

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

MAIRA CÂNDIDA RODRIGUES DE SOUSA

**Associação entre vitamina D e função endotelial em uma
subamostra de participantes do Estudo longitudinal da saúde
do adulto (ELSA – BRASIL)**

BELO HORIZONTE

2021

MAIRA CÂNDIDA RODRIGUES DE SOUSA

**Associação entre vitamina D e função endotelial em uma
subamostra de participantes do Estudo longitudinal da saúde
do adulto (ELSA – BRASIL)**

Dissertação apresentada, como requisito parcial,
para obtenção do grau de Mestra 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

Coorientadora: Profa. Dra. Edna Afonso Reis - UFMG

Belo Horizonte

2021

S725a Sousa, Maira Cândida Rodrigues de.
Associação entre vitamina D e função endotelial em uma subamostra de participantes do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA - BRASIL) / Maira Cândida Rodrigues de Sousa. – 2021.
69 f.

Orientadora: Ieda de Fátima Oliveira Silva.
Coorientadora: Edna Afonso Reis.

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

1. Vitamina D – Teses. 2. Endotélio vascular – Teses. 3. Doenças crônicas – Teses. I. Silva, Ieda de Fátima Oliveira. II. Reis, Edna Afonso. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:615.328



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

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Associação da vitamina D com função endotelial e fatores de risco cardiovasculares: estudo longitudinal da saúde do adulto (ELSA - BRASIL)"

MAIRA CÂNDIDA RODRIGUES DE SOUSA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia trinta e um de agosto de dois mil de vinte e um, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Edna Afonso Reis

UFMG

Karina Braga Gomes Borges

UFMG

Luana Giatti Gonçalves

UFMG

Iêda de Fátima Oliveira Silva - Orientadora

UFMG

Belo Horizonte, 31 de agosto de 2021.



Documento assinado eletronicamente por Iêda de Fátima Oliveira Silva, Professora do Magistério Superior, em 01/09/2021, às 09:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Karina Braga Gomes Borges, Professora do Magistério Superior, em 01/09/2021, às 09:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Edna Afonso Reis, Professora do Magistério Superior, em 01/09/2021, às 10:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Luana Giatti Gonçalves, Professora do Magistério Superior, em 01/09/2021, às 16:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0936553 e o código CRC F5600AC1.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, ânimo e força. Se não fosse pela graça dEle, jamais teria chegado até aqui. Só Ele abre as portas e nos guia pelo caminho.

Aos meus pais Vilmar e Cândida, minha admiração e imensa gratidão por serem exemplos de perseverança, dedicação e amor. Muito obrigada por tanto, amo vocês!

Ao meu marido Pedro, obrigada por ser meu melhor amigo, companheiro e suporte. Por me incentivar e motivar a seguir e completar essa jornada, te agradeço! Te amo.

Meus irmãos, irmãs, cunhados, cunhadas, primos, sobrinhas e sobrinho: obrigada pelo apoio, palavras de força e alegrias compartilhadas. Tenho a melhor família do mundo.

À Profa Ieda de Fátima Oliveira Silva agradeço imensamente pela mentoria durante toda minha jornada acadêmica, pela oportunidade de aprendizado e ser a principal incentivadora para seguir a caminhada da pós-graduação.

À Profa Edna Reis, agradeço a realização da análise estatística e auxílio na interpretação e apresentação dos dados com tamanha excelência e dedicação.

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 informações de suporte para execução do trabalho.

À Dra. Luana Giatti pelo grande auxílio na construção do banco de dados e constante disponibilidade em ajudar e fornecer materiais de apoio assim como agradeço toda a equipe do Centro de Investigação do ELSA - Minas Gerais.

Agradeço aos participantes do ELSA - Brasil pela contribuição que tornou possível a concretização do estudo.

Aos professores, demais funcionários e colegas do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG agradeço a atenção, cortesia e conhecimentos compartilhados.

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

RESUMO

O Estudo longitudinal da saúde do adulto (ELSA - BRASIL) é um estudo de coorte multicêntrico e multidisciplinar voltado para investigação de incidência e fatores de risco de doenças crônicas como as cardiovasculares, diabetes e obesidade. A vitamina D tem uma importante função sistêmica através de suas ações regulatórias, anti-inflamatórias e antitrombóticas e, por isso, sua deficiência tem sido associada a diversas comorbidades. Sabe-se que existe uma possível associação entre vitamina D e função endotelial por meio do sistema renina-angiotensina, pela promoção da disponibilidade de óxido nítrico e pela imunomodulação. Diante do exposto, justifica-se a necessidade de avaliar o impacto da vitamina D sobre a disfunção endotelial em um estudo de grande escala. Nesse sentido, foram determinados os níveis séricos de vitamina D em 509 participantes do ELSA - BRASIL, CI-MG e sua associação com dados sociodemográficos, clínicos, e parâmetros de função endotelial pela Tonometria Arterial Periférica (BPA e PAT_{ratio}). Estes dados foram fornecidos pelo banco de dados do ELSA - Brasil, CI-MG, e os níveis séricos de vitamina D foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Nenhuma associação foi observada entre os níveis de vitamina D e as características sociodemográficas, comportamentais e clínicas dos participantes do estudo. No entanto, níveis reduzidos de vitamina D mostraram-se associados a uma pior função endotelial. No modelo de regressão logística, as variáveis sexo masculino, cor/raça parda, negra, amarela ou indígena, aumento na idade, IMC, triglicérides e vitamina D <30ng/mL foram indicativas de pior função endotelial. Enquanto o aumento na concentração sérica de HDLc e de vitamina D foram indicativos de melhor função endotelial. Em síntese, a vitamina D apresentou uma associação com a função endotelial que pode indicar uma ação protetora da vitamina em favor do endotélio vascular.

Palavras chaves: ELSA – Brasil; vitamina D; disfunção endotelial; EndoPAT.

ABSTRACT

The Longitudinal Study of Adult Health (ELSA - BRASIL) is a multicentric and multidisciplinary cohort study aimed at investigating the incidence and risk factors of chronic diseases such as cardiovascular disease, diabetes, and obesity. Vitamin D has an important systemic function through its regulatory, anti-inflammatory, and antithrombotic actions and, therefore, its deficiency has been associated with several comorbidities. It is known that there is a probable association between vitamin D and endothelial function through the renin-angiotensin system, by promoting the availability of nitric oxide and by immunomodulation. In this context, the need to assess the impact of vitamin D on endothelial dysfunction in a large-scale study is justified. Thus, in this study, serum levels of vitamin D were determined in 509 participants of the ELSA - BRASIL, CI-MG and its association with sociodemographic, clinical, and endothelial function parameters by Peripheral Arterial Tonometry (BPA and PAT*ratio*). These data were provided by the ELSA – Brazil / CI-MG database and vitamin D levels were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). No association was observed between vitamin D levels and the sociodemographic, behavioral, and clinical characteristics of the participants. Nevertheless, reduced levels of vitamin D were shown to be associated with indicative measures of worse endothelial function. In the logistic regression model, the variables male gender, non-white color, increase in age, BMI, triglycerides, and vitamin D <30ng/mL were indicative of worse endothelial function. While the increase in serum HDLc and vitamin D concentrations were indicative of a better endothelial function. In summary, vitamin D has presented an association with endothelial function, which may indicate a protective action of the vitamin in favor of the vascular endothelium.

Key words: ELSA – Brazil; vitamin D; endothelial dysfunction; EndoPAT.

LISTAS DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
<	Menor que
>	Maior que
≥	Maior ou igual
1,25(OH) ₂ D	1,25-dihidroxitamina D
25(OH)D	25-hidroxitamina D
ACQ	Angiografia coronária quantitativa
AMPc	Adenosina 3'5'-monofosfato cíclico
BPA	Amplitude do pulso basal
CI - MG	Centro de Investigação de Minas Gerais
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
cm	Centímetro
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
CT	Colesterol total
dL	Decilitro
DM	Diabetes Mellitus
DMF	Dilatação mediada por fluxo
DP	Desvio padrão
ELSA	Estudo longitudinal da saúde do adulto
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
E-selectina	Selectina endotelial
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FLD	Fluxometria por laser doppler
FT	Fator tissular
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1-c	Hemoglobina glicada A1-c
HDLc	Colesterol HDL
HMG-CoA	3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase
HUVEC	Células endoteliais de veia umbilical humana
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IHR	Índice de hiperemia reativa
IL-10	Interleucina 10
IL-18	Interleucina 18
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
IPAQ	<i>International Physical Activity Questionnaire</i>
Kg	Quilograma
KOH	Hidróxido de potássio
LDLc	Colesterol LDL
m ²	Metro quadrado

MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos 1
mcUI	Microunidades internacionais
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mmHg	Milímetros de mercúrio
NF-kB	Fator nuclear kB
ng	Nanograma
NOS3	Enzima sintetizadora de ON 3
°C	Graus
OMS	Organização Mundial da Saúde
ON	Óxido nítrico
PAI-1	Ativador do plasminogênio tipo 1
PAT	Tonometria arterial periférica
PAT _{ratio}	Razão da tonometria arterial periférica
PCR	Proteína C Reativa
PI	Padrão interno
POV	Pletismografia por oclusão venosa
PTH	Paratormônio
Q1	Primeiro quartil
Q3	Terceiro quartil
RAAS	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
RANKL	Receptor ativador do fator nuclear kappa B
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SBPC	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicérides
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
TRPV6	Potencial receptor de canal transitório vanilóide 6
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
UV	Ultravioleta
VCAM-1	Molécula de adesão vascular 1
VDR	Receptor de vitamina D
VDRE	Elemento de resposta à vitamina D
Vitamina D2	Ergocalciferol
Vitamina D3	Colecalciferol
VOP	Velocidade de onda do pulso

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de dispersão dos parâmetros BPA e PAT $ratio$ para a classificação de função endotelial em melhor (quadrante 1), moderada (2 e 3) ou pior (4) ----- 38

Figura 2. Gráfico de média e IC95% de concentração de vitamina D (ng/mL) segundo categorias de função endotelial ----- 40

LISTAS DE TABELAS

- Tabela 1.** Características sociodemográficas, antropométricas, comportamentais e clínicas e concentrações séricas de vitamina D dos 509 participantes do estudo ----- 34
- Tabela 2.** Classificações dos níveis de vitamina D para os participantes do estudo -- 35
- Tabela 3.** Estatísticas da concentração de vitamina D e de parâmetros laboratoriais (n=509) ----- 36
- Tabela 4.** Estatísticas dos parâmetros laboratoriais associados à concentração de vitamina D abaixo de 30 ng/mL (n=509) ----- 37
- Tabela 5.** Valores de *PATratio* e BPA de 489 participantes do estudo ----- 37
- Tabela 6.** Níveis de vitamina D versus *PATratio* < 0,2010, BPA > 6,6519 e função endotelial ----- 40
- Tabela 7.** Modelo de regressão logística para função endotelial segundo vitamina D e características dos participantes do estudo ----- 42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1	Vitamina D.....	16
2.1.2	Vitamina D e o metabolismo do cálcio	17
2.1.3	Vitamina D e os fatores de risco cardiovascular.....	18
2.2	Função Endotelial	19
2.2.1	Disfunção endotelial e risco cardiovascular	20
2.2.2	Avaliação da função endotelial.....	21
2.3	Estudo longitudinal da saúde do Adulto (ELSA - BRASIL)	23
3	OBJETIVOS	26
3.1	Geral.....	26
3.2	Específicos	26
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	27
4.1	Aspectos éticos.....	27
4.2	Casuística	27
4.3	Delineamento da investigação.....	27
4.3.1	Amostras biológicas.....	30
4.3.2	Método analítico.....	30
4.3.2.1	Determinação de vitamina D.....	30
4.3.2.2	Avaliação da função endotelial	31
4.3.3	Análise estatística.....	31
5	RESULTADOS	33
5.1	Descrição das características dos participantes e relação com a concentração de vitamina D	33
5.2	Parâmetros laboratoriais e relação com a concentração de vitamina D....	35
5.3	Medidas de função endotelial	37
5.4	Medidas de função endotelial e relação com a concentração de vitamina D	38
5.5	Modelo de regressão para a função endotelial	39
6	DISCUSSÃO	41
6.1	Características sociodemográficas, antropométricas, fatores de risco cardiovascular, uso de medicamentos e níveis séricos de vitamina D	41

6.2	Níveis de vitamina D e outros parâmetros laboratoriais	42
6.3	Vitamina D e medidas de função endotelial.....	43
6.4	Regressão logística: Função endotelial e características dos participantes do estudo.....	47
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
	REFERÊNCIAS.....	50
	ANEXOS	61
	ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	61
	ANEXO B - QUESTIONÁRIOS DA LINHA DE BASE DO ELSA – Brasil.....	64
	ANEXO C - EXAMES E MEDIDAS REALIZADAS NA LINHA DE BASE DO ELSA – Brasil	67
	ANEXO D - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	69

1 INTRODUÇÃO

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (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 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). Estes 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).

