre os grupos, antes de depois dos tratamentos foi utilizado o modelo de Equações de Estimativa Generalizadas e o Post Hoc de Bonferroni, Sidak e Diferença Mínima Significativa. Foram consideradas significativas as análises com  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

Foram recrutados 21 indivíduos para participar do estudo, entretanto, apenas 18 finalizaram a pesquisa. Dois participantes foram excluídos, pois apresentaram níveis pressóricos elevados durante os procedimentos e tiveram consequente elevação do risco cardiovascular pelo ERG. Outro participante foi excluído devido a aumento de peso e seu IMC ficou acima dos critérios de inclusão para participar do estudo.

Dos 18 indivíduos avaliados, todos eram brancos, com média de idade de  $37,4 \pm 10$  anos (intervalo de 27 a 59 anos) e IMC médio de  $28,96 \pm 2,42$  kg/m<sup>2</sup>. A maioria era do sexo feminino (61,1%), com baixo risco cardiovascular (88,8%), solteiros (66,7%), empregados com carteira assinada (61,1%) e com mais de 12 anos de estudo (94,4%) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Características sociodemográficas e físicas dos participantes (N=18).

<b>Variáveis</b>	<b>N (%)</b>
<b>Idade (anos) média ± DP</b>	37,4±10,0
<b>Sexo</b>	
Feminino	11 (61,1)
Masculino	7 (38,9)
<b>Peso (kg)</b>	82,48±12,58
<b>Estatura (m)</b>	1,68±0,10
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	28,96±2,42
<b>Risco Cardiovascular</b>	
Baixo	16 (88,8)
Intermediário	2 (11,2)
<b>Raça</b>	
Branca	18 (100)
<b>Estado Civil</b>	
Solteiro	12 (66,7)
Casado	6 (33,3)
<b>Ocupação</b>	
Desempregado	4 (22,2)
Empregado com carteira assinada	11 (61,2)
Empregado sem carteira assinada	2 (11,1)
Do lar	1 (5,6)
<b>Escolaridade</b>	

9 a 12 anos	1 (5,6)
Mais que 12 anos	17 (94,4)

Considerando as análises bioquímicas avaliadas (perfil lipídico e óxido nítrico), o grupo que consumiu café descafeinado teve uma diminuição dos triglicerídeos plasmáticos. As demais variáveis bioquímicas não apresentaram diferença entre os grupos, tempos ou comportamento ao longo do tempo (Tabela 3).

**Tabela 3.** Comparação entre as medidas bioquímicas de adultos com sobrepeso e obesidade, pré e pós intervenção, entre os grupos com ingestão de café descafeinado e cafeinado e o comportamento dos grupos ao longo do tempo (N=18).

Variáveis Bioquímicas	Descafeinado Média±DP	Cafeinado Média±DP	P		
			Tempo	Grupo	Tempo vs. Grupo
ON (µmol/L)			0,374	0,723	0,531
Pré	269,11±45,14	238,56±16,54			
Pós	226,00±34,42	231,44±20,22			
TG (mg/dL)			0,009	0,983	0,349
Pré	133,67 <sup>a</sup> ±13,33	130,06±16,50			
Pós	119,06 <sup>b</sup> ±13,18	123,17±14,39			
CT (mg/dL)			0,914	0,943	0,298
Pré	178,28±10,30	174,94±10,11			
Pós	174,44±8,14	179,67±10,54			
LDL (mg/dL)			0,101	0,706	0,285
Pré	81,61±5,72	76,39±6,49			
Pós	82,67±5,91	81,39±6,78			
HDL (mg/dL)			0,542	0,735	0,090
Pré	70,33±7,03	70,50±6,52			
Pós	68,56±5,26	74,28±5,86			

P: Equações de Estimação Generalizadas e Post Hoc de Bonferroni, representado segundo Tukey. ON: óxido nítrico; TG: triglicerídeos; CT: colesterol total; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade.

Considerando a rigidez arterial, em relação aos parâmetros hemodinâmicos, o grupo que ingeriu café cafeinado, teve um aumento da pressão sistólica e diastólica central (P<0,001), da pressão de pulso central (P=0,009), da resistência vascular total (P=0,002) e da velocidade de onda de pulso entre os tempos pré e pós tratamento (P<0,001) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Comparação entre as medidas de Hemodinâmica e Rigidez Arterial, de adultos com sobrepeso e obesidade, pré e pós tratamento, entre os grupos com ingestão de café descafeinado e cafeinado e o comportamento dos grupos ao longo do tempo (N=18).

