

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E
TOXICOLÓGICAS**

NÚBIA GABRIELA DE OLIVEIRA BRANDÃO

**ADIPONECTINA COMO MARCADOR SUBCLÍNICO NO PROCESSO DE
ATEROSCLEROSE: ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO
(ELSA - BRASIL)**

Belo Horizonte
2018

NÚBIA GABRIELA DE OLIVEIRA BRANDÃO

**ADIPONECTINA COMO MARCADOR SUBCLÍNICO NO PROCESSO DE
ATEROSCLEROSE: ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO
(ELSA - BRASIL)**

Dissertação apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau mestre em Análises Clínicas e Toxicológicas, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais

Orientadora: Profa. Dra. Ieda de Fátima Oliveira Silva – UFMG

Coorientadoras: Profa. Dra. Ana Paula Lucas Mota
Profa. Dra. Maria das Graças Carvalho

Belo Horizonte
2018

B817a Brandão, Núbia Gabriela de Oliveira.
Adiponectina como marcador subclínico no processo de aterosclerose: estudo longitudinal da saúde do adulto (ELSA - Brasil) / Núbia Gabriela de Oliveira Brandão. – 2018.
82 f. : il.

Orientadora: Ieda de Fátima Oliveira Silva.
Coorientadoras: Ana Paula Lucas Mota.
Maria das Graças Carvalho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

1. Estudo longitudinal – Teses. 2. Adiponectina – Teses. 3. Marcadores biológicos – Teses. 4. Aterosclerose – Teses. I. Silva, Ieda de Fátima Oliveira. II. Mota, Ana Paula Lucas. III. Carvalho, Maria das Graças. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. V. Título.

CDD: 616.136



FOLHA DE APROVAÇÃO

Adiponectina como marcador subclínico no processo de aterosclerose - Estudo Longitudinal de saúde do adulto (ELSA - Brasil)

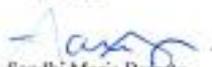
NÚBIA GABRIELA DE OLIVEIRA BRANDÃO

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, área de concentração ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS.

Aprovada em 01 de março de 2018, pela banca constituída pelos membros:


Profa. Teda de Fatima Oliveira Silva - Orientadora
UFMG


Profa. Maria das Graças Carvalho
UFMG


Profa. Sandhi Maria Barreto
UFMG


Profa. Ana Paula Lucas Moia
UFMG


Profa. Raquel Virginia Rocha Vilela
UFMG

Belo Horizonte, 1 de março de 2018.

Dedico o grau de Mestre

Aos meus pais, Iris da Silveira Brandão, e Lueli Maria de Oliveira Brandão,
meus irmãos Teddy Rafael, Thiago Guilherme, Emiliana Aparecida e meus
sobrinhos Milena e José.

Ao meu avô Nilson da Silveira Brandão *in memoriam* por ter sido grande
incentivador dos estudos entre os seus.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelas bênçãos de sempre e por essa conquista.

À Profa. Ieda de Fátima Oliveira Silva pela oportunidade de aprendizado e ensinamentos que foram fundamentais para a execução do trabalho.

À Profa. Maria das Graças Carvalho pela competência, dedicação, confiança, carinho e pelo exemplo a ser seguido.

À Profa Ana Paula Lucas Mota pela atenção, sugestões e competência.

À Profa Edna Reis, pela realização da análise estatística com competência profissional.

À Coordenadora do ELSA - Minas Gerais, Dra. Sandhi Maria Barreto e ao Vice - Coordenador Dr. Antônio Luiz Pinho Ribeiro pela concessão das amostras biológicas e sugestões pertinentes na condução do trabalho.

À Dra. Luana Giatti pelo auxílio na construção do banco de dados com precisão e compromisso; e à toda a equipe do Centro de Investigação do ELSA - Minas Gerais.

Às bolsistas de Iniciação Científica Maira Cândida Rodrigues de Souza e Pâmela Santos Azevedo e à colega da pós-graduação Aline da Paz Fernandes pelo auxílio nos trabalhos experimentais.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG pela atenção e cortesia.

Aos participantes do ELSA - Brasil pela contribuição para concretização do estudo.

Obrigada à todos pela colaboração.

Apoio Financeiro

- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG
- CASU/UFMG – ELSA – BRASIL

RESUMO

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA - Brasil) é um estudo de coorte, multicêntrico e multidisciplinar, que tem por objetivo investigar a incidência e os fatores de risco para doenças crônicas, incluindo as cardiovasculares, diabetes e obesidade. Sabe-se que a adiponectina tem um efeito protetor contra a aterosclerose, apresentando propriedades anti-aterogênicas e anti-inflamatórias, além de modular a resposta inflamatória endotelial e funções da parede vascular. Diante do exposto, espera-se que a determinação dos níveis de adiponectina possa ter alguma importância para avaliar fatores subclínicos no contexto de doenças crônico-degenerativas. Dessa forma, foi determinado neste estudo os níveis séricos de adiponectina em 529 participantes do ELSA - BRASIL, CI-MG. Tendo sido investigada sua associação com dados sociodemográficos e clínicos, e com parâmetros de função endotelial, avaliados pela Tonometria Arterial Periférica (BPA e PAT *ratio*). Tais dados foram extraídos do Banco de Dados do ELSA - Brasil, CI-MG, e os níveis séricos de adiponectina foram determinados por ELISA. Concentrações séricas reduzidas de adiponectina foram observadas nos participantes do sexo masculino, com menor faixa etária (35 a 44 anos), pretos, com menor grau de instrução e renda, obesos, dislipidêmicos e naqueles que consumiam etanol em excesso. Níveis reduzidos de adiponectina foram também observados nos participantes do estudo com HDLc < 40 mg/dL em relação àqueles com HDLc ≥ 40 mg/dL; com TG ≥ 150 mg/dL em relação àqueles com TG < 150 mg/dL. Níveis diminuídos de adiponectina se mostraram inversamente relacionados aos valores de BPA e diretamente aos valores de PAT *ratio*. No Modelo de regressão logística multivariado, as variáveis sexo masculino, uso de estatina, insulina e HDLc apresentaram uma associação significativa com níveis reduzidos de adiponectina. Uma análise conjunta dos dados permitiu concluir que os níveis de adiponectina variaram em função das características sociodemográficas e clínicas dos participantes do estudo; e que houve associação entre níveis reduzidos de adiponectina e fatores de risco predisponentes à síndrome metabólica, diabetes e dislipidemia.

Palavras chaves: ELSA - Brasil, adiponectina, EndoPAT.

ABSTRAT

The Longitudinal Study of Adult Health (ELSA - Brazil) is a multi-center, multidisciplinary cohort study aimed at investigating the incidence and risk factors for chronic diseases, including cardiovascular diseases, diabetes and obesity. It is known that adiponectin has a protective effect against atherosclerosis, presenting anti-atherogenic and anti-inflammatory properties, as well as modulating endothelial inflammatory response and vascular wall functions. So it is expected that the determination of adiponectin levels may have some importance in assessing subclinical factors in the context of chronic-degenerative diseases. Thus, serum adiponectin levels were determined in 529 participants from the ELSA - BRASIL, CI-MG. Associations among adiponectin levels, and sociodemographic and clinical data besides parameters of endothelial function, assessed by Peripheral Arterial Tonometry (BPA and PAT ratio), were investigated. These data were extracted from the ELSA - Brazil database, CI-MG, and serum levels of adiponectin were determined by ELISA. Reduced serum concentrations of adiponectin were observed in males, in a lower age group (35 to 44 years), blacks, in lower education and income, obese and dyslipidemic individuals, and those who consumed excess ethanol. Reduced levels of adiponectin were also observed in participants with HDLc <40 mg / dL compared to those with HDLc \geq 40 mg / dL; with TG \geq 150 mg / dL in relation to those with TG <150 mg / dL. Decreased levels of adiponectin were inversely related to BPA values and directly to the PAT ratio. In the multivariate logistic regression model, the variables male sex, statin use, insulin and HDLc showed a significant association with reduced levels of adiponectin. An analysis of the data as a whole allowed us to conclude that adiponectin levels varied according to the sociodemographic and clinical characteristics of the study participants; and that there was an association between reduced levels of adiponectin and risk factors predisposing to the metabolic syndrome, diabetes and dyslipidemia.

Keywords: ELSA – Brazil, adiponectin, EndoPAT

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
<	Menor que
>	Maior que
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
μL	Microlitros
ω-3	ômega 3
AMP-c	Adenosina monofosfato cíclica
apM1	<i>Adipose most abundant gene transcript 1</i>
BPA	Amplitude de pulso basal
CASU	Caixa de assistência à saúde da Universidade/UFMG
CI – MG	Centro de Investigação de Minas Gerais
CIS-R	Programa de Entrevistas Clínicas – Revisado
COEP	Comitê de ética em pesquisa
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
DE	Disfunção endotelial
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECG	Eletrocardiograma
ELSA Brasil	Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto - Brasil
FAPEMIG	Fundação de amparo ao ensino e à pesquisa no Estado de Minas Gerais
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
GLUT4	Transportador de glicose tipo 4
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1c	Hemoglobina glicada (A _{1-c})
HDLc	Colesterol presente na Lipoproteína de alta densidade
IHR	Índice de hiperemia reativa
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corpórea
IPAQ	Questionário internacional de atividade física

LDLc	Colesterol presente na Lipoproteína de baixa densidade
LDL-ox	LDL oxidado
Mg	Miligramas
OMS	Organização Mundial da Saúde
ON	Óxido nítrico
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio do tipo 1
PAT <i>ratio</i>	Razão da tonometria arterial periférica
PAT	Tonometria arterial periférica
PPAR α	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma alfa
PPAR γ	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
RH-PAT	<i>Reactive hyperemia peripheral arterial tonometry</i>
SNP	Polimorfismos de nucleotídeo único
TCLE	Termo de consentimento livre esclarecido
TG	Triglicerídeos
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
USP	Universidade de São Paulo
VCAM-1	Moléculas de adesão celular vascular – 1
WOH	<i>World Organization Health</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características sociodemográficas dos participantes do estudo e níveis séricos de adiponectina

Tabela 2. Fatores de risco cardiovasculares, medicamentos e níveis séricos de adiponectina dos participantes do estudo

Tabela 3. Níveis séricos de adiponectina e parâmetros laboratoriais dos participantes do estudo

Tabela 4. Níveis séricos de adiponectina e parâmetros do perfil lipídico dos participantes do estudo

Tabela 5. Valores de BPA e PAT *ratio* dos participantes do estudo

Tabela 6. Valores de BPA e PAT *ratio* e níveis séricos de adiponectina dos participantes do estudo

Tabela 7. Níveis séricos de adiponectina para os grupos estratificados de acordo com os parâmetros indicadores de função endotelial BPA e PAT *ratio* dos participantes do estudo

Tabela 8. Comparação dos valores de adiponectina entre os grupos estratificados de acordo com os indicadores de função endotelial, BPA e PAT *ratio* dos participantes do estudo

Tabela 9. Características dos participantes de acordo com níveis séricos de adiponectina diminuídos (≤ 2.344 ng/mL) dos participantes do estudo

Tabela 10. Níveis séricos de adiponectina diminuídos dos participantes do estudo segundo os fatores de risco cardiovasculares e outros

Tabela 11. Níveis séricos de adiponectina diminuídos dos participantes do estudo segundo idade e parâmetros laboratoriais, expressos em mediana

Tabela 12. Níveis séricos de adiponectina reduzidos dos participantes do estudo segundo os parâmetros BPA e PAT *ratio* expressos em mediana

Tabela 13. Modelo de regressão logística multivariado: níveis diminuídos de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL) *versus* características dos participantes do estudo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto - ELSA - Brasil	18
2.2 Aterosclerose, aterotrombose e fatores de risco	20
2.3 Obesidade e sua importância clínica	22
2.4 Tecido adiposo e adiponectina	23
2.5 Disfunção endotelial vascular e tonometria arterial periférica	26
3 OBJETIVO GERAL	28
3.1 Objetivos específicos	28
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	29
4.1 Aspectos éticos	29
4.2 Casuística	29
4.3 Protocolo de estudo	30
4.4 Amostra biológica para estudo laboratorial	31
4.5 Métodos	32
4.5.1 Determinação dos níveis de adiponectina	32
4.5.2 Determinação dos demais parâmetros bioquímicos	32
4.5.3 Avaliação da função endotelial	33
4.5.4 Análises estatísticas	34
5 RESULTADOS	35
5.1 Características dos participantes do estudo e níveis de adiponectina	35
5.2 Níveis séricos de adiponectina e outros parâmetros laboratoriais de interesse ..	40
5.3 Níveis séricos de adiponectina e perfil lipídico	40
5.4 Níveis séricos de adiponectina e parâmetros da tonometria arterial periférica ...	41
5.5 Combinação das variáveis BPA e PAT ratio, e comparação com níveis séricos de adiponectina	42
5.6 Comparação dos níveis séricos de adiponectina diminuídos com características dos participantes	45
5.7 Análise de regressão logística multivariada: níveis diminuídos de adiponectina (\leq 2.344 ng/mL) versus características dos participantes do estudo	50
6 DISCUSSÃO	52
6.1 Características sociodemográficas, fatores de risco cardiovascular, uso de medicamentos e níveis séricos de adiponectina	52

6.2 Parâmetros da tonometria arterial periférica e níveis séricos de adiponectina ...	60
6.3 Análise de regressão logística multivariada: níveis diminuídos de adiponectina (\leq 2.344 ng/mL) versus características dos participantes do estudo.....	62
7 CONCLUSÕES	64
8 REFERÊNCIAS.....	65
9 ANEXOS	74
ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	74
ANEXO B - QUESTIONÁRIOS DA LINHA DE BASE DO ELSA – Brasil.....	77
ANEXO C - EXAMES E MEDIDAS REALIZADAS NA LINHA DE BASE DO ELSA – Brasil.....	79
ANEXO D - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	81

1 INTRODUÇÃO

O estudo pioneiro ELSA - Brasil consiste em uma grande coorte sobre a saúde do adulto em nosso país, cujo objetivo é investigar a incidência e os fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis, incluindo as cardiovasculares, o diabetes e a demência (AQUINO *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2014). Tais doenças estão relacionadas ao processo aterotrombótico e tem como fatores de risco mais conhecidos dislipidemia, tabagismo, obesidade, inatividade física, diabetes, hipertensão, disfunção endotelial e manifestação precoce da doença vascular (FLAMMER *et al.*, 2012) entre outros. Tais fatores podem provocar alterações no modo como o endotélio interage com os componentes celulares da corrente sanguínea e da parede vascular alterando suas funções como coagulação, tônus vascular, migração de células musculares lisas e função de plaquetas e leucócitos (LIBBY *et al.*, 2002; WIDLANSKY *et al.*, 2003).

A obesidade é um importante fator de risco para aterosclerose devido ao importante papel do tecido adiposo no processo aterosclerótico (MODAN, *et al.*, 1986). O tecido adiposo produz várias citocinas tais como leptina, resistina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e adiponectina. Estudos têm reportado que a adiponectina apresenta um efeito protetor contra a aterosclerose, uma vez que a mesma tem propriedades anti-aterogênicas e antiinflamatórias, modulando a resposta inflamatória endotelial, (ARITA *et al.* 1983; OUCHI *et al.*, 2000; VON FRANKENBERG & GERCHERCHMAN, 2017). No endotélio, age também estimulando a óxido nítrico sintase, aumentando a produção de óxido nítrico (ON), um importante vasodilatador.

Sabe-se que níveis reduzidos de adiponectina estão associados com a diminuição da sensibilidade insulínica (ZOCCALI *et al.*, 2002) e a um maior risco de desenvolvimento de doença cardiovascular (WEYER *et al.*, 2001). Também tem sido reportado que a função endotelial encontra-se prejudicada em situações em que há resistência à insulina e que a perda de peso está relacionada à reversão da disfunção endotelial (DE), especialmente em indivíduos hiperinsulinêmicos (BIGORNIA *et al.*, 2013).

A DE resulta da injúria na parede do vaso tendo como possíveis causas a presença dos fatores de risco como níveis séricos de LDLc elevados, tabagismo, diabetes mellitus, hipertensão arterial, fatores genéticos, e inflamação. Como consequência, ocorre uma resposta compensatória que altera as propriedades homeostáticas do endotélio, aumentando a adesão de leucócitos e plaquetas, aumento da permeabilidade do endotélio, e sobreposição dos fatores pró-coagulantes sobre os fatores anticoagulantes. Se a injúria persiste a resposta inflamatória não se resolve.