Nesse contexto, a deficiência de vitamina D tem uma alta prevalência afetando cerca de 30 a 50% da população mundial (APOSTOLAKIS *et al.*, 2018). A vitamina D tem uma importante função no metabolismo ósseo, como já descrito há alguns anos na literatura (MAEDA *et al.*, 2014; MÜLLER; KLEINWIETFIELD; KVAKAN, 2011). Atualmente, sabe-se que existem receptores dessa vitamina em diversos tecidos no organismo humano, demonstrando um grande espectro de atuação da vitamina D em várias outras vias metabólicas e inflamatórias (APOSTOLAKIS *et al.*, 2018; GRÜBLER *et al.*, 2017; SCHWARZ; NICHOLLS; PSALTIS, 2018). Sabe-se, também, que a vitamina D está envolvida no crescimento e desenvolvimento celular, autoimunidade, resistência à insulina e doenças cardiovasculares (APOSTOLAKIS *et al.*, 2018; GRÜBLER *et al.*, 2017; MÜLLER; KLEINWIETFIELD; KVAKAN, 2011; PÉREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

Foi demonstrado em estudos uma possível associação entre os níveis de vitamina D e a função endotelial por meio do sistema renina-angiotensina, através da promoção da disponibilidade de óxido nítrico (ON) e imunomodulação (JAMALI; SORENSON; SHEIBANI, 2018; KIM *et al.*, 2020). Mesmo havendo indícios que a vitamina D poderia

estar de alguma forma relacionada à função endotelial, os dados encontrados na literatura mostram-se contraditórios (ALYAMI et al., 2014; HUSSIN et al., 2016) e inconclusivos (HUSSIN et al., 2017).

A vitamina D é um fator de risco emergente que tem sido correlacionado com diversas doenças e comorbidades nos últimos anos. Alguns estudos salientam que a função endotelial, assim como a hipovitaminose D, se relacionam à obesidade, ao diabetes e à dislipidemia (ATMACA; AKBAS; ARAL, 2019; C. BREWER; D. MICHOS; P. REIS, 2010; JAMALI; SORENSON; SHEIBANI, 2018; NORMAN; POWELL; NORMAN, 2014; SCHWARZ; NICHOLLS; PSALTIS, 2018; THOMAS J. WANG, MD; MICHAEL J. PENCINA et al., 2008; ZHANG et al., 2015).

Nesse cenário, e em consonância com os objetivos do ELSA - Brasil e Edital CASU/UFMG/2015, o presente estudo avaliou a associação entre variáveis sociodemográficas, clínicas e laboratoriais, além de medidas de função endotelial microvascular da amplitude de pulso basal (BPA) e razão da tonometria arterial periférica (PAT $ratio$) e níveis séricos de vitamina D em 509 participantes do ELSA - Brasil do Centro de Investigação de Minas Gerais (CI - MG).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Vitamina D

Vitamina D é um nome geral dado para o grupo de moléculas lipossolúveis que, apesar de ser denominado historicamente como vitamina, é conceitualmente classificado como um pré-hormônio que atua em diferentes vias no organismo humano. A vitamina D ficou muito conhecida devido a suas implicações na homeostase do cálcio e metabolismo ósseo. No entanto, já se sabe que existem receptores de vitamina D em diversos tecidos cuja ativação está relacionada à inúmeras respostas celulares, incluindo o sistema imunológico, proliferação e diferenciação celular (MAEDA et al., 2014; MÜLLER; et al., 2011).

Pela sua alta prevalência, a hipovitaminose D vem sendo relacionado à diversas comorbidades e patologias. Nas últimas décadas, tem sido crescente o interesse em investigar a atuação dessa vitamina no metabolismo de vários órgãos do corpo humano. As relações estão bem estabelecidas entre baixos níveis da vitamina D e doenças como diabetes mellitus tipo 2, obesidade e resistência insulínica (PÉREZ-HERNÁNDEZ et al., 2016).

2.1.1 Metabolismo e dosagem da vitamina D

A forma ativa da vitamina D é denominada 1,25-dihidroxitamina D (1,25(OH)₂D), molécula produzida principalmente nos rins por meio da hidroxilação da 25-hidroxitamina D (25(OH)D) pela ação da 1-alfa-hidroxilase. A 25(OH)D é o principal metabólito da via de hidroxilação do ergocalciferol (vitamina D₂) e colecalciferol (vitamina D₃) que ocorre no fígado. A vitamina D₃ é sintetizada na pele exposta à radiação ultravioleta (UV) sobre seu precursor, o 7-deidrocolesterol, obtido principalmente através da produção endógena; enquanto a vitamina D₂ é gerada a partir da ação da radiação UV sobre seu precursor ergosterol (esterol vegetal), o qual é obtido por meio da dieta ou suplementação (AL MHEID & QUYYUMI, 2017; PÉREZ-HERNÁNDEZ et al., 2016; SCHUCH et al., 2009; WANG, 2016).

A determinação de 25(OH)D sérica é a forma mais adequada para se fazer a avaliação laboratorial dos níveis de vitamina D principalmente devido a sua meia-vida longa de duas a três semanas (GRÜBLER et al., 2017; WANG, 2016). De acordo, com o posicionamento oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC) e da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), os intervalos de referência da 25(OH)D ideais devem ser estratificados de acordo com a idade e características clínicas individuais: valores acima 20ng/mL são desejáveis para população saudável com até 60 anos de idade; entre 30 e 60ng/mL é a faixa recomendada para grupos de risco como idosos (acima de 60 anos), gestantes, lactantes, doença renal crônica, entre outros; níveis acima de 100ng/mL são considerados risco de toxicidade e hipercalcemia (FERREIRA et al., 2018; SCHWARZ et al., 2018).

2.1.2 Vitamina D e o metabolismo do cálcio

As vias de atuação da vitamina D mais elucidadas são aquelas envolvendo o metabolismo do cálcio. No intestino, a vitamina D aumenta a absorção de cálcio, sendo um dos modelos propostos o estímulo ao transporte transcelular pelo aumento da expressão da membrana apical endotelial pelo potencial receptor de canal transitório vanilóide 6 (TRPV6) do canal de cálcio e da proteína ligante de cálcio, calbindina-D9k. Nos rins, a 1,25(OH)₂D juntamente com o paratormônio (PTH), regulam a reabsorção do cálcio nos túbulos distais por via semelhante à do intestino. Nas glândulas paratireoides, a vitamina D atua na via de inibição da secreção de PTH (CARMELIET, 2017; CHRISTAKOS et al., 2015; WANG, 2016).

Nos ossos, a vitamina D atua facilitando a osteoclastogênese. Em uma situação de balanço negativo de cálcio, devido à ação prejudicada do receptor de vitamina D (VDR) ou menor consumo alimentar de cálcio, a absorção intestinal desse mineral diminui. Para manutenção dos valores séricos de cálcio, tem-se um aumento na geração da 1,25(OH)₂D e níveis do PTH, o que levará à reabsorção óssea e redução na mineralização da matriz óssea. Em um cenário de balanço positivo ou normal de cálcio, a 1,25(OH)₂D, através da via de absorção intestinal de cálcio, mantém níveis suficientes do mineral para mineralização da matriz óssea. A ativação e sinalização do VDR

resultará no aumento de expressão da proteína ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa β (RANKL), que atua na via de estímulo à osteoclastogênese (BOUILLON & SUDA, 2014; CARMELIET, 2017; CHRISTAKOS et al., 2015; WANG, 2016).

2.1.3 Vitamina D e os fatores de risco cardiovascular

O efeito da hipovitaminose D no risco de doenças cardiovasculares tem sido relacionado ao prejuízo da função endotelial, inflamação e trombose. Existem evidências, que sugerem a influência da vitamina D sobre a estrutura dos vasos e função vascular. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ parece induzir à diminuição da ativação de genes pró-trombóticos e anti-fibrinolíticos com consequente diminuição de fator tissular (FT), inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1), o qual promove o aumento na ativação de genes antitrombóticos, com consequente aumento de antitrombina e trombomodulina. Essas mudanças promovidas pela vitamina D evidenciam seu efeito protetor a ocorrência de trombose, quando em níveis suficientes no organismo (CHRISTAKOS et al., 2015; MOZOS & MARGINEAN, 2015; NORMAN et al., 2014; WANG et al., 2008).

A vitamina D através da ativação de seu receptor tem impacto na geração de ON, um importante vasodilatador cuja redução em sua biodisponibilidade é o maior indicativo de disfunção endotelial. Conforme descrito por Kim, 2020, a ativação do VDR promove a expressão e ativação da enzima dependente de cálcio: óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) o que resultará no aumento da conversão da L-arginina em ON (KIM et al., 2020).

Foi relatado em alguns estudos que a vitamina D está relacionada com a fisiopatologia de doenças cardiovasculares por meio do sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) (FORMAN; WILLIAMS; FISHER, 2010; KHAMMISSA et al., 2018; SCHUCH; GARCIA; MARTINI, 2009; TREVISAN et al., 2019). Aplicando técnicas de silenciamento do gene de expressão do VDR ou inibição da síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, Li e colaboradores, 2002, observaram que a vitamina D está envolvida na regulação do RAAS (LI et al., 2002). Esse envolvimento se dá pela supressão de expressão do gene

da renina causado pela ação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Dessa forma o nível sérico de vitamina D está inversamente ligado a atividade da renina e concentração de angiotensina (LI et al., 2002).

O RAAS atua na manutenção da resistência vascular e homeostase do volume extracelular regulando a pressão arterial. Este feito é realizado mediante a atividade reguladora da angiotensina II em sítios de ligação no organismo humano, onde exerce forte função vasoconstritora. O aumento na síntese de renina leva a maior produção de angiotensina II e conseqüentemente à hipertensão e hipertrofia ventricular esquerda (LI et al., 2002; MOZOS & MARGINEAN, 2015; TAMEZ et al., 2013; WANG et al., 2008).

A interferência da vitamina D no RAAS também tem impacto no sistema imunológico ao promover redução da atividade da renina e concentração de angiotensina II, uma vez que a angiotensina II induz a produção de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, foi observado a existência de VDR em várias células envolvidas no processo inflamatório como macrófagos, células dendríticas e linfócitos T ativados. Na imunomodulação foi demonstrado que a vitamina D atua promovendo o aumento de interleucina-10 (IL-10) e diminuição da ciclo-oxigenase-2 (COX-2), prostaglandinas, proteína C reativa (PCR), fator de necrose tumoral alfa ($\text{TNF}\alpha$) e interleucina-6 (IL-6), portanto promovendo resposta anti-inflamatória; um fator de proteção à ocorrência de aterosclerose (KHAMMISSA et al., 2018; KORANTZOPOULOS et al., 2018; NORMAN et al., 2014; ORKABY et al., 2019; WANG, 2016).

2.2 Função Endotelial

Como já demonstrado há alguns anos, os vasos sanguíneos têm um papel ativo na manutenção da fluidez do sangue. O endotélio vascular, uma camada de células finas que reveste a superfície luminal de todos os vasos sanguíneos, é o principal responsável por essa ação (VANE; ANGGARD; BOTTING, 1990). Um endotélio vascular saudável resulta no balanço adequado entre fatores vasoconstritores e vasodilatadores, que irão manter o tônus vascular. O desequilíbrio nesses fatores, como consequência da redução na função endotelial, pode ser muito prejudicial e precede o

desenvolvimento de doenças cardiovasculares relacionadas ao aumento da vasoconstrição, formação de placa de ateroma, inflamação e aterosclerose (HINDERLITER; CAUGHEY, 2003; KIM et al., 2020; STANHEWICZ; WENNER; STACHENFELD, 2018).

Com o objetivo de manter o tônus vascular e a hemodinâmica, o endotélio vascular sintetiza várias substâncias ativas; entre elas, com atividade vasodilatadora, estão o óxido nítrico (ON), prostaciclina, ativador de plasminogênio, interleucinas e fibronectina. Entre os vasoconstritores estão as espécies reativas de oxigênio (ROS), angiotensina II, endotelina-1 e a expressão de enzimas conversoras de angiotensina na superfície celular endotelial (HIGASHI et al., 2009; KIM et al., 2020; VANE; ANGGARD; BOTTING, 1990). A disfunção do endotélio é considerado um estado pró-inflamatório que envolve o aumento de radicais livres e leva ao aumento do estresse oxidativo e elevação de citocinas pró-inflamatórias circulantes, como TNF α e IL-6 (NEVES; OLIVEIRA, 2016).

2.2.1 Disfunção endotelial e risco cardiovascular

A disfunção endotelial é um dos primeiros eventos observados em indivíduos acometidos com doenças cardiovasculares (CAPRIO; MAMMI; ROSANO, 2012). Existe uma ligação já estabelecida entre inflamação sistêmica e vascular, diretamente relacionada a perda da função endotelial (ALYAMI et al., 2014); diversos marcadores vasculares já foram descritos e relacionados a pato-fisiologia da disfunção endotelial (SZMITKO et al., 2003). Estes fatores estão associados a hemostasia, coagulação e marcadores inflamatórios como PCR e moléculas de adesão celular e vascular (ALYAMI et al., 2014).

Como citado anteriormente, a homeostase vascular é mantida pelo equilíbrio entre os fatores de vasoconstrição e vasodilatação. A alteração nesse balanço, mediada por inflamação ou qualquer outro fator de risco cardiovascular, pode tornar o endotélio susceptível à formação da placa de ateroma sua progressão e eventualmente, o rompimento, terá como causa o processo aterotrombótico (HINDERLITER; CAUGHEY, 2003; MICHAEL A.; GUILLERMO, 2016; SZMITKO et al., 2003).

A disfunção endotelial pode implicar em uma série de alterações. No geral envolve redução na biodisponibilidade de ON e em uma desregulação entre os fatores oxidantes, antioxidantes, constritores e relaxantes (MICHAEL & GUILLERMO, 2016; SZMITKO et al., 2003). O ON, além do efeito vasodilatador, desempenha um importante papel na proteção contra os danos vasculares, inflamação e trombose, por atuar na inibição de leucócitos e regulação da agregação plaquetária (HIGASHI et al., 2009; HINDERLITER & CAUGHEY, 2003; SZMITKO et al., 2003; VANE et al., 1990).