Variáveis	Descafeinado Média±DP	Cafeinado Média±DP	P		
			Tempo	Grupo	Tempo vs. Grupo
<b>Hemodinâmica</b>					
PAS (mmHg)			<0,001	0,975	0,233
Pré	115,61±2,90	114,06 <sup>a</sup> ±2,37			
Pós	120,16±2,45	121,94 <sup>b</sup> ±3,46			
PAD (mmHg)			<0,001	0,603	0,088
Pré	87,70±2,48	84,77 <sup>a</sup> ±1,95			
Pós	90,20±2,23	89,88 <sup>b</sup> ±2,43			
PP (mmHg)			0,009	0,320	0,582
Pré	27,81±1,00	28,87 <sup>a</sup> ±0,98			
Pós	29,84±1,36	31,97 <sup>b</sup> ±1,79			
DC (l/min)			0,300	0,277	0,315
Pré	4,79±0,65	4,06±0,06			
Pós	4,11±0,08	4,05±0,10			
RVT (s*mmHg/ml)			0,002	0,872	0,262
Pré	1,44±0,02	1,41 <sup>a</sup> ±0,02			
Pós	1,48±0,27	1,50 <sup>b</sup> ±0,05			
IC (l/(min*m <sup>2</sup> ))			0,162	0,956	0,855
Pré	2,10±0,09	2,09±0,05			
Pós	2,14±0,08	2,14±0,08			
<b>Rigidez Arterial</b>					
CR (%)			0,188	0,628	0,351
Pré	61,72±1,17	63,43±1,26			
Pós	63,73±1,66	63,77±1,53			
Alx@75 (%)			0,609	0,683	0,901
Pré	25,28±2,32	24,19±1,81			
Pós	24,80±2,40	23,44±2,52			
VOP (m/s)			<0,001	0,941	0,168
Pré	6,07±0,25	6,03 <sup>a</sup> ±0,23			
Pós	6,21±0,26	6,31 <sup>b</sup> ±0,27			

P: Equações de Estimação Generalizadas e Post Hoc de Bonferroni, Sidak ou Diferença Mínima Significativa, representado segundo Tukey. PAS: pressão sistólica central; PAD: pressão diastólica central; DC: débito cardíaco; PP: pressão de pulso central; RVT: resistência vascular total; IC: índice cardíaco; CR: coeficiente de reflexão; Alx@75: índice de amplificação; VOP: velocidade da onda de pulso.

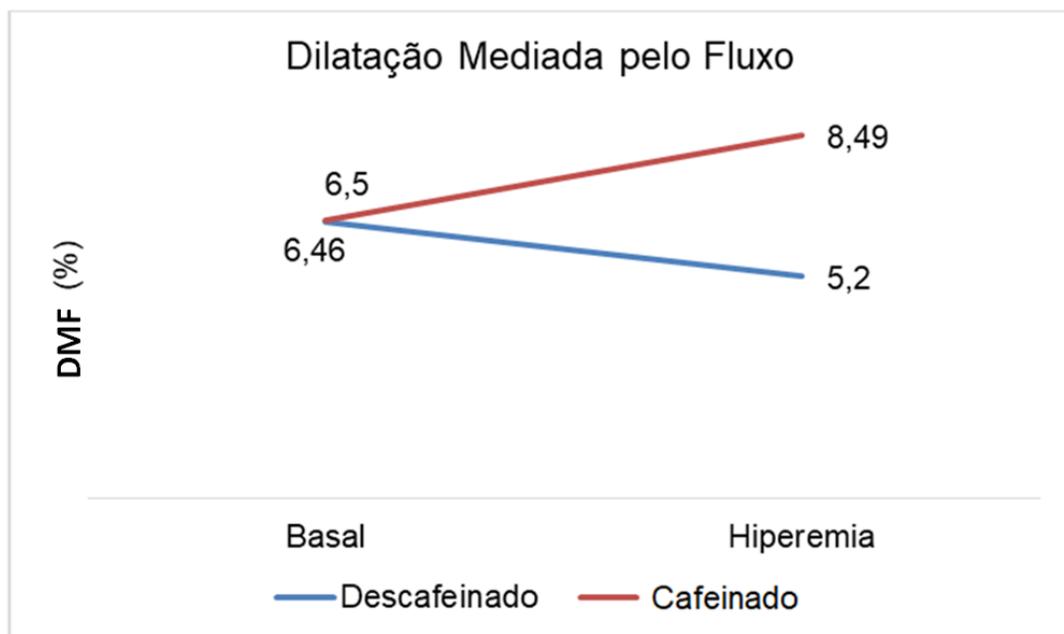
Tendo em vista a função endotelial, houve diferença significativa apenas no comportamento do percentual da medida de dilatação da DMF entre os grupos de consumo de café descafeinado e cafeinado ao longo dos tempos pré e pós tratamento (P=0,014).

**Tabela 5.** Comparação do percentual da dilatação mediada por fluxo, de adultos com sobrepeso e obesidade, pré e pós tratamento, entre os grupos com ingestão de café descafeinado e cafeinado e o comportamento dos grupos ao longo do tempo (N=18).

Percentual da diferença entre medida basal e hiperemia	Descafeinado Média±DP	Cafeinado Média±DP	P		
			Tempo	Grupo	Tempo vs. Grupo
Dilatação Mediada por Fluxo (%)			0,577	0,217	0,014
Basal	6,46±1,00	6,50±1,23			
Hiperemia	5,20±0,87	8,49±1,13			

P: Equações de Estimação Generalizadas e Post Hoc de Bonferroni.

Na figura 2 verificamos a representação gráfica da diferença significativa no comportamento do percentual de dilatação mediada por fluxo entre os grupos de consumo de café descafeinado e cafeinado ao longo dos tempos pré e pós tratamento (P=0,014).