A DE pode ser avaliada pelo método da tonometria arterial periférica (PAT), sendo a amplitude de pulso basal (BPA) e PAT *ratio*, exemplos de parâmetros medidos pelo PAT. O BPA mede o tônus vascular basal. O PAT *ratio* é uma razão entre a hiperemia reativa dependente do óxido nítrico pela amplitude de pulso basal média.

Nesse contexto e, em consonância com os objetivos do ELSA - Brasil e Edital CASU/UFMG/2015), torna-se pertinente envidar esforços para avaliar os níveis séricos de adiponectina como biomarcador subclínico do processo aterosclerótico em participantes do ELSA - Brasil do Centro de Investigação de Minas Gerais (CI - MG).

Em suma, o presente estudo avaliou a associação entre variáveis sociodemográficas, clínicas e laboratoriais, além de medidas de função endotelial microvascular (BPA e PAT *ratio*) de 529 participantes do CI - MG do ELSA - Brasil, e níveis séricos de adiponectina.

O presente estudo se justificou pela necessidade de expandir o conhecimento relacionado à saúde dos participantes do Projeto ELSA - Brasil, particularmente de um subgrupo do CI - MG do ELSA - Brasil que tiveram a função endotelial avaliada na linha de base do estudo. Pretende-se contribuir para o estudo de novos marcadores subclínicos que possam melhorar o prognóstico, diagnóstico e intervenções terapêuticas precoces, evitando desfechos desfavoráveis.

Cumpra-se ainda, ressaltar que o desenvolvimento do presente estudo teve como motivação a aprovação de projeto com foco no tema “Marcadores laboratoriais subclínicos de doenças crônicas não transmissíveis”, valendo-se das amostras de sangue dos participantes da linha de base do CI - MG do ELSA - Brasil.

Acredita-se que o presente estudo possa contribuir para a melhoria das condições de saúde da população, bem como no avanço do conhecimento científico, tecnológico e de inovação.

Dentro do exposto acima, nós hipotetizamos que níveis reduzidos de adiponectina correlacionam com a presença de fatores predisponentes à aterosclerose.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto – ELSA - Brasil

O ELSA - Brasil é um estudo de coorte multicêntrico realizado fora do eixo dos países desenvolvidos e envolve no Brasil um consórcio composto por seis instituições brasileiras de ensino e pesquisa a saber: a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Universidade de São Paulo (USP) (BRASIL, 2009).

Esse estudo epidemiológico incluiu 15.105 servidores dos seis Centros de Investigação (CI) com idade entre 35 e 74 anos em sua linha de base. Somente o CI - MG foi responsável pela inclusão de 3.115 participantes na coorte. A linha de base realizada de 2008 a 2010, chamada de primeira onda, compreendeu em sua primeira fase entrevista inicial no local de trabalho do participante, obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A), aplicação de questionários e realização de exames. A segunda onda foi realizada entre 2012 e 2014, e incluiu entrevistas e exames adicionais, em clínica de estudo (AQUINO *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2015).

Os parâmetros sociodemográficos e condições clínicas levantados nos questionários encontram-se descritas no ANEXO B e, os tipos de medidas tomadas e exames realizados encontram-se descritas no ANEXO C.

Para entendimento das particularidades sociodemográficas brasileiras de saúde foram incluídos no questionário temas como: mobilidade social, condições socioeconômicas adversas ao longo do curso de vida, experiência de discriminação, estresse no trabalho, gênero e contexto familiar, bem como registro de endereços atuais e anteriores e dados de vizinhança que permitem a codificação geográfica (AQUINO *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2015).

Os seguintes procedimentos foram realizados para o levantamento sociodemográfico e para as condições clínicas, na primeira onda do estudo: aplicação de questionários para obtenção de informações contextuais e individuais na determinação social, comportamento relacionado à saúde, condições crônicas auto relatadas, avaliações de desordens mentais comuns, saúde reprodutiva e função cognitiva, medidas antropométricas, medida de pressão arterial (repouso e pós-postural), tornozelo braquial e velocidade da onda de pulso, realização de eletrocardiograma (ECG), fotografia da retina, realização de ultrassom (carótida, fígado, gordura abdominal, eco cardiograma), realização de teste de tolerância oral à glicose (teste de desafio de refeição em diabetes), análises bioquímicas e hematológicas no sangue, coleta de urina durante o período noturno (12h), armazenamento de DNA, plasma, soro, urina em nitrogênio líquido, e codificação geográfica (SCHMIDT *et al.*, 2015).

As medidas tomadas e exames realizados na segunda onda compreenderam: aplicação de questionários com levantamento de dados sobre posição socioeconômica, classe social, estado de saúde auto relatada, mudança na situação ocupacional, avaliação do estresse no trabalho, comportamento relacionado à saúde como tabagismo, consumo de etanol, atividade física, mudança na dieta desde a linha de base, características da vizinhança como lazer, esporte, construções do ambiente, acesso a gêneros alimentícios, função cognitiva nos indivíduos com mais de 55 anos de idade, saúde mental, situação conjugal e contexto familiar, saúde reprodutiva, uso de medicação, histórico de peso corporal (Escala de *Stunkard*), rede social, escala de satisfação com a vida, sono (padrão, insônia, apnéia), medidas antropométricas como peso, altura, circunferência cintura/quadril, espectrometria de bioimpedância, pressão sanguínea, força no aperto de mão, teste de sensibilidade ao monofilamento em participantes com diabetes, ECG, teste de tolerância oral à glicose, análises bioquímicas e hematológicas no sangue em jejum ou pós-carga e urina noturna (12h), com estoque de plasma, soro e urina em nitrogênio líquido (SCHMIDT *et al.*, 2015).

Os participantes são acompanhados anualmente por meio de ligações telefônicas desde 2009, para registros do estado geral de saúde conforme auto relato, incluindo novos diagnósticos, hospitalizações, diálises, revascularização e biópsia para câncer. Os óbitos ocorridos são também verificados por meio de relacionamento com a base de dados do Sistema Nacional de Mortalidade. A terceira onda teve início no ano de 2016 e término previsto para o presente ano de 2018. A quarta onda ocorrerá entre os anos de 2020 e 2022, quando será possível avaliar os desfechos listados abaixo (AQUINO *et al.*, 2012; SCHMIDT *et al.*, 2015).

Os seguintes desfechos estão sendo investigados no ELSA - Brasil: infarto agudo do miocárdio; angina de peito; revascularização cardíaca; morte súbita; insuficiência cardíaca; doença arterial periférica; tabagismo; hipertensão; diabetes e complicações como amputações e hospitalizações por cetoacidose, hiperosmolaridade e hipocalemia; doença renal crônica, trombose venosa; embolia pulmonar e cânceres comuns; além de acompanhamento de alterações do peso corpóreo, níveis de lipídeos, taxa de albumina/creatinina urinária e outros biomarcadores, desempenho em testes de função cognitiva e ocorrência de desordens mentais comuns (SCHMIDT *et al.*, 2015).

A expectativa é que esse estudo de coorte contribua na identificação de fatores poucos explorados na epidemiologia cardiovascular e do diabetes (BRASIL, 2009), uma vez que as investigações de fatores sociais, como história de vida e de natureza ocupacional no contexto social e étnico heterogêneo brasileiro permitirão testes de novos modelos causais explicativos para diabetes, doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas (SCHMIDT *et al.*, 2015).

2.2 Aterosclerose, aterotrombose e fatores de risco

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica que acomete principalmente a camada íntima das artérias de médio e grande calibre em resposta à agressão endotelial (XAVIER *et al.*, 2014).

Os fatores de risco como dislipidemia, hipertensão arterial ou tabagismo propiciam agressão ao endotélio. Como consequência, ocorre disfunção endotelial que favorece o aumento da permeabilidade da íntima às lipoproteínas plasmáticas (ROSS *et al.*, 1999). No espaço subendotelial, a lipoproteína de baixa densidade (LDL) sofre oxidação e expõe novos epitopos, os quais se tornam imunogênicos. A LDL oxidada (LDL-ox) estimula ainda o surgimento de moléculas de adesão na superfície do endotélio que atraem monócitos e linfócitos (JORGE *et al.*, 1997). Os linfócitos são atraídos por quimiotaxia para o espaço subendotelial, se transformam em macrófagos, que por sua vez, fagocitam as partículas de LDL-ox. Os macrófagos repletos de lipídios são chamados de macrófagos espumosos. Os macrófagos ativados são responsáveis em parte pela progressão da aterosclerose por meio da secreção de citocinas que amplificam a inflamação, e de enzimas proteolíticas capazes de degradar colágeno e componente do tecido local (ROSS *et al.*, 1999).

As placas ateroscleróticas são ricas em lipídeos e podem alterar as funções do endotélio vascular, tais como a coagulação, a migração de células musculares lisas, a função das plaquetas e leucócitos, e ainda o tônus vascular. Podem ainda, exibir fenômeno trombótico, o qual se define por aterotrombose. A doença arterial coronariana (DAC) ocorre quando da manifestação dessas irregularidades do lúmen dos vasos ou estenoses segmentares nas artérias coronárias (SILVA *et al.*, 2013).

Na disfunção endotelial ocorre uma perda da resposta vasodilatadora pela falta da liberação de óxido nítrico, típica do exercício físico ou induzida por substâncias vasoativas, como acetilcolina. Esta resposta inadequada é denominada disfunção endotelial, cujas manifestações clínicas antecedem o dano estrutural das artérias (LIBBY *et al.*, 2002; WIDLANSKY *et al.*, 2003; MOTA *et al.*, 2017).

A obesidade é a uma condição clínica resultante não somente do fator genético, mas em grande parte do estilo de vida e inclui qualidade e quantidade da alimentação e da atividade física. Esse estilo de vida não saudável contribui para na exposição aos fatores de risco para a aterosclerose, como por

exemplo, dislipidemia e hipertensão arterial (ARCARO *et al.*, 1999; DORES *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

2.3 Obesidade e sua importância clínica

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo aumento de massa gordurosa e de etiologia multicausal. Foi estimado por meio do Estudo de Prevalência de Doenças no Mundo em 2,1 bilhões o número de adultos obesos com medida de índice de massa corporal (IMC) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ou sobrepeso (IMC $\geq 25 \text{ kg/m}^2$) (FLEMING *et al.*, 2013).

O sobrepeso é considerado fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como as cardiovasculares, diabetes mellitus do tipo 2 e diversos tipos de câncer. Embora observado em estudos epidemiológicos e clínicos que as taxas de mortalidade e de distúrbios metabólicos não aumentam na medida do ganho de massa gordurosa, a obesidade é um fator independente para uma maior mortalidade nas formas moderadas e graves. Soma-se ainda, o impacto negativo na qualidade de vida dos indivíduos (HUBERT *et al.*, 1983).

O Brasil passa por transição demográfica/epidemiológica e nutricional iniciada há três décadas, que têm contribuído para o aumento da prevalência da obesidade, sendo que aproximadamente 70% da população se encontra obesa. Dados do estudo Vigitel, 2014 mostram ainda que apenas 39,9% de residentes adultos das 27 capitais são fisicamente ativos. Já o estudo transversal ELSA - Brasil mostrou que a prevalência de obesos e de sobrepesos encontra-se em 62,5% e, apenas 24,4% dos participantes são fisicamente ativos de acordo com os critérios da OMS (DINIZ *et al.*, 2016). Além disso, observa-se rápido aumento da obesidade em crianças e adolescentes (BRASIL, 2014).

Nem todos os obesos apresentam risco semelhante de morbimortalidade. Contudo, há uma relação entre maior risco de morbi-mortalidade e alterações

metabólicas. Estudos prévios sugerem que a presença da resistência insulínica está implicada neste processo (HUBERT *et al.*, 1983; GIL *et al.*, 2004), uma vez que a perda de peso está relacionada à reversão da disfunção endotelial (DE) em indivíduos hiperinsulinêmicos (BIGORNIA *et al.*, 2013).

A adiponectina é uma molécula candidata à explicar a relação entre obesidade e resistência insulínica, pois é conhecido que a hipoadiponectinemia está associada com a diminuição da sensibilidade insulínica (ZOCCALI *et al.*, 2002) e a um maior risco de desenvolvimento de doença cardiovascular (WEYER *et al.*, 2001).

2.4 Tecido adiposo e adiponectina

Dois tipos de tecido adiposo são encontrados em mamíferos; o marrom e o branco, e cada um deles com diferentes papéis fisiológicos. O tecido adiposo marrom tem funções especializadas em termogênese por meio da oxidação de ácidos gordurosos por ação da termogenina. O tecido adiposo branco tem por função o armazenamento de energia na forma de triglicerídeos (TG). Em situações de *déficit* de energia, como no jejum, este tecido fornece ácidos graxos para a circulação (TIRABY *et al.*, 2003).

Dessa forma, atualmente o tecido adiposo pode ser considerado como um órgão endócrino que está envolvido na homeostase energética e no próprio controle do peso corporal. O tecido adiposo desempenha ainda, um papel fundamental na secreção de moléculas bioativas chamadas adipocinas (ROBINSON *et al.*, 2008; GALIC *et al.*, 2010). São exemplos, a leptina, resistina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), Interleucina-6 (IL-6) e adiponectina. A adiponectina é uma das proteínas mais abundantemente produzidas pelo tecido adiposo (MAEDA *et al.*, 2012) e está presente em grandes quantidades na corrente sanguínea, com expressão em receptores das células dos músculos esqueléticos, e dos cardiomiócitos (KUMADA *et al.*, 2003; DELAIGLE *et al.*, 2004).

A adiponectina é uma proteína de 30 kDa presente na circulação como um dímero, trímero, como um complexo protéico de hexâmeros de alto peso molecular (HMW), > 400 kDa, e em fragmentos globulares, além de hexâmeros de baixo peso molecular (LMW), de até 180 kDa. As concentrações fisiológicas representam cerca de 0,05% de todas as proteínas plasmáticas (FISMAN & TENENBAUM *et al.*, 2014).

Quando a adiponectina liga-se ao seu receptor, a adenosina monofosfato (AMP) quinase é ativada promovendo absorção de glicose pelos músculos através da translocação intracelular dos transportadores de glicose tipo 4 (GLUT4). Simultaneamente, a gluconeogênese é inibida pela ação da enzima hepática fosfoenolpiruvato carboxilase, e ainda ocorre inibição da síntese de ácidos graxos e estímulo da sua oxidação. Além disso, a adiponectina atua como um agonista dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ) promovendo absorção adicional de glicose plasmática (FISMAN & TENENBAUM *et al.*, 2014).

Na patologia da obesidade a função endotelial do tecido adiposo pode estar prejudicada. Desta forma, os adipócitos se tornam inaptos para a produção constante de adiponectina, o que explica a reduzida concentração de adiponectina em indivíduos obesos. Por outro lado, a hipoadiponectinemia por sua vez se associa diretamente à menor sensibilidade à insulina e à aterosclerose (ARITA *et al.*, 1999). Destaca-se ainda, que os depósitos de gordura visceral são mais metabolicamente ativos do que a gordura subcutânea, e que participam no desenvolvimento de doenças relacionadas à obesidade, tais como síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e doença arterial coronariana (FISMAN & TENENBAUM *et al.*, 2014). Isso pode explicar a variabilidade individual na concentração sérica de adiponectina independentemente da massa corporal.

Os mecanismos pelos quais os níveis plasmáticos de adiponectina em indivíduos obesos estão diminuídos ainda não estão bem esclarecidos (ARITA *et al.*, 1999). Contudo, atribui-se essa redução dos níveis de adiponectina,

parcialmente, à redução de expressão do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) para *Adipose most abundant gene transcript 1* (apM1).

Alguns hormônios como insulina, glicocorticoides e outros fatores como a adenosina monofosfato cíclica (AMP-c), ionomicina, e TNF- α têm se mostrado como moduladores da expressão da adiponectina. Isso sugere que o PPAR γ está fortemente relacionado à expressão de adiponectina e, ou secreção. Isso explica os níveis baixos ou indetectáveis de concentrações plasmáticas de adiponectina em uma rara mutação negativa dominante no gene do receptor PPAR γ . Entretanto, o mecanismo preciso que determina a variação interindividual de secreção de adiponectina relacionada à gordura corporal permanece por ser elucidada (COMBS *et al.*, 2002).