Diante de um cenário de disfunção endotelial a proteção vascular contra os efeitos dos fatores de risco cardiovasculares como diabetes, hipertensão e dislipidemia começa a ser inefetiva e os processos danosos que iniciam a aterosclerose são facilitados (HIGASHI et al., 2009; MICHAEL & GUILLERMO, 2016). Na fase inicial do processo, a lipoproteína de baixa densidade oxidada interfere na ativação endotelial levando a redução intracelular de ON. A angiotensina II é vasoconstritora e está associada a hipertensão, sendo, portanto, antagonista da ação do ON. Podendo ainda, induzir a produção de ROS e aumento de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6 e, assim, parece estar envolvida na promoção da disfunção endotelial, levando a redução na produção do ON e, conseqüentemente, na sua biodisponibilidade (SZMITKO et al., 2003).

2.2.2 Avaliação da função endotelial

A avaliação da função endotelial pode ser realizada utilizando-se diversas metodologias porém o princípio básico de todas elas é semelhante: em uma situação de endotélio saudável, as artérias coronarianas ou braquiais se dilatam mediante reação à hiperemia ou injeção de estímulo farmacológico de mediadores vasodilatadores como acetilcolina, bradicinina, serotonina e ON. Em caso de disfunção endotelial a vasodilatação é reduzida ou até mesmo ausente (FLAMMER et al., 2012).

As técnicas para avaliação da função endotelial mais comumente relatadas na prática clínica conforme encontrado na literatura são: dilatação mediada pelo fluxo (DMF) pelo seu caráter não invasivo e pouco oneroso. A avaliação DMF é a técnica mais utilizada na prática; *“ela combina o imageamento de artérias, principalmente a*

artéria braquial, em resposta a uma hiperemia reativa” (STORCH et al., 2017) (BARAC; CAMPIA; PANZA, 2007). Na fluxometria por laser doppler (FLD) é mensurado a microcirculação cutânea; através da técnica é possível obter-se um índice de perfusão cutânea pela “*medição do efeito doppler causado pela refração de uma luz emitida em frequência conhecida sobre as células vermelhas do sangue em movimentação*” (STORCH et al., 2017). A pletismografia por oclusão venosa (POV) é uma técnica que pode ser aplicada tanto de forma invasiva quanto não invasiva e avalia a responsividade do vaso pela variação no volume do membro após estímulo de hiperemia (FLAMMER et al., 2012; HINDERLITER; CAUGHEY, 2003). A velocidade de onda de pulso (VOP) é a medida da velocidade da onda de pressão gerada ao final da ejeção ventricular que se propaga do coração até a periferia, sendo verificada pelo tempo necessário para que o fluxo sanguíneo percorra essa distância (STORCH et al., 2017). A angiografia coronária quantitativa (ACQ) é utilizada para medir as respostas vasomotoras ou alterações nos diâmetros dos vasos à estímulos endotélio-dependentes (FLAMMER et al., 2012). Tem-se, ainda, o exame para avaliação da função endotelial através do EndoPAT (FLAMMER et al., 2012; STORCH et al., 2017).

A técnica do EndoPAT foi desenvolvida com o objetivo de suprir as desvantagens apresentadas pelos outros procedimentos, principalmente o FLD e DMF que apesar de ser o mais aplicado na prática clínica, depende de operador, não é de fácil manipulação e infelizmente é realizado utilizando-se apenas um braço o que impossibilita uma leitura controle para corrigir possíveis alterações resultantes do tônus do sistema nervoso autônomo, por exemplo (FLAMMER et al., 2012; MOERLAND et al., 2012).

Através de um procedimento não invasivo e de rápida execução, o EndoPAT permite a medição da vasoreatividade. O aparelho detecta a variação de pressão nas pontas dos dedos e correlaciona com o tônus arterial periférico emitindo uma indicação da função vasodilatadora do endotélio através do índice de hiperemia reativa (IHR). Alterações mediadas pelo endotélio no tônus vascular após uma oclusão da artéria braquial é reflexo da função endotelial em resposta à hiperemia provocada. Como controle para essas medidas use-se o braço contrário ao de desempenho do exame

(MOERLAND et al., 2012). Em um indivíduo com funções endoteliais saudáveis e baixo risco cardiovascular, espera-se um índice de hiperemia reativa maior, indiciando uma boa responsividade do vaso ao estímulo dilatador (AXTELL; GOMARI; COOKE, 2010).

O EndoPAT, pela aplicação do método da tonometria arterial periférica (PAT), também possibilita a avaliação da função endotelial microvascular através dos parâmetros BPA, que reflete o tônus e o fluxo arterial basal, e *PATratio*, que reflete a variabilidade da hiperemia reativa resultante de fatores de risco cardiovascular (BRANT et al., 2014; HAMBURG et al., 2008; HAMBURG; BENJAMIN, 2009).

Como complemento da avaliação endotelial, alguns biomarcadores relacionados à função endotelial podem ser dosados no sangue. As moléculas de adesão celular como a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1) e selectina endotelial (E-selectina) são ativadas por estímulos pró-inflamatórios e estão correlacionadas com disfunção endotelial e inflamação sistêmica atuando na regulação da migração de leucócitos (MICHAEL & GUILLERMO, 2016; STORCH et al., 2017; VANE et al., 1990). Como citado anteriormente, estudos têm demonstrado que a inflamação está intimamente relacionada com o início e progressão da aterosclerose. Sendo assim, as dosagens de marcadores inflamatórios que resultam na ativação endotelial podem auxiliar na avaliação da saúde do endotélio, entre estes estão a IL-6, interleucina-18 (IL-18), PCR e proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) (HINDERLITER; CAUGHEY, 2003; MICHAEL A.; GUILLERMO, 2016; STORCH et al., 2017; SZMITKO et al., 2003).

2.3 Estudo longitudinal da saúde do Adulto (ELSA - BRASIL)

A crescente prevalência de doenças crônicas é uma preocupação mundial. Atualmente as doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte no mundo, contudo, muitos de seus fatores de risco são evitáveis e, portanto, importantes de serem monitorados para levantamento de medidas de intervenção (THE LANCET GLOBAL HEALTH, 2018). No Brasil essa realidade é replicada, mais de 50% das mortes estão relacionadas às doenças crônicas incluindo as cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2 (SCHMIDT et al., 2011). Diante desses fatos, percebeu-se a

necessidade de avaliar um perfil populacional em maior escala e levantar dados que auxiliem na investigação de fatores de risco predisponentes a doenças crônicas, bem como a investigação de novos biomarcadores para auxílio no diagnóstico laboratorial dessas patologias.

O ELSA - Brasil é um estudo de coorte, multicêntrico e multidisciplinar, cuja população é constituída por servidores efetivos de seis instituições públicas de ensino superior 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) (AQUINO et al., 2012).

Esse estudo epidemiológico incluiu 15.105 servidores dos seis centros de investigação 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 2008 a 2010, chamada de primeira onda, compreendeu, em sua primeira fase, entrevista inicial no local de trabalho do participante e obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO A); a segunda fase contemplou aplicação de questionários, realização de exames clínicos e coleta de amostra biológicas. A segunda onda foi realizada entre 2012 e 2014, 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 descritos no ANEXO B e, os tipos de medidas tomadas e exames realizados encontram-se descritos no ANEXO C.

Na linha de base, conduzida logo no início do estudo, informações foram coletadas por meio de entrevistas presenciais, coleta de amostras biológicas e exames clínicos como eletrocardiograma, aferição de pressão sanguínea, testes cognitivos e levantamento de parâmetros antropométricos. As amostras biológicas foram processadas para análises de rotina laboratorial e foram armazenadas à -80°C para investigações futuras. Anualmente, desde 2009, entrevistas via telefone são realizadas para atualização da condição de saúde dos participantes. Entre os anos de 2014 e 2015, efetuou-se a segunda fase de entrevistas e exames presenciais; com a finalidade

de enriquecer o banco de dados e amostras, assim como acompanhar o histórico clínico dos participantes (AQUINO et al., 2012; SCHMIDT et al., 2015).

O ELSA - Brasil é uma extensa e importante fonte de dados para novas investigações em busca de preencher lacunas de conhecimento sobre o contexto das enfermidades crônicas. O projeto faz parte de uma rede escassa de informações relevantes sobre o perfil demográfico, comportamental, nutricional e antropométrico em grande escala produzido em países em desenvolvimento, permitindo assim ser uma referência a outros países de características semelhantes ao Brasil. A ampla e sofisticada caracterização da coorte nos âmbitos psicológicos, sociais, físicos, clínicos e biológicos possibilita a construção de estudos mais complexos e completos sendo de grande auxílio na gestão de saúde pública no Brasil (SCHMIDT et al., 2015).

Todavia, é importante ressaltar que o propósito do projeto ELSA - Brasil não é trazer dados sobre a prevalência das enfermidades crônicas no Brasil principalmente por se tratar de uma coorte ocupacional com o perfil de colaboradores de centros de estudos. Entretanto, os dados de prevalência são próximos àqueles reportados por outros programas de levantamento de dados no âmbito nacional e, reflete de forma estimada o perfil do adulto brasileiro em geral. Como o estudo conta com participantes de seis estados diferentes no país permite, assim, a análise de possíveis variações regionais relacionadas às doenças estudadas. Também tem abertura para colaboradores do projeto utilizarem o banco de dados e de amostras para desenvolverem pesquisas e estabelecer novos biomarcadores para diagnóstico ou acompanhamento clínico de pacientes (SCHMIDT et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o nível sérico de vitamina D em uma subamostra de indivíduos adultos residentes em Minas Gerais participantes da coorte ELSA - Brasil que realizaram medida de função endotelial.

3.2 Específicos

- a. Avaliar a associação entre os níveis séricos de vitamina D e dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais dos participantes do ELSA - Brasil;
- b. Avaliar a associação entre os níveis séricos de vitamina D e medidas de função endotelial microvascular (BPA e *PATratio*).

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O presente estudo faz parte do ELSA - Brasil, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG sob o número de registro ETIC 186/06 (ANEXO D). Para participar do ELSA - Brasil, cada indivíduo leu e assinou o 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

O estudo utilizou amostras e dados adquiridos através do projeto ELSA -Brasil por meio do centro de investigação de Minas Gerais. O CI - MG, anexo do Hospital das Clínicas da UFMG, 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, uma subamostra de soro de 509 participantes que realizaram exames do PAT, na primeira e segunda onda do ELSA -Brasil, acondicionadas em freezer a -80°C no CI - MG, foi utilizada para a determinação dos níveis séricos de vitamina D. Não foram incluídos no estudo aqueles indivíduos que apresentaram doenças hepáticas, hematológicas, inflamatórias agudas, autoimunes, malignas, insuficiência renal crônica, síndrome nefrótica, uso de anticoagulante, doenças tireoidianas e gravidez.

4.3 Delineamento da investigação

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 foram realizadas na Universidade de São Paulo (USP). Além das amostras de urina, 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 realizadas dosagens séricas dos níveis de vitamina D em 509 amostras de soro cedidas pelo projeto ELSA - Brasil através do CI - MG. Os demais parâmetros utilizados para enriquecimento do estudo e avaliação dos fatores de riscos cardiovascular e disfunção endotelial foram disponibilizados via banco de dados levantados entre 2008 e 2010, na primeira onda do ELSA-Brasil pelos pesquisadores do projeto.

Para caracterização do perfil dos participantes foram solicitados do CI - MG os seguintes dados: idade, sexo, níveis séricos de PCR, insulina, glicose de jejum, hemoglobina glicada, perfil lipídico completo, PTH, cálcio urinário, histórico de uso de medicamentos anti-hipertensivos e/ou hipoglicemiantes, pressão arterial sistêmica, histórico nutricional e suplementação com vitamina D, dados de função endotelial (PATratio e BPA), circunferência abdominal, índice de massa corporal (IMC), data da coleta da amostra e hábitos comportamentais como frequência de exercício físico e consumo de álcool.

Conforme descrito por Aquino, 2012, os dados foram coletados em duas fases, inicialmente foram realizadas entrevistas nos locais de trabalho que posteriormente foram complementadas e somadas à estudos clínicos e obtenção de amostras biológicas nos centros de investigação (AQUINO *et al.*, 2012). Durante as duas fases e, através de questionários e autorrelato foram coletadas as características sociodemográficas, história clínica pessoal e familiar dos participantes. Por meio de técnicas e equipamentos padronizados foram medidos os parâmetros antropométricos e levantadas as informações acerca do estilo de vida como habito de fumar, consumo de álcool e medicamentos (AQUINO *et al.*, 2012; SCHIMIDT *et al.*, 2015).

Conforme descrito por Schimidt e colaboradores (SCHIMIDT *et al.*, 2015), o consumo excessivo de etanol foi definido como ingestão de etanol acima de 210

gramas por semana para homens e acima de 140 gramas para mulheres. A intensidade de prática de atividade física em lazer foi obtida através da aplicação do *International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)*, modelo simplificado e definido de acordo com o *Guidelines for Data Processing and Analysis* (CHAUDHARY et al., 2005). O IMC foi calculado dividindo o peso pela altura ao quadrado do participante e foi categorizado conforme classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) em magreza quando IMC menor que 18,5 kg/m², eutrófico quando IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m², sobrepeso quando IMC entre 25 e 29,9 kg/m², e , quando IMC igual ou acima de 30 kg/m² o indivíduo foi classificado como obeso (WHO, 1995). Os valores de circunferência abdominal dos participantes também foram categorizados em adequados para medidas abaixo de 80 cm para indivíduos do sexo feminino e abaixo de 90 cm para os do sexo masculino; inadequados foram aqueles com medidas acima desses pontos de corte.

A HAS (hipertensão arterial sistêmica) foi definida como pressão sistólica ≥ 140 mmHg e/ou diastólica ≥ 90 mmHg e/ou uso de anti-hipertensivo 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 (A1-c) (HbA1-c) $\geq 6,5\%$ ou, ainda, relato de diagnóstico prévio de diabetes ou uso de medicação para esta doença (SCHIMIDT et al., 2015). A presença ou não de dislipidemia foi definida seguindo as indicações da atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, que descreve as dislipidemias conforme as classificações laboratoriais em que se tem HDLc < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres ou colesterol presente na lipoproteína de baixa densidade (LDLc) ≥ 160 mg/dL e/ou TG ≥ 150 mg/dL (SBC, 2017).