**Figura 2.** Comportamento da medida do percentual da Dilatação Medial por Fluxo entre os grupos ao longo do tempo.

## DISCUSSÃO

Neste ensaio clínico randomizado e cruzado foi avaliado o efeito agudo da ingestão de café cafeinado e do café descafeinado sobre a função endotelial e rigidez arterial de indivíduos adultos com sobrepeso e obesidade. Na amostra avaliada o café descafeinado reduziu significativamente os triglicerídeos, enquanto que o café cafeinado elevou significativamente a pressão arterial sistólica central, a pressão arterial diastólica central e a pressão de pulso central. O café cafeinado também aumentou a resistência vascular total e velocidade de onda de pulso. Nem o café cafeinado, nem o descafeinado, alteraram a função endotelial, porém o café cafeinado e o descafeinado apresentaram comportamento distinto no percentual da DMF entre os grupos ao longo dos tempos pré e pós tratamento.

Durante muito tempo tem se discutido o papel do café na saúde cardiovascular<sup>32,33</sup>. Em pesquisas mais recentes a ação do café no sistema cardiovascular tem sido estudada de forma mais minuciosa, considerando parâmetros de rigidez arterial<sup>8,9,10</sup> e função endotelial<sup>34</sup>.

Em nosso estudo verificamos que o café descafeinado não influenciou no perfil lipídico, com exceção dos TG, que reduziu. Estudos prévios realizados demonstraram que o café descafeinado não interfere nos níveis de triglicerídeos plasmáticos<sup>40,41</sup>, colesterol total<sup>40,41</sup>, HDL<sup>41</sup> ou LDL<sup>40</sup> em indivíduos saudáveis. Considerando o café cafeinado, em nosso estudo, a ingestão aguda do mesmo não alterou o perfil lipídico. No estudo de Agudelo-Ochoa, et al. (2016)<sup>16</sup>, também foi demonstrado que dois tipos de café cafeinado não interferiram no perfil lipídico de indivíduos saudáveis, nem de forma aguda (1h após consumo) e nem no consumo prolongado (oito semanas). O estudo de Ahola, et al. (1991)<sup>35</sup>, demonstrou que o café cafeinado filtrado em filtro de papel também não interfere nos lipídios plasmáticos de indivíduos saudáveis. Em contrapartida, o estudo de Martínez-López (2019)<sup>36</sup> realizado com uma mistura de café verde/torrado por oito semanas reduziu significativamente os níveis de triglicerídeos e outras frações lipídicas em indivíduos saudáveis e moderadamente em indivíduos hipercolesterolêmicos.

O café é um dos alimentos mais ricos em polifenóis. Uma xícara de café de 200ml, pode conter entre 27 a 121mg de compostos fenólicos<sup>37</sup>. Destes, os ácidos clorogênicos tem despertado maior interesse, uma vez que podem ter ação inibidora da peroxidação lipídica de colesterol LDL e na modulação do estresse oxidativo,

reduzindo o risco de formação da aterosclerose<sup>33</sup>. Possivelmente a redução dos TG ocorrida em nosso estudo com o consumo do café descafeinado possa estar associado à presença dos ácidos clorogênicos. Também é importante salientar que os indivíduos da nossa amostra estavam em jejum de pelo menos seis horas para o preparo do estudo, podendo esta condição ter colaborado para na redução dos triglicerídeos plasmáticos<sup>38</sup>.

Ao se tratar da rigidez arterial, este é um método promissor, utilizado de forma crescente para avaliação das reflexões das ondas e das propriedades da pressão arterial<sup>6</sup>. Verificamos que o consumo de 220ml de café cafeinado aumentou os níveis da pressão arterial sistólica e diastólica central, da pressão de pulso central, da resistência vascular total, bem como da velocidade de pulso. Em contrapartida, o café descafeinado não exerceu nenhum efeito nestas variáveis. Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de Karatzis, et al. (2005)<sup>8</sup> e Ahmaniemi, et al. (2017)<sup>9</sup> nos quais verificou-se que o efeito agudo do café cafeinado promoveu um aumento na pressão sistólica central e na pressão diastólica central mas não houve alteração observada após o consumo de café descafeinado. Os achados sugerem que a cafeína proporciona um efeito desfavorável nas reflexões das ondas e, portanto, na pós-carga pulsátil do ventrículo esquerdo (VE)<sup>8</sup>.

Ioakeimidis, et al. (2018)<sup>10</sup> avaliando o efeito agudo do café em consumidores habituais ou não habituais de café, verificou que a pressão sistólica, diastólica e de pulso central aumentou significativamente após o consumo de café com cafeína nos grupos, porém a diferença na mudança de respostas da pressão sistólica e de pulso centrais após o consumo de café com cafeína foi significativamente maior entre os consumidores não habituais do que nos habituais de café, enquanto a diferença na alteração da resposta da pressão diastólica central entre os dois grupos não foi significativa, sugerindo que os efeitos do café cafeinado na rigidez arterial são mais potentes em consumidores não habituais<sup>10</sup>.

Em relação ao aumento da VOP, os estudos encontrados na literatura são divergentes. Corroborando com o resultado da nossa pesquisa, Ioakeimidis, et al (2018)<sup>10</sup>, verificaram a que mesma aumentou significativamente nos dois grupos após o consumo do café cafeinado. Entretanto, no estudo de Ahmaniemi, et al. (2017)<sup>9</sup>, realizado com indivíduos saudáveis, o consumo de café cafeinado não teve influência estatisticamente significativa na VOP. É de destaque que quanto menor a VOP, mais elásticas e complacentes serão as artérias. Portanto, valores altos de

VOP refletem maior rigidez arterial<sup>38</sup>. A ausência de alteração no Alx@75 em nosso estudo pode ser explicada pela análise exclusiva de curto prazo dos efeitos da cafeína, sendo a alteração desse parâmetro observada a médio/longo prazo<sup>39</sup>.