Assim como outras proteínas derivadas de adipócitos, a adiponectina circulante parece modular funções da parede vascular. A adiponectina desempenha, portanto, um papel importante no desenvolvimento de distúrbios metabólicos. Ações benéficas da adiponectina sobre o metabolismo lipídico, estrutura e função vascular têm sido demonstradas. De fato, as concentrações plasmáticas de adiponectina correlacionam-se negativamente com as concentrações de TG, ácidos graxos livres e glicose; e positivamente com o colesterol presente na lipoproteína de alta densidade (HDLc), (YAMAUCHI *et al.*, 2001; 2002; TSCHRITTE *et al.*, 2003).

A adiponectina apresenta ainda, um efeito protetor contra a aterosclerose, uma vez que a mesma tem propriedades antiaterogênicas e antiinflamatórias, modulando a resposta inflamatória endotelial (ARITA *et al.*, 1983; OUCHI *et al.*, 2000). No endotélio, age também estimulando a óxido nítrico sintase, aumentando a produção de óxido nítrico (ON) importante vasodilatador (XU *et al.*, 2011; VAIAPOULOS *et al.*, 2012).

2.5 Disfunção endotelial vascular e tonometria arterial periférica

O endotélio é uma monocamada celular que reveste o interior dos vasos sanguíneos e desempenha função protetora entre os outros tecidos e componentes celulares da corrente sanguínea (VERMA *et al.*, 2003; LE BROCCQ *et al.*, 2008). Estabelece dessa forma, a homeostase celular pela regulação de sinais intracelulares, permeabilidade, tônus vascular, cascata da coagulação, angiogênese e liberação de substâncias frente a estímulos (FURCHGOTT *et al.*, 1980; SHWEIKI *et al.*, 1992).

A função endotelial é um marcador da saúde dos vasos. Quando o endotélio encontra-se com alterações funcionais, há maior tendência à vasoconstrição, trombogenicidade, inflamação, proliferação celular anormal que evolui para um quadro de disfunção endotelial, enrijecimento da parede vascular e formação da placa aterosclerótica, manifestando-se clinicamente pelas doenças cardiovasculares, como o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular cerebral (WIDLANSKY *et al.*, 2003).

Como método de avaliação clínica, parte-se do princípio de que o aumento do fluxo na microcirculação digital dependente de óxido nítrico pode ser medida pela tonometria arterial periférica, traduzindo-se dessa forma em um indicador da função endotelial (NOHRIA *et al.*, 2006; HAMBURG & BENJAMIN 2009).

O exame de tonometria arterial periférica - hiperemia reativa (RH-PAT *reactive hyperemia- peripheral arterial tonometry*) é uma técnica não invasiva utilizada para medir a função endotelial nos microvasos digitais. Esse exame avalia a capacidade da microcirculação de dilatar-se em resposta à liberação do fluxo sanguíneo após um período de isquemia. Valores mais baixos de índice de hiperemia reativa (IHR) relacionam-se com resposta vasodilatadora endotelial comprometida (BRANT *et al.*, 2011; VANDACK *et al.*, 2016).

Estudos relatam que o valor RH-PAT está relacionado à disfunção endotelial nas artérias coronárias (BONETTI *et al.*, 2004; MATSUZAWA *et al.*, 2010) e aos fatores de risco cardiovascular, incluindo IMC, colesterol total, diabetes e

tabagismo (HAMBURG *et al.*, 2008; SCHANABEL RB *et al.*, 2011). Tem sido reportado também que o valor RH-PAT pode prever eventos cardiovasculares (RUBINSTEIN *et al.*, 2010; MATSUZAWA *et al.*, 2013).

No CI - MG do ELSA - Brasil, a função endotelial microvascular foi avaliada em participantes da linha de base pelo método da tonometria arterial periférica (PAT), incluindo os parâmetros de amplitude média do pulso basal (BPA), que reflete o tônus e o fluxo arterial basal e também está correlacionado com risco cardiovascular; e razão da tonometria arterial periférica (PAT *ratio*), o qual é capaz de refletir a variabilidade da hiperemia reativa provocada por fatores de risco cardiovascular.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo é avaliar os níveis da adiponectina sérica entre os participantes da linha de base do CI – MG do ELSA - Brasil e sua relação com as características sociodemográficas, clínicas e, ainda com os indicadores de avaliação de função endotelial, BPA e PAT *ratio*.

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar os níveis séricos de adiponectina como biomarcador subclínico em sub-amostra de indivíduos adultos residentes em Minas Gerais participantes da coorte ELSA - Brasil que realizaram medida de função endotelial.

3.1 Objetivos específicos:

- Correlacionar níveis séricos de adiponectina com dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais dos participantes do ELSA - Brasil;

- Correlacionar níveis séricos de adiponectina com as medidas de função endotelial microvascular (BPA e PAT *ratio*).

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O presente estudo faz parte do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto – ELSA - Brasil, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número de registro ETIC 186/06 (ANEXO D). Para participar do ELSA - Brasil, cada indivíduo leu e assinou o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO A), antes de iniciar qualquer procedimento. Por ser um estudo multicêntrico, com participação de vários centros de investigação no país, o protocolo de pesquisa do ELSA - Brasil foi aprovado também pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa e pelo comitê de ética de cada instituição. Além do consentimento informado usual, os participantes também concordaram com o armazenamento de amostras biológicas visando futuras análises laboratoriais de interesse (AQUINO *et al.*, 2012).

4.2 Casuística

Na linha de base do ELSA - Brasil realizada entre 2008 e 2010 (1ª onda), foram coletados dados de 15.105 voluntários adultos, funcionários públicos civis ativos e aposentados, de ambos os sexos, com faixa etária de 35 a 74 anos, somando-se todos os Centros de Investigação (Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal do Espírito Santo, Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade de São Paulo e FIOCRUZ - Rio de Janeiro). Para a coleta de dados, os participantes foram submetidos a entrevistas detalhadas, exames clínicos, laboratoriais e antropométricos (AQUINO *et al.*, 2012). A segunda avaliação dos participantes (2ª onda) ocorreu entre 2012 e 2014 e o acompanhamento telefônico anual ocorre desde 2009. Não foram incluídos na coorte participantes grávidas ou com diagnóstico de doença com prognóstico de sobrevida inferior a cinco anos;

com dificuldade cognitiva para a entrevista; com afastamento prolongado por doença ou aqueles que manifestaram interesse em mudança de emprego nos dois anos seguintes (AQUINO *et al.*, 2012).

O CI - MG, anexo do Hospital das Clínicas da UFMG, responsável pela inclusão de 3.115 participantes na coorte ELSA - Brasil, incluiu a avaliação da função endotelial no elenco de exames da linha de base em 1.535 participantes pelo método PAT (BRANT *et al.*, 2014). Desse total, sub-amostra de soro de 529 participantes que realizaram 02 exames do PAT, acondicionadas em freezer a -80°C no CI - MG, foram utilizadas para a determinação dos níveis séricos de adiponectina realizadas no presente estudo.

4.3 Protocolo de estudo

Visando determinar fatores bioquímicos, genéticos e outros, em suas várias ondas de estudo, o protocolo do ELSA - Brasil incluiu a coleta de amostras de sangue dos participantes após jejum noturno de 12 horas. As amostras de sangue, após coleta e processamento adequados para obtenção do plasma, soro ou sangue total foram distribuídas em numerosas alíquotas e devidamente acondicionadas em nitrogênio líquido e em freezer a -80°C. Todas as análises comuns de toda a coorte são realizadas na Universidade de São Paulo (USP). Além das amostras de plasma e soro, o protocolo do estudo também incluiu a extração de DNA a partir de sangue total para estudos futuros (AQUINO *et al.*, 2012).

Para a realização do presente estudo transversal, foram medidos os níveis séricos de adiponectina, tendo sido investigada sua associação com parâmetros sanguíneos e outros, potencialmente relacionados à adiponectina, esses extraídos do Banco de Dados do ELSA - Brasil e que se encontram definidos a seguir.

De acordo com AQUINO *et al.*, 2012 e SCHIMIDT *et al.*, 2015, a história clínica e fatores sócio-econômicos foram obtidos por questionários, enquanto outras

características como a cor da pele e tabagismo foram obtidas por auto relato e o consumo excessivo de etanol definido como ingestão de etanol > 210 g de por semana para homens e > 140 por semana para mulheres (SCHMIDT *et al.*, 2015). Dados de atividade física foram mensurados por meio da aplicação do *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), modelo simplificado e definido de acordo com o *IPAC Guidelines for Data Processing and Analysis* em inativos. O IMC foi calculado dividindo o peso pela altura ao quadrado do participante; hipertensão arterial definida como pressão ≥ 140 mmHg e/ou diastólica ≥ 90 mmHg e/ou uso de antihipertensivo durante as duas últimas semanas; diabetes definida como glicose de jejum ≥ 126 mg/dL e/ou teste de tolerância ≥ 200 mg/dL e/ou hemoglobina glicada (A_{1-c}) (HbA_{1-c}) $\geq 6,5\%$ ou, ainda, relato de diagnóstico prévio de diabetes ou uso de medicação para esta doença (SCHMIDT *et al.*, 2015). Quanto à dislipidemia, esta foi definida segundo a Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, ou seja, níveis de colesterol total (CT) ≥ 200 mg/dL; HDLc < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres; colesterol presente na lipoproteína de baixa densidade (LDLc) ≥ 160 mg/dL e TG ≥ 150 mg/dL, ou ainda aqueles que fazem uso de estatinas; e para insulina a faixa de normalidade dos níveis séricos basais considerada foi de 2,6 a 24,9 μ UI/mL.

Na ausência de valores de referência para adiponectina, BPA e PAT *ratio*, optou-se por usar o 1º quartil, o 3º quartil e o 1º quartil na distribuição da amostra como *cutoffs* para estes três parâmetros, respectivamente, a saber: valores ≤ 2.344 ng/mL para adiponectina; $\geq 6,64$ para BPA e $\leq 0,20$ para PAT *ratio*. Esta opção se justifica pela importância clínica de valores reduzidos para adiponectina; aumentados para BPA e reduzidos para PAT *ratio*.

4.4 Amostra biológica para estudo laboratorial

As amostras de soro devidamente aliquotadas em criotubos, identificadas com código de barra, e mantidas em freezer a -80°C nas instalações do CI - MG foram rapidamente transferidas para a Faculdade de Farmácia da UFMG em gelo seco e imediatamente colocadas em outro freezer a -80°C. Estas

amostras de soro permaneceram congeladas nesta temperatura até o momento do uso quando foram descongeladas em banho-maria a 37°C.

4.5 Métodos

4.5.1 Determinação dos níveis de adiponectina

Para a realização da determinação dos níveis séricos de adiponectina foi utilizado o conjunto diagnóstico Human Total Adiponectin/Acrp30 (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA), o qual emprega a técnica de imunensaio enzimático quantitativo, utilizando microplaca revestida com anticorpo monoclonal específico para o domínio globular da adiponectina humana. Os padrões e as amostras de soro foram pipetados nos poços dessa microplaca e a adiponectina presente na amostra se ligou-se ao anticorpo que reveste a placa. Depois de lavada a microplaca, um anticorpo monoclonal ligado a enzimas específicas para o domínio globular da adiponectina humana foi adicionado aos poços. Procedeu-se outra lavagem da microplaca para retirar quaisquer substâncias (reagente anticorpo-enzima) não ligadas aos anticorpos e, então, uma solução de substrato foi adicionada aos poços. A cor desenvolvida foi proporcional à quantidade de adiponectina da amostra. O desenvolvimento de cor foi interrompido por um reagente ácido e a intensidade da cor foi medida dentro de 30 minutos usando o leitor de microplacas Versamax, com comprimento de onda ajustado para 540nm. Os resultados foram obtidos por meio do *software* do equipamento semiautomatizado Versamax. O *layout* das microplacas para leitura foi programado conforme recomendações do fabricante para realização da curva de calibração, a qual foi utilizada para cálculo das concentrações de adiponectina em ng/mL.

4.5.2 Determinação dos demais parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos descritos a seguir foram realizados na USP. De acordo com Aquino *et al.*, 2012, os níveis de glicose foram determinados utilizando o método da Hexoquinase (ADVIA Chemistry; Siemens, Deerfield,

Illinois); CT e HDLc por ensaio colorimétrico enzimático (ADVIA Chemistry); HDLc calculado por meio da equação de Friedewald, $LDLc = CT - [HDLc + (TG/5)]$, e se níveis de TG > 400 mg/dL, por ensaio enzimático colorimétrico (ADVIA Chemistry). Para a insulina foi utilizado o ensaio imunoenzimático (ELISA, Siemens). Os resultados dos parâmetros bioquímicos acima foram obtidos no Banco de Dados do CI – MG do ELSA - Brasil.

4.5.3 Avaliação da função endotelial

A avaliação da função endotelial foi realizada pelo método PAT (KUVIN *et al.*, 2003), durante a visita dos participantes ao Centro de Investigação do ELSA-MG. Conforme reportado por Brant *et al.*, 2014, este método utiliza um equipamento denominado EndoPAT 2000 (Itamar Medical, Caesarea, Israel) e consiste na avaliação da mudança dos volumes dos pulsos digitais, detectada por sensores pneumáticos colocados em ambos os dedos indicadores, após hiperemia reativa provocada por um manguito de pressão colocado no braço não dominante do participante (NORIA *et al.*, 2006). O sinal captado pelos sensores é simultaneamente avaliado em ambas as mãos, o que permite o controle de mudanças sistêmicas no tônus vascular (HAMBURG *et al.*, 2009). Por meio deste sinal, o aparelho calcula o índice de hiperemia reativa (RHI) automaticamente. O RHI é a razão entre a amplitude média do sinal observado entre 90 e 150 segundos (após a desinsuflação do manguito de pressão no antebraço, refletindo a hiperemia reativa consequente à isquemia provocada pela obstrução do fluxo sanguíneo quando da insuflação do manguito), dividido pela amplitude média do sinal antes da insuflação. Este resultado é dividido pela razão correspondente medida no dedo contralateral para correção de alterações sistêmicas e, corrigido por fórmula de propriedade do fabricante $\{[0,226 \times \ln(\textit{baseline pulse amplitude}) - 0,2]\}$, para ajustar o RHI para a influência do tônus vascular basal (Kuvin *et al.*, 2003). O RHI mede uma resposta complexa à hiperemia, resultado de mudanças no fluxo e no calibre dos vasos digitais (NOHRIA *et al.*, 2006; HAMBURG *et al.*, 2009).

O manguito foi colocado no braço não dominante do participante, 2 cm acima da fossa cubital e as sondas PAT foram colocadas em cada dedo indicador. O BPA foi medido por 5 minutos. O fluxo arterial foi interrompido no braço não dominante durante 5 minutos (\pm 30 segundos), inflando-se o manguito à pressão suprasistólica (pressão 60 mmHg acima da PA sistólica – mínimo de 200 mmHg). Após 5 minutos, o manguito foi deflacionado abruptamente para induzir hiperemia reativa, e o sinal do PAT foi registrado por mais 5 minutos em ambas as mãos (BRANT *et al.*, 2014). O sinal do dedo contralateral foi utilizado como controle de alterações sistêmicas no tônus vascular (HAMBURG *et al.*, 2009). Por meio deste sinal, o aparelho de RH-PAT calcula o RHI automaticamente por meio da fórmula proposta pelo fabricante.

4.6 Análises estatísticas

O presente estudo analisou os níveis de adiponectina em função de vários parâmetros fornecidos pelo CI - MG. Os dados disponibilizados para o presente estudo foram planilhados em Excel após tradução de acordo com o Manual de Definições das Variáveis Derivadas de Laboratório Onda 01.

Os valores foram apresentados como média \pm DP e mediana e intervalo interquartilício (Q1 e Q3), para variáveis de distribuição normal e não normal, respectivamente. Foram utilizados os testes de *Kruskal Wallis* para comparação de medianas de três ou mais grupos, e *Mann-Whitney* para comparação de dois grupos. Para investigar quais variáveis foram associadas de forma independente à redução dos níveis de adiponectina, empregou-se um modelo de regressão logística multivariado. As correlações entre os parâmetros BPA e PAT *ratio* e, entre os outros parâmetros foram investigadas pelo teste de *Spearman*.

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa MINITAB, versão 17.0, e as diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Características dos participantes do estudo e níveis de adiponectina

As características sociodemográficas como sexo, faixa etária, raça, grau de instrução e renda; fatores de risco cardiovasculares, como diabetes, hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia, tabagismo, consumo excessivo de etanol, IMC e atividade física; e ainda uso de medicamentos como hipoglicemiantes, anti-hipertensivos, hipolipemiantes (estatina) dos 529 participantes selecionados da linha de base do ELSA estão representados nas **Tabelas 1 e 2**.