O perfil da vitamina D dos participantes foi avaliado por meio da classificação da concentração nas categorias de *deficiente* (concentração < 20 ng/mL), *desejável* (> 20 ng/mL para adultos e entre 30 e 60 ng/mL para idosos) e *risco de toxicidade* (concentração > 100 ng/mL), conforme posicionamento oficial da SBPC e SBEM (FERREIRA et al., 2018). Os dados das concentrações séricas da vitamina também foram considerados como variável contínua e a categorização em duas classes os níveis séricos de vitamina D acima ou abaixo de 30 ng/mL em conformidade com a Fundação Internacional de Osteoporose e a Sociedade Americana de Geriatria que

designam como estado de “insuficiência” quando os níveis séricos de vitamina D estão entre 12 e 30 ng/mL pela associação com osteoporose, câncer, doença autoimune e cardiovascular (NEMEROVSKI 2009; BOUILLON, 2017).

Para avaliar a função endotelial, os dados foram categorizados utilizando os valores de 1º quartil e 3º quartil como valores de corte para definição de baixa, moderada e melhor função endotelial. Justificando-se pela importância clínica de valores aumentados para BPA e reduzidos para *PATratio*, a função endotelial melhor foi definida quando $BPA < Q3$ e $PATratio > Q1$; a função endotelial pior quando $BPA > Q3$ e $PATratio < Q1$ e moderada quando nenhuma das anteriores se aplicavam (BRANT et al., 2014).

4.3.1 Amostras biológicas

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, para determinação da vitamina D.

4.3.2 Método analítico

4.3.2.1 Determinação de vitamina D

O nível sérico de vitamina D dos participantes foi quantificado utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) detecção UV em 265 nm, utilizando o equipamento da *Thermo*. Uma coluna cromatográfica analítica de fase reversa C18 foi utilizada para realizar a separação da amostra. A metodologia consistiu na extração líquido-líquido da 25(OH)D presente no soro utilizando heptano, após o processo de saponificação com hidróxido de potássio (KOH) e ácido ascórbico e adição de 1,α-hidroxivitamina D₃ como padrão interno (PI). A fase orgânica da solução com extrato da vitamina D foi evaporada em banho maria à 40°C sob fluxo contínuo de ar comprimido. O extrato seco contendo o analito foi retomado com metanol 85%, injetado e analisado

por CLAE-UV. Os resultados foram obtidos através do *software* do equipamento e para a quantificação da 25(OH)D foram construídas curvas de calibração em metanol 85% por meio da área relativa (área padrão/área PI) dos picos cromatográficos obtidos em função das concentrações em ng/mL. A identificação dos picos referentes à 25(OH)D e PI foram baseados no tempo de retenção apresentado pela análise cromatográfica dos padrões puros da vitamina diluídos em metanol 85%. (HYMØLLER; JENSEN, 2011). O limite de detecção da vitamina D foi 9,6ng/mL e a linearidade do método foi obtida na faixa de 10ng/mL a 200ng/mL(TERRA, 2014).

A coluna C18 foi recomendada pela MERCK, para análise de vitaminas e foi testada no presente estudo. Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência da marca *Thermo*; Modelo *Finnigan Surveyor*; Amostrador automático, *Autosampler Plus*, Bomba quaternária; Detector *Plus UV-Visível*.

4.3.2.2 Avaliação da função endotelial

Conforme descrito por Brant e colaboradores em 2014 (BRANT et al., 2014), a medida da função endotelial foi realizada pelo método PAT, através de um dispositivo automatizado, EndoPAT 2000. Um manguito foi alocado a 2 cm da fossa cubital no braço não dominante do participante. Sondas PAT foram colocadas nas pontas de cada dedo indicador e a amplitude do pulso basal foi medida durante 5 minutos; ao término deste tempo o manguito foi inflado de forma a interromper o fluxo sanguíneo por 5 minutos. Após os 5 minutos o manguito foi desinflado abruptamente retornando o fluxo sanguíneo, permitindo hiperemia reativa e, então, o sinal de PAT foi medido por outros 5 minutos em ambas as mãos. O dedo contralateral, onde não foi exercida a pressão, foi utilizado como controle para alterações sistêmicas. A partir dessas medições foi calculado o *PATratio*, que é a razão entre a amplitude do pulso vascular 90 a 120 segundos após a deflação do manguito e o BPA médio (BRANT et al., 2013, 2014).

4.3.3 Análise estatística

As variáveis qualitativas foram descritas pelas frequências absolutas e relativas de suas categorias, enquanto as variáveis quantitativas foram resumidas pela média e

desvio-padrão (DP) e mediana e intervalo interquartilico (Q1-Q3). Gráficos boxplot foram utilizados para descrever variáveis quantitativas.

As médias foram comparadas pelo teste *t* de *Student* (comparação de dois grupos) ou por ANOVA (comparação de três ou mais grupos), enquanto as medianas foram comparadas por *Mann-Whitney* (comparação de dois grupos) ou por *Kruskal Wallis* (comparação de três grupos).

Os coeficientes de correlação linear de *Pearson* ou de *Spearman* foram utilizados para analisar a associação entre duas variáveis quantitativas. Para investigação das variáveis explicativas associadas às variáveis respostas *vitamina D* ou *função endotelial*, foi empregado o modelo de regressão logística, de acordo com a definição da variável resposta como qualitativa.

O programa computacional utilizado para realizar as análises estatísticas foi o R (R-CORE-TEAM, 2020).

5 RESULTADOS

5.1 Descrição das características dos participantes e relação com a concentração de vitamina D

A Tabela 1 apresenta a distribuição dos participantes do estudo nas características sociodemográficas, antropométricas, comportamentais e clínicas.

Dentre os 509 participantes, as mulheres representaram 47,7% do estudo, enquanto os homens representaram 52,3%. A faixa etária menos representativa do grupo foi 65 a 74 anos com 9,1% dos participantes. Já a faixa etária com maior proporção foi entre 45 e 54 anos com 42,0% dos participantes. As cores de pele/raças amarela, indígena, parda e negra, por terem baixa representatividade individualmente dentro a amostra estudada, foram agrupadas na categoria “outras” composta por 48,7% dos participantes. Quanto à escolaridade, 66,4% dos participantes possuíam ensino superior completo, demonstrando maior grau de instrução no grupo estudado (**Tabela 1**).

A classificação de magreza teve uma baixa proporção (0,6%) sendo, portanto, agrupada à de eutrofia, com isso, 39,7% dos participantes foram enquadrados nessa categoria. Cerca de 40% dos participantes foram classificados como sobrepeso e os outros 20% como obesos. Dos participantes, 69,7% apresentaram medidas inadequadas para circunferência da cintura.

A maioria dos participantes declarou nunca ter fumado (cerca de 60%), bem como não consumiam álcool em excesso (92%) e não praticantes de atividade física intensa (73,1% eram praticantes de atividade física fraca), configurando elevada proporção de sedentários na amostra (**Tabela 1**).

Mais da metade dos participantes do estudo não apresentaram HAS, diabetes mellitus (DM) ou dislipidemia. Quanto ao uso de medicamentos, 6,9%, 28,3% e 12,6% eram usuários de hipoglicemiantes, anti-hipertensivos e hipolipemiantes, respectivamente. E ainda, cerca de 99% do grupo declarou não consumir suplementação de vitamina D (**Tabela 1**).

Tabela 1. Características sociodemográficas, antropométricas, comportamentais, clínicas e concentrações séricas de vitamina D dos 509 participantes do estudo.

Característica		Frequência absoluta e relativa (%)	Vitamina D ng/mL média (DP)	Vitamina D ng/mL mediana (Q1-Q3)	Valor-p
Sexo	Feminino	243 (47,7)	57,6 (38,9)	46,6 (28,6-76,1)	0,584 ¹
	Masculino	266 (52,3)	59,6 (42,8)	48,0 (32,1-75,6)	0,588 ²
Faixa etária (anos)	35 a 44	106 (20,8)	56,1 (34,8)	48,1 (29,6-76,5)	0,423 ³
	45 a 54	214 (42,0)	58,6 (41,3)	47,3 (29,8-77,4)	
	55 a 64	143 (28,1)	57,7 (43,2)	43,2 (30,5-73,0)	0,396 ⁴
	65 a 74	46 (9,1)	67,8 (45,1)	55,5 (34,6-96,2)	
Cor/Raça	Branca	260 (51,3)	59,4 (44,5)	46,6 (29,8-75,6)	0,667 ¹
	Outras	247 (48,7)	57,8 (36,8)	48,2 (31,5-75,7)	0,597 ²
Escolaridade	Fundam. compl.	32 (6,3)	59,6 (30,4)	52,8 (32,5-79,5)	0,530 ³
	Médio completo	139 (27,3)	55,3 (32,9)	48,0 (31,5-74,9)	
	Superior completo	338 (66,4)	59,9 (44,6)	46,5 (29,7-76,4)	0,623 ⁴
IMC (kg/m ²)	Magreza/Eutrofia	202 (39,7)	60,8 (40,8)	49,6 (31,2-79,5)	0,528 ³
	Sobrepeso	201 (39,5)	56,2 (39,4)	44,0 (30,5-74,9)	0,511 ⁴
	Obeso	106 (20,8)	59,2 (44,2)	46,7 (29,3-77,0)	
Circunferência da cintura	Adequada	154 (30,3)	59,6 (41,3)	48,5 (29,7-75,8)	0,737 ¹
	Não adequada	355 (69,7)	58,2 (40,9)	46,6 (30,8-75,70)	0,754 ²
Tabagismo	Nunca fumou	304 (59,7)	56,3 (37,6)	46,4 (29,0-74,8)	0,200 ³
	Ex fumante	160 (31,4)	63,4 (43,4)	51,6 (33,2-82,8)	0,183 ⁴
	Fumante	45 (8,8)	57,7 (52,0)	39,3 (31,0-68,3)	
Consumo de álcool	Nunca consumiu	40 (7,9)	53,9 (33,1)	41,5 (27,5-87,4)	0,627 ³
	Ex usuário	76 (14,9)	56,4 (38,1)	42,7 (28,2-78,4)	0,752 ⁴
	Usuário	393 (77,2)	59,6 (42,3)	48,3 (31,4-75,5)	
Consumo excessivo de álcool	Não	468 (91,9)	58,0 (40,6)	47,1 (29,7-75,5)	0,265 ¹
	Sim	41 (8,1)	66,2 (45,3)	59,4 (34,8-85,5)	0,156 ²
Atividade Física	Fraca	372 (73,1)	59,3 (41,9)	48,2 (38,9-75,0)	0,708 ³
	Moderada	100 (19,7)	58,2 (37,9)	43,4 (31,3-81,9)	0,531 ⁴
	Forte	37 (7,3)	53,5 (39,8)	39,5 (22,4-78,7)	
Hipertensão arterial sistêmica	Não	324 (63,7)	59,5 (44,4)	45,9 (29,2-76,9)	0,524 ¹
	Sim	185 (36,4)	57,2 (34,2)	48,6 (33,2-75,2)	0,539 ²
Diabetes Mellitus	Não	442 (86,8)	59,5 (41,8)	47,5 (30,4-77,4)	0,190 ¹
	Sim	67 (13,2)	53,3 (34,8)	47,6 (30,9-64,9)	0,399 ²
Dislipidemia	Não	290 (57,0)	59,3 (41,0)	47,3 (30,9-78,4)	0,687 ¹
	Sim	219 (43,0)	57,8 (41,0)	47,9 (29,8-75,0)	0,712 ²
Hipoglicemiante	Não	477 (93,7)	59,1 (41,6)	47,6 (30,3-76,8)	0,351 ¹
	Sim	32 (6,3)	52,1 (30,3)	43,9 (32,8-63,7)	0,619 ²
Anti-hipertensivos	Não	365 (71,7)	58,8 (42,8)	46,4 (29,8-75,7)	0,917 ¹
	Sim	144 (28,3)	58,4 (36,1)	50,5 (32,0-76,0)	0,537 ²
Hipolipemiante	Não	445 (87,4)	58,7 (41,1)	48,0 (30,7-75,7)	0,955 ¹
	Sim	64 (12,6)	58,4 (40,1)	41,9 (29,3-80,8)	0,873 ²
Colecalciferol	Não	502 (98,6)	58,4 (40,6)	47,5 (30,5-75,6)	0,183 ¹
	Sim	7 (1,4)	79,1 (65,0)	72,8 (19,5-141,1)	0,608 ²

¹Teste t; ²Teste Mann-Whitney; ³Teste ANOVA; ⁴Teste de Kruskal Wallis.

Em relação as concentrações séricas de vitamina D, observou-se que a maioria dos participantes (78,8%) apresentou níveis desejáveis de vitamina D, enquanto 8,6% apresentaram deficiência e 12,6% apresentaram níveis que correspondem ao risco de toxicidade (**Tabela 2**). Na amostra deste estudo, 124 (24,4%) dos participantes tiveram valores abaixo de 30 ng/mL (**Tabela 2**).

Tabela 2. Classificações dos níveis de vitamina D para os participantes do estudo

Classificação da concentração de vitamina D		Frequência absoluta e relativa (%)
Vitamina D em 3 categorias	Deficiente	44 (8,6)
	Desejável	401 (78,8)
	Risco de toxicidade	64 (12,6)
Vitamina D < 30 ng/mL	Sim	124 (24,4)
	Não	385 (75,6)

Não foram observadas diferenças significativas na concentração sérica de vitamina D entre as categorias das características sociodemográficas, clínicas, antropométricas e comportamentais, tanto na comparação entre as médias e medianas com valores da vitamina D (**Tabela 1**).