Nossos resultados demonstram que não houve diferença significativa no percentual da DMF após o consumo do café descafeinado ou cafeinado, entretanto foi verificado que o comportamento destes cafés operou de forma distinta. Analisando os dados obtidos sobre o efeito do café na função endotelial, é constatado que os dados ainda são muito divergentes. Corroborando com os nossos resultados, o estudo conduzido por Agudelo-Ochoa, et al. (2016)<sup>16</sup> analisou o efeito agudo, e em oito semanas, de duas marcas de café cafeinado em indivíduos saudáveis e não foi observado melhora no perfil na DMF. O café descafeinado também não mostrou influenciar na DMF nos estudos de Papamichael et al. (2005)<sup>17</sup> e de Buscemi, et al. (2010)<sup>12</sup>. Entretanto, o café cafeinado melhorou a função endotelial nos estudos de Buscemi, et al. (2010)<sup>12</sup> e Boon, et al (2017)<sup>13</sup>, e piorou no de Papamichael et al. (2005)<sup>17</sup>.

Verificamos que os resultados dos estudos que avaliam café e função endotelial são controversos, com o número de indivíduos avaliados pequeno e geralmente com população saudável. Nenhum deles avaliou exclusivamente a associação com excesso de peso corporal. Ainda, são distintas as metodologias, as quantidades de café ofertado, bem como a forma de preparo e tipo de café. Isto demonstra a necessidade de mais estudos clínicos de qualidade, abrangendo um número maior de participantes e analisando o consumo do café a curto e longo prazo.

## **CONCLUSÃO**

Em indivíduos com sobrepeso e obesidade, com baixo a intermediário risco cardiovascular, o consumo de 220ml de café cafeinado aumentou a pressão sistólica, diastólica e de pulso central, bem como aumentou a resistência vascular total e velocidade de onda de pulso. Assim o café cafeinado parece ter efeitos deletérios nos parâmetros de rigidez arterial desta população. Em contrapartida, o consumo de café descafeinado não alterou os parâmetros de rigidez arterial. Já na função endotelial, verificamos que nem o café cafeinado, nem o café descafeinado interferiram na mesma. Entretanto existe um comportamento distinto do café

cafeinado e descafeinado no percentual da DMF entre os grupos ao longo dos tempos pré e pós tratamento.

## REFERENCIAS

- 1 - SUGIYAMA, K. et al. Coffee consumption and mortality due to all causes, cardiovascular disease, and cancer in Japanese women. *J Nutr.* v. 140, p. 1007-1013, 2010.
- 2 - TAKAMI, H. et al. Inverse correlation between coffee consumption and prevalence of metabolic syndrome: baseline survey of the Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort (J-MICC) Study in Tokushima, Japan. *J Epidemiol.* v.23, p. 12-20, 2013.
- 3 - GROSSO, et al. Association of daily coffee and tea consumption and metabolic syndrome: results from the Polish arm of the HAPIEE study. *European Journal of Nutrition*, v. 54, n. 7, p.1129-1137, 2015.
- 4 - VAN DAM, R.; HU, F. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA.* v. 294, p.97-104, 2005
- 5 - SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. *Arq Bras Cardiol.* 2019.
- 6 - ROCHA, E. [Pulse wave velocity: a marker of arterial stiffness and its applicability in clinical practice]. *Rev Port Cardiol.* v.30, n. 9, p.699-702, 2011.
- 7 - STORCH, A. et al. Methods of Endothelial Function Assessment: Description and Applications. *Int J of Card Scie.* v. 30, p.262-273, 2017.
- 8 - KARATZIS, E. et al. Acute effects of caffeine on blood pressure and wave reflections in healthy subjectis: should we consider monitoring central bloog pressure? *Int. J. Cardiol.* v.98, n.3 p. 425-430, 2005.
- 9 - AHMANIEMI, T. et al. Pulse arrival time measurement with coffee provocation. *Eng Med Biol Soc.* p. 254-257, 2017.
- 10 - IOAKEIMIDIS, N. et al. Acute effect of coffee on aortic stiffness and wave reflections in healthy individuals: differential effect according to habitual consumption. *Int J Food Sci Nutr.* v.69, n.7. p.870-881, 2018.
- 11 - NOGUCHI, K. et al. Effect of caffeine contained in a cup of coffee on microvascular function in healthy subjects. *J. Pharmacol. Sci.* v.127, p. 217-222, 2015.