As frequências absoluta e relativa foram apresentadas de forma estratificada, em categorias para os parâmetros, sexo, idade (em faixas etárias), raça, grau de instrução, renda, tabagismo, IMC e atividade física. No entanto, para diabetes, HAS, dislipidemia, consumo excessivo de etanol, uso de hipoglicemiantes, anti-hipertensivos e hipolipemiantes os dados foram apresentados dicotomizadas na categoria não, quando negativo para o evento, e sim quando positivo para o evento.

As mulheres representaram 48,0% dos participantes, enquanto os homens representaram 52,0%. Quanto à faixa etária, indivíduos entre 65 a 74 anos foram pouco representados na amostra, com apenas 9,0% dos participantes. Conforme esperado, a amostra estudada apresentou baixa proporção das etnias amarela e indígena nativo, sendo que a raça branca representou a maioria (51,7%). Um elevado grau de instrução foi observado, com 66,0% dos participantes com escolaridade superior (universitário completo). As faixas de renda foram bem distribuídas nas 04 categorias. Quanto às comorbidades indicativas de risco cardiovascular, tais como diabetes e HAS, a maioria dos indivíduos não se enquadraram nessas categorias. Dessa forma, apenas 7,2% e 32,5% dos participantes apresentavam diabetes e HAS, respectivamente. Por outro lado, cerca de 60,0% dos participantes eram dislipidêmicos, e quanto ao IMC, apenas cerca de 20,0% foram classificados como obesos. A maioria dos participantes declarou nunca ter fumado (cerca de 60,0%), bem como não

consumiam etanol em excesso (91,3%) e não praticantes de atividade física intensa (73,0% eram praticantes de atividade física fraca), configurando elevada proporção de sedentários na amostra. Quanto ao uso de medicamentos, 7,0%, 18,2% e 11,0% eram usuários de hipoglicemiantes, anti-hipertensivos e hipolipemiantes, respectivamente.

Quanto às concentrações séricas de adiponectina (dados apresentados em mediana) segundo as características dos 529 participantes, observou-se diferença na concentração deste biomarcador entre homens e mulheres, sendo que tal concentração foi significativamente mais baixa nos primeiros (2.834 e 6.032 ng/mL, respectivamente; $p = 0,001$). Para o parâmetro idade, diferenças nos valores séricos de adiponectina foram observadas entre as faixas etárias de 35 a 45 e 55 a 64 anos (3.214 e 4.667 ng/mL, respectivamente; $p = 0,006$), e entre 35 a 45 e 65 a 74 (3.214 e 4.485 ng/mL, respectivamente; $p = 0,004$). Entre as demais faixas etárias não houve diferença significativa. Com relação à cor da pele, os valores mais baixos de adiponectina foram observados naqueles de cor preta em comparação aos de cor branca (2.565 e 4.672 ng/mL, respectivamente; $p = 0,001$); aos de cor parda (2.565 e 3.710 ng/mL, respectivamente; $p = 0,037$); e aos de outra cor (2.565 e 4.476 ng/mL, respectivamente; $p = 0,029$). O grau de instrução também interferiu nos valores de adiponectina, sendo os valores mais baixos observados naqueles de menor escolaridade. Estes participantes apresentaram valores significativamente mais baixos em relação àqueles com nível universitário incompleto (2.443 e 4.216 ng/mL, respectivamente; $p = 0,004$), e em relação àqueles com nível universitário completo (2.443 e 4.180 ng/mL, respectivamente; $p = 0,009$). Quanto à renda, valores mais baixos de adiponectina foram observados naqueles com menor renda, tendo sido observada diferença significativa entre os dois grupos com menor renda e aquele com maior renda (3.526 e 4.978 ng/mL; $p = 0,004$, e 3.855 e 4.978 ng/mL, $p = 0,013$, respectivamente). Com relação ao diabetes, os valores de adiponectina dos indivíduos não diabéticos foram maiores em comparação aos indivíduos diabéticos, porém a diferença não foi significativa (4.122 e 3.541 ng/mL, respectivamente; $p = 0,410$). Com relação à hipertensão, os valores de adiponectina dos indivíduos hipertensos foram menores que os indivíduos não hipertensos

(4.122 e 3.877 ng/mL, respectivamente; $p = 0,947$). Os dislipidêmicos também apresentaram valores mais baixos de adiponectina em comparação aos não dislipidêmicos (3.355 e 5.321 ng/mL, respectivamente; $p = 0,001$). Para o tabagismo não foi encontrada diferença significativa para a adiponectina no grupo que nunca fumou, tanto em comparação com o grupo ex-fumante (4.112 e 4.065 ng/mL, respectivamente, $p = 0,909$), quanto ao grupo de fumante (4.112 e 4.321 ng/mL, respectivamente, $p = 0,615$). Em relação ao consumo excessivo de etanol, os participantes com esse hábito apresentaram redução nos valores de adiponectina (2.824 ng/mL) quando comparados àqueles que não consumiam etanol em excesso (4.237 ng/mL), $p = 0,006$. Diferença significativa foi também observada para os valores de adiponectina entre aqueles participantes eutróficos e com sobrepeso (4.877 e 3.728 ng/mL, respectivamente; $p = 0,002$), e entre aqueles eutróficos e obesos (4.877 e 3.132 ng/mL, respectivamente; $p = 0,001$). E ainda, não houve redução significativa dos valores séricos entre os grupos sobrepeso e obeso (3.728 e 3.132 ng/mL respectivamente; $p = 0,345$).

Em suma, concentrações séricas reduzidas de adiponectina foram observadas nos participantes do sexo masculino, com menor faixa etária (35 a 44 anos), pretos, com menor grau de instrução e renda, obesos, dislipidêmicos e naqueles que consumiam etanol em excesso. Para os demais parâmetros analisados incluindo tabagismo, atividade física, uso de medicamentos, tais como antihipertensivos, antiglicêmicos e hipolipemiantes, além das comorbidades diabetes e hipertensão, não foi encontrada diferença significativa na concentração sérica de adiponectina entre os participantes, exceto para dislipidemia.

Cabe ressaltar que nem todas as análises estatísticas foram realizadas com o número total de participantes, uma vez que para alguns participantes não foi possível obter informação.

Tabela 1. Características sociodemográficas dos 529 participantes do estudo e níveis séricos de adiponectina

Características sociodemográficas	Valor absoluto e relativo (%)	Adiponectina ng/mL - mediana (Q1-Q3)	Valor p		
Sexo					
Feminino	254 (48,0)	6.032 (3.700-9.350)	0,001		
Masculino	275 (52,0)	2.834 (1.913-4.550)			
Faixa etária					
35 a 44	141 (26,7)	3.214 (2.164-5.650)	-	-	-
45 a 54	192 (36,3)	4.186 (2.248-6.386)	0,111 ¹	-	-
55 a 64	148 (28,0)	4.667 (2.506-8.430)	0,006 ²	0,156 ³	-
65 a 74	48 (9,0)	4.485 (2.859-9.365)	0,004 ⁴	0,055 ⁵	0,433 ⁶
Raça					
Branco	270 (51,7)	4.672 (2.605-7.920)	-	-	-
Preto	64 (12,3)	2.565 (2.055-4.625)	0,001 ¹	-	-
Pardo	172 (33,0)	3.710 (2.248-6.397)	0,040 ²	0,037 ³	-
Outra	16 (3,0)	4.476 (3.206-7.721)	0,932 ⁴	0,029 ⁵	0,338 ⁶
Grau de instrução					
Até 2º grau	28 (5,3)	2.443 (1.715-4.764)	-	-	-
Universitário incompleto	152 (28,7)	4.216 (2.461-6.892)	0,004 ¹	-	-
Universitário completo	349 (66,0)	4.180 (2.403-7.265)	0,009 ²	0,753 ³	-
Renda (R\$)					
592,00 a 902,50	132 (25,0)	3.526 (2.241-6.082)	-	-	-
902,60 a 1.521,50	144 (27,3)	3.855 (2.057-6.777)	0,787 ¹	-	-
1.521,60 a 2.334,20	120 (22,7)	4.115 (2.239-7.854)	0,211 ²	0,278 ³	-
2.334,30 a 7.884,50	132 (25,0)	4.978 (2.769-7.967)	0,004 ⁴	0,013 ⁵	0,177 ⁶

Valores expressos em mediana (Q1-Q3). Teste *Mann Whitney*.

1. 35 a 44 x 45 a 54; 2. 35 a 44 x 55 a 64; 3. 45 a 54 x 55 a 64; 4. 35 a 44 x 65 a 74; 5. 45 a 54 x 65 a 74; 6. 55 a 64 x 65 a 74. 1. Branco x Preto; 2. Branco x Pardo; 3. Preto x Pardo; 4. Branco x Outras; 5. Preto x Outra; 6. Pardo x Outra. 1. Até 2º grau x Universitário incompleto; 2. Até 2º grau x Universitário completo; 3. Universitário incompleto x Universitário completo. 1. 592,00 a 902,50 x 902,60 a 1.521,50; 2. 592,00 a 902,50 x 1.521,60 a 2.334,20; 3. 902,60 a 1.521,50 x 1.521,60 a 2.334,20; 4. 592,00 a 902,50 x 2.334,30 a 7.884,50; 5. 902,60 a 1.521,50 x 2.334,30 a 7.884,50; 6. 1.521,60 a 2.334,20 x 2.334,30 a 7.884,50.

Tabela 2. Fatores de risco cardiovasculares, medicamentos e níveis séricos de adiponectina

Fatores de risco	Valor absoluto e relativo (%)	Adiponectina ng/mL - mediana (Q1-Q3)	Valor p	
Diabetes				
Não	491 (92,8)	4.122 (2.397-6.959)	0,410	
Sim	38 (7,2)	3.541 (2.055-6.864)		
HAS				
Não	357 (67,5)	4.231 (2.398-7.060)	0,522	
Sim	172 (32,5)	3.869 (2.248-6.892)		
Dislipidemia				
Não	213 (40,26)	5.321 (3.099-9.116)	0,001	
Sim	316 (59,74)	3.355 (2.075-5.589)		
Tabagismo				
Nunca fumou	315 (59,5)	4.112 (2.411-7.062)	-	-
Ex-fumante	165 (31,2)	4.065 (2.236-6.915)	0,909 ¹	-
Fumante	49 (9,3)	4.321 (2.197-6.233)	0,615 ²	0,718 ³
Consumo excessivo de etanol				
Não	483 (91,3)	4.237 (2.399-7.130)	0,006	
Sim	46 (8,7)	2.824 (2.062-4.323)		
IMC (kg/m²)				
Eutrófico	213 (40,3)	4.877 (2.719-8.553)	-	-
Sobrepeso	208 (39,3)	3.728 (2.157-6.224)	0,002 ¹	-
Obeso	108 (20,4)	3.132 (2.163-6.071)	0,001 ²	0,345 ³
Atividade física				
Fraca	384 (72,6)	3.989 (2.231-7.033)	-	-
Moderada	105 (19,8)	4.432 (2.602-6.608)	0,415 ¹	-
Forte	40 (7,6)	4.629 (2.735-7.731)	0,393 ²	0,718 ³
Uso de medicamentos				
Hipoglicemiantes				
Não	492 (93,0)	4.167 (2.379-7.033)	0,254	
Sim	37 (7,0)	3.429 (1.992-6.622)		
Anti-hipertensivos				
Não	433 (81,8)	4.122 (2.318-6.993)	0,947	
Sim	96 (18,2)	3.877 (2.502-6.888)		
Hipolipemiantes (estatina)				
Não	470 (89,0)	4.060 (2.237-6.852)	0,124	
Sim	59 (11,0)	4.550 (2.798-7.519)		

IMC: índice de massa corporal, HAS: hipertensão arterial sistêmica. Valores expressos em mediana (Q1-Q3). *Teste *Mann Whitney*. 1. Nunca fumou x Ex-fumante; 2. Nunca fumou x Fumante; 3. Ex-fumante x Fumante. 1. Eutrófico x Sobrepeso; 2. Eutrófico x Obeso; 3. Sobrepeso x Obeso. 1. Atividade física fraca x Moderada; 2. Atividade física fraca x Forte; 3. Atividade física x Forte.

5.2 Níveis séricos de adiponectina e outros parâmetros laboratoriais de interesse

Além da medida dos níveis de adiponectina, parâmetro central do presente estudo, foram utilizados parâmetros sanguíneos (Banco de dados do ELSA - Brasil) potencialmente relacionados à adiponectina incluindo a glicemia de jejum, insulina, CT, HDLc, LDLc e TG, cujos dados são apresentados na **Tabela 3**. O valor mediano para adiponectina dos 529 participantes deste estudo correspondeu a 4.105 ng/mL.

A média dos níveis de glicose ficou acima do ponto de corte considerado como desejável (≤ 99 mg/dL). Os outros parâmetros (em mediana), com exceção do CT, se mostraram dentro dos intervalos de referência. Porém, por meio da análise, Q1 e Q3, pode-se verificar a existência de valores fora da faixa considerada desejável.

Tabela 3. Níveis séricos de adiponectina e parâmetros laboratoriais dos 529 participantes do estudo

Parâmetro	Valores
Adiponectina (ng/mL)	4.105 (2.344-6.915)
Glicemia de jejum (mg/dL)	110 \pm 29
Insulina (μ UI/mL)	7,6 (4,3-13,3)
Colesterol total (mg/dL)	211 (186-240)
Triglicerídeos (mg/dL)	115 (82-174)
HDLc (mg/dL)	52 (44,0-63,0)
LDLc (mg/dL)	129 (109-152)

Valores expressos em média \pm DP e/ou mediana (Q1-Q3).

5.3 Níveis séricos de adiponectina e perfil lipídico

Os níveis séricos de adiponectina foram também avaliados em função dos componentes do perfil lipídico convencional incluindo as frações HDLc e LDLc, além de TG. Esses dados foram estratificados em HDLc ≥ 40 mg/dL e HDLc < 40 mg/dL; LDLc ≥ 160 mg/dL e LDLc < 160 mg/dL; TG ≥ 150 mg/dL e < 150 mg/dL para ambos os sexos.

Conforme apresentado na **Tabela 4**, a concentração sérica de adiponectina foi significativamente reduzida nos participantes do estudo com HDLc < 40 mg/dL em relação àqueles com HDLc ≥ 40 mg/dL (2.446 ng/mL e 4.595 ng/mL, respectivamente; $p = 0,001$); e com TG ≥ 150 mg/dL em relação àqueles com TG < 150 mg/dL (2.829 ng/mL e 4.978 ng/mL, respectivamente; $p = 0,001$). Ao contrário, não foram observadas diferenças significativas para os valores de adiponectina entre aqueles com LDLc ≥ 160 mg/dL e LDLc < 160 mg/dL, como também entre os indivíduos em uso ou não de estatina.

Tabela 4. Níveis séricos de adiponectina e parâmetros do perfil lipídico dos participantes do estudo

Parâmetro	Valor absoluto e relativo (%)	Adiponectina ng/mL - mediana (Q1-Q3)	Valor p
HDLc ≥ 40mg/dL	418 (79,0)	4.595 (2.646-7.920)	0,001
HDLc < 40mg/dL	111 (21,0)	2.446 (1.649-4.255)	
LDLc ≥ 160mg/dL	108 (20,4)	4.102 (2.316-7.763)	0,709
LDLc < 160mg/dL	421 (80,6)	4.112 (2.344-6.847)	
TG ≥ 150 mg/dL	173 (33,7)	2.829 (1.883-4.515)	0,001
TG < 150 mg/dL	356 (67,3)	4.978 (2.705-8.435)	

Valores expressos em mediana (Q1-Q3). Teste *Mann Whitney*.

5.4 Níveis séricos de adiponectina e parâmetros da tonometria arterial periférica

Outros parâmetros de estudo da função endotelial avaliados foram o BPA e o PAT *ratio*, cujos valores foram também obtidos do banco de dados do ELSA - Brasil, e são apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Valores de BPA e PAT *ratio* dos participantes do estudo

Parâmetro	Valores
BPA	6,10 (5,52-6,64)
PAT <i>ratio</i>	0,48 (0,20-0,78)

Valores apresentados em mediana e intervalo interquartilício (Q1-Q3). BPA: amplitude de pulso basal. PAT *ratio*: índice de avaliação da função endotelial medida por tonometria arterial periférica.