Na análise das categorias de vitamina D, observou-se 18,9% dos participantes com HAS apresentam concentração de vitamina D abaixo de 30 ng/mL, contra 27,5% dos participantes não hipertensos ($p=0,032$). As demais características da Tabela 1 não apresentaram associação com as categorias de vitamina D.

5.2 Parâmetros laboratoriais e relação com a concentração de vitamina D

Os valores médios e medianos da concentração sérica de vitamina D e dos parâmetros laboratoriais de interesse dos participantes do estudo são mostrados na **Tabela 3**.

O valor médio de vitamina D foi de 58,7 ng/mL e, portanto, dentro do valor recomendado, tanto para população saudável quanto para grupo de risco, conforme posicionamento oficial da SBPC e SBEM (FERREIRA et al., 2018). A tendência central para os valores de glicose, PCR, LDLc (somente em indivíduos com alto risco

cardiovascular) estiveram acima da referência da literatura (FEDELI et al., 2013). Já para os parâmetros colesterol total (CT), TG, HDLc, insulina, HbA1c e taxa de filtração glomerular os valores médios observados encontraram-se dentro dos intervalos de referência (FEDELI et al., 2013). Não foram estabelecidos valores de referência para a concentração de cálcio e cálcio total na urina (**Tabela 3**).

Tabela 3. Estatísticas da concentração de vitamina D e de parâmetros laboratoriais (n=509)

Parâmetro	Média	DP	Mediana	Q1	Q3
Vitamina D (ng/mL)	58,7	41,0	47,6	30,5	75,7
Glicose (mg/dL)	106,2	27,7	101,3	94,2	109,0
Hemoglobina glicada HbA1c (%)	5,3	0,9	5,2	4,8	5,5
Colesterol Total (mg/dL)	199,9	39,9	198,1	172,9	225,0
Triglicérides (mg/dL)	133,8	88,4	108,8	77,6	162,3
Colesterol HDL (mg/dL)	51,9	12,9	49,3	42,0	59,3
Colesterol LDL (mg/dL)	119,4	34,0	117,2	97,2	140,1
Cálcio na urina (mg/dL)	9,7	7,2	8,0	4,5	13,0
Calcio total na urina (mg)	901,3	406,7	844,8	623,1	1106,0
Insulina (mcUI/mL)	12,3	8,2	9,6	6,4	15,7
Proteína C reativa (mg/L)	2,7	3,8	1,5	0,8	3,2
Taxa de filtração glomerular (mL/min/1,73m)	84,9	14,8	85,6	74,6	95,2

Foram calculados os coeficientes de correlação linear de Pearson entre os valores de concentração de vitamina D e todos os demais parâmetros laboratoriais da **Tabela 3**; entretanto, o valor do coeficiente não se mostrou significativamente diferente de zero ($p > 0,05$) em nenhum caso (resultados não tabelados).

No entanto, para os parâmetros laboratoriais mostrados na **Tabela 4**, foram observadas diferenças significativas (valor $p < 0,05$) na média e/ou na mediana dos valores entre as categorias de vitamina D < 30 ou ≥ 30 ng/mL. Os participantes com níveis mais baixos de vitamina D apresentaram maiores níveis séricos médios e medianos de LDLc e menores níveis medianos de insulina e cálcio total na urina ($p = 0,036$).

Tabela 4. Estatísticas dos parâmetros laboratoriais associados à concentração de vitamina D abaixo de 30 ng/mL (n=509)

Parâmetro	Vitamina D < 30 ng/mL	Média	(DP)	Mediana	(Q1-Q3)	Valor-p
Colesterol LDL (mg/dL)	Sim	124,8	(36,8)	124,3	(100,2-150,4)	0,044 ¹
	Não	117,7	(32,9)	116,2	(95,7-137,8)	0,038 ²
Cálcio total na urina (mg)	Sim	840,9	(394,6)	780,8	(545,1-1042,2)	0,063 ¹
	Não	921,7	(409,3)	863,3	(640,5-1146,9)	0,036 ²
Insulina (mcUI/mL)	Sim	11,2	(7,7)	7,9	(5,9-15,3)	0,083 ¹
	Não	12,6	(8,2)	10,4	(6,9-15,9)	0,010 ²

¹ Teste t; ² Teste Mann-Whitney.

5.3 Medidas de função endotelial

A função endotelial foi avaliada por meio da tonometria arterial periférica, com valores de BPA e PAT $ratio$ extraídos do CI-MG. A **Tabela 5** apresenta algumas estatísticas descritivas para esses dois parâmetros.

Tabela 5. Valores de PAT $ratio$ e BPA de 489 participantes do estudo

Variável	Média	(DP)	Mediana	(Q1-Q3)
BPA	6,009	(0,812)	6,106	(5,527-6,652)
PAT $ratio$	0,493	(0,364)	0,464	(0,201-0,769)

Para caracterizar a função endotelial, foi construída uma medida qualitativa com os valores de BPA e PAT $ratio$; considerando que quanto mais alto o valor de BPA e mais baixo o valor de PAT $ratio$, pior estaria a função endotelial.

Na medida qualitativa de função endotelial, os valores dos quartis de BPA e PAT $ratio$ foram utilizados para definir a classificação da função endotelial nas categorias *pior*, *moderada* e *melhor*. A Figura 1 ilustra essa classificação: no quadrante 1, estão os 306 (62,6%) indivíduos com melhor função endotelial (BPA<Q3 e PAT $ratio$ >Q1); no quadrante 4, estão os 61 (12,5%) indivíduos com pior função endotelial (BPA>Q3 e PAT $ratio$ <Q1); e nos quadrantes 2 e 3 estão os 122 (24,9%) indivíduos com função endotelial moderada.

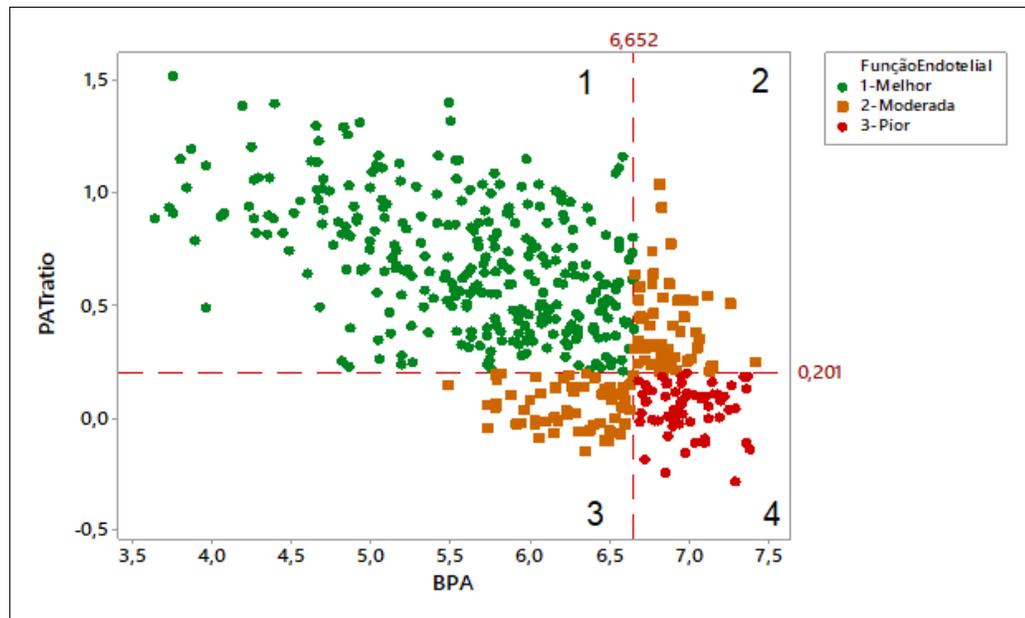


Figura 1. Diagrama de dispersão dos parâmetros BPA e PATratio para a classificação de função endotelial em melhor (quadrante 1), moderada (2 e 3) ou pior (4).

5.4 Medidas de função endotelial e relação com a concentração de vitamina D

Os níveis de vitamina D, tanto os valores quantitativos da concentração sérica quanto as categorizações definidas na Tabela 2, foram comparados às medidas de função endotelial dadas pelo BPA e PATratio, assim como pelas categorias de função endotelial definidas na Figura 1.

Não foram encontradas correlações lineares significativas entre a concentração de vitamina D e os valores de BPA e PATratio.

Entretanto, os participantes com PATratio < 0,2010 apresentaram níveis de vitamina D significativamente menores, tanto na média quanto na mediana (**Tabela 6**). Não foi observada diferença nos níveis do biomarcador entre os grupos com medidas de BPA acima ou abaixo de 6,6519 (**Tabela 6**).

Adicionalmente, ao comparar o nível médio de vitamina D entre as categorias de função endotelial, observou-se menores níveis da vitamina no grupo com pior função endotelial quando comparados aos indivíduos com moderada disfunção endotelial ou

melhor função endotelial ($p=0,040$), não havendo diferença significativa nos níveis de vitamina D entre àqueles classificados com função endotelial melhor ou moderada (Tabela 6 e Figura 2).

Tabela 6. Níveis de vitamina D versus $PATratio < 0,2010$, $BPA > 6,6519$ e função endotelial

Parâmetro		Vitamina D (ng/mL)		Valor-p
		Média (DP)	Mediana (Q1-Q3)	
$PATratio < 0,2010$	Sim	50,7 (30,4)	40,5 (29,1-63,1)	0,002 ¹
	Não	61,8 (44,0)	48,6 (31,5-78,1)	0,031 ²
$BPA > 6,6519$	Sim	57,9 (45,2)	43,5 (30,0-73,1)	0,762 ¹
	Não	59,3 (39,9)	48,3 (30,9-77,6)	0,374 ²
Função Endotelial	Melhor	60,3 (41,0)	49,2 (31,5-77,5)	0,040 ¹
	Moderada	61,9 (47,0)	45,3 (29,5-87,0)	0,110 ²
	Pior	46,8 (26,0)	40,4 (29,5-59,3)	

¹Teste t ou ANOVA; ²Teste de Kruskal Wallis, pós-testes de Tukey: categoria “pior” diferente das demais.

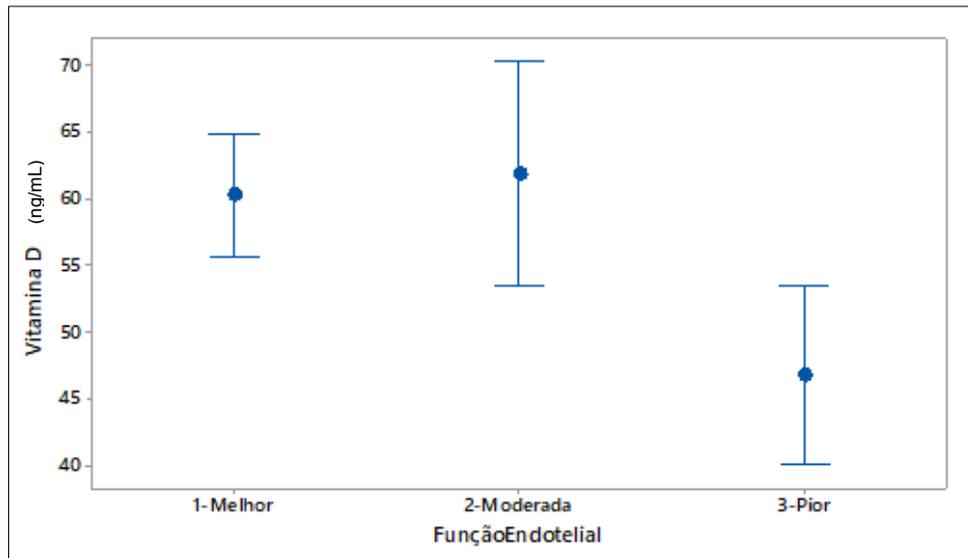


Figura 2. Gráfico de média e IC95% de concentração de vitamina D (ng/mL) segundo categorias de função endotelial.

5.5 Modelo de regressão para a função endotelial

Como análise final, o objetivo foi investigar a associação entre vitamina D e função endotelial. Para isso, foi ajustado o modelo de regressão logística ordinal para as categorias ordenadas (pior, moderada e melhor) da função endotelial.

A variável vitamina D foi introduzida como variável explicativa fixa, seja na sua medida quantitativa de concentração sérica ou na categorização em <30 ou ≥ 30 ng/mL. As demais variáveis explicativas foram escolhidas entre as características sociodemográficas, antropométricas, comportamentais e clínicas e os parâmetros laboratoriais usando o método *stepwise* de seleção de variáveis em modelos de regressão.

No modelo de regressão logística ordinal para as três classes de função endotelial, as variáveis explicativas significativas foram: concentração de vitamina D, idade, sexo, cor/raça, IMC, TG e cálcio na urina $> 9,5$ mg/dL (**Tabela 7**). A cada aumento de 1 ng/mL nos níveis séricos de vitamina D, aumenta em 1% a chance de ter uma função endotelial em categoria melhor. A cada ano a mais de idade, a chance de ter função endotelial melhor diminui em 2%. Ser do sexo masculino reduz em 72% a chance de ter função endotelial melhor. Ter cálcio na urina acima de 9,5 mg/dL reduz em 37% a chance de ter função endotelial melhor. A cada unidade a mais no IMC ou no TG, a chance de ter uma melhor função endotelial reduz, respectivamente, em 8% e 1%. Em contrapartida, ser da cor/raça negra, parda amarela ou indígena aumenta em 55% a chance de ter melhor função endotelial.