- 12 - BUSCEMI, S. et al. Acute effects of coffee on endothelial function in healthy subjects. *Eur J of Clin Nutr.* v. 64, p.64, 483–489, 2010.
- 13 - BOON, E. et al. The acute effect of coffee on endothelial function and glucose metabolism following a glucose load in healthy human volunteers. *Food Funct.* v. 8, 2017.
- 14 - BUSCEMI, S. et al. Dose-dependent effects of decaffeinated coffee on endothelial function in healthy subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 63, p. 1200-1205, 2009.
- 15 - OCHIAI, R. et al. Coffee bean polyphenols ameliorate postprandial endothelial dysfunction in healthy male adults. *Int. J. Food Sci. Nutr.* v. 66, n. 350-354, 2015.
- 16 - AGUDELO-OCHOA, G. et al. Coffee Consumption Increases the Antioxidant Capacity of Plasma and Has No Effect on the Lipid Profile or Vascular Function in Healthy Adults in a Randomized Controlled Trial. *J. Nutr.* v.146, p.524-531, 2016.
- 17 - PAPAMICHAEL, C. M., et al. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci (Lond).* v.109, n.1, p.55-60, 2005.
- 18 - MELO, J. et al. Estudo da Função Endotelial no Brasil: Prevenção de Doenças Cardiovasculares. *Rev Bras Cardiol.* v. 27, n. 2, p. 120-127, 2014.
- 19 - STORCH, A. et al. Methods of Endothelial Function Assessment: Description and Applications. *Int J of Card Scie.* v. 30, p.262-273, 2017.
- 20 - BORTOLOTTTO, L. Pressão central: como interpretar na prática clínica. *Rev Bras Hipertens.* v.16, n. 1.p. 46-47, 2009.
- 21 - PINTO, D.; RODRIGUES-MACHADO. Aplicabilidade dos marcadores de rigidez arterial na doença arterial periférica. *J. Vasc. Bras.* v, 18, 2019.
- 22 - MILLS, C. et al. Mediation of coffee-induced improvements in human vascular function by chlorogenic acids and its metabolites: Two randomized, controlled, crossover intervention trials. *Clin. Nutr.* v. 36, p. 1520–1529, 2017.
- 23 - VEST, et al. Nutrition, obesity, and cachexia in patients with heart failure: a consensus statement from the Heart Failure Society of America Scientific Statements Committee. *J Card Fail.* v. 25, n. 5, p.380-400, 2019.
- 24 - D'AGOSTINO, R. B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care the Framingham Heart Study. *Circulation.* v. 117, n. 6, p. 743-753, 2008.
- 25 - FALUDI, A. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arq Bras Cardiol.* v.109, n. 2, p. 1-76, 2017.
- 26 - JEON, J. et al. Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. *J of Chromatography B.* v. 1064, p. 115-123, 2017.
- 27 - OMS, Organização Mundial da Saúde. Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN: Orientações básicas para a coleta, processamento, a análise de dados e a informação em serviços de saúde. 1ª Ed. Brasília. DF, 2004.

- 28 - ADAMS, G. Exercise Physiology - Laboratory Manual. 3 rd ed. New York: McGraw-Hill, 1999.
- 29 - WEBER, T. et al. Validation of a Brachial Cuff-Based Method for Estimating Central Systolic Blood Pressure. *Hypertension*. v.58, p.825-832.
- 30 - CORRETTI, M. et al. Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of the Brachial Artery - A Report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *JACC*. v. 39, n.2, 2002.
- 31 - TATSCH, E. et al. A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate. *Clin Biochemistry*, v. 44, n. 4, p. 348-350, 2011.
- 32 – SUDANO, I. et al. Cardiovascular effects of coffee: is it a risk factor? *Prog Cardiovasc Nurs*. n. 20, p.65-69, 2005.
- 33 - BADIMON, L. et al. Diet and cardiovascular disease: Effects of foods and nutrients in Classical and Emerging cardiovascular risk factors. *Current Medicinal Chemistry*. v. 24, 2017.
- 34 - HIGASHI, Y. Coffee and Endothelial Function: A Coffee Paradox? *Nutrients*. v.11, n.9, 2019.
- 35 - AHOLA, L. et al. The hypercholesterolaemic factor in boiled coffee is retained by a paper filter. *J Intern Med*. v. 230, n.4, p. 293-297, 1991.
- 36 – MARTÍNEZ-LÓPEZ, S. et al. Moderate consumption of a soluble green/roasted coffee rich in caffeoylquinic acids reduces cardiovascular risk markers: results from a randomized, cross-over, controlled trial in healthy and hypercholesterolemic subjects. *Eur J Nutr*. v.58, n.2, p.865-878, 2019.
- 37 - MILLS, C. et al. The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee. *FoodChem*. v. 141, p. 3335-3344, 2013.
- 38 - TINSLEY, G.; LA BOUNTY, P. Effects of intermittent fasting on body composition and clinical health markers in humans. *Nutrição Reviews*, v. 73, n. 10, p. 661–674, oct. 2015.
- 39 - HAMETNER, B. et al. Oscillometric estimation of aortic pulse wave velocity: comparison with intra-aortic catheter measurements. *Blood Pres Monit*. v.18, n.3, p.173-176, 2013.
- 40 - VAN DUSSELDORP, M.; KATAN, M.; DEMACKER, P. Effect of decaffeinated versus regular coffee on serum lipoproteins. A 12-week double-blind trial. *Am J Epidemiol*, v. 132, n.1. p.33-40, 1990.
- 41 - WAHRBURG, U. et al. Effects of two kinds of decaffeinated coffee on serum lipid profiles in healthy young adults. *Eur J Clin Nutr*. v. 48, n.3, p.172-179, 1994.

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em indivíduos com sobrepeso e obesidade, com baixo a intermediário risco cardiovascular, o consumo de 220ml de café cafeinado aumentou a pressão sistólica, diastólica e de pulso central, bem como aumentou a resistência vascular total e velocidade de onda de pulso. Assim o café cafeinado parece ter efeitos deletérios nos parâmetros de rigidez arterial desta população. Em contrapartida, o consumo de café descafeinado não alterou os parâmetros de rigidez arterial. Já na função endotelial, verificamos que nem o café cafeinado, nem o café descafeinado interferiram na mesma. Entretanto existe um comportamento distinto do café cafeinado e descafeinado no percentual da DMF entre os grupos ao longo dos tempos pré e pós tratamento.

## REFERÊNCIAS

- ACKER, S.A., et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radic Biol Med.** v.20, n.3, p. 331-342, 1996.
- ANTONIADES, C. et al;. Oxidative stress, antioxidant vitamins, and atherosclerosis. **Herz.** v.28, p.628-638, 2003.
- AOYAGI, K. et al. Obesity and cardiovascular risk factors among men and women aged 40 years and older in a rural area of Japan. **J Physiol Anthropol.** v. 6, n.25, p.371-375, 2006.
- AGARDTH, E. et al. Coffee consumption, type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Swedish men and women. **J Intern Med.** v. 255, n. 6, p. 645-652, 2004
- BADIMON, L. et al. Diet and cardiovascular disease: Effects of foods and nutrients in Classical and Emerging cardiovascular risk factors. **Current Medicinal chemistry.** v. 24, 2017.
- BEN-NOUN, L.; LAOR, A. Neck Circumference as a Simple Screening Measure for Identifying Overweight and Obese Patients. **Obesity Research.** v.9, p. 470-477, 2001.
- BEN-NOUN, L.; LAOR, A. Relationship of Neck Circumference to Cardiovascular Risk Factors. **Obesity Research.** v.11, p.226-231, 2003.
- BEN-NOUN, L.; LAOR, A. Relationship between changes in neck circumference and cardiovascular risk factors. **Exp Clin Cardiol.** v. 11, n.1, p.14-20, 2006
- BOON, E. A., et al. The acute effect of coffee on endothelial function and glucose metabolism following a glucose load in healthy human volunteers. **Food Funct.** v.8, n.9, p. 3366-3373, 2017.
- BORTOLOTTI, L. Pressão central: como interpretar na prática clínica. **Rev Bras Hipertens.** v.16, n. 1.p. 46-47, 2009.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Nº 466, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466\\_12\\_12\\_2012.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html)> Acesso em: 15/02/2018.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Tendências do Mercado do Café em 2014.** EMBRAPA – ABIC, Associação Brasileira da Indústria do Café. Disponível em: <[http://consorcioinvestigacaocafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/Tendencias\\_no\\_consumo\\_do\\_cafe\\_2014.pdf](http://consorcioinvestigacaocafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/Tendencias_no_consumo_do_cafe_2014.pdf)>. Publicado em 11/2014. Acesso em 11/06/2018.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Tendências do Mercado do Café em 2017.** EMBRAPA – ABIC, Associação Brasileira da Indústria do Café. Disponível em:

<[http://consorciopesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/tendencias\\_do\\_mercado\\_cafe\\_2017.pdf](http://consorciopesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/tendencias_do_mercado_cafe_2017.pdf)> Publicado em 02/02/2018. Acesso em 11/06/2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa Vigitel Brasil 2018 - VIGILÂNCIA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS POR INQUÉRITO TELEFÔNICO**. Disponível em:

<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/julho/25/vigitel-brasil-2018.pdf>> Publicado em 2019. Acesso em 18/11/2019.

BROCQ, M. et al. Endothelial dysfunction: from molecular mechanisms to measurement, clinical implications, and therapeutic opportunities. **Antioxid Redox Signal**. v. 10, n.9, p.1631-1674, 2008.

BURTIS, C.A. et al. **Fundamentos de química clínica**. 6ed., 2008.

BUSCEMI, S. et al. Dose-dependent effects of decaffeinated coffee on endothelial function in healthy subjects. **Eur J Clin Nutr**. v.63, p.1200-1205, 2009.

BUSCEMI, S. et al. Acute effects of coffee on endothelial function in healthy subjects. **Eur J of Clin Nutr**. v. 64, p.64, 483–489, 2010.

CECELJA, M.; CHOWIENCZYK, P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: a systematic review. **Hypertension**. v. 54, n.6. 2009.

CORRETTI, M. et al. Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of the Brachial Artery - A Report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. **JACC**. v. 39, n.2, 2002.

CRAIG, W. J. Health-promoting phytochemicals: beyond the traditional nutrients. In: Sabaté J, editor. **Vegetarian nutrition**. New York: CRC Press. p.333-369, 2001.

D'AGOSTINO, R. B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care the Framingham Heart Study. **Circulation**. v. 117, n. 6, p. 743-753, 2008.

DEANFIELD, J. et al. Endothelial function and dysfunction. Testing and clinical relevance. **Circulation**. p. 1285-1295, 2007.

DEFAZIO, G. et al. Influence of coffee drinking and cigarette smoking on the risk of primary late onset blepharospasm: evidence from a multicentre case control study. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**. v.8, n. 78, p. 877-879, 2007.

ECKEL, R.; GRUNDY, S.; ZIMMET, P. The metabolic syndrome. **The Lancet**. v. 16, n. 22, p. 1415-1428, 2005.

ESPOSITO, K. et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. **JAMA**. v.14, n.289, p.1799-1804, 2003.

ESTRUCH, R. et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. **N Engl J Med**. v.14, n.368, p. 1279-1290, 2013.

FALUDI, A. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. **Arq Bras Cardiol.** v.109, n. 2, p. 1-76, 2017.

FAVERO, G. et al. Endothelium and Its Alterations in Cardiovascular Diseases: Life Style Intervention. **Biomed Res In.** 2014.

FUKUSHIMA, Y. et al. Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. **J Agric Food Chem.** v.4, n.57, 2009.

GIRIBELA, C. et al. Função e disfunção endotelial: da fisiopatologia às perspectivas de uso em pesquisa e na prática clínica. **Rev Bras Hipertens.** v.18, n.1, p. 27-32, 2011.

GOFF, D. et al. **ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.** 2013. Disponível em: <<http://circ.ahajournals.org/content/circulationaha/early/2013/11/11/01.cir.0000437741.48606.98.full.pdf>> Acesso em 22/06/2018.

GROSSO, S. et al. Mistretta Factors associated with metabolic syndrome in a Mediterranean population: role of caffeinated beverages. **J Epidemiol.** v.24, p. 327-333, 2014.

HAMETNER, B. et al. Oscillometric estimation of aortic pulse wave velocity: comparison with intra-aortic catheter measurements. **Blood Pres Monit.** v.18, n.3, p.173-176, 2013.

HERTOG, M.G., et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. **Lancet.** v.342, p.1007-1011, 1993

HOELZL, C. et al. Instant coffee with high chlorogenic acid levels protects humans against oxidative damage of macromolecules. **Mol Nutr Food Res.** v. 54, p. 1722-1733, 2010

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). [homepage na Internet]. **Síntese de Indicadores Sociais confirma as desigualdades da sociedade brasileira.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>.

JEON, J. et al. Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. **J of Chromatography B.** v. 1064, p. 115-123, 2017.

JOKURA, H. Coffee polyphenol consumption improves postprandial hyperglycemia associated with impaired vascular endothelial function in healthy male adults. **Nutr Res.** v.35, n.10, p. 873-881, 2015.

LEKAKIS, J. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.** v.18, p.775-789, 2011.

- LIMA, F. et al. Café e saúde humana: um enfoque nas substâncias presentes na bebida relacionadas às doenças cardiovasculares. **Rev Nutr Campinas**. v. 6, n.23, p. 1063-1073, 2010.
- LOHMAN, T. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign, IL: Human Kinetics, p. 28-80,1988.
- LOPES, A.; RIBEIRO, G. **Antropometria aplicada a saúde e ao desenvolvimento esportivo: uma abordagem a partir da metodologia ISAK**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2014.
- LUDOVICI, V. et al. Cocoa, Blood Pressure, and Vascular Function. **Front Nutr**. v. 4, n.36, 2017.
- MALACHIAS, M. V. B. et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arq Bras Cardiol**. v. 107, n. 3, Supl.3, p. 1-83, Set. 2016.
- MELO, J. et al. Estudo da Função Endotelial no Brasil: Prevenção de Doenças Cardiovasculares. **Rev Bras Cardiol**. v. 27, n. 2, p. 120-127, 2014.
- MILLS, C. et al. The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee. **FoodChem**. v. 141, p. 3335-3344, 2013.
- MUKAMAL, K.J. et al. Caffeinated coffee consumption and mortality after acute myocardial infarction. **Am Heart J**. n. 147, 999–1004, 2004.
- NAGHAVI, M. et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. **Circulation**. v.108, n.14, p.1664-1672, 2003.
- National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). **Anthropometry Procedures Manual**. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2007.
- National Institutes of Health. **The practical guide identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults**. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute and North American Association for the study of Obesity, 2000.
- NELSON, M. et al. Noninvasive measurement of central vascular pressures with arterial tonometry: clinical revival of the pulse pressure waveform? Mayo Clinic proceedings. v. 85, n.5, p. 460-472, 2010.
- NOGUCHI, K. et al. Effect of caffeine contained in a cup of coffee on microvascular function in healthy subjects. **J. Pharmacol. Sci**. v.127, p. 217-222, 2015.
- NÓBREGA, A. et al. Posicionamento oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte e da Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia: atividade física e saúde no idoso. **Rev Bras Med Esporte**. v.5, n. 6, 1999.
- O'KEEFE, J. et al. Life-style change for coronary artery disease. **Postgrad Med**. v.99, n. 2, p. 89 – 106, 1996.

O'KEEFE, J.; DINICOLANTONIO, J.; LAVIE, S. Coffee for Cardioprotection and Longevity. **Prog in Card Dis.**, 2018.

OLIVEIRA, G.; AVEZUM, A.; ROEVER, L. Cardiovascular disease burden: evolving knowledge of risk factors in myocardial infarction and stroke through population-based research and perspectives in global prevention. **Front Cardiovasc Med.** v.2, n.32, 2015.

OMS, Organização Mundial da Saúde. **Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN: Orientações básicas para a coleta, processamento, a análise de dados e a informação em serviços de saúde.** 1ª Ed. Brasília. DF, 2004.

OMS, Organização Mundial da Saúde. Resumo: **Relatório Mundial de Envelhecimento e Saúde.** Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2015.