A **Tabela 6** apresenta os níveis de adiponectina em função do $BPA \geq 6,64$ e $PAT\ ratio \leq 0,20$. Tais *cutoffs* correspondem ao 3º quartil e ao 1º quartil na distribuição da amostra, respectivamente. O valor médio de adiponectina para aqueles com $BPA \geq 6,64$ foi 2.940 ng/mL contra 4.648 ng/mL para aqueles com $BPA < 6,64$ ($p = 0,001$). Quanto aos valores de adiponectina em relação ao $PAT\ ratio$, aqueles que se mostraram reduzidos quando $PAT\ ratio \leq 0,20$ (3.719 ng/mL) em relação ao $PAT\ ratio > 0,20$ (4.173 ng/mL), $p = 0,045$.

Tabela 6. Valores de BPA e $PAT\ ratio$, e níveis séricos de adiponectina

Parâmetros	Adiponectina ng/mL Mediana (Q1-Q3)		Valor p
	Não (n = 397)	Sim (n = 132)	
$BPA \geq 6,64^*$	4.648 (2.529-7.761)	2.940 (2.076-4.702)	0,001
$PAT\ ratio \leq 0,20^{**}$	4.173 (2.406-7.534)	3.719 (5.377-2.225)	0,045

Valores expressos em mediana (Q1-Q3). * corresponde ao 3º quartil e ** ao 1º quartil na distribuição da amostra. Teste *Kruskal-Wallis*.

5.5 Combinação das variáveis BPA e $PAT\ ratio$, e comparação com níveis séricos de adiponectina

Os níveis séricos de adiponectina também foram comparados com o $BPA \geq 6,64$, cujo valor equivale ao 3º quartil na distribuição da amostra e com $PAT\ ratio \leq 0,20$, cujo valor equivale ao 1º quartil na distribuição da amostra, de forma combinada.

Nessa análise de combinação das variáveis BPA e $PAT\ ratio$, estratificou-se a função endotelial em categorias, a saber: melhor função endotelial, para indivíduos que apresentaram valor de $BPA < 6,64$ (não) e valor de $PAT\ ratio > 0,20$ (não), ou seja, os indivíduos apresentavam os dois indicadores de função endotelial favoráveis. Na categoria de disfunção endotelial moderada, foram alocados aqueles indivíduos que apresentaram valor de $BPA \geq 6,64$ (sim) e valor de $PAT\ ratio > 0,20$ (não), ou seja, os indivíduos apresentaram indicador de função endotelial favorável apenas para $PAT\ ratio$; nesta categoria foram alocados também aqueles indivíduos que apresentaram valor de $BPA < 6,64$ (não) e valor de $PAT\ ratio \leq 0,20$ (sim), ou seja, os indivíduos apresentaram indicador de função endotelial favorável somente para o BPA. E por fim, na

categoria de pior função endotelial, foram alocados aqueles indivíduos que apresentaram valor de BPA $\geq 6,64$ e valor de PAT *ratio* $\leq 0,20$, ou seja, os indivíduos apresentaram ambos os parâmetros de análise de função endotelial prejudicados, indicando pior função endotelial.

A **Figura 1**, dividida em quatro quadrantes, representa de forma esquemática a função endotelial segundo os parâmetros BPA (a linha vermelha demarca o ponto de corte igual a 6,64 para o indicador de função endotelial no eixo das abscissas) e o parâmetro PAT *ratio* (a linha verde demarca o ponto de corte igual a 0,20 para o indicador de função endotelial no eixo das ordenadas). De acordo com a representação, o quadrante número 1 compreende os indivíduos com melhor função endotelial; os quadrantes de números 2 e 3, os indivíduos com disfunção endotelial moderada, sendo que para o quadrante 2, a função endotelial desfavorável, refere-se aos valores de BPA aumentados, enquanto o quadrante 3, função endotelial desfavorável, refere-se aos valores de PAT *ratio* diminuídos; e o quadrante de número 4 compreende os indivíduos com pior função endotelial.

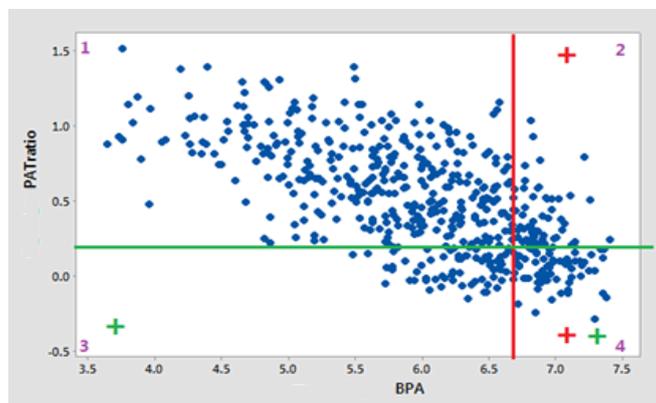


Figura 1: Diagrama de dispersão avaliar valores de adiponectina para classificação de melhor ou pior função endotelial, segundo os parâmetros BPA e PAT *ratio*.

Níveis séricos de adiponectina foram calculados para cada categoria relacionada à função endotelial. Tais níveis mostraram-se diminuídos, tanto para os participantes do grupo de pior função endotelial (quadrante 04), quanto para aqueles dos grupos de moderada disfunção endotelial (quadrantes 02 e 03), quando comparados com aqueles do grupo de melhor função endotelial (quadrante 01). Dentre as duas estratificações de moderada disfunção

endotelial, observou-se que os níveis séricos de adiponectina apresentaram-se diminuídos no grupo com BPA aumentado (quadrante 02), quando comparado ao grupo com PAT *ratio* diminuído (quadrante 03). Dessa forma, considerou-se que o BPA prejudicado (aumentado) correlaciona-se mais fortemente com níveis de adiponectina diminuídos do que o PAT *ratio*, sinalizando para a relevância do BPA como marcador de disfunção endotelial (**Tabela 7**).

Tabela 7. Níveis séricos de adiponectina para os grupos estratificados de acordo com os indicadores de função endotelial BPA e PAT *ratio*

Classificação	Adiponectina (ng/mL) – mediana (Q1-Q3)
Melhor função endotelial (BPA < 6,64 e PAT <i>ratio</i> > 0,20) n = 331	4.788 (2.540-7.977)
Moderada disfunção endotelial (BPA < 6,64 e PAT <i>ratio</i> ≤ 0,20) n = 66	4.333 (6.019-2.360)
Moderada disfunção endotelial (BPA ≥ 6,64 e PAT <i>ratio</i> > 0,20) n = 66	2.768 (1.881-4.351)
Pior função endotelial (BPA ≥ 6,64 e PAT <i>ratio</i> ≤ 0,20) n = 66	3.199 (2.164-4.822)

Os níveis séricos de adiponectina também foram comparados entre as categorias de função endotelial da seguinte forma: categorias de melhor função endotelial e moderada disfunção endotelial, moderada disfunção endotelial e pior função endotelial, e melhor função endotelial e pior função endotelial (**Tabela 8**).

Tabela 8. Comparação dos valores de adiponectina entre os grupos estratificados de acordo com os indicadores de função endotelial, BPA e PAT *ratio*

Parâmetro BPA + PAT <i>ratio</i>	Adiponectina (ng/dL) - mediana (Q1-Q3)	Valor p*
Melhor função endotelial BPA < 6,64 e PAT <i>ratio</i> > 0,20 (n = 331)	4.788 (2.540-7.977)	0,001 ¹
Moderada disfunção endotelial (BPA ≥ 6,64 e PAT <i>ratio</i> > 0,20) (n = 66), e (BPA < 6,64 e PAT <i>ratio</i> ≤ 0,20 (n = 66)	3.613 (2.128-5.380)	0,507 ²
Pior função endotelial BPA ≥ 6,64 e PAT <i>ratio</i> ≤ 0,20 (n = 66)	3.199 (2.164-4.822)	0,001 ³

*Teste *Kruskal Wallis*, valores expressos como mediana e intervalo interquartil (Q3-Q1). 1. Melhor função endotelial x Moderada disfunção endotelial. 2. Moderada disfunção endotelial x Pior função endotelial. 3. Melhor função endotelial x Pior função endotelial.

Foi encontrada diferença significativa entre os grupos de melhor função endotelial e moderada disfunção endotelial ($p = 0,001$), e entre os grupos de melhor função endotelial e pior função endotelial ($p = 0,001$). Porém, para a comparação das categorias de pior função endotelial e moderada disfunção endotelial não foi encontrada diferença significativa ($p = 0,507$), possivelmente devido ao pequeno número de participantes desse grupo ($n = 66$).

5.6 Comparação dos níveis séricos de adiponectina diminuídos com características dos participantes

Os parâmetros sociodemográficos como sexo, idade, raça, grau de instrução, renda, fatores de risco cardiovasculares como diabetes, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, tabagismo, consumo excessivo de etanol, índice de massa corporal, atividade física, e uso de medicamentos, tais como hipoglicemiantes, anti-hipertensivos e hipolipemiantes dos participantes foram relacionados com níveis de adiponectina diminuídos, ou seja, valores menores ou iguais a 2.344 ng/mL (**Tabelas 9 e 10**).

Tabela 9. Características dos participantes de acordo com níveis séricos de adiponectina diminuídos (≤ 2.344 ng/mL)

Característica sociodemográfica	Adiponectina ≤ 2.344 ng/mL*				Valor p**
	em valor absoluto e relativo (%)				
Sexo	Feminino		Masculino		0,001
Não	228 (89,8)		169 (61,4)		
Sim	26 (10,2)		106 (38,6)		
Faixa etária	35 a 54		55 a 74		0,100
Não	242 (73,0)		155 (79,0)		
Sim	91 (27,0)		41 (21,0)		
Raça	Branca	Preta	Parda	Outra	0,025
Não	213 (78,9)	40 (62,5)	125 (72,7)	14 (87,5)	
Sim	57 (21,1)	24 (37,5)	47 (27,3)	02 (12,5)	
Grau de instrução	1º nível	2º nível	3º nível		0,026
Não	15 (53,6)	116 (76,3)	266 (76,2)		
Sim	13 (46,4)	36 (23,7)	83 (23,8)		
Renda	1ª faixa	2ª faixa	3ª faixa	4ª faixa	0,087
Não	94 (71,2)	104 (72,2)	89 (74,2)	110 (83,3)	
Sim	38 (28,8)	40 (27,8)	31 (25,8)	22 (16,7)	

*Corresponde ao 1º quartil na distribuição da amostra.**Teste de *Pearson Chi-Square*.

1º nível: até 2º grau completo; 2º nível: universitário incompleto e 3º nível: Universitário.

1ª faixa: R\$592,00 a R\$ 902,50; 2ª faixa: R\$ 902,60 a R\$ 1.521,50; 3ª faixa: R\$ 1.521,60 a R\$ 2.334,20 e 4ª faixa: R\$ 2.334,30 a R\$ 7.884,50.

Foi observada diferença significativa para valores diminuídos de adiponectina para os seguintes parâmetros: sexo ($p = 0,001$), raça ($p = 0,025$) e grau de instrução ($p = 0,026$). Quanto ao perfil dos indivíduos com relação aos valores diminuídos de adiponectina, uma análise da **Tabela 9** revelou que o sexo masculino apresentou redução significativa nesses níveis quando comparado ao sexo feminino ($p = 0,001$). Da mesma forma, a raça preta em relação às demais ($p = 0,025$), e indivíduos com menor grau de instrução em comparação aos indivíduos com maior escolaridade ($p = 0,026$). Quanto aos parâmetros faixa etária e renda, nenhuma diferença estatística foi observada.

Conforme mostrado na **Tabela 10**, foi observada diferença significativa para os seguintes parâmetros: dislipidemia ($p=0,001$), IMC ($p=0,045$) e uso de estatina ($p= 0,014$). Os dislipidêmicos apresentaram níveis de adiponectina significativamente diminuídos em relação aos não dislipidêmicos ($p=0,001$). Da mesma forma, os obesos também apresentaram redução significativa nos

níveis de adiponectina em relação aos eutróficos e com sobrepeso ($p = 0,045$). Por outro lado, aqueles participantes em uso de estatina apresentaram níveis de adiponectina significativamente mais altos quando comparados aos que não usavam estatina ($p = 0,014$). Com relação aos outros parâmetros da **Tabela 10**, nenhuma diferença significativa foi observada para níveis diminuídos ou não de adiponectina.

Tabela 10. Níveis séricos de adiponectina diminuídos segundo os fatores de risco cardiovasculares e outros

Fatores de risco	Níveis de adiponectina \leq 2.344 ng/dL*				Valor p**		
	em valor absoluto e relativo (%)						
Diabetes	Não		Sim		0,171		
Não	372 (75,7)		25 (65,8)				
Sim	119 (24,3)		13 (34,2)				
HAS	Não		Sim		0,509		
Não	271 (75,9)		126 (73,3)				
Sim	86 (24,1)		46 (26,7)				
Dislipidemia	Não		Sim		0,001		
Não	184 (86,4)		213 (67,4)				
Sim	29 (13,6)		103 (32,6)				
Tabagismo	Nunca fumou		Ex-fumante		0,638		
Não	241 (76,5)		120 (72,7)				
Sim	74 (23,5)		45 (27,3)				
Consumo excessivo de etanol	Não		Sim		0,209		
Não	366 (75,8)		31 (67,4)				
Sim	117 (24,2)		15 (32,6)				
IMC (Kg/m²)	Eutrófico		Sobrepeso		0,045		
Não	172 (80,7)		148 (71,2)				
Sim	41 (19,3)		60 (28,8)				
Atividade física	Fraca		Moderada		0,246		
Não	281 (73,2)		85 (80,9)				
Sim	103 (26,8)		20 (19,1)				
Uso de medicamentos	Hipoglicemiante		Anti-hipertensivo		0,276		
	Não Sim		Não Sim				
Não	372 (75,6)	25 (67,6)	324 (74,8)	73 (76,0)	345 (73,0)	52(88)	0,803
Sim	120 (24,4)	12 (32,4)	109 (25,2)	23 (24,0)	125 (27,0)	7 (12,0)	

*Corresponde ao 1º quartil na distribuição da amostra.**Teste de *Pearson Chi-Square*.

Em outra análise, as características dos participantes como idade, glicemia de jejum, insulina, CT, TG, HDLc, LDLc, BPA e PAT *ratio* foram correlacionados com níveis séricos de adiponectina diminuídos, de maneira dicotomizada em sim para níveis de adiponectina ≤ 2.344 ng/dL e não para níveis de adiponectina acima desse valor (**Tabelas 11 e 12**). Valores diminuídos de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL) foram observados em indivíduos com níveis mais elevados de glicose ($p = 0,001$), de insulina ($p = 0,001$), e de TG ($p = 0,001$). Por outro lado, níveis mais baixos de adiponectina foram observados em indivíduos com redução de HDLc ($p = 0,001$).

Tabela 11. Níveis séricos de adiponectina diminuídos segundo idade e parâmetros laboratoriais, expressos em mediana

Parâmetros	Adiponectina ≤ 2.344 ng/mL		Valor p
	Não (n = 397)	Sim (n = 132)	
Idade (média em anos)	52	50	0,067
Glicemia de jejum (mg/dL)	109	119	0,001
Insulina (μ UI/mL)	9	13	0,001
Colesterol total (mg/dL)	217	211	0,119
Triglicerídeos (mg/dL)	129	185	0,001
HDLc (mg/dL)	59	46	0,001
LDLc (mg/dL)	132	130	0,244

*Corresponde ao 1º quartil na distribuição da amostra. ** Teste *Kruskal-Wallis*.

A **Tabela 12** apresenta os dados referentes aos níveis de adiponectina diminuídos segundo os parâmetros BPA e PAT *ratio*. Conforme podem ser observado nesta tabela, níveis diminuídos de adiponectina foram observados em indivíduos com valores significativamente mais altos de BPA ($p = 0,001$). Por outro lado, níveis diminuídos de adiponectina foram observados em indivíduos com valores significativamente mais baixos de PAT *ratio* ($p = 0,019$). Em outras palavras, níveis diminuídos de adiponectina se mostraram inversamente relacionados aos valores de BPA e diretamente aos valores de PAT *ratio*.

Tabela 12. Níveis séricos de adiponectina reduzidos segundo os parâmetros BPA e PAT *ratio*, expressos em mediana

Parâmetro	Adiponectina \leq 2.344 ng/dL*		Valor p**
	Não (n = 397)	Sim (n = 132)	
BPA	6,01	6,40	0,001
PAT <i>ratio</i>	0,52	0,40	0,019

*Corresponde ao 1º quartil na distribuição da amostra. Teste *Kruskal-Wallis*.