Tabela 7. Modelo de regressão logística para função endotelial segundo vitamina D e características dos participantes do estudo

Características	Razão de Chances	IC95%	Valor-p
Vitamina D (ng/mL)	1,01	(1,00;1,01)	0,052
Idade (anos)	0,98	(0,95;1,00)	0,040
Sexo masculino	0,28	(0,18;0,40)	0,000
Cor/Raça Outras	1,55	(1,04;2,24)	0,031
IMC (Kg/m ²)	0,92	(0,90;0,98)	0,004
Triglicérides (mg/dL)	0,99	(0,99;1,00)	0,009
Calcio na urina $> 9,5$ mg/dL	0,63	(0,43;0,93)	0,020

6 DISCUSSÃO

6.1 Características sociodemográficas, antropométricas, fatores de risco cardiovascular, uso de medicamentos e níveis séricos de vitamina D

Os níveis séricos de vitamina D foram associados às características sociodemográficas, antropométricas, clínicas e laboratoriais dos participantes do estudo. Quanto ao sexo, cor/raça e grau de instrução não foram observadas diferenças nos níveis da vitamina entre os grupos. Apesar da alta prevalência de hipovitaminose D em adultos saudáveis e em idosos (BISCHOFF-FERRARI, 2020), nenhuma diferença entre os níveis de vitamina D e faixa etária foi observada no presente estudo. O fato de não ter sido observados menores valores de vitamina D principalmente nos participantes idosos (65 a 74 anos) pode estar relacionada a uma baixa representatividade desse grupo na amostra, sendo apenas 9,1% do total de participantes. Ressaltando ainda, que os participantes do estudo apresentaram valores médios de vitamina D dentro do intervalo considerado suficiente (FERREIRA et al., 2018).

Com relação ao IMC e circunferência abdominal, não houve correlação entre os níveis de vitamina D dos participantes e os parâmetros quantitativos para as medidas antropométricas. Na literatura, diversos estudos descrevem a associação entre a hipovitaminose D e aumento do IMC (CEMBRANEL et al., 2019; GONZÁLEZ et al., 2015; MIGLIACCIO et al., 2019; ONG; TAN; CHENG, 2018; VRANIĆ; MIKOLAŠEVIĆ; MILIĆ, 2019; WALSH; BOWLES; EVANS, 2017; WORTSMAN et al., 2000). Existem várias hipóteses que sustentam essa associação como a menor exposição à luz solar daqueles indivíduos obesos em que a capacidade de locomover está comprometida ou menor envolvimento com a prática de atividade físicas ao ar livre (VRANIĆ; MIKOLAŠEVIĆ; MILIĆ, 2019), menor consumo via dieta, menor absorção intestinal da vitamina ou, ainda, comprometimento da via de hidroxilação pelo tecido adiposo que pode também levar ao acúmulo da vitamina D que é uma substância lipossolúvel (ADAMCZAK; SURMA; WIĘCEK, 2020; MIGLIACCIO et al., 2019). A ausência de associação entre os níveis de vitamina D e IMC ou circunferência abdominal na amostra estudada pode ser devido a maioria dos participantes do estudo apresentar níveis

desejáveis (78,8%) ou acima de 30ng/mL (75,6%) da vitamina, dado que pode estar relacionado ao fato do Brasil ser um país tropical, achado também relatado em outros trabalhos brasileiros (DE OLIVEIRA et al., 2018; XAVIER et al., 2019) assim como de outra nacionalidade (ERTEK et al., 2012).

Considerando outros fatores de risco cardiovascular como HAS, DM e dislipidemia, é importante ressaltar que também não houve diferença nas concentrações séricas de vitamina D entre os participantes que apresentaram ou não as comorbidades citadas anteriormente. Alguns estudos reportam a associação desses fatores de risco com menores níveis de vitamina D (ADAMCZAK; SURMA; WIĘCEK, 2020; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2020; JIANG et al., 2019), todavia essa relação não foi observada na amostra estudada. No presente estudo a avaliação do impacto de uso de medicamentos sobre os níveis de vitamina D foi limitada devido ao fato da maioria dos participantes apresentarem níveis suficientes do biomarcador e não fazerem uso de medicamentos. O consumo de colecalciferol, suplemento da vitamina D, também não teve grande impacto sobre a análise uma vez que apenas 1,4% dos participantes faziam o seu uso.

6.2 Níveis de vitamina D e outros parâmetros laboratoriais

Classicamente a vitamina D é conhecida por sua atuação na homeostase do cálcio e metabolismo ósseo (CARMELIET, 2017), pesquisadores descreveram que a 1,25(OH)₂D em conjunto ao PTH aumentam a reabsorção renal de cálcio o que resultaria em menor excreção desse íon (CHRISTAKOS et al., 1979; FRIEDMAN; GESEK, 1993); todavia, na deficiência de vitamina D a absorção intestinal de cálcio reduz, e assim sua excreção via renal também (KENNEL; DRAKE; HURLEY, 2010). Foi observado, no estudo, que indivíduos com níveis de vitamina D abaixo de 30ng/mL apresentaram menor cálcio urinário (em mg/dL ou mg), porém não foram realizadas avaliações considerando a concentração sérica de cálcio dos participantes, fator que seria fundamental para um estudo mais adequado da associação vitamina D-cálcio, uma vez que maiores níveis séricos do mineral também estão associados a sua maior excreção urinária (DUSSO et al., 2011; DUSSO; BROWN; SLATOPOLSKY, 2005).

A vitamina D tem implicações em diversos sistemas no corpo humano (DUSSO et al., 2011; DUSSO; BROWN; SLATOPOLSKY, 2005; HEWISON et al., 2004) inclusive sobre a secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas através do VDR (MADDALONI et al., 2018; NEELANKAL JOHN; JIANG, 2018). A vitamina D parece atuar na modulação da expressão de calbindina, uma proteína de membrana transportadora de cálcio, e controle de transporte intracelular de cálcio nas células pancreáticas e assim aumenta o estímulo à liberação de insulina (CHRISTAKOS et al., 1979, 2015). Como a deficiência de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ parece afetar a regulação de secreção de insulina (ALLEGRA et al., 1994; QUESADA et al., 1990) associa-se, portanto, a menores níveis de insulina (LIPS et al., 2017). Neste contexto, semelhante ao nosso estudo, foi observado que participantes com níveis séricos vitamina D $<30\text{ng/mL}$ apresentaram menores concentrações de insulina no sangue.

Em relação ao perfil lipídico dos participantes, foi observado que aqueles com níveis de vitamina D $<30\text{ng/mL}$ apresentaram maiores concentrações séricas de LDLc. Em concordância com outros estudos da literatura (ALLOUBANI et al., 2019; ALYAMI et al., 2016; JIANG et al., 2019). Conforme descrito por Surdu, 2021, a vitamina D tem efeitos protetores sobre o processo de aterosclerose de forma a reduzir LDLc, TG e CT, além de aumentar os níveis de HDLc (SURDU et al., 2021). Dziedzic, 2016, relatou também uma associação inversa entre os níveis de vitamina D e algumas frações lipídicas, incluindo o LDLc em pacientes cardíacos (DZIEDZIC; PRZYCHODZEN; DABROWSKI, 2016). Foi demonstrado, ainda, que metabólitos da vitamina D são inibidores da atividade da principal enzima responsável pela síntese de colesterol, a HMG-CoA redutase, sendo um importante fator relacionado aos achados descritos acima (GUPTA; SEXTON; RUDNEY, 1989).

6.3 Vitamina D e medidas de função endotelial

A aplicação do método PAT é uma ferramenta não invasiva com alta reprodutibilidade que permite a avaliação da função endotelial microvascular, *PATratio*, simultaneamente ao tônus vascular basal, BPA. As medidas avaliadas refletem a saúde do endotélio, a biodisponibilidade de ON e estão associadas a doenças coronarianas e risco cardiovascular (BRANT et al., 2014; HAMBURG et al., 2008; MATSUZAWA et al.,

2015; MOTOZATO et al., 2020). Com a finalidade de melhor avaliar as medidas obtidas através do EndoPAT, além de estudar a associação entre os níveis séricos de vitamina D os valores de BPA e *PATratio* isoladamente, optou-se, também, por combiná-los através da variável função endotelial categórica. Refletindo assim, a saúde do endotélio, tanto em seu estado basal quanto mediante estímulo à vasodilatação.

Para classificação da função endotelial considerou-se as medidas de $BPA > Q3 = 6,6519$ como indicativo de pior função endotelial. O endotélio em sua condição fisiológica mantém a produção de mediadores que podem produzir tanto vasodilatação quanto vasoconstrição, e no estado basal saudável mantém um equilíbrio entre níveis de ON, um dos principais fatores relaxantes derivados do endotélio e outros fatores vasoconstritores o que resultaria em menores valores de BPA. Brant, 2014, observou, ainda, uma forte correlação positiva entre BPA e diversos fatores de risco cardiovascular (BRANT et al., 2014).

Em relação a medida de *PATratio*, valores $< Q1 = 0,2010$ foram considerados para classificação de pior função endotelial. Esse parâmetro reflete a capacidade de vasodilatação em resposta à produção de ON após estímulo de isquemia e, por consequência, um menor valor índice revela uma hiperemia reativa reduzida devido a uma possível redução na biodisponibilidade de ON. Foi evidenciado, por outros estudos, uma associação inversa entre *PATratio* e fatores de risco cardiovascular (BRANT, 2014; BRANT et al., 2014; HAMBURG et al., 2008; SCHNABEL et al., 2011).

Ao avaliar o perfil de vitamina D nos participantes com medidas de BPA e *PATratio* indicativas de pior função endotelial, foi observado que os indivíduos com $PATratio < 0,2010$ apresentaram concentrações séricas de vitamina D menores do que aqueles com $PATratio \geq 0,2010$. A combinação das medidas BPA e *PATratio* para criação da variável categórica de função endotelial, também mostrou-se estar associada à vitamina D. Ou seja, os participantes com pior função endotelial apresentaram menores níveis séricos de vitamina D, quando comparados àqueles com função endotelial melhor ou moderada.

Com base nos resultados observados por meio da avaliação dos níveis de vitamina D, as medidas e a classificação de função endotelial dos participantes do estudo, uma associação entre parâmetros indicativos de pior função endotelial e menores níveis séricos da vitamina, foi evidenciada. Em consonância, esse achado também foi reportado em outros trabalhos que utilizaram diferentes técnicas para avaliação da função endotelial (ERTEK et al., 2012; JABLONSKI et al., 2011; TANAKA et al., 2021). Al Mheid, 2011, observou em um grupo amostral de 554 indivíduos assintomáticos que menores concentrações séricas da vitamina D associaram-se a medidas indicativas de disfunção endotelial avaliadas tanto por DMF quanto por EndoPAT (IHR). Dentre os participantes, aqueles com insuficiência de vitamina D, 25(OH)D <30ng/mL, foram acompanhados e tiveram a vitamina D sérica dosada após 6 meses; os que tiveram os níveis da vitamina normalizados apresentaram aumento significativo nas medidas de IHR e DMF indicando melhora na função endotelial, enquanto os que permaneceram com insuficiência de vitamina D continuaram com baixos valores de DMF e IHR (AL MHEID et al., 2011).

Dentre as vias de interação da vitamina D e saúde do endotélio, como modulação de mecanismos anti-inflamatórios e anti-hipertensivos, o impacto sobre a biodisponibilidade vascular de ON é possivelmente um dos meios através do qual menores níveis de vitamina D podem afetar a função endotelial. Dessa forma, pode refletir nos parâmetros de avaliação de performance do endotélio diante de estímulo à vasodilatação dependente de ON e ser um dos primeiros indícios de dano vascular e desenvolvimento de aterosclerose (KIM et al., 2020; NAPOLI et al., 2006).

O ON tem significativas implicações no endotélio, não somente por ser o principal agente vasodilatador, mas por atuar na regulação da regeneração endotelial suprimindo a proliferação anormal de células do músculo liso vascular, inibição de adesão plaquetária e leucocitária. Portanto, o aumento na sua biodisponibilidade tem importante papel na manutenção da saúde do endotélio, prevenção e restauração mediante aos danos vasculares e desenvolvimento de doenças cardiovasculares (NAPOLI et al., 2006).

Na literatura existem relatos da atividade da vitamina D sobre a síntese de ON pela mediação da atividade da eNOS (KIM et al., 2020). A ativação do VDR, expresso na superfície celular de diversos tecidos, é indispensável para as ações sistêmicas da vitamina, que atua inclusive sobre a regulação de genes específicos através do elemento de resposta à vitamina D (VDRE) – uma sequência de DNA que se encontra na região promotora dos genes regulados pela vitamina D (BOUILLON, 2019; CHRISTAKOS et al., 2015; DE LA GUÍA-GALIPIENSO et al., 2021; KIM et al., 2020). Jablonski, 2011, demonstrou que indivíduos com deficiência de vitamina D apresentam menor expressão de VDR e 1- α -hidroxilase nas células endoteliais quando comparados à indivíduos saudáveis (JABLONSKI et al., 2011).

Andrukhova, 2014, relatou que camundongos com VDR inativos apresentaram menor biodisponibilidade de ON, devido a expressão reduzida da eNOS. O que levou os animais a apresentarem rigidez arterial, remodelação aórtica e pressão sistólica e diastólica prejudicada independentemente da ativação do RAAS (ANDRUKHOVA et al., 2014). Os pesquisadores demonstraram, ainda, que a 1,25(OH)₂D é um potencial regulador do tônus vascular por estimular a transcrição da principal enzima sintetizadora de ON, a NOS3, a partir da ativação do VDR (ANDRUKHOVA et al., 2014). Em culturas de células endoteliais de veia umbilical humana (HUVEC) foi observado que o tratamento com vitamina D estimulou a produção de ON através da ativação da eNOS (MOLINARI et al., 2011). Similarmente, Khan, 2018, descreveu que a administração de 1,25(OH)₂D resultou na restauração próxima à níveis sadios do balanço entre ON e peroxinitrito, um vasoconstritor citotóxico, em culturas de HUVEC com disfunção endotelial induzida por angiotensina II (KHAN; DAWOUD; MALINSKI, 2018).