PALMER, R.; FERRIGE, A.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature.** v. 327, p. 524-526, 1987.

PAPAMICHAEL, C. M., et al. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. **Clin Sci (Lond).** v.109, n.1, p.55-60, 2005.

PEREIRA, R.; KOIFMAN, S. Uso do questionário de Frequência na Avaliação do consumo alimentar progresso. **Rev Saude Publica.** v.33, n.6, p. 610-621, 1999.

PINTO, D.; RODRIGUES-MACHADO. Aplicabilidade dos marcadores de rigidez arterial na doença arterial periférica. **J. Vasc. Bras.** v, 18, 2019.

RIQUE, A.B., et. al. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev Bras Med Esporte.** v.8, p.244-254, 2002.

ROCHA, E. Pulse wave velocity: a marker of arterial stiffness and its applicability in clinical practice. **Rev Port Cardiol.** v.30, n. 9, p.699-702, 2011.

SAFAR, M. et al. Central pressure and mortality in end-stage renal disease. **Hypertension.** v. 39, p. 735-8.

SIASOS, G. et al. Consumption of a boiled Greek type of coffee is associated with improved endothelial function: The Icaria Study. **Vascular Medicine.** v.18, n.2, p.55-62, 2013.

SINGH, U.; JIALAL, I. Oxidative stress and atherosclerosis. **Pathophysiology.** v.13, p.129-142, 2006.

SUDANO, I. et al. Cardiovascular effects of coffee: is it a risk factor? **Prog Cardiovasc Nurs.** n. 20, p.65-69, 2005.

SBC, Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arq Bras de Cardio.** v. 109, n. 2, 2017.

- SIMÃO, M. et al. Doenças cardiovasculares: perfil de trabalhadores do sexo masculino de uma destilaria do interior paulista. **Rev eletrônica de enfermagem**. v. 4, n. 2, p. 27 – 35, 2002.
- SOUZA, A. et al. Alimentos mais consumidos no Brasil: Inquérito Nacional de Alimentação 2008-2009. **Rev Saúde Pública**. v.47, n.1, 2013.
- STORCH, A. et al. Methods of Endothelial Function Assessment: Description and Applications. **Int J of Card Scie**. v. 30, p.262-273, 2017.
- SUGIYAMA, K. et al. Coffee consumption and mortality due to all causes, cardiovascular disease, and cancer in Japanese women. **J Nutr**. v. 140, p. 1007-1013, 2010.
- TAKAMI, H. et al. Inverse correlation between coffee consumption and prevalence of metabolic syndrome: baseline survey of the Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort (J-MICC) Study in Tokushima, Japan. **J Epidemiol**. v.23, p. 12-20, 2013.
- TATSCH, E. et al. A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate. **Clin Biochemistry**, v. 44, n. 4, p. 348-350, 2011.
- TEIXEIRA, B. et al. Marcadores inflamatórios, função endotelial e riscos cardiovasculares. **J Vasc Bras**. v. 13, n.2, p. 108-115, 2014.
- THELLE, D. Coffee, caffeine and atrial fibrillation. **Eur J Prev Card**. 2018
- TSAO, P.S., et al. Interaction of diabetes and hypertension on determinants of endothelial adhesiveness. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v.18, p. 947-953 1998.
- VAN DAM, R.; HU, F. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. **JAMA**. v. 294, p.97-104, 2005
- VALKONEN, M.; KUUSI, T. Spectrophotometric assay for total peroxy radical-trapping antioxidant potential in human serum. **J Lipid Res**. v. 38. 823–833,1997.
- VITA, J.A; KEANEY, J.F. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? **Circulation**. v. 106, 2002.
- YAO, L.H., et al. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Foods Hum Nutr**. v.59, n.3, p. 113-122, 2004.
- WEBER, T. et al. Validation of a Brachial Cuff-Based Method for Estimating Central Systolic Blood Pressure. **Hypertension**. v.58, p.825-832.
- WHO, World Health Organization. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Report of the WHO Expert Committee. World Health Organ Tech Rep Ser. 1995.
- WIDMER, R. et al. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. **Am J Med**. v.3, n.128, p.229-238, 2015.

WITTE, D. et al. Is the Association Between Flow-Mediated Dilation and Cardiovascular Risk Limited to Low-Risk Populations? **JACC**. v.45, n.12, p. 1987-1993, 2005.

WOYWODT, A., et al. Circulating endothelial cells: life, death, detachment and repair of the endothelial cell layer. **Nephrol Dial Transplant**. v.17, p.1728-1730, 2002.

WHO, World Health Organization. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Report of the WHO Expert Committee. World Health Organ Tech Rep Ser, 1995.

WOYWODT, A., et al. Circulating endothelial cells: life, death, detachment and repair of the endothelial cell layer. **Nephrol Dial Transplant**. v.17, p.1728-1730, 2002.

ZHANG, D.J. et al. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. **Clinical Chemistry**. v.6, n.44, p.1325–1333, 1998.

VLACHOPOULOS, C.; O'ROURKE. Diastolic pressure, systolic pressure, or pulse pressure? *Current Hypertension Reports*. v.2, p.271-279, 2000.

VLACHOPOULOS. C, et. al. Pressure-altering agents affect central aortic pressure more than is apparent from upper limb measurements in hypertensive patients. The role of arterial wave reflections. *Hypertension*, v.38, 2001.