5.7 Análise de regressão logística multivariada: níveis diminuídos de adiponectina (\leq 2.344 ng/mL) versus características dos participantes do estudo

Para investigar quais variáveis estavam associadas de forma independente ao evento (ou seja, variável resposta, níveis de adiponectina \leq 2.344 ng/mL) foi realizado um modelo de regressão logística multivariado. Entraram no modelo as variáveis estatisticamente associadas à variável resposta adiponectina \leq 2.344 ng/mL, com nível de significância menor ou igual a 20%, 10%, e 5% para o primeiro, segundo e terceiro modelos, respectivamente. O teste utilizado foi o de *Pearson Chi-Square*. Tais variáveis explicativas incluíram inicialmente as variáveis categóricas: sexo, raça, grau de instrução, IMC, diabetes, uso de estatina e as variáveis contínuas glicose, insulina, HDLc, TG e BPA.

Permaneceram no segundo modelo, com $p < 0,10$, seis variáveis incluindo: sexo, grau de instrução, estatina, glicose, insulina e HDLc. No terceiro modelo, com $p < 0,05$, permaneceram as cinco variáveis: sexo, grau de instrução, uso de estatina, insulina e HDLc. O modelo final ($p < 0,001$) indicou 04 (quatro) variáveis associadas de forma independente aos níveis diminuídos de adiponectina (**Tabela 13**). A saber: sexo masculino, uso de estatina, insulina e HDLc, com razão de chances de 3,26; 0,32; 1,04 e 0,94, respectivamente. Em outras palavras, participantes do sexo masculino apresentaram uma chance de cerca de 3 vezes maior de ter níveis diminuídos de adiponectina. Por outro lado, o uso de estatina reduz em torno de 68% a chance de ter níveis reduzidos de adiponectina. Para as variáveis contínuas, tais como insulina e HDLc, a interpretação do modelo difere da anterior. Dessa forma, o acréscimo de cada

unidade $\mu\text{UI/mL}$ nos níveis de insulina aumentará em cerca de 5% a chance de se ter níveis reduzidos de adiponectina. Da mesma forma, para cada unidade (mg/dL) acrescentada nos níveis de HDLc reduzirá em 5,6% a chance de se ter níveis reduzidos de adiponectina.

Com base no valor do teste de *Hosmer e Lemeshow* ($P = 0,941$), não é possível rejeitar a hipótese de igualdade entre os valores preditos pelo modelo com 95% de confiança, ou seja, o teste indica um bom ajuste do modelo para os dados.

Tabela 13. Modelo de regressão logística multivariado: níveis diminuídos de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL) versus características dos participantes do estudo

Característica	Razão de chances	IC 95%		Valor p
		Menor	Maior	
Sexo masculino	3,26	1,94	5,49	0,001
Uso de estatina	0,32	0,13	0,80	0,008
Insulina	1,04	1,02	1,07	0,001
HDLc	0,94	0,92	0,96	0,001

Test de Hosmer-Lemeshow $P = 0,941$.

6 DISCUSSÃO

6.1 Características sociodemográficas, fatores de risco cardiovascular, uso de medicamentos e níveis séricos de adiponectina

Os níveis séricos de adiponectina nos participantes foram associados ao sexo feminino ou masculino, idade, raça, grau de instrução e renda, tendo sido observadas diferenças tanto nos resultados dos níveis de adiponectina quanto em relação às características sociodemográficas citadas acima.

Quanto ao sexo, observou-se que os homens apresentaram níveis significativamente diminuídos de adiponectina sérica em comparação com as mulheres. Em concordância com nossos dados, ARITA *et al.*, 1999, verificaram que as concentrações plasmáticas de adiponectina em homens foram significativamente menores que nas mulheres, entre indivíduos não obesos. Embora os autores acima não tenham sugerido uma justificativa para valores reduzidos de adiponectina no sexo masculino, fatores hormonais poderiam justificar parcialmente os resultados. O bloqueio de androgênio leva a um aumento significativo dos níveis plasmáticos de adiponectina, tendo alguma eficácia contra a síndrome metabólica. Enquanto a terapia de privação de androgênio aumenta a insulina plasmática em jejum e diminui a sensibilidade à insulina. Os autores ainda sugerem que existem outros mecanismos envolvidos na síndrome metabólica, além da ativação da adiponectina (KORNER *et al.*, 2015).

Os indivíduos incluídos na faixa etária entre 55 a 64 anos apresentaram concentração sérica de adiponectina maior em comparação às faixas etárias inferiores (35 a 44 e 45 a 54 anos) contrariando a expectativa de concentrações gradativamente menores com o avanço da idade. Uma possível explicação pode ser o fato de que nesse grupo dos 148 participantes, 80 são mulheres, ou seja, uma maior representação do sexo feminino. Conforme dados obtidos no presente estudo os participantes do sexo feminino apresentaram concentração sérica de adiponectina aproximadamente duas vezes maior que o sexo masculino (6.032 e 2.834 ng/mL, respectivamente).

Entretanto, no estudo conduzido por ARITA *et al.*; 1999, não foi observada correlação dos níveis de adiponectina com idade, mesmo com ajuste para o IMC.

Para o fator cor da pele, a concentração sérica de adiponectina mostrou-se maior para indivíduos de cor branca e menor para indivíduos de cor preta e, concentração intermediária para indivíduos de cor parda e outras, de forma significativa. Uma vez observada variação nos níveis de adiponectina nos diferentes grupos étnicos na população em estudo, pode-se sugerir presença de fator hereditário predispondo determinada etnia a níveis de adiponectina diminuídos, seja pelos polimorfismos ou mutações no gene da adiponectina.

Com relação ao grupo com maior grau de instrução, este apresentou concentração de adiponectina mais elevada comparado ao de menor escolaridade. Para renda também foi observada uma concentração maior de adiponectina para aqueles com maior faixa de renda em comparação com aqueles de menor faixa de renda. Os dois parâmetros estão intimamente relacionados ao autocuidado refletindo uma melhor saúde resultante de um estilo de vida saudável, incluindo atividades preventivas contra a obesidade, alimentação equilibrada e atividade física. Cumpre ressaltar que, tanto o grau de instrução quanto à renda, estão relacionados a um maior esclarecimento sobre o impacto que hábitos nocivos, como tabagismo e consumo excessivo de álcool trazem à saúde no contexto do aumento do risco cardiovascular.

O *cutoff* (≤ 2.344 ng/mL) correspondente ao 1º quartil na distribuição da amostra para a concentração sérica de adiponectina, representando o grupo de indivíduos com hipoadinectinemia, e, portanto, uma situação clínica de interesse pelo seu valor prognóstico potencial. Dessa forma, várias outras análises subsequentes que serão discutidas usaram este *cutoff*.

Quanto às características dos participantes citadas foram analisadas de acordo com níveis reduzidos de adiponectina, verificou-se que um número maior de indivíduos com níveis reduzidos deste marcador eram do sexo masculino, da cor preta e com nível de instrução mais baixo.

Na análise de associação com a glicemia, o grupo de indivíduos com níveis reduzidos de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL) apresentou níveis de glicose significativamente mais elevados em comparação ao grupo de indivíduos com níveis de adiponectina superiores a este *cutoff*.

Quanto aos níveis sanguíneos de insulina, foi observado que no grupo de indivíduos com níveis reduzidos de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL) este marcador se mostrou significativamente mais elevado em comparação ao grupo com níveis mais altos de adiponectina sugerindo uma possível resistência à insulina, distúrbio frequentemente encontrado em indivíduos obesos (KAHN & FLIER, 2000) e com tendência à diabetes tipo 2 (LINDSAY *et al.*, 2002). Ainda de acordo com esses autores, em uma população de indivíduos nativos americanos, pertencentes ao grupo étnico Pima Indians, a concentração de adiponectina foi mais baixa em indivíduos que desenvolveram diabetes tipo 2, ao contrário dos indivíduos sem diabetes (controles) que apresentavam altas concentrações dessa proteína. Segundo Weyer *et al.*, 2001, que também desenvolveram um estudo de caso controle na população Pima Indians, elevada concentração plasmática de adiponectina prediz fortemente uma menor taxa de incidência de diabetes tipo 2, independente de obesidade. Nesse mesmo contexto, Tschritter *et al.*, 2003, reportaram que a concentração plasmática de adiponectina correlaciona-se positivamente com sensibilidade insulínica.

Em consonância com os achados reportados pelos autores acima, pode-se sugerir que níveis reduzidos de adiponectina predisporiam o desenvolvimento de diabetes tipo 2. Desta forma, uma análise dos dados obtidos no presente estudo, revelou uma consistência entre nossos achados e os da literatura, ou seja, os indivíduos com níveis mais baixos de adiponectina apresentaram os níveis mais altos de glicose e de insulina.

É relevante observar que os adipócitos secretam o fator pró-inflamatório, TNF- α , o qual interfere na sinalização do receptor de insulina podendo ser uma possível causa no desenvolvimento da resistência à insulina no caso da obesidade (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1993). Outro fator secretado pelos

adipócitos é PAI-1, secretado principalmente pelo tecido adiposo abdominal nos casos de obesidade. O PAI-1 possivelmente apresenta papel preponderante no desenvolvimento da doença vascular contribuindo com o estado pró-trombótico (CESARI *et al.*, 2010), em contraposição aos efeitos antiaterogênicos da adiponectina.

A hereditariedade influencia nos níveis de adiponectina (COMUZZIE *et al.*, 2001). Um dos principais loci que determina níveis de adiponectina parece estar no cromossoma 3q27, o qual contém um locus de susceptibilidade para diabetes tipo 2 e síndrome metabólica (KISSEBAH *et al.*, 2000). Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e mutações no gene da adiponectina podem levar à redução dos níveis dessa adipocina e, ainda, podem estar relacionados a distúrbios do metabolismo de glicose, do perfil lipídico, à maior probabilidade de DAC e hipertensão (HARA *et al.*, 2002; OHASHI *et al.*, 2004; CURTI *et al.*, 2012; TONG *et al.*, 2013). Conforme reportado por Fisman & Tenenbaum, 2014, análises de SNP e mutações no gene da adiponectina têm sugerido uma relação entre adiponectina e doenças do metabolismo da glicose. O SNP→94 está intimamente associado com diabetes tipo 2, assim como o SNP→45 e o SNP→276. Por outro lado, o SNP rs266729 está significativamente associado com uma maior chance de doença cardiovascular.

Outros fatores podem interferir na via de expressão de adiponectina, como exemplo agonistas do receptor PPAR γ que aumentam a expressão da adiponectina. Mutações no gene desse receptor resultam em concentrações muito baixas de adiponectina (COMBS *et al.*, 2002).

Em nosso estudo, os indivíduos com hipertensão não apresentaram concentração de adiponectina diminuída em relação ao grupo de indivíduos não hipertensos, contrariando os resultados reportados por Gil *et al.* 2013, os quais observaram uma redução na concentração de adiponectina em pacientes hipertensos independentemente da presença de resistência insulínica. No entanto, os pacientes incluídos no estudo de Gil *et al.*, 2013, estavam acima do peso considerado ideal (sobrepeso e obeso) o que pode justificar em parte a

redução nos níveis de adiponectina nesses indivíduos. Além de outras características diferenciais entre a população estudada pelos autores acima e por nós. Um dos mecanismos envolvidos na hipertensão associada à obesidade é a diminuição da vasodilatação dependente do endotélio (OUCHI *et al.*, 2003). A ausência de achado de níveis reduzidos de adiponectina nos participantes hipertensos do presente estudo sugere que pode haver outro fator implicado na hipertensão além dos níveis deste marcador.

A concentração sérica de adiponectina não se apresentou reduzida nos indivíduos tabagistas em relação aos não e, ex-tabagistas no nosso estudo, contrariando os dados da literatura que revelam níveis reduzidos de adiponectina provocado pelo tabagismo (AL-ATTAS *et al.*, 2013). Cabe ressaltar que a análise não foi ajustada para o sexo e que esse fator pode ter influenciado nas medianas dos grupos. Como já mencionado, as mulheres apresentaram níveis mais elevados de adiponectina do que os homens no presente estudo. Deve-se ressaltar ainda que os tabagistas representaram apenas 9,3% da amostra em estudo e esse número pequeno pode ter influenciado os resultados.

No presente estudo, para aqueles indivíduos em uso excessivo de etanol, os níveis séricos de adiponectina mostraram-se significativamente diminuídos em relação aos que não fazem uso excessivo. Se o consumo excessivo de etanol influencia os níveis de adiponectina ainda é uma questão sob debate. Os nossos resultados sinalizam para um dano provocado pelo consumo excessivo de etanol. No entanto, apenas 8,7% dos participantes faziam uso excessivo de etanol, o que indubitavelmente constitui fator limitante. Todavia, estudos realizados em animais alimentados com etanol, demonstraram que a elevação suprafisiológica dos níveis de adiponectina mediante uso de adiponectina recombinante ou modificação da dieta foi suficiente para reduzir a esteatose e lesão hepática (BUECHLER *et al.*, 2009; XU *et al.*, 2011). Tal achado sugere um efeito benéfico sobre o dano hepático provocado pelo uso excessivo de etanol. Reforçando o achado prévio, Xu *et al.*, 2003, reportaram que adiponectina é capaz de amenizar a doença hepática associada com

obesidade e álcool, incluindo hepatomegalia, esteatose e níveis elevados de alanina aminotransferase (XU *et al.*, 2003).

Contrariamente à expectativa, não houve aumento significativo para graus crescentes de intensidade de atividade física na concentração sérica de adiponectina. Entretanto, houve uma tendência gradativa ao aumento da concentração de seus níveis conforme a intensidade da atividade, se fraca, moderada e forte. Mais uma vez, o número de participantes do presente estudo que praticava forte atividade física foi muito limitado (apenas 7,6%), o que é um fator limitante da análise. Tem sido reportado na literatura que o exercício físico aeróbico moderado a intenso em programas para perda de peso é capaz de elevar os níveis de adiponectina (KRIKETOS *et al.*, 2004; AL-ATTAS *et al.*, 2013), o que vem atestar os efeitos positivos da prática de atividade física.

Em relação ao IMC, os indivíduos obesos e com sobrepeso apresentaram concentração sérica de adiponectina menor que os eutróficos. Cinquenta e sete e meio por cento (57,5%) dos indivíduos com níveis de adiponectina ≤ 2.344 ng/mL apresentavam sobrepeso ou eram obesos. É bem estabelecido que a concentração sérica de adiponectina correlacione inversamente com o IMC. Em concordância com essa afirmativa, Arita *et al.*, 1999, mostrou que a concentração plasmática de adiponectina em indivíduos obesos foi significativamente menor em relação aos indivíduos não-obesos e, ainda, que as concentrações plasmáticas de adiponectina correlacionaram negativamente com o IMC, tanto para o sexo masculino, quanto para sexo feminino.

Em condições fisiológicas o tecido adiposo secreta proteínas que influenciam no metabolismo corporal, como a leptina que transmite sinal de saciedade pela corrente sanguínea ao cérebro (ZHANG *et al.*, 1994). Quando da desregulação de adipocinas, como a leptina, há uma predisposição ao desequilíbrio metabólico, o que desencadeia o desenvolvimento da obesidade (FISMAN & TENENBAUM, 2014).

Quanto à dislipidemia, foi observada uma elevada prevalência de indivíduos com alteração do perfil lipídico, correspondendo a 59,7% dos participantes do

nosso estudo. Os indivíduos com dislipidemia apresentaram níveis de adiponectina significativamente reduzidos em comparação aos não dislipidêmicos. Quando se considerou o quartil inferior da distribuição dos níveis de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL), essa diferença permaneceu significativa.

Os indivíduos com níveis de adiponectina diminuídos apresentaram também níveis aumentados de TG e reduzidos de HDLc, confirmando em outro tipo de análise, a dislipidemia presente nestes indivíduos. Pode-se observar que a glicemia de jejum e os níveis de insulina foram significativamente mais elevados naqueles participantes com níveis reduzidos de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL). Tais dados interpretados em conjunto remetem à ideia de uma associação entre níveis reduzidos de adiponectina e predisposição à síndrome metabólica, diabetes e dislipidemia. Em consonância com nossos resultados, Tschritter *et al.*, 2003, observaram correlação negativa, tanto em homens quanto em mulheres, entre a concentração de TG em jejum e níveis de glicose, teste de tolerância oral de 120 minutos, com concentração plasmática de adiponectina. Os mesmos autores reportaram também no mesmo estudo uma correlação direta entre níveis de HDLc e de adiponectina.

Quanto ao uso de medicamentos sobre os níveis de adiponectina, tanto os hipoglicemiantes, como os antihipertensivos e hipolipemiantes não impactaram significativamente os níveis deste marcador. Ainda com relação ao uso de medicamentos, a análise em função de níveis reduzidos de adiponectina mostrou que apenas os hipolipemiantes parecem apresentar um efeito favorável sobre os níveis de adiponectina, considerando que a maioria dos indivíduos em uso (88%) não apresentaram níveis reduzidos deste marcador (contra apenas 12% que apresentaram). Tal achado se sustenta por inúmeros relatos na literatura sobre os efeitos benéficos do uso das estatinas. Por meio de ensaios clínicos randomizados e meta análises, foi possível verificar que o uso de estatinas resulta em uma significativa redução de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e morte por doença cardiovascular (RIDKER *et al.*, 2008; BAIGENT *et al.*, 2010; MIHAYLOVA *et al.*, 2012). Conforme descrito por Nicholls *et al.*, 2011, o uso de estatinas apresenta

também efeitos antiinflamatórios e sobre a placa aterosclerótica, podendo levar a uma modesta redução do ateroma.

Com relação ao efeito de alguns medicamentos sobre os níveis de adiponectina, alguns hipoglicemiantes tais como as Glitazonas elevam a concentração deste marcador em indivíduos normais, obesos e com diabetes mellitus tipo 2 (YU *et al.*, 2002). A Sulfoniluréia glimeperida também eleva os níveis circulantes de adiponectina no diabetes mellitus tipo 2 (TSUNEKAWA *et al.*, 2003). Outros medicamentos anti-hipertensivos, como agentes bloqueadores do sistema renina angiotensina, aumentam significativamente a concentração sanguínea de adiponectina (HAN *et al.*, 2007). Agonistas do receptor PPAR γ , como as Tiazolidinas, podem também aumentar a expressão da adiponectina. Por outro lado, mutações no gene desse receptor resultam em concentrações muito baixas de adiponectina (COMBS, *et al.*, 2002).

No presente estudo as análises com foco nas variações nos níveis de adiponectina por uso de medicamento ficaram limitadas devido ao fato da maioria dos participantes não usarem medicação. Para acompanhamento do aumento real na concentração de adiponectina, a comparação mais adequada seria aquela onde fosse possível a comparação do grupo de indivíduos no estado de hipoadinectinemia antes e, após o uso de medicamento. Outro possível interferente foi o fato da análise ter sido realizada com agrupamento de classes de medicamento. Por exemplo, os anti-hipertensivos foram agrupados em inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), bloqueadores do receptor de angiotensina II, etc. Os hipoglicemiantes foram agrupados em insulina, hipoglicemiante oral e, ainda, combinação das duas classes.

Quanto à caracterização laboratorial de rotina pode-se observar que embora aparentemente saudáveis vários participantes do estudo apresentaram valores alterados de glicemia de jejum, insulina, CT, TG, HDLc e LDLc, o que configura um quadro sub-clínico de risco para doenças crônico-degenerativas. Particularmente, níveis reduzidos de adiponectina foram observados naqueles com níveis mais baixos de HDLc e mais altos de TG. Esta correlação entre

níveis reduzidos de adiponectina e marcadores comprovadamente de risco cardiovascular vem reforçar o papel antiaterogênico da adiponectina.

6.2 Parâmetros da tonometria arterial periférica e níveis séricos de adiponectina

Os parâmetros avaliados pelo EndoPAT refletem danos provocados pelos efeitos do estresse oxidativo e da ativação de mecanismos pró inflamatórios na microvasculatura, causados pelos fatores de risco metabólicos resultando na diminuição da biodisponibilidade do ON (JONK *et al.*, 2007).

Os valores acima do *cutoff* para BPA $\geq 6,64$, correspondente ao 3º quartil na distribuição da amostra representa um pior indicador de função endotelial e, portanto, é de interesse como valor prognóstico. Em condições fisiológicas o endotélio produz baixas concentrações de ON e, por conseguinte, o valor de BPA é mais baixo em comparação com indivíduos com disfunção endotelial. Esse indicador foi utilizado para avaliar a amplitude de pulso basal na microvasculatura digital realizado no estudo de Brant *et al.*, 2014.

De maneira paralela, foi proposto o *cutoff* para PAT ratio $\leq 0,20$, correspondente ao 1º quartil na distribuição da amostra, o outro indicador de pior função endotelial. Indivíduos com melhor função endotelial apresentaram valores de PAT ratio maiores em comparação com indivíduos com pior função endotelial. No diagrama de dispersão foi possível avaliar valores de adiponectina para classificação de melhor ou pior função endotelial de acordo com os valores de BPA e PAT ratio. Por meio do EndoPAT (BPA + PAT ratio), avaliou-se a capacidade de dilatação dependente do endotélio da microvasculatura após estímulo mecânico de isquemia, ou seja, o exame refletiu a vasodilatação em resposta à produção de ON.

Os nossos achados indicaram uma concentração de adiponectina significativamente menor, tanto no grupo com BPA $\geq 6,64$, quanto para PAT ratio $\leq 0,20$. Na análise de combinação dos dois parâmetros para avaliação da função endotelial, a concentração de adiponectina também se mostrou

significativamente diminuída para os grupos com piores indicadores de função endotelial. Em suma, para ambos os parâmetros, valores de BPA elevados e de PAT *ratio* baixos associaram-se com concentrações de adiponectina diminuídas (≤ 2.344 ng/dL), significativamente.

No presente estudo, valores piores para os indicadores de função endotelial se associaram com concentração diminuída de adiponectina. Segundo a literatura, a adiponectina promove uma diversidade de ações antiateroscleróticas, tais como: inibição da produção de molécula de adesão celular vascular -1 (VCAM-1) e selectina E (MATSUZAWA *et al.*, 2003); inibição da adesão de monócitos às células endoteliais (OUCHI *et al.*, 2000); modulação da transformação celular de macrófagos (OUCHI *et al.*, 2001); reparo endotelial e angiogênese pelo recrutamento de células progenitoras endoteliais do baço e medula óssea para o endotélio lesionado (ISSAN *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2011). Dessa forma, promove o reparo endotelial e, ainda inibe ou retarda o processo inflamatório anterior à aterosclerose. Certamente, indivíduos que perdem esse fator protetivo, ou seja, níveis circulantes normais de adiponectina, não dispõem desse aparato necessário para reparação ao estresse oxidativo no endotélio.

Estudos de imuno-histoquímica mostram que a adiponectina apresenta adesão acentuada à parede dos vasos danificados previamente (OKAMATO *et al.*, 2000) no intuito de repará-los. Portanto, pior função endotelial, que se traduz em perda da capacidade vasodilatadora do endotélio dependente da ação do ON, seria conseqüente à redução da concentração sérica de adiponectina. A ação benéfica da adiponectina no endotélio seria possivelmente mediada pela T-caderina, uma proteína de ligação da adiponectina associada à membrana nas células musculares lisas vasculares e endoteliais (YAMUCHI *et al.*, 2002).

Portanto, foi observado no presente estudo que níveis diminuídos de adiponectina correlacionaram inversamente com maiores valores de BPA (tônus vascular basal) e diretamente com menores valores de PAT *ratio*, sendo que ambos os parâmetros significam pior saúde microvascular, assim como níveis diminuídos de adiponectina significam menor proteção vascular. Isso

significa que, uma vez ocorrida a instalação da disfunção endotelial provocada por fatores de risco, a detecção de baixa concentração de adiponectina seria sugestiva de dano microvascular medido pela tonometria arterial periférica. De acordo com nossos resultados, a associação de níveis diminuídos de adiponectina foi mais forte para o tônus vascular basal BPA, do que para o PAT *ratio*, possivelmente pelo fato do BPA ser uma medida direta da saúde vascular no estado de equilíbrio do organismo. O PAT *ratio* pode não revelar variabilidade individual diante de um processo patológico. Outras variáveis podem também interferir na capacidade de resposta ao estímulo de vasodilatação que não somente a vasodilatação dependente do endotélio, como por exemplo, a estimulação do sistema nervoso simpático e parassimpático no controle da pressão arterial do indivíduo.

6.3 Análise de regressão logística multivariada: níveis diminuídos de adiponectina (≤ 2.344 ng/mL) versus características dos participantes do estudo

Por meio da análise de regressão logística multivariada foi investigada a associação de cada variável com o evento concentração de adiponectina abaixo do *cutoff* proposto (≤ 2.344 ng/mL), de forma independente. Foi observado neste modelo que indivíduos do sexo masculino apresentam 03 vezes mais chance de apresentar níveis diminuídos de adiponectina, enquanto o uso de estatina reduz a chance em 68% de apresentar níveis de adiponectina diminuídos. Com relação às variáveis contínuas, o acréscimo de cada μ UI/dL nos níveis de insulina sérica aumenta em cerca de 5% a chance de apresentar níveis de adiponectina diminuídos, enquanto o acréscimo de cada unidade (mg/dL) para o HDLc, reduz a chance em 5,6% de apresentar níveis de adiponectina diminuídos.

Dessa forma, de acordo com o nosso modelo, o sexo masculino, possivelmente pela característica hormonal inerente ao este gênero; as concentrações séricas de HDLc e insulina, além do uso de estatina podem interferir na concentração sérica de adiponectina.

Em suma, a relação observada entre níveis reduzidos de adiponectina e fatores de risco metabólicos predisponentes à doença cardiovascular, pode sugerir algum papel para a adiponectina como uma ferramenta adicional para avaliação de risco cardiovascular.

Uma análise geral e criteriosa dos nossos dados sugere que na linha de base do ELSA - Brasil, especificamente do CI - MG, há participantes com fatores de risco tradicionais bastantes significativos predisponentes ao processo aterosclerótico. Aliado aos fatores de risco tradicionais, os resultados do EndoPAT acusando disfunção endotelial e as baixas concentrações de adiponectina encontradas, vêm corroborar com a ideia de doença subclínica em alguns dos participantes.

7 CONCLUSÕES

A análise dos dados permitiu concluir que:

- Os níveis de adiponectina variaram em função das características sociodemográficas e clínicas dos participantes do estudo;
- Houve associação entre níveis reduzidos de adiponectina e fatores de risco predisponentes à síndrome metabólica, diabetes e dislipidemia, corroborando com a ideia de doença subclínica em alguns dos participantes;
- A associação entre níveis reduzidos de adiponectina e marcadores comprovadamente de risco cardiovascular vem reforçar o papel antiaterogênico da adiponectina.

8 REFERÊNCIAS

AL-ATTAS, O. S. *et al.* The relationship between a Mediterranean diet and circulating adiponectin levels is influenced by cigarette smoking. **J Atheroscler Thromb**, v. 20, p.313-320, 2013.

AIMIN, XU *et al.* The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. **J Clin Invest**, v. 112(1), p. 91-100, 2003.

AIMIN, XU; PAUL M. V. Adiponectin and adipocyte fatty acid binding protein in the pathogenesis of cardiovascular disease. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 302, p. 1231-1240, 2011.

ARCARO, G. *et al.* Body fat distribution predicts the degree of endothelial dysfunction in uncomplicated obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 23(9), p. 936-42, 1999.

ARITA, Y. *et al.* Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 257(1), p. 79-83, 1999.

AQUINO, E. M. L. *et al.* Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): Objectives and Design. **Am J Epidemiol**, v. 175(4), p. 315-324, 2012.

BAIGENT, C. *et al.* Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. **Lancet**, v. 376, p. 1670-81, 2010.

BIGORNIA, S. J. *et al.* Insulin status and vascular responses to weight loss in obesity. **J Am Coll Cardiol**, v. 62, n. 24, 2297-305, 2013.

BONETTI, P. O. *et al.* Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. **J Am Coll Cardiol**, v. 44, p. 2137-2141, 2004.

BRANT, L. C. C. *et al.* Relations of Digital Vascular Function, Cardiovascular Risk Factors and Arterial Stiffness: The Elsa-Brasil Cohort Study. **J Am Heart Association**, v.3, p. 1-11, 2014

VIGITEL. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. ELSA Brasil: maior estudo epidemiológico da América Latina. **Revista de Saúde Pública**, 2009; 34(9).

CHEN J. W. Globular adiponectin improves high glucose-suppressed endothelial progenitor cell function through endothelial nitric oxide synthase dependent mechanisms. **J Mol Cell Cardiol**, 51:109–119, 2011.

COMBS, T. P.; WAGNER, J. A.; BERGER, J. *et al* Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPAR γ agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. **Endocrinology**, v. 143, p. 998-1007, 2002.

COMUZZIE, A. G. *et al.* The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, p. 4321-4325, 2001.

CURTI, M.L. *et al.* Associations of the TNF-alpha -308 G/A, IL6-174 G/C and AdipoQ 45 T/G polymorphisms with inflammatory and metabolic responses to lifestyle intervention in Brazilians at high cardiometabolic risk. **Diabetol Metab Syndr**, v. 4, p. 49, 2012.

DORES, H. A. G. P. *et al.* Performance of traditional risk factors in identifying a higher than expected coronary atherosclerotic burden. *Rev Port Cardiol*, v. 34(4), p. 247-53, 2015.

DELAIGLE, A.M. *et al.* Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. **Endocrinol.** V. 145, p. 5589-5597, 2004.

FISMAN, E.Z.; TENENBAUM, A. Adiponectina: um alvo múltiplo para síndrome metabólica, diabetes e doença coronariana. **Diabetol Cardiovasc**, v. 13, p. 103, 2014.

FLEGAL, KM, *et al.* Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. **J Am Med Association**, v. 309(1), p. 71-82, 2013.

FLEMING, T. N. M. *et al.* Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980 - 2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet**, v. 384, p. 766-81, 2014 .

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 299, p. 373-376, 1980.

GALIC, S.; OAKHILL, J. S.; STEINBERG, G. R. Adipose tissue as an endocrine organ. **Mol Cell Endocrinol.** v. 316, p. 129-139, 2010.

GIL, C. M.; CANETE, R. R.; GIL, A. Adiponectin, the missing link in insulin resistance and obesity. **Clin Nutr.** v. 23(5), p. 963-74, 2004.

GIL, J. S. *et al.* The impact of metabolic syndrome on metabolic, pro-inflammatory and prothrombotic markers according to the presence of high blood pressure criterion. **Clinics**, v. 68, p. 1495-1501, 2013.

HAMBURG, N. M.; BENJAMIN, E. J. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. **Trends Cardiovasc Med**. v. 19, p. 6-11, 2009.

HAMBURG, N. M. *et al.* Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 117, p. 2467-2474, 2008.

HAN SH, *et al.* Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. **J Am Coll Cardiol**. v. 49, p. 531-538, 2007.

HARA K, *et al.* Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. **Diabetes**, v. 51(2), p. 536-40, 2002.

HUBERT H. B. *et al.* Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 67, p. 968-77, 1983.

ISSAN Y, *et al.* Endothelial progenitor cell function inversely correlates with long-term glucose control in diabetic patients: association with the attenuation of the heme oxygenase-adiponectin axis. **Can J Cardiol**, v. 28, p. 728-736, 2012.

KISSEBAH, A. H. *et al.* Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, p. 14478-14483, 2000.

KUMADA, M. *et al.* Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23(1), p. 85-9, 2003.

KUVIN, J.T. *et al.* Assessment of Peripheral Vascular Endothelial Function with Finger Arterial Pulse Wave Amplitude. **Am Heart J**, v. 146 (1), p. 168-174, 2003.

KRIKETOS A. D. *et al.* Exercise increases adiponectin levels and insulin sensitivity in humans. **Diabetes Care**, v. 27, p. 629-630, 2004.

LE BROCCQ, M. *et al.* Endothelial dysfunction: from molecular mechanisms to measurement, clinical implications, and therapeutic opportunities. **Antioxid Redox Signal**, v.10(9), p. 1631-74, 2008.

LIBBY, P., RIDKER, P. M., MASERI, A. *et al.* Inflammation and atherosclerosis. **Circulation**, v. 115, p. 1135-1143, 2002.

MAEDA K, *et al.* cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). **Biochem Biophys Res Commun**, v. 221(2), p. 286-9, 1996.

MATSUZAWA, Y. *et al.* Importance of adipocytokines in obesity-related diseases. **Horm Res**, v. 60, p. 56-59, 2003.

MATSUZAWA, Y. *et al.* Peripheral endothelial function and cardiovascular events in high-risk patients. **J Am Heart Assoc**, v.2, 2013.

MATSUZAWA, Y. *et al.* Digital assessment of endothelial function and ischemic heart disease in women. **J Am Coll Cardiol**, v. 55, p. 1688-1696, 2010.

MIHAYLOVA, B. *et al.* The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. **Lancet**, v. 380, p. 581-90, 2012.

MODAN, M. K. *et al.* Effect of past and concurrent body mass index on prevalence of glucose intolerance and type 2 diabetes and insulin response: the

Israeli study of glucose tolerance, obesity and hypertension. **Diabetologia**, v. 29, p. 82-9, 1986.

NICHOLLS, S. J. *et al.* Effect of two intensive statin regimens on progression of coronary disease. **N Engl J Med**, v. 365, p. 2078-87, 2011.

NOHRIA, A. *et al.* Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. **J Appl Physiol**, v. 101, p. 545-548, 2006.

OKAMOTO, Y. *et al.* An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. **Horm Metab Res**, v. 32, p. 47-50, 2000.

OLIVEIRA, G. B. F., FRANÇA, J. O. D., PIEGAS, L. S. Serum Adiponectin and Cardiometabolic Risk in Patients with Acute Coronary Syndromes – Brazil. **Arq Bras Cardiol**, v. 101(5), p. 399-409, 2013.

OHASHI, K. *et al.* Adiponectin I164T Mutation Is Associated With the Metabolic Syndrome and Coronary Artery Disease. **J Am College Cardiol**, v. 43, n. 7, 2004.

OUCHI, N. *et al.* Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. **Circulation**, v.102(11), p. 1296-301, 2000.

OUCHI, N. *et al.* Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. **Hypertension**, v. 42, p. 231-234, 2003.

RIDKER, P. M. *et al.* Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. **N Engl J Med**, v. 359, p. 2195-207, 2008.

RUBINSZTEIN R, *et al.* Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. **Eur Heart J**. 2010; 31:1142-1148.

ROBINSON, K., PRINS, J., VENKATESH, B. Clinical review: Adiponectin biology and its role in inflammation and critical illness. **Critical Care**, 2011; 15:221.

ROSS, R. Atherosclerosis an inflammatory disease. **N Engl J Med.**; 340(2):115-26, 1999.

SCHMIDT, M. I. *et al.* Cohort Profile: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA - Brasil). **International Journal of Epidemiology**, v. 44, n. 1, p. 68-75, 2015.

SCHNABEL, R. B. *et al.* Noninvasive vascular function measurement in the community: cross-sectional relations and comparison of methods. **Circ cardiovasc imaging**, v.4, p. 371-380, 2011.

SHWEIKI, D. *et al.* Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. **Nature**, v. 359(6398), p. 843-5, 1992.

SILVA, M. V. F. S. *et al.* Atherothrombosis and antiplatelet drugs. **Rev Bras Cardiol**, v. 26(3), p. 221-30, 2013.

TIRABY, C.; LANGIN, D., Conversion from white to brown adipocytes: a strategy for the control of fat mass. **Trends Endocrinol Metab.** v.14, p. 439-441, 2003.

TONG, G. *et al.* Common variants in adiponectin gene are associated with coronary artery disease and angiographical severity of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. **Cardiovasc Diabetol**, v.12, p. 67, 2013.

TSCHRITTER, O. *et al.* Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. **Diabetes**, v. 52(2), p. 239-43, 2003.

TSUNEKAWA, T. *et al.* Plasma adiponectin plays an important role in improving insulin resistance with glimepiride in elderly type 2 diabetic subjects. **Diabetes Care**, v. 26, p. 285-289, 2003.

URUSHIMA, H. *et al.* The effects of androgen deprivation therapy with weight management on serum aP2 and adiponectin levels in prostate cancer patients. **Aging Male**, v. 18(2), p. 72-6, 2015.

VAIOPOULOS, A. G. *et al.* The role of adiponectin in human vascular physiology. **Int J Cardiol**, v. 155(2), p. 188-93, 2012.

VANDACK, N. *et al.*, Uso da tonometria arterial periférica – hiperemia reativa e biomarcadores séricos para predição de prognóstica na sepse. **Rev Bras Terapia Int**, v. 28(4), p. 387-396, 2016.

VAN STIJN, C. M. *et al.* Adiponectin expression protects against angiotensin II-mediated inflammation and accelerated atherosclerosis. **PLoS One**, v. 9(1), 2014.

VERMA, S., BUCHANAN, M. R., ANDERSON, T. J. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. **Circulation**, v. 108(17), p. 2054-9, 2003.

VON FRANKENBERG, A. D., REIS, A. F., GERCHMAN, F. Relationships between adiponectin levels, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes: a literature review. **Arch Endocrinol Metab**,; v.61, p. 614-622, 2017.

VIGITEL. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

WEYER, C. *et al.* Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86(5), p. 1930-5, 2001.

WIDLANSKY, M. E. *et al.* The clinical implications of endothelial dysfunction. **J Am Coll Cardiol**, v. 42, p. 1149-1160, 2003.

YAMUCHI, T. *et al.* Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nat Med**, v. 8, p. 1288-1295, 2002.

YAMAUCHI, T. *et al.* The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. **Nat Med**, v. 7(8), p. 941-6, 2001.

YU, J. G. *et al.* The effect of thiazolidinediones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type 2 diabetic subjects. **Diabetes**, v. 51, p. 2968-2974, 2002.

ZOCCALI, C. *et al.* Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. **J Am Soc Nephrol**, v. 13(1), p. 134-41, 2002.

9 ANEXOS

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto

ELSA BRASIL

ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO (ELSA - Brasil)

Repetição da mensuração da função endotelial pela tonometria arterial periférica

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Apresentação do estudo

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA - Brasil) é uma pesquisa sobre doenças crônicas que acometem a população adulta, incluindo as doenças cardiovasculares, o diabetes e a demência. É um estudo pioneiro no Brasil por acompanhar os adultos estudados por um longo período de tempo, em várias etapas. O ELSA - Brasil é desenvolvido por seis Centros de Investigação pertencentes a instituições públicas de ensino e pesquisa, localizados em seis estados brasileiros (BA, ES, MG, RJ, RS e SP)¹ e coordenado por representantes de cada centro, do Ministério da Saúde e do Ministério da Ciência e Tecnologia, tendo sido aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa dos seis centros. Em Belo Horizonte, o estudo está sob a responsabilidade da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a coordenação do Hospital das Clínicas.

No Centro de Investigação ELSA de Minas Gerais (CI - MG), os participantes do ELSA-Brasil realizaram exame para avaliar a função endotelial por meio de um método não invasivo denominado tonometria arterial periférica. Sabe-se que a função endotelial alterada está relacionada a maior risco de eventos cardiovasculares adversos. Com os primeiros resultados, observamos que há relação entre obesidade e prejuízo da função endotelial. Com base nesses achados, novas medidas da função endotelial serão realizadas, pois pretendemos avaliar qual é o efeito da variação do peso do participante na função endotelial. Para garantir a qualidade dos resultados, o exame será realizado de forma padronizada, conforme executado na primeira fase do ELSA - Brasil.

Objetivo

Avaliar a relação entre a alteração no peso e a variação das medidas de função endotelial microvascular.

¹ Universidade Federal da Bahia (UFBA), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Universidade de São Paulo (USP).

Instituições envolvidas

O exame para avaliação da função endotelial (EndoPAT) será realizado no Centro de Tecnologia em Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG, localizado no Campus Saúde, Av. Alfredo Balena, nº190, Bairro Santa Efigênia, atrás do Hospital São Geraldo, em frente ao Banco Sicoob Credicom, próximo a uma guarita dos seguranças do Campus Saúde.

Participação no estudo

O(a) Sr(a) está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) para nova mensuração da sua função endotelial no ELSA - Brasil.

Este exame tem o objetivo de avaliar a dilatação dos vasos do braço após a diminuição da circulação para a mão, por meio de curvas no computador. A diminuição da circulação será realizada através da insuflação do aparelho de pressão no braço, como é feito quando medimos a pressão. O exame tem três etapas: antes, durante e após a insuflação. Durante a insuflação, você poderá sentir um formigamento e desconforto na mão, que melhora ao final e não causa danos a sua saúde. Para o sucesso do exame, é importante que você fique relaxado e evite a movimentação.

As contraindicações para o exame são: presença de deformidades nos dedos, mastectomia com esvaziamento axilar prévio, fístula artério-venosa, Doença de Raynaud ou qualquer condição que impossibilite medir a pressão no braço não dominante.

Seus direitos como participante

Sua participação neste estudo é inteiramente voluntária. Se quiser, poderá deixar de participar da pesquisa a qualquer momento.

Não será feito qualquer pagamento pela sua participação. Os voluntários poderão ter acesso aos resultados das análises realizadas no estudo por meio de publicações científicas e do *website* oficial da pesquisa (www.elsa.org.br).

Os resultados obtidos neste exame não têm como objetivo o diagnóstico de uma doença. Trata-se de método em investigação para avaliação da função endotelial, que é uma manifestação inicial da aterosclerose. A aterosclerose é uma doença dos vasos que pode evoluir para infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral. Apesar de sabermos que a função endotelial alterada é uma manifestação inicial da aterosclerose, ainda não sabemos se conhecê-la ajudará a sabermos com mais precisão quem tem mais risco de ter os eventos graves citados.

Todas as informações obtidas do(a) senhor(a) serão confidenciais, identificadas por um número e sem menção ao seu nome. Elas serão utilizadas exclusivamente para fins de análise científica e serão guardadas com segurança. Somente terão acesso a essas informações os pesquisadores envolvidos no projeto. Em nenhuma hipótese será permitido o acesso a informações individualizadas a qualquer pessoa, incluindo empregadores, superiores hierárquicos e seguradoras.

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido lhe será entregue. Se houver perguntas ou necessidade de mais informações sobre o estudo, ou qualquer intercorrência, o(a) Sr(a) pode procurar a coordenadora do ELSA - Brasil em Minas Gerais, Professora Sandhi Maria Barreto, Faculdade de Medicina, no endereço: Av. Alfredo Balena, nº 190, Santa Efigênia. Telefone: (31) 3409-9016.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais pode ser contatado pelo seguinte telefone: (31) 3409-9140.

Sua assinatura a seguir significa que o(a) Sr(a) leu e compreendeu todas as informações e concorda em participar da repetição da avaliação da função endotelial no ELSA - Brasil.

Nome do(a) participante: _____
Documento de identidade: _____
Data de nascimento: _____ / _____ / _____
Endereço _____ _____ CEP _____
Telefones para contato: _____

Declaro que compreendi as informações apresentadas neste documento e dei meu consentimento para participar de nova mensuração da função endotelial, realizada pelo Centro de Investigação ELSA de Minas Gerais.
Assinatura: _____
Data: _____ / _____ / _____

Assinatura do pesquisador: _____

Local: _____

Data: _____ / _____ / _____

ANEXO B - QUESTIONÁRIOS DA LINHA DE BASE DO ELSA – Brasil

Questionários	Variáveis
Características sociodemográficas	idade, gênero e raça/etnia, classe social, histórico de migração, localização e duração da residência, histórico educacional e ocupacional (participante e cônjuge), renda familiar e bens domésticos, características do agregado familiar e composição familiar (presente e passado), história conjugal e características do parceiro, assistência familiar, religião (presente e passado), escolaridade dos pais e condições de ocupação e vida durante a infância
Saúde e história médica	saúde auto-avaliada, história médica de doenças cardiovasculares, diabetes, doenças renais, câncer e outras doenças crônicas selecionadas e procedimentos médicos de interesse, questionário de angina de rosa e questionários para claudicação intermitente e insuficiência cardíaca, e questionário sobre dor de cabeça
Exposição profissional	estresse no trabalho, características do trabalho (grau de autonomia, participação nos fundos e autoridade), status da aposentadoria, conflitos entre o trabalho e as demandas da família
História familiar de doença	história de doenças específicas, como doenças cardiovasculares, diabetes e morte súbita
Saúde reprodutiva	menarca, ciclos menstruais e menopausa, uso de anticoncepcionais, história reprodutiva, terapia hormonal e infertilidade
Cuidados de saúde	acesso a cuidados/exames preventivos de saúde, seguro de saúde e utilização de serviços de saúde

continua

Fatores psicossociais	características do bairro (lazer, esportes, acesso à compra de alimentos), redes sociais, experiência de discriminação, capital social, eventos da vida estressante, status social auto-avaliado, peso ao nascer e peso aos 20 anos
História de peso corporal e imagem do corpo	imagem do corpo (atual e desejada)
Consumo de alimentos	questionário de frequência alimentar
Tabagismo	hábito de fumo passado (ex-fumante) e atual (fumante); e exposição passiva ao tabaco
Consumo de Etanol	tipo e frequência usuais de ingestão e padrões de consumo de etanol
Atividade física	atividade física atual, incluindo atividades de lazer e esporte
Uso de medicamentos	medicamentos prescritos e sem receita médica, suplementos vitamínicos / dietéticos, e outros tomados no último mês
Saúde mental	todas as 14 seções do <i>Clinical Interiew Schedule Revised</i> (CIS-R) - sintomas somáticos, fadiga, concentração, depressão, irritabilidade, sono, preocupação com a saúde física, ideias depressivas, preocupação, ansiedade, fobia, pânico, compulsões e obsessões
Função cognitiva	3 testes cognitivos incluídos na versão brasileira do Consórcio para Estabelecimento de Registro de Doença de Alzheimer (CERAD): leitura de palavras e teste de retenção para avaliação da memória; testes de fluência verbal (semântica e fonêmica); e <i>Trail Making Test B</i> para avaliação de funções executivas relacionadas à atenção, concentração e velocidade psicomotora

ANEXO C - EXAMES E MEDIDAS REALIZADAS NA LINHA DE BASE DO ELSA – Brasil

Procedimento	Descrição
Medidas antropométricas	peso, altura, altura, e medida de cintura, quadril e circunferência de pescoço
Pressão arterial	procedimento padrão (5 minutos em repouso e três determinações), usando esfigmomanômetro oscilométrico (Omron 765CP; Omron, Kioto, Japan)
Índice tornozelo/braquial	pressão arterial no braço e tornozelo, obtida usando procedimento Doppler padronizado
Teste de Hipotensão ortostática	após 20 minutos com o participante deitado, a medida da pressão arterial foi tomada, e a medida foi repetida com o participante na posição de pé
Eletrocardiograma	ECG 12-chumbeo faixa de ritmo de dois minutos (Burdick Atria 6100; Cardiac Science, Bothell, Washington). Leituras e critério de diagnóstico baseado no código de definições de Minnesota
Variabilidade na frequência cardíaca	índices temporais e espectrais determinados a partir de registro de ECG de 10 minutos obtido na posição deitado a partir da derivação DII a 250 Hz (WinCardio; Micromed, Brasília, Brazil)
Ecocardiografia transtorácica	obtida com obtida com sistema de ultrassom comercial de tradução de 2 para 3,5 MHz (Aplio XG; Toshiba Corporation, Tshigi, Japan)
Velocidade da onda de pulso carotídeo-femural	rigidez arterial foi medida usando dispositivo automático não invasivo validado (Complior SP, Artech Medical, Paris, France)
Espessura íntima média da artéria carótida	ultrassonografia da carótida de ambas as carótidas comuns com tradutor linear (frequência nominal do tradutor de 7,5MHz) (Aplio XG) com resolução axial de aproximadamente 0,10 mm
Medida das camadas de gordura abdominal	camada de gordura da preperitoneal e subcutânea obtida com tradutor linear (frequência nominal do tradutor de 7,5 MHz) (Aplio X)
Esteatose não alcóolica	ultrassonografia do fígado (Aplio XG)

continua

Fotografia da retina	imagens centrada em mácula e disco óptico de cada olho obtida com um Canon CR 1, sistema midiátrico com câmera não digital EOS 40D (10-megapixel) (Canon, Tochigiken, Japan)
Exames laboratoriais	contagem de células sanguíneas, glicemia, colesterol total e colesterol de alta densidade (HDL-c), triglicerídeos, creatinina, gama-glutariltransferase, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, ácido úrico, cálcio, hemoglobina glicada, proteína C reativa de alta densidade, tiroxina e hormônio estimulante da tireóide (TSH), insulina, anticorpo para doença de Chagas, sódio e potássio urinário, e microalbuminúria

ANEXO D - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

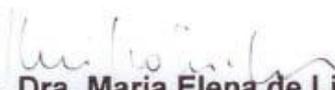
Parecer nº. ETIC 186/06

Interesse: Prof. (a) Sandhi Maria Barreto
Depto. De Medicina Preventiva e Social
Faculdade de Medicina -UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 28 de junho de 2006 o projeto de pesquisa intitulado **“ELSA - Estudo longitudinal da saúde do adulto.”** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


pi **Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia**
Presidente do COEP/UFMG