Outro meio através do qual menores níveis de vitamina D podem afetar a saúde do endotélio por também impactar a biodisponibilidade de ON é pela imunomodulação. O estado inflamatório é uma reação sistêmica que sensibiliza todo o organismo humano e tem importantes implicações nos fatores de risco cardiovascular e desenvolvimento da aterosclerose (HUANG; VITA, 2006). O processo inflamatório vascular envolve a liberação de uma série de citocinas que promovem a ativação do endotélio e a

expressão de moléculas de adesão pró-inflamatórias. A ativação endotelial está associada também a redução da biodisponibilidade de ON e consequente disfunção endotelial (ALYAMI et al., 2014; HUANG; VITA, 2006). A vitamina D, por outro lado, é conhecida pelo seu efeito anti-inflamatório podendo ser considerada, portanto, um potencial fator protetor à disfunção endotelial relacionada ao estado inflamatório (SASSI; TAMONE; D'AMELIO, 2018).

Com relação a estudos que avaliaram a suplementação de vitamina D e seu impacto sobre medidas de função endotelial, Tarcin, 2009, observou que indivíduos com deficiência de vitamina D apresentaram menores medidas para função endotelial determinada através da avaliação DMF. No entanto, após recebem mensalmente 300.000UI de suplemento da vitamina durante 03 meses, os níveis séricos de 25(OH)D₃ aumentaram em consonância com as medidas de DMF na artéria braquial (TARCIN et al., 2009). Conforme apresentado em estudo de meta-análise, Lundwall, 2018, também descreveu 04 ensaios clínicos randomizados, nos quais foi utilizado a suplementação de curto prazo de vitamina D em participantes com doença renal crônica. Por meio da aplicação da técnica DMF, foi possível observar que o tratamento com a vitamina estava associado a melhoras da função endotelial sendo um importante indicativo do efeito positivo na vitamina D na saúde vascular (LUNDWALL et al., 2018).

Em acordo com os resultados encontrados no presente estudo, os indivíduos com medidas de *PATratio* diminuídas ou classificação de pior função endotelial, pela combinação das medidas de BPA e *PATratio*, apresentaram menores concentrações séricas de vitamina D. Possivelmente pela sua associação ao *PATratio*, parâmetro que reflete a hiperemia reativa provocada pela oclusão do vaso. Portanto, níveis diminuídos de vitamina D podem estar associados a uma menor proteção vascular, sendo um possível indicativo de pior saúde ou dano microvascular.

6.4 Regressão logística: Função endotelial e características dos participantes do estudo

Por meio da análise de regressão logística foram avaliadas as variáveis que afetam tanto função endotelial quanto vitamina D dos participantes do estudo. De acordo com o

modelo utilizado, ser do sexo masculino, o aumento da idade, do IMC, TG, e cálcio urinário reduz a chance de o indivíduo ter uma melhor função endotelial, podendo ser considerados como fatores de impacto negativo sob a saúde do endotélio. Por outro lado, ser da cor/raça negra, parda, amarela ou indígena, assim como o aumento na concentração sérica de vitamina D indicou um aumento na chance de melhor função endotelial, sustentando a hipótese mais uma vez que a vitamina D exerce uma ação protetora à saúde vascular.

O impacto negativo do sexo masculino sobre a função endotelial pode estar relacionado ao complexo efeito hormonal da testosterona; em modelo animal uma maior exposição à esse tipo de hormônio demonstrou uma piora na função endotelial (STANHEWICZ; WENNER; STACHENFELD, 2018). O envelhecimento também se apresentou como um fator negativo sobre a função endotelial. Aliado a isso, tem uma relação com a senescência, com consequente perda de função das células endoteliais e, um desbalanço entre a biodisponibilidade de ON e aumento de produção de ROS, que também leva a disfunção endotelial (“Endothelial dysfunction in Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Gender and age influences”, 2020; HIGASHI; KIHARA; NOMA, 2012).

Quanto ao aumento do IMC e TG como fatores negativos sobre a função endotelial, os mesmos podem desencadear um estado pró-inflamatório no tecido adiposo uma vez que está associado a redução na biodisponibilidade de ON (VIRDIS et al., 2019b). Complementarmente, o aumento de lipídeos circulantes no sangue é um importante mediador independente de disfunção endotelial (ENGIN, 2017; VIRDIS et al., 2019b). E ainda, com relação aos lipídios e sua relação com a função endotelial, o efeito positivo do HDLc sobre o endotélio já foi descrito em outros trabalhos (HIGASHI et al., 2010; RYSZ et al., 2020).

Em suma, os níveis reduzidos de vitamina D e o seu impacto negativo sobre a função endotelial, associados a fatores de risco metabólicos predisponentes a doença cardiovascular, podem sugerir o papel da vitamina D como ferramenta de apoio para avaliação da saúde do endotélio e possível risco cardiovascular.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora haja uma plausibilidade biológica na associação entre deficiência de vitamina D e disfunção endotelial, o estudo transversal (delineamento do estudo) é frágil em estabelecer uma relação de causa-efeito, pois não existe uma sequência temporal clara entre as medidas da vitamina D e função endotelial. Esse pode ser um ponto interessante a ser ressaltado como uma limitação do estudo. Em contrapartida, como fator positivo, o tamanho amostral.

REFERÊNCIAS

ADAMCZAK, M.; SURMA, S.; WIĘCEK, A. Vitamin D and Arterial Hypertension: Facts and Myths. **Current Hypertension Reports**, v. 22, n. 8, 2020.

AGHAMOHAMMADZADEH, N. et al. The relationship between serum 25-hydroxy Vitamin D and blood pressure and quality of life in overweight and obese patients with type 2 diabetes mellitus compared with healthy subjects. **Caspian Journal of Internal Medicine**, v. 11, n. 3, p. 267–277, 2020.

AL MHEID, I. et al. Vitamin D status is associated with arterial stiffness and vascular dysfunction in healthy humans. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 58, n. 2, p. 186–192, 2011.

AL MHEID, I.; QUYYUMI, A. A. Vitamin D and Cardiovascular Disease: Controversy Unresolved. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 1, p. 89–100, 2017.

ALLEGRA, V. et al. Glucose-Induced Insulin Secretion in Uremia: Role of $1\alpha,25(\text{HO})_2$ -Vitamin D₃. **Nephron**, v. 68, p. 41–47, 1994.

ALLOUBANI, A. et al. Relationship between Vitamin D Deficiency, Diabetes, and Obesity. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 2, p. 1457–1461, 2019.

ALYAMI, A. et al. Vitamin D & endothelial function. **Indian Journal of Medical Research**, v. 140, n. October, p. 483–490, 2014.

ALYAMI, A. M. et al. The association of vitamin D status with dyslipidaemia and biomarkers of endothelial cell activation in older Australians. **Nutrients**, v. 8, n. 8, p. 1–8, 2016.

ANDRUKHOVA, O. et al. Vitamin D is a regulator of endothelial nitric oxide synthase and arterial stiffness in mice. **Molecular Endocrinology**, v. 28, n. 1, p. 53–64, 2014.

APOSTOLAKIS, M. et al. Vitamin D and Cardiovascular Disease. **Maturitas**, v. 115, n. March, p. 1–22, 2018.

- AQUINO, E. M. L. et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult health (ELSA-Brasil): Objectives and design. **American Journal of Epidemiology**, v. 175, n. 4, p. 315–324, 2012.
- ATMACA, H. U.; AKBAS, F.; ARAL, H. Relationship between circulating microparticles and hypertension and other cardiac disease biomarkers in the elderly. v. 6, p. 1–7, 2019.
- AXTELL, A. L.; GOMARI, F. A.; COOKE, J. P. Assessing endothelial vasodilator function with the Endo-PAT 2000. **Journal of Visualized Experiments**, n. 44, p. 1–5, 2010.
- BARAC, A.; CAMPIA, U.; PANZA, J. A. Methods for Evaluating Endothelial Function in Humans. **Hypertension**, v. 49, p. 748–760, 2007.
- BISCHOFF-FERRARI, H. A. Vitamin D in geriatric patients. **Internist**, v. 61, n. 6, p. 535–540, 2020.
- BOUILLON, R. Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. **Nature Publishing Group**, 2017.
- BOUILLON, R. Vitamin D and cardiovascular disorders. **Osteoporosis International**, v. 30, n. 11, p. 2167–2181, 2019.
- BOUILLON, R.; SUDA, T. Vitamin D: calcium and bone homeostasis during evolution. **BoneKEy Reports**, v. 3, n. November 2013, p. 1–10, 2014.
- BRANT, L. C. C. et al. Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. **Journal of Hypertension**, v. 31, n. 10, p. 1984–1990, 2013.
- BRANT, L. C. C. et al. Relations of digital vascular function, cardiovascular risk factors, and arterial stiffness: The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) cohort study. **Journal of the American Heart Association**, v. 3, n. 6, p. 1–11, 2014.
- BRANT, L. C. C. **AVALIAÇÃO NÃO INVASIVA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL E SUA ASSOCIAÇÃO COM FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM ADULTOS BRASILEIROS: ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO**. [s.l.: s.n.].
- C. BREWER, L.; D. MICHOS, E.; P. REIS, J. Vitamin D in Atherosclerosis, Vascular

- Disease, and Endothelial Function. **Current Drug Targets**, v. 12, n. 1, p. 54–60, 2010.
- CAPRIO, M.; MAMMI, C.; ROSANO, G. M. C. Vitamin D: A novel player in endothelial function and dysfunction. **Archives of Medical Science**, v. 8, n. 1, p. 4–5, 2012.
- CARMELIET, G. Vitamin D and Bone: An Integrated Approach. In: **Vitamin D: Fourth Edition**. Fourth Edi ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. v. 1: Biochemp. 419–433.
- CEMBRANEL, F. et al. Obesity and 25(OH)D Serum Concentration Are More Important than Vitamin D Intake for Changes in Nutritional Status Indicators: A Population-Based Longitudinal Study in a State Capital City in Southern Brazil. **Nutrients**, v. 25, n. 11, 2019.
- CHAUDHARY, S. et al. **Analysis of the International Physical Guidelines for Data Processing and Activity Questionnaire (IPAQ)**.
- CHRISTAKOS, S. et al. Studies on the Mode of Action of Calciferol. XIII. Development of a Radioimmunoassay for Vitamin D-Dependent Chick Intestinal Calcium-Binding Protein and Tissue Distribution. v. 104, n. 5, p. 1495–1503, 1979.
- CHRISTAKOS, S. et al. Vitamin D: Metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 1, p. 365–408, 2015.
- DE LA GUÍA-GALIPIENSO, F. et al. Vitamin D and cardiovascular health. **Clinical Nutrition**, v. 20, n. January, p. 2946–2957, 2021.
- DE OLIVEIRA, A. C. R. et al. Bsm1 polymorphism in the vitamin d receptor gene is associated with 25-hydroxy vitamin D levels in individuals with cognitive decline. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 76, n. 11, p. 760–766, 2018.
- DUSSO, A. et al. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism Vitamin D in chronic kidney disease. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 25, n. 4, p. 647–655, 2011.
- DUSSO, A. S.; BROWN, A. J.; SLATOPOLSKY, E. Vitamin D. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 289, n. 1 58-1, p. 8–28, 2005.
- DZIEDZIC, E. A.; PRZYCHODZEN, S.; DABROWSKI, M. The effects of Vitamin D on

severity of coronary artery atherosclerosis and lipid profile of cardiac patients. **Archives of Medical Science**, v. 12, n. 6, p. 1199–1206, 2016.

Endothelial dysfunction in Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Gender and age influences. **Medical Hypotheses journal**, v. 144, p. 110015, 2020.

ENGIN, A. Endothelial Dysfunction in Obesity. In: **Obesity and Lipotoxicity, Advances in Experimental Medicine and Biology**. [s.l: s.n.]. p. 345–379.

ERTEK, S. et al. 25-hydroxy vitamin D levels and endothelial vasodilator function in normotensive women. **Archives of Medical Science**, v. 8, n. 1, p. 47–52, 2012.

FEDELI, L. G. et al. Logistics of collection and transportation of biological samples and the organization of the central laboratory in the ELSA-Brasil. **Revista de Saude Publica**, v. 47, n. 2, p. 63–71, 2013.

FERREIRA, C. E. DOS S. et al. **Posicionamento Oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) – Intervalos de Referência da Vitamina D - 25(OH)D**, 2018.

FLAMMER, A. J. et al. The assessment of endothelial function: From research into clinical practice. **Circulation**, v. 126, n. 6, p. 753–767, 2012.

FORMAN, J. P.; WILLIAMS, J. S.; FISHER, N. D. L. Plasma 25-hydroxyvitamin D and regulation of the renin-angiotensin system in humans. **Hypertension**, v. 55, n. 5, p. 1283–1288, 2010.

FRIEDMAN, P. A.; GESEK, F. A. Vitamin D3 accelerates PTH-dependent calcium transport in distal convoluted tubule cells. **American Journal of Physiology - Renal Fluid and Electrolyte Physiology**, v. 265, n. 2 34-2, 1993.

GONZÁLEZ, L. et al. Vitamin D status is inversely associated with obesity in a clinic-based sample in Puerto Rico. **Nutr Res**, v. 35, n. 4, p. 287–293, 2015.

GRÜBLER, M. R. et al. Vitamin-D concentrations , cardiovascular risk and events - a review of epidemiological evidence. **Endocr Metab Disord**, v. 18, p. 259–272, 2017.

GUPTA, A. K.; SEXTON, R. C.; RUDNEY, H. Effect of vitamin D3 derivatives on cholesterol synthesis and HMG-CoA reductase activity in cultured cells. **Journal of Lipid Research**, v. 30, n. 3, p. 379–386, 1989.

HAMBURG, N. M. et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in The Framingham Heart Study Naomi. **Circulation**, v. 117, n. 19, p. 2467–2475, 2008.

HAMBURG, N. M.; BENJAMIN, E. J. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. **Trends Cardiovasc Med.**, v. 19, n. 1, p. 6–11, 2009.

HEWISON, M. et al. Vitamin D and barrier function: A novel role for extra-renal 1 α -hydroxylase. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 215, n. 1–2, p. 31–38, 2004.

HIGASHI, Y. et al. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. **Circulation Journal**, v. 73, n. 3, p. 411–418, 2009.

HIGASHI, Y. et al. Endothelial function in subjects with isolated low HDL cholesterol: Role of nitric oxide and circulating progenitor cells. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 298, n. 2, p. 202–209, 2010.

HIGASHI, Y.; KIHARA, Y.; NOMA, K. Endothelial dysfunction and hypertension in aging. **Hypertension Research**, v. 35, n. 11, p. 1039–1047, 2012.

HINDERLITER, A. L.; CAUGHEY, M. Assessing endothelial function as a risk factor for cardiovascular disease. **Current Atherosclerosis Reports**, v. 5, n. 6, p. 506–513, 2003.

HUANG, A. L.; VITA, J. A. Effects of Systemic Inflammation on Endothelium-Dependent Vasodilation. **Trends Cardiovasc Med**, v. 16, n. 1, p. 15–20, 2006.

HUSSIN, A. M. et al. Cross-sectional study to evaluate the association between Vitamin D status and endothelial function in overweight and obese, post-menopausal women. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, n. OCE3, p. 2404, 2016.

HUSSIN, A. M. et al. Effects of vitamin D supplementation on endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. **European Journal of**

Nutrition, v. 56, n. 3, p. 1095–1104, 2017.

HYMØLLER, L.; JENSEN, S. K. Vitamin D analysis in plasma by high performance liquid chromatography (HPLC) with C30 reversed phase column and UV detection - Easy and acetonitrile-free. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 14, p. 1835–1841, 2011.

JABLONSKI, K. L. et al. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation- linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults. **Hypertension**, v. 57, n. 1, p. 63–69, 2011.

JAMALI, N.; SORENSON, C. M.; SHEIBANI, N. Vitamin D and regulation of vascular cell function. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 314, n. 4, p. H753–H765, 2018.

JIANG, X. et al. Vitamin D deficiency is associated with dyslipidemia: a cross-sectional study in 3788 subjects. **Current Medical Research and Opinion**, v. 35, n. 6, p. 1059–1063, 2019.

KENNEL, K. A.; DRAKE, M. T.; HURLEY, D. L. Vitamin D deficiency in adults: When to test and how to treat. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 85, n. 8, p. 752–758, 2010.

KHAMMISSA, R. A. G. et al. The Biological Activities of Vitamin D and Its Receptor in Relation to Calcium and Bone Homeostasis, Cancer, Immune and Cardiovascular Systems, Skin Biology, and Oral Health. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.

KHAN, A.; DAWOUD, H.; MALINSKI, T. Nanomedical studies of the restoration of nitric oxide/peroxynitrite balance in dysfunctional endothelium by 1,25-dihydroxy vitamin D3 - clinical implications for cardiovascular diseases. **International Journal of Nanomedicine**, v. 13, p. 455–466, 2018.

KIM, D. H. et al. Vitamin D and endothelial function. **Nutrients**, v. 12, n. 2, p. 1–17, 2020.

KORANTZOPOULOS, P. et al. Inflammation and atrial fibrillation: A comprehensive review. **Journal of Arrhythmia**, v. 34, n. 4, p. 394–401, 2018.

- LI, Y. C. et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. **J Clin Invest**, v. 110, n. 2, p. 229–238, 2002.
- LIPS, P. et al. Vitamin D and type 2 diabetes. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 173, p. 280–285, 2017.
- LUNDWALL, K. et al. Treating endothelial dysfunction with vitamin D in chronic kidney disease: A meta-analysis. **BMC Nephrology**, v. 19, n. 1, p. 1–7, 2018.
- MADDALONI, E. et al. Vitamin D and Diabetes Mellitus. **Frontiers of Hormone Research**, v. 50, p. 161–176, 2018.
- MAEDA, S. S. et al. Recommendations of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabology (SBEM) for the diagnosis and treatment of hypovitaminosis D. n. 1, 2014.
- MATSUZAWA, Y. et al. Predictive value of endothelial function by noninvasive peripheral arterial tonometry for coronary artery disease. **Coronary Artery Disease**, v. 26, n. 3, p. 231–238, 2015.
- MICHAEL A., G. J.; GUILLERMO, G.-C. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. **Circulation Research**, v. 176, n. 1, p. 139–148, 2016.
- MIGLIACCIO, S. et al. Obesity and hypovitaminosis D: causality or casualty? **International Journal of Obesity Supplements**, v. 9, n. 1, p. 20–31, 2019.
- MOERLAND, M. et al. Evaluation of the endoPAT as a tool to assess endothelial function. **International Journal of Vascular Medicine**, v. 2012, 2012.
- MOLINARI, C. et al. 1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol Induces Nitric Oxide Production in Cultured Endothelial Cells. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 27, p. 661–668, 2011.
- MOTOZATO, K. et al. Reactive Hyperemia Index Associated With Atherosclerotic Cardiovascular Disease Under Treatment for Lifestyle Diseases. **Journal of Clinical Medicine Research**, v. 12, n. 5, p. 293–299, 2020.
- MOZOS, I.; MARGINEAN, O. Links between Vitamin D Deficiency and Cardiovascular Diseases. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

MÜLLER, D. N.; KLEINWIETFELD, M.; KVAKAN, H. Vitamin D review. **Journal of the Renin-Angiotensin- Aldosterone System**, v. RAAS Worki, p. 125–128, 2011.

NAPOLI, C. et al. Nitric oxide and atherosclerosis: An update. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, v. 15, n. 4, p. 265–279, 2006.

NEELANKAL JOHN, A.; JIANG, F. X. An overview of type 2 diabetes and importance of vitamin D3-vitamin D receptor interaction in pancreatic β -cells. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 32, n. 4, p. 429–443, 2018.

NEVES, J. A. J. A. N.; OLIVEIRA, R. DE C. M. Biomarcadores de função endotelial em doenças cardiovasculares : hipertensão. v. 15, n. 3, p. 224–233, 2016.

NORMAN, P. E.; POWELL, J. T.; NORMAN, P. Vitamin D and Cardiovascular Disease. **Circulation Research - American Heart Association, Inc**, v. 114, p. 379–394, 2014.

ONG, M. W.; TAN, C. H.; CHENG, A. K. S. Prevalence and Determinants of Vitamin D Deficiency Among the Overweight and Obese Singaporeans Seeking Weight Management Including Bariatric Surgery: a Relationship with Bone Health. **Obesity Surgery**, v. 28, n. 8, p. 2305–2312, 2018.

ORKABY, A. R.; DJOUSSE, L.; MANSON, J. E. Vitamin D supplements and prevention of cardiovascular disease. 2019.

PÉREZ-HERNÁNDEZ, N. et al. Vitamin d and its effects on cardiovascular diseases: A comprehensive review. **Korean Journal of Internal Medicine**, v. 31, n. 6, p. 1018–1029, 2016.

QUESADA, J. M. et al. Effect of Calcitriol on Insulin Secretion in Uraemia. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 5, n. 12, p. 1013–1017, 1990.

R-CORE-TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>**, 2020.

RYSZ, J. et al. The role and function of HDL in patients with chronic kidney disease and the risk of cardiovascular disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21,

n. 2, 2020.

SASSI, F.; TAMONE, C.; D'AMELIO, P. Vitamin D: Nutrient, hormone, and immunomodulator. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1–14, 2018.

SBC. ATUALIZAÇÃO DA DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE – 2017Sociedade Brasileira de Cardiologia. [s.l: s.n.].

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.

SCHMIDT, M. I. et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: Burden and current challenges. **The Lancet**, v. 377, n. 9781, p. 1949–1961, 2011.

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. **Circulation: Cardiovascular Imaging**, v. 4, n. 4, p. 371–380, 2011.

SCHUCH, N. J.; GARCIA, V. C.; MARTINI, L. A. Vitamina D e doenças endocrinometabólicas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 625–633, 2009.

SCHWARZ, N.; NICHOLLS, S. J.; PSALTIS, P. J. Vitamin D and Cardiovascular Disease. **Heart, Lung and Circulation**, v. 27, p. 151–164, 2018.

STANHEWICZ, A. E.; WENNER, M. M.; STACHENFELD, N. S. Sex differences in endothelial function important to vascular health and overall cardiovascular disease risk across the lifespan. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 315, n. 6, p. H1569–H1588, 2018.

STORCH, A. S. et al. Métodos de Investigação da Função Endotelial: Descrição e suas Aplicações. **International Journal of Cardiovascular Sciences.**, v. 30, n. 3, p. 262–273, 2017.

- SURDU, A. M. et al. Vitamin D and its role in the lipid metabolism and the development of atherosclerosis. **Biomedicines**, v. 9, n. 2, p. 1–16, 2021.
- SZMITKO, P. E. et al. New Markers of Inflammation and Endothelial Cell Activation Part I. **Circulation**, v. 108, n. 16, p. 1917–1923, 2003.
- TAMEZ, H.; KALIM, S.; THADHANI, R. I. Does vitamin D modulate blood pressure? **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 22, n. 2, p. 204–209, 2013.
- TANAKA, K. et al. Low Vitamin D Levels are Associated with Vascular Endothelial Dysfunction in Patients with Poorly Controlled Type 2 Diabetes: A Retrospective Study. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, p. 1–10, 2021.
- TARCIN, O. et al. Effect of vitamin D deficiency and replacement on endothelial function in asymptomatic subjects. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 94, n. 10, p. 4023–4030, 2009.
- TERRA, R. R. **OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA A QUANTIFICAÇÃO DA VITAMINA D NO PLASMA UTILIZANDO A TÉCNICA DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**. [s.l.: s.n.].
- THE LANCET GLOBAL HEALTH. Getting to the heart of non-communicable diseases. **The Lancet Global Health**, v. 6, n. 9, p. e933, 2018.
- THOMAS J. WANG, MD; MICHAEL J. PENCINA, P. S. L. B. et al. Vitamin D Deficiency and Risk of Cardiovascular Disease. **Circulation**, v. 117, n. 4, p. 2006–2008, 2008.
- TREVISAN, C. et al. Nutrition , Metabolism & Cardiovascular Diseases Parathormone , vitamin D and the risk of atrial fi brillation in older adults : A prospective study. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 29, n. 9, p. 939–945, 2019.
- VANE, J.; ANGGARD, E. E.; BOTTING, R. M. Regulatory functions of the vascular endothelium. **The New English Journal of medicine**, v. 323, n. 1, p. 1120–1123, 1990.
- VIRDIS, A. et al. Microvascular Endothelial Dysfunction in Human Obesity: Role of TNF- α . (**J Clin Endocrinol Metab**, v. 104, p. 341–348, 2019a.
- VIRDIS, A. et al. Microvascular Endothelial Dysfunction in Patients with Obesity.

Current Hypertension Reports, v. 21, n. 32, p. 1–7, 2019b.

VRANIĆ, L.; MIKOLAŠEVIĆ, I.; MILIĆ, S. Vitamin D deficiency: Consequence or cause of obesity? **Medicina (Lithuania)**, v. 55, n. 9, 2019.

WALSH, J. S.; BOWLES, S.; EVANS, A. L. Vitamin D in obesity. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 24, n. 6, p. 389–394, 2017.

WANG, T. J. Vitamin D and Cardiovascular Disease. **Annu. Rev. Med**, v. 67, p. 261–272, 2016.

WHO. **The Use and Interpretation of Anthropometry Physical status: report of a WHO expert committee** WHO Technical report series. [s.l.: s.n.].

WORTSMAN, J. et al. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 3, p. 690–693, 2000.

XAVIER, L. B. et al. Polymorphisms in vitamin D receptor gene, but not vitamin D levels, are associated with polycystic ovary syndrome in Brazilian women. **Gynecological Endocrinology**, v. 35, n. 2, p. 146–149, 2019.

ZHANG, J.; BOTTIGLIERI, T.; MCCULLOUGH, P. A. The Central Role of Endothelial Dysfunction in Cardiorenal Syndrome. **Cardiorenal Med**, v. 7, p. 104–117, 2017.

ZHANG, J.; MCCULLOUGH, P. A.; TECSON, K. M. Vitamin D deficiency in association with endothelial dysfunction: Implications for patients with COVID-19. **Reviews in Cardiovascular Medicine**, v. 21, n. 3, p. 339–344, 2020.

ZHANG, Q. YAN et al. Hypovitaminosis D is associated with endothelial dysfunction in patients with non-dialysis chronic kidney disease. **Journal of Nephrology**, v. 28, n. 4, p. 471–476, 2015.

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.

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

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).

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
	<i>continua</i>
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 Interview 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 *Trail Making Test B* 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-chumboe 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, Toshiba, 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) (Applio XG) com resolução axial de aproximadamente 0,10 mm
Medida das camadas de	camada de gordura da preperitoneal e subcutânea obtida com tradutor linear (frequência

gordura abdominal	nominal do tradutor de 7,5 MHz) (Applio X)
Esteatose não alcóolica	ultrassonografia do fígado (Applio XG)
Fotografia da retina	<i>continua</i> imagens centrada em mácula e disco óptico de cada olho obtida com um Canon CR 1, sistema midiático 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 
Prof. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG