

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas

Breno Augusto dos Santos

**AVALIAÇÃO ENTRE ÍNDICES INFLAMATÓRIOS DERIVADOS DO
HEMOGRAMA E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE TROMBOMODULINA VERSUS
FUNÇÃO ENDOTELIAL EM SUBAMOSTRA DE PARTICIPANTES DO ESTUDO
LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO (ELSA-BRASIL)**

Belo Horizonte

2024

Breno Augusto dos Santos

**AVALIAÇÃO ENTRE ÍNDICES INFLAMATÓRIOS DERIVADOS DO
HEMOGRAMA E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE TROMBOMODULINA VERSUS
FUNÇÃO ENDOTELIAL EM SUBAMOSTRA DE PARTICIPANTES DO ESTUDO
LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO (ELSA-BRASIL)**

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

Orientadora: Profa. Dr^a Iêda de Fátima Oliveira Silva
Coorientadora: Profa. Dr^a Edna Afonso Reis

Belo Horizonte

2024

Santos, Breno Augusto dos.

S237a Avaliação entre índices inflamatórios derivados do hemograma e níveis plasmáticos de trombomodulina versus função endotelial em subamostra de participantes do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA-BRASIL) [recurso eletrônico] / Breno Augusto dos Santos. – 2024.

1 recurso eletrônico (94 f. : il.) : pdf

Orientadora: Iêda 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.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Trombomodulina – Teses. 2. Endotélio – Teses. 3. Inflamação – Teses. I. Silva, Iêda de Fátima Oliveira. II. Reis, Edna Afonso. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:616.15



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

UFMG

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DO ALUNO BRENO AUGUSTO DOS SANTOS

Realizou-se, no dia 15 de março de 2024, às 14:00 horas, Sala 3062, Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *Avaliação entre índices inflamatórios derivados do hemograma e níveis plasmáticos de trombomodulina versus função endotelial em subamostra de participantes do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA – BRASIL)*, apresentada por BRENO AUGUSTO DOS SANTOS, número de registro 2021702477, graduado no curso de BIOMEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, à seguinte Comissão Examinadora: Profa. Ieda de Fatima Oliveira Silva - Orientadora (UFMG), Profa. Edna Afonso Reis (UFMG), Profa. Maria das Graças Carvalho (UFMG), Profa. Luisa Campos Caldeira Brant (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

☒ Aprovada

☐ Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 15 de março de 2024.


Profa. Ieda de Fatima Oliveira Silva (Doutora)


Profa. Edna Afonso Reis (Doutora)


Profa. Maria das Graças Carvalho (Doutora)


Profa. Luisa Campos Caldeira Brant (Doutora)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

UFMG

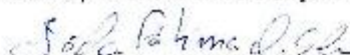
FOLHA DE APROVAÇÃO

Avaliação entre índices inflamatórios derivados do hemograma e níveis plasmáticos de trombomodulina versus função endotelial em subamostra de participantes do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA – BRASIL)

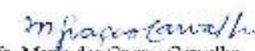
BRENO AUGUSTO DOS SANTOS

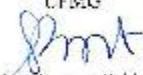
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, área de concentração ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS.

Aprovada em 15 de março de 2024, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Teda de Fátima Oliveira Silva - Orientadora
UFMG


Prof. Filipe Afonso Reis
UFMG


Prof. Maria das Graças Carvalho
UFMG


Prof. Luísa Carapós Caldeira Brand
UFMG

Belo Horizonte, 15 de março de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por manter acesa a chama do sonho vivo e, possibilitar a realização dessa conquista. Se não fosse por Sua permissão não teria chegado aonde estou. Sempre pavimentando e dando sustento a cada passo dado em direção ao objetivo.

Aos meus pais, Orlando, pelas conversas calorosas e Mirna (in memoriam) por sempre instigar o melhor de cada um de nós. Minha eterna gratidão e admiração. Amo vocês!

A minha esposa, Juliana, por perseverar ao meu lado, em momentos que pensei não ser possível continuar. Me auxiliando e dando estrutura para realizar essa jornada, te agradeço. Amo você! As minhas filhas, Valentina e Catarina. Um sopro de alegria em dias mais cinzas, com suas risadas, brincadeiras e carinho, tornando os dias mais leves. Vocês são minha alegria. Aos meus irmãos, irmãs, cunhadas e amigos que, de alguma forma contribuíram cada um à sua maneira nesta trajetória.

À Profa. Iêda de Fátima Oliveira Silva, pela mentoria, aprendizado e crescimento, durante essa caminhada. Acreditando e me instruindo durante este processo.

À Profa. Edna Reis, por mostrar sempre uma visão pragmática e, demonstrando formas diferentes de avaliar a mesma situação, com dados precisos e uma estatística impecável.

Às Profas. Maria das Graças Carvalho e Ana Paula Lucas Mota, por mostrarem a luz, em um momento, que pensávamos encontrar somente escuridão. Sem o auxílio e as trocas de ideias, este trabalho não seria possível.

Aos professores, demais funcionários e colegas do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, agradeço o tempo, dedicação e troca de conhecimento durante esses anos.

RESUMO

A disfunção endotelial, caracterizada pela incapacidade das artérias de se dilatarem adequadamente, está associada a alterações nos marcadores inflamatórios e hemostáticos. A trombomodulina (TM), uma glicoproteína de membrana, desempenha um papel crucial na homeostase vascular ao se ligar à trombina, modulando os processos fibrinolítico e hemostático. Este estudo investigou a relação entre a TM, marcadores inflamatórios derivados do hemograma e a função endotelial em participantes do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA-Brasil), Centro de Investigação de Minas Gerais (CI-MG). Foram realizadas dosagens de TM, cálculo de índices inflamatórios e avaliação da função endotelial por meio da tonometria arterial periférica (PAT). Os resultados revelaram que níveis mais elevados de TM foram observados em homens, especialmente naqueles com menor escolaridade (Ensino Fundamental ou Médio) e consumo excessivo de álcool. A TM apresentou correlação negativa com a taxa de filtração glomerular (TFG), sugerindo que a disfunção renal está associada a níveis mais altos dessa glicoproteína. Além disso, houve uma correlação positiva entre TM e amplitude de pulso basal (BPA), indicando uma tendência a disfunção endotelial moderada em indivíduos com níveis aumentados de TM. A análise de regressão logística múltipla mostrou que homens têm quatro vezes mais chances de apresentarem níveis elevados de TM, compatíveis com pior função endotelial. Em relação aos marcadores inflamatórios, participantes com melhor função endotelial apresentaram menor contagem de eritrócitos e maior relação plaquetas/linfócitos (PLR). Indivíduos com alteração na função endotelial exibiram valores médios mais elevados de eritrócitos, hemoglobina, CHCM, hematócrito e leucócitos, enquanto plaquetas e PLR foram menores. Entre os participantes sem doenças crônicas, os intervalos de confiança (IC) de 95% para a distância das médias dessas variáveis foram maiores (exceto para leucócitos, plaquetas e PLR), sugerindo que esses parâmetros podem ser melhores marcadores de alteração da função endotelial nesse grupo. Por outro lado, os participantes sem comorbidades deste mesmo grupo apresentaram aumento nos valores para eritrócitos, hemoglobina e hematócrito e as curvas ROC construídas indicaram que esses parâmetros não foram eficazes como marcadores de disfunção endotelial para estes indivíduos. Conclui-se que homens apresentam maior probabilidade de níveis elevados de TM, associados a pior função endotelial. O aumento na contagem de eritrócitos também foi relacionado à disfunção endotelial. Contudo, os índices inflamatórios derivados do hemograma não se mostraram significativamente associados à disfunção endotelial na amostra estudada, indicando sua limitação como marcadores subclínicos dessa condição.

Palavras-chave: ELSA-Brasil; trombomodulina; disfunção endotelial; marcadores de inflamação.

ABSTRACT

Endothelial dysfunction, characterized by the inability of arteries to dilate properly, is associated with changes in inflammatory and hemostatic markers. Thrombomodulin (TM), a membrane glycoprotein, plays a crucial role in vascular homeostasis by binding to thrombin, thereby modulating fibrinolytic and hemostatic processes. This study investigated the relationship between TM, inflammatory markers derived from blood counts, and endothelial function in participants from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil), Minas Gerais Investigation Center (CI-MG). Measurements of TM, calculation of inflammatory indices, and assessment of endothelial function were performed using peripheral arterial tonometry (PAT). The results revealed that higher levels of TM were observed in men, particularly those with lower educational attainment (elementary or high school education) and excessive alcohol consumption. TM showed a negative correlation with the glomerular filtration rate (GFR), suggesting that renal dysfunction is associated with higher levels of this glycoprotein. Additionally, a positive correlation was found between TM and baseline pulse amplitude (BPA), indicating a tendency toward moderate endothelial dysfunction in individuals with elevated TM levels. Multiple logistic regression analysis showed that men were four times more likely to have higher TM levels, consistent with worse endothelial function. Regarding inflammatory markers, participants with better endothelial function exhibited lower red blood cell counts and higher platelet-to-lymphocyte ratios (PLR). Individuals with endothelial dysfunction displayed higher mean values for red blood cells, hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), hematocrit, and leukocytes, while platelets and PLR were lower. Among participants without chronic diseases, the 95% confidence intervals (CI) for the mean differences of these variables were wider (except for leukocytes, platelets, and PLR), suggesting that these parameters may be better markers of endothelial dysfunction in this group. On the other hand, participants without comorbidities in this group showed increased values for red blood cells, hemoglobin, and hematocrit, and the constructed ROC curves indicated that these parameters were not effective as markers of endothelial dysfunction in these individuals. In conclusion, men are more likely to have elevated TM levels, which are associated with worse endothelial function. Increased red blood cell counts were also linked to endothelial dysfunction. However, inflammatory indices derived from blood counts were not significantly associated with endothelial dysfunction in the studied sample, indicating their limitations as subclinical markers of this condition.

Keywords: ELSA-Brazil; thrombomodulin; endothelial dysfunction; inflammatory markers.

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
<	Menor que
>	Maior que
ACQ	Angiografia coronariana quantitativa
AISI	Aggregate index of systemic inflammation
APC	Proteína C ativada
apoB	Apolipoproteína B
AVC	Acidente vascular cerebral
BPA	Amplitude de pulso basal
CHCM	Concentração hemoglobínica corpuscular média
CI-MG	Centro de Investigação de Minas Gerais
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
CPB2	Carboxipeptidase B2
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doenças cardiovasculares
DFM	Dilatação média por fluxo
DM	Diabetes mellitus
DP	Desvio padrão
EGF	Fator de crescimento epidérmico
ELSA	Estudo longitudinal da saúde do adulto
EPCR	Receptor da proteína C das células endoteliais
ET-1	Endotelina 1
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FLD	Fluxometria por laser dopler
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1c	Hemoglobina glicada A1c
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMGB1	Grupo de alta mobilidade 1
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM-1	Molécula de adesão intermolecular
ICC	Insuficiência cardíaca
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
LDL-C	Lipoproteína de baixo peso molecular
LMR	Relação linfócitos/monócitos
LP(a)	Lipoproteína a
MAPK	Mitogen activated protein kinase
MCH	Hemoglobina corpuscular média
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos-1

MCV	Volume corpuscular médio
MDE1	Moderada disfunção endotelial 1
MDE2	Moderada disfunção endotelial 2
MFE	Melhor função endotelial
mL	Mililitro
mmHG	Milímetros de mercúrio
mRNA	RNA mensageiro
NETs	Ectodomínios de neutrófilos
Ng	Nanograma
NLR	Relação Neutrófilos/Linfócitos
OMS	Organização Mundial da Saúde
ON	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio-1
PAT	Tonometria arterial periférica
PAT ratio	Razão da tonometria arterial periférica
PC	Proteína C
PCR	Proteína C Reativa
PFE	Pior função endotelial
PI3K	Fosfadilinositol 3-quinase
PLR	Relação plaquetas/linfócitos
OS	Proteína S
Q1	Primeiro quartil 1
Q3	Terceiro quartil 3
QUI	Quilomicrons
RDW	Amplitude de distribuição dos eritrócitos
RHI	Índice de hiperemia reativa
ROS	Espécie reativas de oxigênio
SII	Systemic immune-inflammation index
SIRI	Systemic inflammation response index
TAFI	Inibidor de fibrinólise ativável por trombina
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TFG	Taxa de filtração glomerular
TG	Triglicérides
TLR	Receptor toll-like
TM	Trombomodulina
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
TSH	Hormônio estimulador da tireoide
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
USP	Universidade de São Paulo
VCAM-1	Molécula de adesão vascular
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
VOP	Velocidade de onda de pulso

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etiologia do processo inflamatório.....	16
Figura 2 – Estrutura da trombomodulina (TM)	25
Figura 3 – Histograma e boxplot dos níveis séricos de trombomodulina dos participantes do estudo	48
Figura 4 – Diagrama de dispersão dos parâmetros de BPA e PAT ratio para classificação de função endotelial (em melhor quadrante), moderada (2) e pior (3)	49
Figura 5 – Boxplots dos níveis séricos de trombomodulina de acordo com as categorias da função endotelial	50
Figura 6 – Boxplots para os valores de PLR e eritrócitos, segundo os grupos de classificação da função endotelial do Quadro 1	53
Figura 7 – Intervalos de confiança para a média dos valores de parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios	58
Figura 8 – Curvas ROC com AUC (área abaixo da curva) dos parâmetros laboratoriais, segundo alteração na função endotelial em participantes sem relato de doenças crônicas (n=107)	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis plasmáticos de trombomodulina dos participantes do estudo (n=446)	44
Tabela 2 – Características sociodemográficas, antropométricas e hábitos de vida e sua relação com níveis séricos de trombomodulina (n=446)	46
Tabela 3 – Doenças crônicas, uso de medicamentos e relação com níveis séricos de trombomodulina (n=446)	47
Tabela 4 – Estatísticas descritivas dos exames laboratoriais e seus coeficientes de correlação linear de Spearman (r) com trombomodulina (n=446)	47
Tabela 5 – Estatísticas descritivas dos marcadores de função endotelial e seus coeficientes de correlação linear de Spearman (r) com trombomodulina (n=446)	50
Tabela 6 – Estatísticas descritivas e testes dos valores de trombomodulina (ng/mL), segundo categorias da função endotelial (n=446)	50
Tabela 7 – Resultados de ajuste do modelo de regressão logística múltipla para função endotelial piorada (n=446)	51
Tabela 8 – Estatísticas descritivas dos marcadores inflamatórios segundo os grupos de função endotelial do Quadro 1 (n=446).	52
Tabela 9 – Estatísticas descritivas dos marcadores inflamatórios, segundo os grupos de função endotelial não alterada (MFE) (n=283) e alterada (MDE1+MDE2+PFE) (n=163)	54
Tabela 10 – Estatísticas descritivas dos parâmetros laboratoriais e marcadores função endotelial, segundo relato de doenças crônicas e alteração na função endotelial (n=446)	55
Tabela 11 – Estatísticas descritivas dos parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios, segundo alteração na função endotelial em participantes sem relato de doenças crônicas (n=107)	62

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 Função endotelial.....	19
2.2 Disfunção endotelial.....	19
2.3 Disfunção endotelial e Risco cardiovascular.....	20
2.4 Avaliação da função endotelial.....	22
2.5 Trombomodulina.....	23
2.6 Trombomodulina e função endotelial.....	24
2.7 Trombomodulina e fatores de risco cardiovascular.....	27
2.8 Disfunção endotelial e índices inflamatórios.....	28
2.9 Índices inflamatórios derivados do hemograma.....	29
2.10 Relação plaqueta e linfócito.....	31
2.11 Relação linfócito e monócito.....	32
2.12 Índice de inflamação imunológica sistêmica.....	33
2.13 Índice agregado de inflamação sistêmica (AIS).....	34
3 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA.....	35
4 OBJETIVOS.....	36
4.1 Objetivo geral.....	36
4.2 Objetivos específicos.....	36
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
5.1 Aspectos éticos.....	37
5.2 Participantes.....	37
5.3 Critérios de inclusão e exclusão.....	38
5.3.1 Critérios de inclusão.....	38
5.3.2 Critérios de exclusão.....	38
5.4 Variáveis selecionadas a partir do Banco de dados do ELSA-Brasil.....	38
5.5 Amostras biológicas.....	39
5.6 Métodos.....	39
5.6.1 Determinação dos níveis de trombomodulina.....	39
5.6.2 Determinação dos demais parâmetros bioquímicos.....	40
5.7 Avaliação dos marcadores (índices) inflamatórios derivados do hemograma.....	40
5.7.1 Avaliação da função endotelial.....	41

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
7 RESULTADOS.....	44
7.1 Características dos participantes do estudo e relação com trombomodulina.....	44
7.2 Doenças crônicas, uso de medicamentos e relação com trombomodulina.....	45
7.3 Parâmetros laboratoriais e relação com trombomodulina.....	46
7.4 Análise dos níveis plasmáticos de trombomodulina.....	47
7.5 Função endotelial e relação com trombomodulina.....	48
7.5.1 <i>Modelo de regressão logística para função endotelial explicada pela trombomodulina e variáveis de controle.....</i>	51
7.5.2 Marcadores inflamatórios (índices) derivados do hemograma e relação com função endotelial.....	52
7.6 Parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios e relação com função endotelial segundo relato de doenças crônicas.....	54
7.6.1 Parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios e relação com função endotelial na ausência de doenças crônicas.....	61
8 DISCUSSÃO	65
8.1. Características dos participantes do estudo e níveis séricos de trombomodulina.....	65
8.2 Doenças crônicas, uso de medicamentos e dados laboratoriais com níveis séricos de trombomodulina.....	66
8.3 Função endotelial e relação com trombomodulina.....	67
8.4 Modelo de regressão logística para função endotelial explicada pela trombomodulina e variáveis de controle.....	68
8.5. Análise da função Endotelial e Índices Inflamatórios Derivados do Hemograma.....	68
8.6. Parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios e relação com função endotelial segundo relato de doenças crônicas.....	69
9 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS.....	73
ANEXOS	88

1 INTRODUÇÃO

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), algumas doenças cardiovasculares (DCV) como a doença arterial coronariana (DAC) e o acidente vascular cerebral (AVC), são as causas de mortes mais frequentes no mundo (Gruenwald *et al.*, 2019). Dentro desse contexto, a função endotelial mostrou-se prejudicada não só em pacientes com DAC, mas também naqueles que apresentam doenças como: diabetes mellitus tipo II (DM), hipertensão, obesidade, insuficiência renal e hipercolesterolemia (Moerland *et al.*, 2012), sendo estes fatores de risco para as DCV. Sendo assim compreensível que a melhora da função endotelial seja um alvo importante no tratamento dessas condições (Gruenwald *et al.*, 2019).

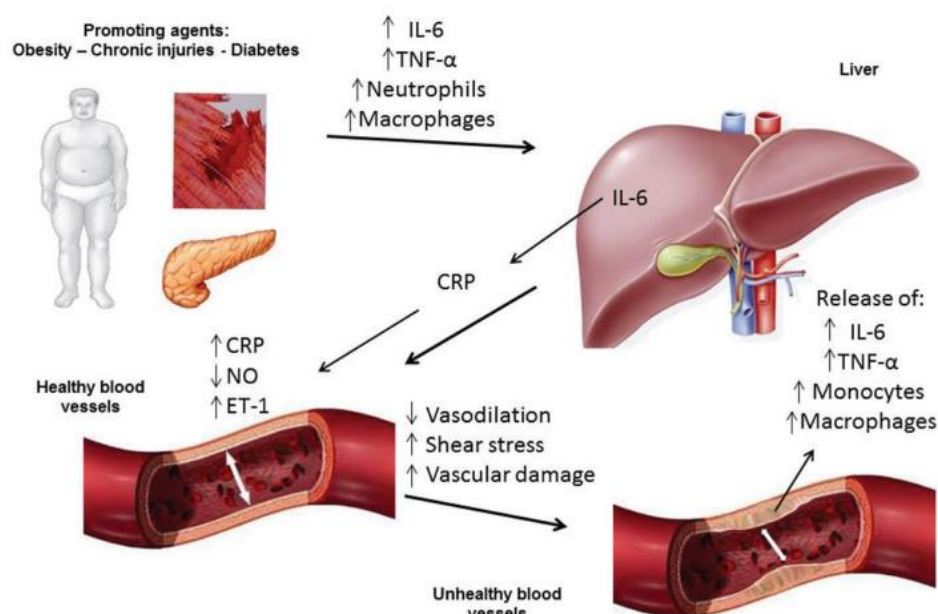
É importante ressaltar que a função endotelial é um marcador da saúde dos vasos sanguíneos e, que a sua disfunção está relacionada à uma menor biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e, em um aumento da inflamação e do estresse oxidativo. Isso acontece porque, quando o endotélio se encontra comprometido, tende-se a uma maior tendência à vasoconstrição, trombogenicidade e proliferação celular anormal - que são processos centrais no surgimento, progressão e apresentação clínica de doenças cardiovasculares, como o infarto agudo do miocárdio (IAM) e AVC (Brant *et al.*, 2014).

Observa-se que as ligações entre muitas doenças crônicas incluem o estresse oxidativo e a inflamação, sendo estes fatores facilitadores para o desenvolvimento da disfunção endotelial e subsequente progressão para demais complicações como: aterosclerose e diminuição da biodisponibilidade do NO. Além de fatores de risco associados à disfunção endotelial como: a hipertensão, dislipidemia, diabetes, tabagismo; o estresse oxidativo figura como principal representante para formação de placas ateroscleróticas, uma vez que, o estresse oxidativo produz lesão celular direta, o que leva a uma inflamação endotelial vascular, favorecendo a formação e progressão da placa aterosclerótica. Assim o estresse oxidativo e o equilíbrio perturbado entre os fatores oxidantes e os sistemas de defesa antioxidantes estão relacionados com a fisiopatologia de uma série de doenças como: Alzheimer, Parkinson, doenças inflamatórias, DM, hipertensão essencial e aterosclerose (Yilmaz Mi *et al.*, 2020).

Sendo a inflamação reconhecida como um importante fator no desenvolvimento de várias doenças cardiovasculares e de complicações, tais como hipertensão arterial sistêmica (HAS), insuficiência cardíaca (ICC), arterosclerose e AVC. A etiologia da inflamação envolve o comprometimento morfológico e funcional do endotélio e de plaquetas (Andrade *et al.*,2014).

Ainda assim, a inflamação crônica de baixo grau pode ser causada por diversos fatores, tais como lesões crônicas, diabetes e obesidade. A inflamação provoca aumento da produção de células como neutrófilos e monócitos, citocinas como IL-6 (interleucina 6) e TNF α (fator de necrose tumoral alfa) e proteínas pró-inflamatórias como a PCR (proteína C reativa) (Gleeson *et al.*,2011). O aumento de neutrófilos e macrófagos em resposta à inflamação provoca maior síntese de IL-6 que, por sua vez, aumenta a produção de PCR pelo fígado. A PCR diminui a atividade do óxido nítrico sintase (NOS), diminuindo assim a disponibilidade de NO, o que leva a um aumento da concentração de ET-1 (endotelina 1), diminuindo dessa forma o processo de vasodilatação, com isso, provocando um maior estresse de cisalhamento e, conseqüentemente, maiores danos ao vaso sanguíneo, favorecendo assim o processo da aterosclerose e formação de trombos como descrito na Figura 1 (Teixeira *et al.*, 2014).

Figura 1- Etiologia do processo inflamatório



Fonte: Adaptado de Teixeira *et al.* (2014).

O endotélio vascular exerce um efeito antitrombótico e vasodilatador na parede do vaso. E a lesão das células endoteliais e a sua exposição leva a uma liberação de citocinas pró-inflamatórias e a indução da atividade pró-coagulante com a expressão de moléculas de adesão à superfície celular com prejuízo do endotélio (Fichtlscherer *et al.*, 2000).

Nesse sentido, os valores de leucócitos são considerados preditores para IAM sendo que, seus valores elevados estão correlacionados a um pior prognóstico e a uma maior extensão da lesão. Enquanto, os leucócitos desempenham um papel fundamental no desenvolvimento da aterosclerose, devido a sua ativação estar associada ao aumento da expressão das moléculas de adesão e a superprodução de citocinas, enzimas proteolíticas e espécies reativas de oxigênio (ROS) (Caimi G *et al.*, 2016).

Além disto, populações de glóbulos brancos imunocompetentes tais como: monócitos, linfócitos e neutrófilos desempenham um papel crucial na resposta inflamatória sistêmica à infecção grave, lesão, politrauma e choque (Zahorec *et al.*, 2001). E a interação entre o neutrófilo e o tecido endotelial veem a causar aumento de danos ao endotélio, por meio da liberação de enzimas proteolíticas, derivadas do ácido araquidônico e de radicais de superóxido, mediadores inflamatórios, que estão associados a uma resposta inflamatória aguda e a lesão tecidual, o que pode tornar a placa aterosclerótica mais vulnerável (Balta *et al.*, 2015).

De modo similar, a contagem de plaquetas por sua vez está associada ao aumento do risco de IAM e à mortalidade de curto e longo prazo após o IAM, uma vez que, valores elevados de plaquetas estão associados a obstrução dos vasos, devido a formação de trombos. Os linfócitos também estão presentes na inflamação crônica da aterosclerose, sendo que seus valores diminuídos estão relacionados ao aumento do risco cardiovascular (Temiz A *et al.*, 2014).

Dessa forma, a inflamação caracterizada pela interação entre as plaquetas, leucócitos e as células endoteliais, desencadeiam processos de ativação autócrina e parácrina que levam ao recrutamento de leucócitos para parede vascular (Gawaz M *et al.*, 2005). Enquanto, as moléculas de adesão ativadas como, a molécula de adesão vascular (VCAM-1) e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1), na presença de quimiocinas, aumentam a ativação de leucócitos e produzem moléculas reativas ao oxigênio, e ainda, metaloproteinases de

matriz que causam a desestabilização da placa aterosclerótica. O que faz com que as plaquetas atuem na formação de complexo plaqueta-fibrina, e o aumento em seu volume na corrente sanguínea se relaciona com maior viscosidade do sangue, o que pode levar a um número maior de eventos inflamatórios e, ao aumento na atividade plaquetária, podendo ocasionar uma taxa mais elevada de eventos cardiovasculares (Temiz A *et al.*,2014).

Dentro desse contexto, a trombomodulina (TM) é uma glicoproteína integrante da membrana da célula endotelial que funciona como um receptor para a trombina, formando um complexo trombina-trombomodulina. De acordo com WANG, altos níveis de TM plasmática parece desempenhar um papel importante na patogênese da aterosclerose e disfunção endotelial (Wang *et al.*,2017).

Diante dos relatos acima, a presente dissertação vem a ser um subprojeto do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil), sendo um estudo multicêntrico de coorte, com objetivo de investigar a incidência e os fatores de risco em doenças crônicas como o DCV, DM. E ainda os seus fatores biológicos, comportamentais, ambientais, ocupacionais, psicológicos e sociais. Uma vez que, atualmente, a maior parte do nosso conhecimento sobre a epidemiologia das doenças crônicas provém de estudos de coorte realizados nos Estados Unidos e Europa Ocidental. É importante lembrar que a coorte ELSA-Brasil foi desenvolvida e composta por servidores de seis instituições públicas de ensino superior e pesquisa (UFBA, UFES, UFMG, UFRGS, USP e FIOCRUZ), localizados em diferentes regiões do Brasil, com um total de 15.105 adultos na faixa etária entre 35 e 74 anos (Aquino *et al.*, 2012).

Nesse contexto, a hipótese levantada é que índices inflamatórios e derivados de hemograma alterados e níveis aumentados de TM possam estar associados a disfunção endotelial, podendo estes serem possíveis marcadores subclínicos para as doenças vasculares.

Para este estudo utilizou-se dos resultados de TM e índices derivados de hemogramas avaliados em uma subamostra de participantes do Centro de Investigação de Minas Gerais (CI - MG) do ELSA – Brasil, que tiveram a função endotelial avaliada como linha de base deste trabalho, para se avaliar a correlação destes possíveis marcadores com a disfunção endotelial e as DCV's

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Função endotelial

Para Martin (2013), O endotélio vascular é uma monocamada contínua de células endoteliais achatadas, que forma o revestimento luminal de todos os vasos sanguíneos, sendo vital para a saúde e resposta homeostática do sistema circulatório.

Dentre outras propriedades das células endoteliais estão a regulação do tônus vascular, via vasoconstrição ou relaxamento, remodelação vascular, controle da hemostasia que, em caso de lesão pode ocasionar trombose por aumento da adesão celular, proliferação de células musculares lisas e, ainda inflamação vascular (Theofilis *et al.*,2021).

Sendo então, a função endotelial um marcador da saúde dos vasos e, sabendo que vários mecanismos moleculares estão integrados a esse processo, a via de sinalização do NO vem a ter um papel central na manutenção da homeostase vascular. Uma vez que, o NO possui características vasodilatadoras, anti-inflamatórias e antioxidantes, o que certifica que a disfunção endotelial está centralmente ligada à uma diminuição da produção e disponibilidade de NO e, que isso resulta em um desequilíbrio na homeostase vascular, acarretando vasos sanguíneos menos complacentes, gerando assim eventos pró-trombóticos e pró-inflamatórios (Cyr Ar *et al.*,2020).

2.2 Disfunção endotelial

A disfunção endotelial é comumente descrita como a incapacidade da artéria de se dilatar, suficientemente, em resposta a um estímulo endotelial apropriado. O que pode ser induzido por várias condições, como um fluxo sanguíneo turbulento, estresse por cisalhamento, hipóxia, envelhecimento, hiperglicemia, hipercolesterolemia e hipertensão (Morbideilli *et al.*, 2018).

Assim a disfunção endotelial está associada a uma fisiopatologia complexa que se baseia no desequilíbrio entre vasodilatadores e vasoconstritores, relativos à perda da capacidade endotelial de sintetizar o NO e da ativação endotelial, após a estimulação de vários

mediadores inflamatórios como: as lipoproteínas oxidadas e as citocinas (Theofilis *et al.*,2021).

Desse modo, a sinalização via fator nuclear leva a supressão de moléculas de adesão, tais como as selectinas e quimiocinas, o que facilita a adesão de leucócitos, rolamento e transmigração para o espaço subendotelial (Theofilis *et al.*,2021). Além disso, o estresse de cisalhamento oscilatório leva a uma ativação endotelial pró-inflamatória com o aumento de adesão de monócitos e apoptose das células endoteliais. Consequentemente, após sua ativação as células endoteliais lesadas liberam mediadores inflamatórios e entram em estado pró-trombótico pela ativação das vias de coagulação, regulação negativa da TM e aumento da adesão e agregação plaquetária, devido à ação do fator de von-Willebrand, que vem a promover a progressão da aterosclerose (Pieterse *et al.*,2017).

2.3 Disfunção endotelial e risco cardiovascular

Estudos realizados no início e em meados do século XX, como o estudo de Framingham, identificaram fatores comuns associados as DCV como: hipertensão, diabetes, obesidade, hiperlipidemia, tabagismo, estilo de vida sedentário e a falta de atividades físicas adequadas como os principais indicadores de maior probabilidade de desenvolver DCV (TEO *et al.*, 2021). A associação destes fatores segundo, o Centro de Controle de Doenças dos EUA e a Associação Americana de Prevenção e Saúde, nos quais há estado de inflamação crônica (diabetes e obesidade) e fatores predisponentes externos (estresse, sedentarismo, dieta e tabagismo) podem levar a progressão de condições cardiovasculares desfavoráveis (Ciumărnean *et al.*, 2021).

Diante de um cenário de disfunção endotelial, a hiperglicemia é um dos fatores de risco cardiovascular, levando a uma biodisponibilidade alterada do NO e, a uma superprodução de produtos da glicação não enzimática, super expressão de seus receptores e ativação de hexosaminas, resultando a um quadro de estresse oxidativo, um dos principais responsáveis pelo desequilíbrio precoce na expressão de NO na manifestação do DM (Asmat *et al.*,2015).

Nessa mesma linha, relacionado ao estresse oxidativo, outro fator preponderante a uma baixa expressão de NO é a dislipidemia. O colesterol presente na lipoproteína de baixo

peso molecular (LDL-c) é de grande importância no desenvolvimento da disfunção endotelial. Onde elevados níveis de LDL-c levam a um desequilíbrio do NO mediado pela via do receptor tipo *toll-like* (TLR) do grupo de alta mobilidade 1 (HMGB1), do receptor 1 da lipoproteína de baixo peso molecular oxidada (LDLox) do tipo lectina (LOX-1) e do fator nuclear respectivamente. Com isso, resultando em disfunção endotelial devido à apoptose de células endoteliais. Embora o LDLox cause prejuízo a função endotelial, esse efeito parece ser reversível, pela ação de lipoproteínas de alta densidade (HDL), o que facilita o efluxo de colesterol dos tecidos periféricos (transporte reverso do colesterol), o que vem a apresentar propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, ao remover os fosfolípidos oxidados do LDLox das células da parede arterial. Nesse contexto, a lipoproteína (a) [Lp(a)] vem também sendo tratada como outro marcador de risco cardiovascular, através da ativação de monócitos, podendo ter algum papel na disfunção endotelial (Valente *et al.*, 2014; Sawanura *et al.*, 1997).

As lipoproteínas contendo apolipoproteína B (apoB) estão também relacionadas a doença cardiovascular aterosclerótica. Elas compreendem a lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), partículas remanescentes de VLDL, quilomícrons, Lp(a) e lipoproteína de densidade intermediária (IDL). E ainda, estas lipoproteínas promovem inflamação, regulando positivamente múltiplas vias, tanto em artérias quanto a nível sistêmico (Kraaijenhof Jm *et al.*, 2021).

Quanto a Lp(a), tem sido demonstrado que ela é capaz de se ligar a citocina MCP-1, além de aumentar a expressão de interleucina-8 (IL-8) em macrófagos e células endoteliais. Outros achados semelhantes para várias moléculas de adesão foram encontrados em células endoteliais humanas cultivadas, onde foi demonstrado que Lp(a) estimula a superfície e a expressão de RNA mensageiro (mRNA) de molécula de adesão intermolecular (ICAM-1), VCAM-1 e glicoproteína transmembrana-E (E-selectina) (Kraaijenhof Jm *et al.*, 2021).

A disfunção endotelial e a rigidez arterial precedem a hipertensão, pois o aumento da rigidez arterial é antes observado em pacientes normotensos, e assim como alterações na matriz extracelular e a disfunção na musculatura lisa o que contribui para uma rigidez arterial. Embora a fisiopatologia da hipertensão seja extremamente complexa e multifatorial, o papel de fatores como a endotelina, vasoconstritores dependentes de

ciclooxigenases e o fator hiperpolarizante, derivado do endotélio são aspectos que precisam ser ainda melhor entendido (DeMarco *et al.*, 2014).

Em alguns estudos experimentais em animais, sugere-se que a hipertensão está associada ao aumento de ROS em todas as camadas da parede vascular. Mas é necessário ressaltar que existe também, uma relação entre pressão arterial e o estresse oxidativo vascular presente em pacientes com hipertensão essencial, renovascular ou maligna (Schulz *et al.*, 2011).

Outro fator importante a destacar é o tabagismo, sendo ele um grande fator de risco para o agravamento da condição do tônus vascular. A fumaça do cigarro é uma mistura complexa de aerossóis que contém vários produtos químicos, incluindo aldeídos reativos, hidrocarbonetos policíclicos e quinonas, bem como espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, (ROS/RNS) que podem vir a desencadear estresse oxidativo celular (Abdelghwany *et al.*, 2018). Promovendo assim alterações relacionadas a vasodilatação, alterações no epitélio das vias aéreas, disfunção endotelial por alterações na expressão do NO e aumento do estresse oxidativo (Dikalov *et al.*, 2019).

2.4 Avaliação da função endotelial

A avaliação da função endotelial pode ser realizada, utilizando-se de diversas metodologias, porém o princípio básico de todas elas, é semelhante: em uma situação de endotélio saudável, as artérias coronarianas, braquiais ou da microvasculatura se dilatam mediante reação à hiperemia ou injeção de estímulo farmacológico de mediadores vasodilatadores como acetilcolina, bradicinina, serotonina ou NO. Em caso de disfunção endotelial a vasodilatação é reduzida ou até mesmo ausente (Flammer *et al.*, 2012).

A função endotelial pode ser avaliada pela medida da onda de pulso arterial em uma artéria ou pela medida da dilatação mediada por fluxo (DFM) da artéria braquial após oclusão do fluxo sanguíneo (Moerland *et al.*, 2012). Dentre outras medidas descritas na literatura tais como: fluxometria por laser dopler (FLD) (Storch *et al.*, 2017); pletismografia por oclusão venosa (POV) (Flammer *et al.*, 2012); angiografia coronária quantitativa (ACQ) (FLAMMER *et al.*, 2012). E, ainda, a técnica do EndoPAT (Flammer *et al.*, 2012; Storch *et al.*, 2017). O EndoPAT permite a medição não invasiva da reatividade do vaso sem desvantagens como, ter um custo elevado, ser limitado para pessoas submetidas à

angiografia coronariana, ser difícil para medidas seriadas, presença de protocolos díspares para desempenho e padronização, desvantagens presentes nos demais testes. Porém possui custo relacionado ao consumo de sondas descartáveis para realização do teste. O EndoPAT detecta alterações de pressão plestismografia nas pontas dos dedos, causadas pelo pulso arterial o qual é traduzido em um tônus arterial periférico (PAT) (Moerland *et al.*, 2012). Além de possuir um mecanismo biológico relevante – dependente de NO, é um exame rápido, seguro e de fácil execução, o que facilita o seu uso em pesquisas de larga escala. Além do fato que, com apenas um exame, três aspectos da função vascular podem ser avaliados simultaneamente, através da amplitude de pulso basal (BPA), da razão da tonometria arterial periférica (PAT ratio) ou índice de hiperemia reativa (RHI). Essas medidas refletem o tônus vascular basal, a função endotelial e o papel da reflexão da onda de pulso medida na micro vasculatura digital, respectivamente (Brant, 2014).

2.5 Trombomodulina

A TM é uma glicoproteína transmembrana formada por 557 radicais de aminoácidos, constituída por cinco regiões estruturais. A região N-terminal compreende dois módulos, sendo o primeiro do tipo lectina C de 155 aminoácidos com homologia a lectina 16 de CD93 e CD248, ambas com papéis na inflamação, com uma imunidade inata favorecendo dentre outros, o processo de sinalização por adesão e fagocitose, após lesão da estrutura do endotélio. O segundo módulo hidrofóbico de 67 aminoácidos, C-terminal ao módulo semelhante à lectina, unido a uma região que compreende 6 repetições semelhantes ao fator de crescimento epidérmico, melhor caracterizadas por sua atuação na coagulação e fibrinólise (Loghmani *et al.*, 2018).

A TM está presente nas células endoteliais, nos blastos sinciciotróficos e se expressa predominantemente na superfície vascular e, se liga com alta afinidade à trombina que é gerada pelo endotélio intacto (Van Dreden *et al.*, 2011). Essa ligação está associada a perda das atividades pró-coagulantes da trombina e ganho da capacidade de ativar a proteína C (PC), (Anastasiou *et al.*, 2012).

Níveis plasmáticos elevados do inibidor de fibrinólise ativável por trombina (TAFI) foram associados em alguns estudos, como tendência trombótica, uma vez que a TM pode ser clivada por diferentes mecanismos proteolíticos, levando a forma solúvel com diferentes

capacidades de ativação da PC, sendo ainda, TM solúvel, considerada um marcador de lesão do endotélio (Van Dreden *et al.*, 2011).

2.6 Trombomodulina e função endotelial

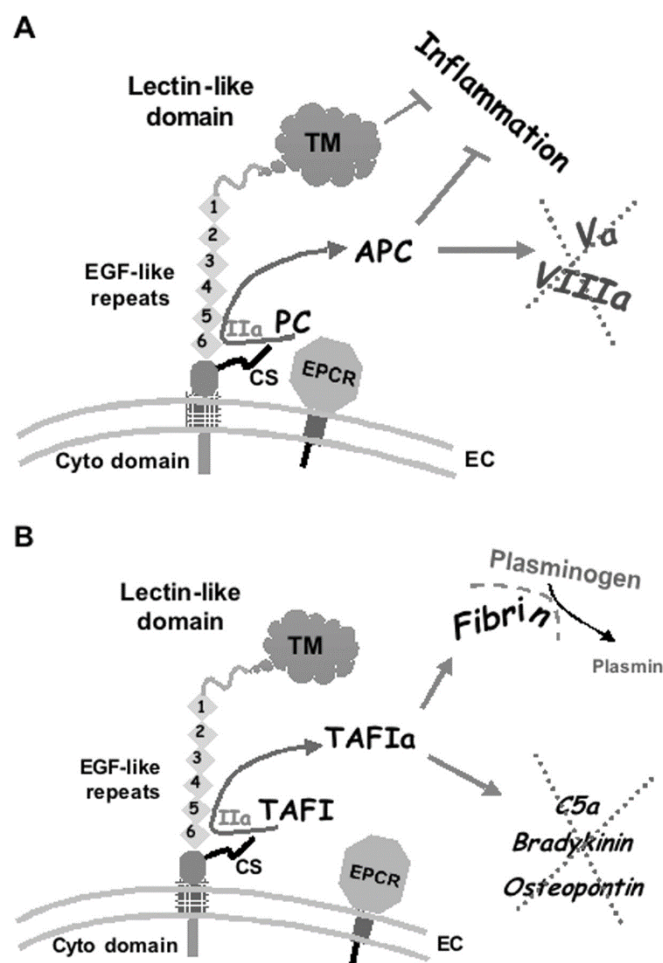
Uma das funções do endotélio é a de evitar a coagulação sanguínea intraluminal indesejada e a formação de trombos potencialmente letais. A associação com a TM é a chave para essa propriedade anticoagulante. A ligação da trombina mediada por TM, leva a ativação da PC com resultados benéficos anticoagulantes, anti-fibrinolíticos e anti-inflamatórios para a parede do vaso (Martin *et al.*, 2013). Sendo assim, a lesão e disfunção endotelial, manifesta expressão reduzida de TM e a liberação elevada de sua forma solúvel (Martin *et al.*, 2013). Durante a lesão vascular, o endotélio muda de um fenótipo anticoagulante para um fenótipo pró-coagulante/pro trombótico para evitar perda excessiva de sangue, sendo a vasoconstrição uma resposta inicial, quando o vaso é lesionado, gerando exposição direta de células musculares lisas a agentes vasoativos gerados localmente como: bradicinina, histamina, vasopressina ou trombina, o que leva a redução do diâmetro do vaso e à desaceleração do fluxo sanguíneo (Neubauer *et al.*, 2022).

A ativação da cascata de coagulação resulta na formação de fibrina a partir do fibrinogênio, tendo como iniciador deste processo fator tissular (TF), uma molécula central na cascata de coagulação e parte central do processo inflamatório, onde complexos de TF expostos com fator VII iniciam a cascata de coagulação com consequente formação de fibrina (Finigan *et al.*, 2009).

Para reduzir os efeitos pró-coagulantes da trombina ocorre a formação, de maneira constitutiva, a TM, um receptor de trombina ligado a membrana plasmática. Ao se ligar à TM, a trombina sofre alteração em sua conformação, resultando em uma maior afinidade com a proteína C, que atua como anticoagulante (Neubauer *et al.*, 2022). A proteína C ativada (APC) é um anticoagulante natural na medida em que suprime a formação adicional de trombina pela destruição proteolítica dos fatores de coagulação Va e VIIa, facilitados pelo cofator, a proteína S (PS) (Wouwer *et al.*, 2004), resultando na supressão da geração de trombina. Como tal, a TM serve naturalmente para suspender a coagulação intravascular excessiva (Nakazawa *et al.*, 2020). Repetições semelhantes ao fator de crescimento

epidérmico (EGF) de TM fornecem função de cofator para ativação de PC mediada por trombina (IIa), uma etapa que é ainda amplificada pelo receptor da proteína C das células endoteliais (EPCR). APC cliva os cofatores de coagulação Va e VIIIa, com regulação negativa da geração de trombina e também interfere diretamente na inflamação. O domínio tipo lectina da TM também suprime a inflamação, vide Figura 2. Repetições semelhantes a EGF 3, 4, 5 e 6 (EGF 3 a 6) foram estudadas em detalhes por vários grupos e são essenciais para a ativação de PC e TAFI pela trombina (Wouwer *et al.*, 2004).

Figura 2 - Estrutura da trombomodulina (TM)



Fonte: Adaptado de Wouwer *et al.*, 2004.

O EGF regula a proliferação e diferenciação celular por meio da ligação da região extracelular do receptor de EGF (EGFR), compreendendo os domínios de 1 a 4, com a resultante dimerização do receptor de tirosina quinase (Ogiso *et al.*, 2002).

A APC também pode aumentar a atividade fibrinolítica neutralizando o inibidor 1 do ativador do plasminogênio (PAI-1). No entanto, a relevância clínica da ativação da PC

pelos complexos trombina-TM/trombina - receptor de proteína C na célula endotelial (EPCR) é evidente a partir dos estados de hipercoagulabilidade. Muitas vezes associadas às deficiências funcionais da PC ou PS em indivíduos com polimorfismo do fator V de Leiden, em que uma mutação no fator Va o torna resistente à ativação pela APC (Wouwer *et al.*, 2004).

Por outro lado, o TAFI é um produto do gene carboxipeptidase B2 (CPB2) e é uma metalcarboxipeptidase dependente de zinco (EC3.4.17.20), também conhecida como procarboxipeptidase U, procarboxipeptidase R e procarboxipeptidase B plasmática, sendo produzida no fígado e, que circula no plasma como uma pró-enzima em concentração de 70 –275 nm², que é ativado durante a coagulação pela trombina, pelo complexo trombina-trombomodulina e pela plasmina, por meio da clivagem da ligação peptídica entre Arg92 e Ala93. A quebra libera o peptídeo do domínio catalítico pré-formado. O TAFI ativado atua clivando os resíduos C-terminais de lisina e arginina nos peptídeos. Já na fibrinólise, os resíduos de lisina C-terminal na fibrina, parcialmente degradados, facilitam a formação de plasmina pela ligação ao plasminogênio e ao ativador de plasminogênio tecidual (t-PA), inibindo a fibrinólise, removendo os resíduos de lisina, o que leva a uma diminuição da formação de plasmina e, portanto, estabilizando o coágulo (Plug *et al.*, 2015).

Portanto, o sistema trombina/trombomodulina/proteína C é um sistema de retroalimentação negativa da produção de trombina. Onde, a TM atua pela via anticoagulante, sendo considerada um dos principais determinantes da antitrombogenicidade, controlando assim o equilíbrio entre coagulação e anticoagulação/fibrinólise, sendo considerada um componente chave no controle da fluidez do sangue no espaço interviloso e, portanto, protegendo a circulação contra a trombose local. Os mecanismos patogênicos envolvidos no aumento dos níveis circulantes de atividade da TM ainda não são totalmente compreendidos, necessitando, ainda, de mais estudos para um melhor entendimento (Van Dreden *et al.*, 2017).

A expressão endotelial de TM apresenta sensibilidade a tensão de cisalhamento laminar associada ao fluxo, uma força hemodinâmica conhecida por conferir fenótipo ateroprotetor ao endotélio. Tendo em vista as características anticoagulantes e anti-inflamatórias, observa-se que a tensão de cisalhamento é um regulador positivo da expressão de TM (Martin *et al.*, 2013). Em resposta, para mitigar as propriedades pró-coagulantes, as células endoteliais sintetizam constitutivamente a TM (Neubauer *et al.*, 2022).

2.7 Trombomodulina e fatores de risco cardiovascular

Em estudos realizados por Batko *et al.*, 2019, investigou-se que a TM e sua relação em eventos cardiovasculares, os seus resultados associaram positivamente a TM solúvel e as moléculas hemostáticas como PAI-1, presentes em eventos vasculares, provenientes de processos inflamatórios, como a aterosclerose. Em outro estudo realizado por Kikuch (2021) relacionou-se que a medida em que fatores de risco para DCV somavam-se, valores de TM se mostraram mais elevados.

As moléculas hemostáticas, incluindo a TM solúvel, são marcadores de lesão endotelial, e têm sido relacionadas com inflamação e marcadores substitutos de aterosclerose. Tomados em conjunto, os distúrbios da coagulação parecem estar intimamente associados a vários processos que afetam o prognóstico após um evento cardiovascular e, podem mediar vias conhecidas da aterogênese (Batko *et al.*, 2019).

A aterosclerose é um processo em resposta ao dano endotelial, envolvendo o acúmulo de músculo liso, células, macrófagos, linfócitos T e lipídios. Estudos demonstraram que, níveis elevados de TM solúvel no plasma estão presentes em maior quantidade em pacientes com aterosclerose, sendo assim um preditor de pior prognóstico cardiovascular, tendo como marcadores presentes, a elevação da TM solúvel, PCR e outros marcadores de processo inflamatório (Chao *et al.*, 2004).

Enquanto que, em indivíduos com vasos morfológicamente normais e, particularmente, aqueles portadores de aterosclerose, a disfunção endotelial pode ser observada muito antes do aparecimento da doença, propriamente dita, embora o endotélio tenha inúmeras funções, a disfunção endotelial é automaticamente associada à perda da sua vasodilatação dependente, uma vez que a disfunção endotelial está associada a vários fatores de risco cardiovascular, como HAS, DM, obesidade, tabagismo e hipercolesterolemia (Martelli *et al.*, 2021).

De acordo com Garcia (2012), a disfunção endotelial participa como elemento chave do processo aterogênico, e os fatores de risco associados a doença cardiovascular estão associados a esta disfunção, além de comprovado envolvimento nos processos isquêmicos

agudos, relacionados diretamente com a instabilidade da placa aterosclerótica (Garcia *et al.*, 2012).

A inflamação crônica também é outro fator importante na DCV, níveis elevados de PCR aumentam o risco de DCV, independentemente dos fatores de risco tradicionais. Além do mais, estudos indicam que o tecido adiposo pode vir da mesma forma contribuir para a DCV, ao liberar moléculas inflamatórias como TNF- α , adiponectina e PAI-1 (Batko *et al.*, 2019).

Com isso a expressão reduzida de TM no endotélio, devido a mediadores inflamatórios, como o TNF- α acredita-se explicar a ativação prejudicada de PC em pacientes com coagulação intravascular disseminada (CIVD). Embora os níveis de TM solúvel estejam especificamente elevados no plasma de pacientes com CIVD, isso provavelmente não representa produção ou secreção aumentada de TM. Mas é indicativo de dano celular aumentando a liberação de TM no endotélio vascular (Papageorgiou *et al.*, 2018). A combinação de baixos níveis de TM na superfície endotelial, com disponibilidade reduzida de superfície endotelial intacta, devido a perfusão microvascular prejudicada, compromete a função anticoagulante do sistema APC (Papageorgiou *et al.*, 2018).

2.8 Disfunção endotelial e índices inflamatórios

A disfunção endotelial é um processo complexo caracterizado por vasoconstrição e favorecimento a trombose vascular. Os fatores que contribuem para essa condição, entre outros mediadores são: algumas citocinas, espécies reativas de oxigênio, moléculas de adesão celular, fatores de crescimento e o processo inflamatório.

Rengarajan (2024) conduziu estudos relacionados a piora da função endotelial, e o surgimento de doenças cardiovasculares com alterações na expressão de células do sistema imune e o aumento da expressão de citocinas inflamatórias (Rengarajan *et al.*, 2024).

Segundo HORNE (2005), os leucócitos desempenham um papel importante no processo inflamatório, que pode ser adaptativo, agudo ou crônico, células mononucleares (monócitos/macrófagos, linfócitos T) são prevalentes e patogênicos na formação da placa aterosclerótica (Horne *et al.*, 2005).

A contagem total de leucócitos proporciona avaliação do estado inflamatório, mas seu resultado, apesar do baixo custo e da ampla disponibilidade, ainda não foi explorado ao seu máximo, como valor preditivo. Dados sugerem que alguns subtipos específicos de leucócitos têm maior valor preditivo na avaliação do risco cardiovascular, sendo esse valor ainda maior quando se emprega a razão entre o número total de neutrófilos e linfócitos (Zazula *et al.*, 2008).

Os mediadores moleculares participam do tempo de meia vida dos leucócitos no local da inflamação, incluindo moléculas intracelulares da família PI3K (fosfadilinositol 3-quinase), cascata da MAPK (*Mitogen-Activated protein kinase*), citocinas pró-inflamatórias e ROS (Reis *et al.*, 2012).

As ROS são produzidas devido a fosforilação oxidativa e pela ativação de células fagocíticas. E as ROS produzidas em excesso podem levar a danos: em lipídeos, proteínas, membranas e ácidos nucleicos, auxiliando como sinalizador intracelular que amplifica uma resposta inflamatória (Filippin *et al.*, 2008).

2.9 Relação neutrófilo linfócito

Em 1992, foi descrita uma associação por Simon entre infecções e neutrofilia, considerando um fator útil para o diagnóstico de infecção pirogênica cunhando o termo “fator séptico” (Simon, 1922; Gurol *et al.*, 2015).

Os neutrófilos estão associados a uma chance maior de eventos como DAC e DCV, enquanto a taxa de linfócitos apresenta-se menor em pacientes com eventos cardíacos, porém com risco maior de infarto (Marin *et al.*, 2022).

É importante ressaltar que a razão NLR é um índice inflamatório, podendo ser um indicador de inflamação sistêmica, a qual, por sua vez, é definida pelo número absoluto de neutrófilos dividido pelo número absoluto de linfócitos, sendo uma medida simples e sem custo adicional ao exame laboratorial do hemograma e, que é realizado rotineiramente nos hospitais (Martins *et al.*, 2019). A razão NLR representa um equilíbrio entre duas importantes vias de resposta, a imune e a de estresse, em que a inflamação é refletida por

uma neutrofilia e a resposta do corpo ao estresse por uma menor contagem de linfócitos (Tahto *et al.*, 2017).

A linfopenia relativa tem sido sugerida como indicador prognóstico na doença cardíaca isquêmica, considerando que, em indivíduos hospitalizados com dor torácica aguda, uma contagem baixa de linfócitos é preditora de mortalidade cardiovascular e infarto tardio do miocárdio (Caimi *et al.*, 2016).

A atividade dos linfócitos T *helper* no contexto da síndrome da resposta inflamatória (SIRS) e sepse é diminuída. Isso porque, envolve mecanismos relacionados a hipoproliferação de células T, por diminuição da produção de IL-2 e aumento da produção de hormônios de estresse, citocinas e outros fatores humorais. E ainda, a recirculação de linfócitos T estimulada por endotoxinas, com migração para circulação linfática. Consequentemente, há um aumento relativo do número de linfócitos B, e o perfil imunológico apresenta redução na relação linfócitos T; linfócitos B. A redução de linfócitos leva a um estado inflamatório persistente, pois essas células são responsáveis por regular a inflamação (Frederico-Cruz *et al.*, 2019). Sendo o índice inflamatório NLR elevado no sangue periférico associado a um pior prognóstico (Gurol *et al.*, 2015) (Frederico-Cruz *et al.*, 2019).

Estudos relataram que o ponto de corte ideal para NLR é controverso, sem um consenso na definição de um valor a ser considerado como *cut-off*. Gürol *et al.* (2015) citam valores de NLR de 3 e 5, como apropriados, enquanto Frederico-Cruz (2019) define o intervalo de 0,78 e 3,53 (Gurol *et al.*, 2015; Frederico-Cruz *et al.*, 2019). Em um estudo com 413 pacientes adultos, não geriátricos e sem qualquer doença aguda e/ou doença crônica debilitante, Forget (2017) encontrou valores entre 0,78 e 3,58 (Forget *et al.*, 2017).

Nesse sentido a razão NLR na admissão hospitalar é adequada para prever eventos danosos em pacientes com IAM, supra desnível no segmento ST. Pois os pacientes que apresentaram a razão NLR aumentada por um período de 48 a 72 horas, são os que apresentaram os piores desfechos (Machado *et al.*, 2021).

2.10 Relação plaqueta e linfócito

Os linfócitos têm um papel importante na cicatrização por meio da modulação dos fenótipos de células mononucleares e na indução do inibidor tecidual da expressão de metaloproteinase-1, sendo a linfopenia mais comum em condições de estresse, como a insuficiência cardíaca (IC), devido à ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. A ativação desse eixo leva à secreção de cortisol, e os níveis elevados de cortisol resultam em redução da concentração relativa de linfócitos (Dormus *et al.*, 2015).

Para Gasparyan (2019), a PLR é um índice que relaciona alterações nas contagens de plaquetas e linfócitos em estados inflamatórios agudos e pró-trombóticos, cursando com valores aumentados. Suas variações são avaliadas juntamente com outros índices hematológicos complementares, em particular a NLR, a qual fornece informações sobre a atividade da doença, presença de inflamação neutrofílica, infecções e danos graves aos órgãos (Gasparyan *et al.*, 2019).

As plaquetas são componentes críticos dos trombos e, a trombocitopenia é uma complicação frequente em pacientes com sepse e CIVD, uma vez que as plaquetas são consumidas durante a formação de conjugados plaquetas - leucócitos, e a aderência desse conjugado ao endotélio induz a eventos pró-inflamatórios (Iba *et al.*, 2018). A contagem de plaquetas está associada ao aumento do risco de IAM e a mortalidade a curto e longo prazo após IAM e, como citado anteriormente os linfócitos estão presentes na inflamação crônica na aterosclerose, sendo que valores diminuídos estão relacionados ao aumento do risco cardiovascular (Temiz *et al.*, 2014).

Gasparyan (2019), em estudo envolvendo doenças reumáticas, relatou que as plaquetas são ricas em agentes pró-inflamatórios e são capazes de liberar micropartículas altamente ativas, que estão intimamente presentes no desenvolvimento de diversas doenças reumáticas inflamatórias. E, que muitas vezes se manifestam como artrite e podem ser complicadas por doenças cardiovasculares, metabólicas, infecciosas e linfoproliferativas (Gasparyan *et al.*, 2019).

Dormus (2015) demonstrou que tanto a NLR e PRL foram maiores em pacientes com IC, em comparação às dos controles pareados por idade e sexo. O ponto de corte encontrado

para PRL para prever a presença de IC foi de 137,3, com 70% de sensibilidade e 60% de especificidade (Dormus *et al.*, 2015).

Sendo que as plaquetas, uma vez ativadas, precipitam-se para produzir substâncias inflamatórias a partir de células endoteliais e leucócitos que causam adesão e transmigração de monócitos e, assim aumentam o processo inflamatório e a progressão da doença aterosclerótica. Tanto na formação do complexo plaqueta-fibrina, quanto no aumento do volume de plaquetas, tem-se uma relação do aumento da viscosidade do sangue e, aumento na atividade plaquetária, as quais estão associadas com uma maior taxa de eventos cardiovasculares (Temiz *et al.*, 2014).

2.11 Relação linfócito e monócito

O processo inflamatório está associado a progressão da aterosclerose e o sistema imunológico, por sua vez ligado aos linfócitos e monócitos, como peças-chave na resposta inflamatória. Uma vez que o processo inflamatório está fortemente relacionado a progressão crônica da aterosclerose. Essas células, linfócitos e monócitos, têm também sido associadas a um pior prognóstico em diferentes desfechos clínicos relacionados a malignidade e associados às células inflamatórias, uma vez que a relação LMR pode ser um indicador para antever resultados clínicos para diferentes tipos de câncer (Murat *et al.*, 2017) (Koh YW *et al.*, 2012).

O aumento do número de monócitos e neutrófilos, associados com a diminuição do número de linfócitos, tem uma associação íntima em resultados desfavoráveis com relação às doenças cardiovasculares (Zhang *et al.*, 2020). E ainda a relação LMR se correlaciona à fatores de risco independente da presença de DAC, à gravidade da lesão coronariana, como um preditor independente de evento cardiovascular (Zangh *et al.*, 2020).

O papel dos monócitos durante os vários estágios da aterosclerose já é conhecido. Os monócitos são componentes críticos das placas ateroscleróticas e, ativados por fatores de crescimento e citocinas pró-inflamatórias, como o fator de crescimento derivado de plaquetas, IL-1 e IL-6. Quando os monócitos se acumulam na placa aterosclerótica do endotélio disfuncional e se diferenciam em macrófagos, fagocitam o colesterol, formando as células espumosas e o processo inflamatório, resultando com isso, na formação da placa

aterosclerótica. Portanto, um valor baixo da relação LMR pode estar associado a um processo inflamatório exacerbado (Murat *et al.*, 2017).

Ao passo que a monocitose se apresentou estar envolvida na remodelação do ventrículo esquerdo, na cicatrização miocárdica, no acúmulo de miofibroblastos e na angiogênese (Zangh *et al.*, 2020).

Ji (2017) publicou um estudo contendo 543 participantes sendo 381 com DAC (55% do sexo masculino com idade 63 ± 10 anos) e 162 em condições arteriais consideradas normais (35% do sexo masculino com idade 55 ± 9 anos). Em seus resultados, a LMR com ponto de corte em 0,25 previu a lesão coronariana grave com sensibilidade de 60,26% e especificidade de 78,49% (Ji *et al.*, 2017).

A relação LMR foi recentemente avaliada e sugerida como marcador prognóstico para prever resultados clínicos de vários tipos de câncer como linfoma de Hodgkin, carcinoma hepatocelular ressecável, carcinoma nasofaringe e câncer de mama localmente avançado (Minici *et al.*, 2022).

2.12 Índice de inflamação imunológica sistêmica

Os índices de inflamação imunológica e sistêmica, SII e SIRI, foram biologicamente plausíveis para a associação com a DCV, seus valores e resultados veem sendo abordados e aplicados em estudos clínicos, correlacionando seus valores de corte a processos inflamatórios e prognósticos (Jin *et al.*, 2021). Os valores aumentados de SII e SIRI correlacionam-se com um risco aumentado de AVC, assim como a incidência de infarto do miocárdio em indivíduos com idade inferior a 60 anos (Jin *et al.*, 2021).

Zinellu (2020) avaliou os valores de SIRI para pacientes hígidos e pacientes com fibrose pulmonar idiopática, encontrando valores médios de SIRI 0,89 (0,57-1,26) (Zinellu *et al.*, 2020)

Os índices SII e SIRI se correlacionam também com uma resposta inflamatória e um pior prognóstico quando associados a tumores (Abete *et al.*, 2019) (Jin *et al.*, 2021).

2.13 Índice agregado de inflamação sistêmica (AISI)

O índice agregado de inflamação sistêmica AISI avalia de forma abrangente o estado inflamatório, sendo ele de fácil medição, relacionando os principais agentes celulares de defesa do sistema imune os neutrófilos, monócitos, linfócitos (Xiu *et al.*, 2023).

O índice AISI foi aplicado inicialmente para rastreio em pacientes submetidos à cirurgia torácica eletiva aberta, com o intuito de prever agravos destes pacientes no momento da admissão para cirurgia eletiva, e seu prognóstico após o procedimento (Paliogiannis *et al.*, 2018). O índice AISI pode prever o risco de morte cardiovascular por hipertensão, estando o mesmo relacionado aos efeitos inflamatórios das células do sistema imune inato, o que gera a ocorrência de aumento da pressão arterial por meio de lesões a nível vascular e renal (Xiu *et al.*, 2023).

Embora o índice AISI apresente bom desempenho diagnóstico em relação a doenças graves e mortalidade como, isquemia aguda de membro, trombose venosa profunda e embolia pulmonar aguda. Esse índice também se mostrou associado ao aumento de mortalidade nos casos de COVID-19, quando associado a doenças graves (Zinellu *et al.*, 2023).

3 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

De acordo com dados da OMS, a DAC e o AVC são vistos, mundialmente, como as principais causas de mortes. Nesse cenário, como a disfunção endotelial tem uma relação íntima com o aumento de biomarcadores celulares e com a inflamação e, é um preditor precoce de doença cardiovascular, justifica-se avaliar a TM como biomarcador e os índices inflamatórios derivados do hemograma. As alterações nesses índices associam-se a uma variedade de doenças metabólicas e inflamatórias. Portanto é concebível que a melhora na função endotelial, se relacione com uma redução importante de eventos presentes em DCV.

Dados do ELSA-Brasil (2019), mostram que 405 participantes do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto - ELSA - Brasil, na linha de base, relataram que já haviam sofrido infarto do miocárdio, anteriormente e, destes, apenas 35% relataram o uso de medicamentos como prevenção secundária para DCV.

Estudos publicados, em 2018, pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, demonstraram que o infarto do miocárdio acarreta um alto custo financeiro (R\$22,4 bilhões/6,9 bilhões de dólares). Seguido da insuficiência cardíaca (R\$ 22,1 bilhões/4,46 bilhões de dólares), hipertensão (R\$ 8 bilhões/1,61 bilhões de dólares) e, finalmente a fibrilação atrial (3,9 bilhões/787,6 milhões de dólares). Sendo assim, políticas públicas direcionadas ao diagnóstico precoce e um tratamento focado em fatores de risco que associem a lesão do endotélio e DCV podem levar a uma redução efetiva de gastos públicos, bem como ao aumento da qualidade de vida de pessoas acometidos por DCV (Stevens *et al.*, 2018).

Dessa forma, com parâmetros assertivos para rastreamento da disfunção endotelial, envolvendo níveis séricos de TM e aos índices inflamatórios derivados do hemograma, este último de fácil acesso e execução, busca-se de forma precoce identificar eventos vasculares associados à disfunção endotelial, que podem levar a uma melhoria na condução clínica e a redução dos custos relacionados à saúde, visando a prevenção de doenças, principalmente as DCV.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a relação entre níveis séricos de trombotomodulina, índices inflamatórios derivados do hemograma como biomarcadores subclínicos e de condição de agravo de disfunção endotelial, em subamostra de indivíduos adultos, residentes em Minas Gerais participantes da Corte ELSA – Brasil.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a relação dos níveis plasmáticos de trombotomodulina com dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais;
- Avaliar a relação dos níveis plasmáticos de trombotomodulina com as medidas de função endotelial microvascular (BPA e PAT ratio);
- Avaliar a relação dos índices inflamatórios NLR, PLR, LMR, SIRI, AISI com as medidas de função endotelial microvascular (BPA e PAT ratio);

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Aspectos éticos

O presente estudo faz parte do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto - ELSA - Brasil, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número de registro ETIC 186/06 (ANEXO 4). Para participar do estudo vinculado ao ELSA - Brasil, cada indivíduo leu e assinou o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO 1), 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).

5.2 Participantes

O estudo utilizou os dados e as amostras de 3.115 participantes do estudo longitudinal ELSA – Brasil, realizado no Centro de Investigação de Minas Gerais (CI – MG), anexo do Hospital das Clínicas da UFMG. Desses, 1.535 participantes realizaram a avaliação da função endotelial pelo método PAT (Brant *et al.*, 2014), dos quais uma subamostra de plasma de 446 participantes foi selecionada de forma aleatória para a determinação dos níveis plasmáticos de trombomodulina.

Para caracterização do perfil dos participantes, foram solicitados ao CI-MG os seguintes dados: idade, sexo, níveis sérios de glicose de jejum, hemoglobina glicada A1c, hemograma completo, perfil lipídico completo, PCR, insulina, taxa de filtração glomerular, histórico de uso de medicamentos hipoglicemiantes, hipolipemiantes, anti-hipertensivos, pressão arterial sistêmica, dados da função endotelial (BPA e PAT ratio), índice de massa corporal (IMC), consumo de álcool e dados relacionados a hábitos de vida como frequência de atividades físicas.

5.3 Critérios de inclusão e exclusão

5.3.1 Critérios de inclusão

Participantes na linha de base do ELSA do CI – MG, realizada entre 2008 e 2010 (1ª onda), que preencheram o questionário da linha de base (ANEXO 2), realizaram a avaliação da função endotelial pelo método PAT, exames e medidas na linha de base (ANEXO 3) e o hemograma realizado pelo CI-MG.

5.3.2 Critérios de exclusão

Participantes com doenças hepáticas, hematológicas, inflamatórias agudas, autoimunes, insuficiência renal crônica, síndrome nefrótica, doenças tireoidianas, em uso de anticoagulante ou grávidas não foram incluídos no estudo.

5.4 Variáveis selecionadas a partir do Banco de Dados do ELSA-Brasil:

Características sociodemográficas: sexo, idade, raça/cor autorreferida, escolaridade e renda.

Condições antropométricas e hábitos de vida relacionados à saúde: índice de massa corporal (IMC), atividade física, tabagismo, consumo de álcool e consumo excessivo de álcool.

A partir dos valores de IMC, os participantes foram classificados nas categorias magreza (IMC menor que 18,5 kg/m²), eutrofia (IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m²), sobrepeso (IMC entre 25 e 29,9 kg/m²) e obesidade (IMC acima de 30 kg/m² (WHO, 1995). A atividade física foi definida seguindo o descrito pela International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) (CAUDHARY *et al.*, 2005). O consumo de álcool é considerado excessivo para valores acima de 210 g de álcool por semana (30 g de álcool/dia) para homens e acima de 140 g (20 g de álcool/dia) para mulheres (Schmidt *et al.*, 2014).

Fatores de risco e doenças autorrelatados: hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemia, doença cardiovascular, câncer e doenças inflamatórias (reumatismo, artrose). De acordo com o preconizado pela diretriz brasileira de hipertensão arterial, a hipertensão

é caracterizada por elevação persistente da pressão arterial (PA), ou seja, PA sistólica ≥ 140 mm Hg e/ou PA diastólica ≥ 90 mm Hg, medida em pelo menos duas ocasiões diferentes, na ausência de medicação anti-hipertensiva (Barroso WKS, *et al.*, 2020).

Uso de medicamentos: relato de uso dos medicamentos hipolipemiente, anti-hipertensivos, hipoglicemiantes orais e anti agregantes plaquetários.

Exames laboratoriais: glicose de jejum, insulina, hemoglobina glicada, PCR, perfil lipídico, perfil tireoidiano, cálcio e taxa de filtração glomerular (TFG), que é calculada como descrito por Levey (2009), albuminúria (Levey *et al.*, 2009).

5.5 Amostras biológicas

As amostras de plasma em EDTA, devidamente aliquotadas em criotubos, identificadas com código de barra e mantidas em freezer a -80°C , nas instalações do CI-MG, foram transferidas para a Faculdade de Farmácia - UFMG em gelo seco e imediatamente colocadas em freezer a -80°C . As amostras permaneceram congeladas até o momento da dosagem, sendo então descongeladas para a determinação dos níveis plasmáticos de TM.

5.6 Métodos

5.6.1 Determinação dos níveis de trombomodulina

A dosagem da TM foi realizada utilizando o conjunto diagnóstico Imubind®(Trombomodulin), Immunoassay, ELISA – Biomedica, em plasma/EDTA. A técnica empregada foi a do imunoensaio enzimático quantitativo. A medida das duas formas da proteína, total e incompleta, foram dosadas. A intensidade de cor foi determinada em comprimento de onda de 450 nm, em leitor de microplacas Versamax. O layout das microplacas para leitura foi programado conforme recomendações do fabricante para realização da curva de calibração, a qual foi utilizada para cálculo das concentrações de TM em ng/mL.

5.6.2 Determinação dos demais parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos descritos a seguir foram dosados na Universidade de São Paulo (USP) e seus valores consultados no Banco de Dados do CI-MG do ELSA - Brasil. De acordo com Aquino *et al.*, 2012, os níveis de glicose foram determinados utilizando o método da Hexoquinase (ADVIA Chemistry; Siemens, Deerfield, Illinois); colesterol total (CT) e HDLc, por ensaio colorimétrico enzimático (ADVIA Chemistry); HDL-c calculado por meio da equação de Friedewald, $LDLc = CT - [HDLc + (TG/5)]$, e, níveis de TG > 400 mg/dL, por ensaio enzimático colorimétrico (ADVIA Chemistry). Para medição da insulina, foi utilizado o ensaio imunoenzimático (ELISA, Siemens).

A dislipidemia foi definida de acordo com as indicações da atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose que tipifica as dislipidemias com HDLc <40mg/dL para homens e <50 mg/dL para mulheres ou LDLc $\geq$ 160mg/dL e/ou TG $\geq$ 150 mg/dL (SBC, 2017).

Foram classificados como tendo DM os participantes com resultados de glicose de jejum $\geq$ 126mg/dL e/ou teste de tolerância a glicose $\geq$ 200 mg/dL e/ou (HbA1-c) $\geq$ 6,5% ou, ainda, com relato de diagnóstico prévio de diabetes ou uso de medicação para esta doença (Schmidt *et al.*, 2015).

5.7 Avaliação dos marcadores (índices) inflamatórios derivados do hemograma

De acordo com Fideli *et al.*, 2013, cada centro de pesquisa relacionado ao ELSA - Brasil, realizou a dosagem do hemograma nos respectivos centros de investigação (Fideli *et al.*, 2013). O hemograma de cada participante foi realizado em analisador de células automatizado, cujos parâmetros são a contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina, hematócrito, índices hematimétrico (MCV, MCH, MCHC, RDW), contagem global de leucócitos, diferencial de leucócitos (relativa e absoluta) e contagem de plaquetas. A partir dos parâmetros celulares acima foram calculados os marcadores inflamatórios (índices) derivados do hemograma:

- NLR = Neutrófilos/Linfócitos;
- PLR = Plaquetas/Linfócitos;

- LMR = Linfócitos/Monócitos;
- dNLR (derived NLR) = Neutrófilos/Global de leucócitos - Neutrófilos;
- SIRI (systemic inflammation response index) = Neutrófilos x Monócitos/Linfócitos
- AISI (aggregate index of systemic inflammation) = Neutrófilos x Monócitos x Plaquetas / Linfócitos;
- SII (systemic immune-inflammation index) = Plaquetas x Neutrófilos / Linfócitos.

Os valores de normalidade para os parâmetros hematológicos, de acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) são: eritrócitos para homens compreendido entre $(4,3 - 5,5 \times 10^6/\text{mm}^3)$ e mulheres entre $(3,9 - 5,1 \times 10^6/\text{mm}^3)$; hemoglobina para homens entre $(13,0 - 16,9 \text{ g/dL})$ e mulheres entre $(11,5 - 14,9 \text{ g/dL})$; hematócrito para homens entre $(39,7 - 52,0\%)$ e mulheres entre $(35,3 - 46,1\%)$, volume corpuscular médio (VCM) para homens entre $(81,8 - 100,6 \text{ fL})$ e mulheres $(81,0 - 100,2 \text{ fL})$; hemoglobina corpuscular média (HCM) para homens entre $(26,9 - 32,6 \text{ pg})$ e mulheres $(26,3 - 32,4 \text{ pg})$; concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em homens entre $(30,6 - 34,6 \text{ g/dL})$ e mulheres entre $(30,5 - 34,3 \text{ g/dL})$; leucócitos para homens entre $(2.843 - 9.440 \text{ mm}^3)$ e para mulheres entre $(2.883 - 9.969 \text{ mm}^3)$; plaquetas para homens entre $(128.177 - 299.774 \text{ mm}^3)$ e para mulheres entre $(135.606 - 343.044 \text{ mm}^3)$ (Rosenfeld *et al.*, 2019).

5.7.1 Avaliação da função endotelial

A determinação da medida da função endotelial foi realizada pelo método do PAT, utilizando o equipamento EndoPAT 2000® (BRANT *et al.*, 2014). A medida foi feita colocando um manguito a 2 cm da fossa cubital no braço não dominante dos participantes. Sondas PAT são colocadas nas pontas de cada dedo indicador e a amplitude do pulso basal foi medida durante cinco minutos; ao término deste tempo, o manguito foi inflado de forma a interromper o fluxo sanguíneo por cinco minutos. Após este tempo, o manguito foi desinflado abruptamente retornando o fluxo sanguíneo, permitindo a hiperemia reativa sendo, então, o sinal de PAT medido por outros cinco minutos em ambas as mãos. O dedo contralateral, onde não foi exercida pressão, foi utilizado como controle para alterações de pressão pletismográficas nas pontas dos dedos causadas pelo pulso arterial, o qual é traduzido em um tônus arterial periférico (PAT) (Moerland *et al.*, 2012).

A caracterização da função endotelial foi realizada através da medida quantitativa com valores de BPA e PATratio, considerando a piora na função endotelial quando há valores altos de BPA e baixos de PATratio (Brant *et al.*, 2014).

O índice de aumento RHI é um parâmetro medido pelo EndoPAT™, que mede uma resposta complexa à hiperemia, resultado de mudanças no fluxo e no calibre dos vasos (Gruenwald *et al.*, 2019). Sendo essa a razão entre a amplitude média do sinal entre 90 e 150 segundos, após o aparecimento das curvas que seguem à desinflação do manguito, dividido pela amplitude média do sinal antes da insuflação. Este resultado é dividido pela razão correspondente do braço contralateral, e corrigido para fatores basais por uma fórmula de propriedade do fabricante $([0,226 \times \text{in baseline pulse amplitude}] - 0,2)$, no intuito de ajustar o RHI para a influência do tônus basal.

Neste trabalho, seguimos o procedimento descrito por Sousa et al. (2023) que definiu o ponto de corte do BPA como seu terceiro quartil (Q_3) e do PATratio como seu primeiro quartil (Q_1), formando três classificações para a avaliação da função endotelial:

- Função endotelial melhor: $\text{BPA} < Q_3$ e $\text{PATratio} > Q_1$;
- Função endotelial moderada: $\text{BPA} < Q_3$ ou $\text{PATratio} > Q_1$;
- Função endotelial pior: $\text{BPA} > Q_3$ ou $\text{PATratio} < Q_1$.

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente, as variáveis qualitativas foram descritas pelas frequências absolutas e relativas de suas categorias e as variáveis quantitativas foram descritas pela média, desvio padrão (DP), mediana, intervalo interquartil (Q1-Q3) e, em alguns casos, graficamente por histogramas e *boxplots*.

Posteriormente, procurou-se identificar as variáveis associadas à trombomodulina. A comparação dos níveis de concentração de TM entre as categorias das variáveis qualitativas foi realizada por meio dos testes de Mann-Whitney (dois grupos) ou Kruskal-Wallis (três ou mais grupos). A associação dos valores de TM com as variáveis quantitativas foi medida pelo coeficiente de correlação linear de Spearman e seu valor-p.

Uma vez identificadas as variáveis associadas à TM, estas foram adicionadas como variáveis de controle ao modelo de regressão logística múltipla para o evento pior função endotelial, tendo a TM como principal variável explicativa. Nesse modelo, as variáveis que não permaneceram significativas foram retiradas do modelo, gerando o modelo múltiplo final, descrevendo o efeito da TM na chance de se ter uma função endotelial pior, já controlado por variáveis de confusão.

O nível de significância de 5% (0,05) foi adotado em todos os testes estatísticos. O programa utilizado para realizar as análises estatísticas foi o R (R-CORE-TEAM, 2020).

7 RESULTADOS

7.1 Características dos participantes do estudo e relação com trombotomodulina

As características sociodemográficas, clínicas e uso de medicamentos dos participantes estão representadas nas tabelas 1 e 2.

Dos 446 participantes, foi observada maior representatividade na faixa etária de 45 a 54 anos (42,15%), do sexo masculino (51,57%), de cor de pele/raça autodeclarada branca (52,13%), com ensino superior (65,92%) e renda familiar per capita entre 1000 e 2000 reais (37,30%) (Tabela 1).

A maioria dos participantes foram classificados com sobrepeso (40,13%) ou eutróficos (38,79%), nunca fumaram (58,74%), eram praticantes de atividade física fraca (72,20%) e usuários de bebida alcoólica (77,58), mas sem consumo de forma excessiva (91,93%) (Tabela 1).

Mostraram-se associadas de forma significativa a níveis de TM mais altos as características serem: do sexo masculino ($p=0,044$), ter nível de escolaridade fundamental e médio ($p=0,02$) e consumir álcool de forma excessiva ($p=0,018$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Características sociodemográficas, antropométricas e hábitos de vida e sua relação com níveis séricos de trombotomodulina (n=446).

Características Sociodemográficas		Frequência absoluta e relativa (%)	Trombotomodulina (ng/mL)	Valor-p ¹
			Mediana (Q1-Q3)	
Faixa etária (anos)	35-44	93 (20,85)	0,18 (0,10-0,31)	0,257
	45-54	188 (42,15)	0,22 (0,12-0,33)	
	55-64	123 (27,58)	0,23 (0,13-0,33)	
	65-74	42 (9,42)	0,23 (0,15-0,32)	
Sexo	Feminino	216 (48,43)	0,20 (0,11-0,31)	0,044
	Masculino	230 (51,57)	0,24 (0,13-0,33)	
Cor da pele/raça	Branca	232 (52,13)	0,22 (0,12-0,33)	0,722
	Não Branca	213 (47,87)	0,22 (0,12-0,30)	
Escolaridade	Fundamental	29 (6,50)	0,24 (0,11-0,30)	0,020
	Médio	123 (27,58)	0,24 (0,15-0,33)	
	Superior	294 (65,92)	0,21 (0,11-0,32)	

Renda per capita (reais)	60 - 1000	149 (33,48)	0,21 (0,12-0,32)	0,947
	1000 - 2000	166 (37,30)	0,23 (0,12-0,33)	
	2000 - 3000	67 (15,06)	0,24 (0,13-0,32)	
	3000 - 8000	63 (14,16)	0,21 (0,11-0,33)	
IMC (Kg/m ²)	Magreza	4 (0,90)	0,20 (0,11-0,31)	0,322
	Eutrofia	173 (38,79)		
	Sobrepeso	179 (40,13)	0,24 (0,12-0,33)	
	Obesidade	90 (20,18)	0,23 (0,14-0,31)	
Tabagismo	Nunca fumou	262 (58,74)	0,22 (0,11-0,31)	0,402
	Ex-fumante	143 (32,06)	0,23 (0,12-0,35)	
	Fumante	41 (9,19)	0,21 (0,15-0,28)	
Consumo de álcool	Nunca usou	35 (7,85)	0,23 (0,10-0,31)	0,938
	Ex-usuário	65 (14,57)	0,24 (0,11-0,31)	
	Usuário	346 (77,58)	0,22 (0,12-0,32)	
Consumo excessivo de álcool	Não	410 (91,93)	0,22 (0,11-0,32)	0,018
	Sim	36 (8,07)	0,26 (0,18-0,43)	
Atividade física	Fraca	322 (72,20)	0,22 (0,11-0,32)	0,827
	Moderada	93 (20,85)	0,22 (0,13-0,32)	
	Forte	31 (6,95)	0,24 (0,08-0,31)	

1. Teste de Mann-Whitney / Kruskal-Wallis.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

7.2 Fatores de ricos, doenças autorrelatadas, uso de medicamentos e relação com trombomodulina

Presença de dislipidemia 184 (42,89%), hipertensão arterial sistêmica 153 (34,30%), diabetes 61 (13,67%), doença cardíaca 15 (3,36%) e câncer 14 (3,14%) dos participantes. Quanto às doenças inflamatórias, a artrose estava presente em apenas 14 (3,14%) participantes e reumatismo em 4 (0,9%) (Tabela 2).

Quanto ao uso de medicamentos, os anti-hipertensivos foram declarados 116 (27,04%) dos participantes, enquanto os hipoglicemiantes, inibidores plaquetário e hipolipemiantes estavam em uso por, respectivamente, 29 (6,76%), 16 (3,58%) e 54 (12,11%) dos participantes (Tabela 2).

Os níveis mais altos de TM mostraram-se associados apenas com a presença de reumatismo ($p=0,037$), para os demais dados analisados não houve diferença para os níveis de TM (Tabela 2).

Tabela 2 - Doenças crônicas, uso de medicamentos e relação com níveis séricos de trombotomodulina (n=446).

Dados clínicos		Frequência absoluta e relativa (%)	Trombotomodulina (ng/mL)	Valor-p ¹
			Mediana (Q1-Q3)	
Dislipidemia	Não	245 (57,11)	0,21 (0,11-0,31)	0,203
	Sim	184 (42,89)	0,22 (0,12-0,33)	
Hipertensão arterial sistêmica	Não	293 (65,70)	0,22 (0,11-0,31)	0,536
	Sim	153 (34,30)	0,22 (0,13-0,32)	
Diabetes melitus	Não	385 (86,33)	0,22 (0,12-0,32)	0,448
	Sim	61 (13,67)	0,23 (0,13-0,31)	
Doença cardiovascular	Não	413 (92,60)	0,22 (0,12-0,32)	0,771
	Sim	15 (3,36)	0,26 (0,08-0,52)	
Câncer	Não	432 (92,86)	0,22 (0,12-0,32)	0,487
	Sim	14 (3,14)	0,26 (0,14-0,32)	
Artrose	Não	402 (90,13)	0,22 (0,12-0,32)	0,834
	Sim	14 (3,14)	0,23 (0,12-0,32)	
Reumatismo	Não	442 (99,10)	0,22 (0,12-0,32)	0,037
	Sim	4 (0,90)	0,35 (0,30-0,49)	
Anti hipertensivos	Não	313 (72,96)	0,21 (0,11-0,32)	0,225
	Sim	116 (27,04)	0,22 (0,14-0,31)	
Hipoglicemiante	Não	400 (93,24)	0,21 (0,11-0,32)	0,453
	Sim	29 (6,76)	0,24 (0,17-0,30)	
Inibidor plaquetário	Não	430 (96,41)	0,22 (0,12-0,32)	0,059
	Sim	16 (3,58)	0,30 (0,17-0,40)	
Hipolipemiante	Não	392 (87,89)	0,22 (0,12-0,32)	0,506
	Sim	54 (12,11)	0,23 (0,15-0,32)	

1. Teste de Mann-Whitney.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

7.3 Parâmetros laboratoriais e relação com trombotomodulina

A correlação entre os níveis de TM foi analisada com os valores dos seguintes parâmetros sanguíneos, potencialmente relacionados à TM e à função endotelial: glicemia de jejum, hemoglobina glicada, insulina, CT, TG, HDLc, LDLc, cálcio total, hormônio tireoestimulante (TSH), PCR, TFG (Tabela 3).

Os testes laboratoriais não mostraram correlação positiva significativa com a TM, enquanto a TFG apresentou uma correlação negativa (-0,113) significativa ($p=0,017$) com a TM, indicando que, quanto menor a TFG maior a TM.

Tabela 3 - Estatística descritiva dos exames laboratoriais e seus coeficientes de correlação linear de Spearman (r) com trombotomodulina (n=446).

Variável	N	Média	DP	Mediana	Q1	Q3	r	Valor-p
Glicose (mg/dL)	446	106,56	28,52	101,26	93,33	109,20	0,089	0,062
Hemoglobina glicada (%)	445	5,27	0,85	5,20	4,80	5,50	-0,007	0,888
Insulina (mcUI/mL)	429	12,20	8,31	9,29	6,41	15,44	0,023	0,639
Colesterol total (mg/dL)	446	200,26	41,79	198,10	172,67	226,43	0,007	0,890
Triglicérides (TGC) (mg/dL)	446	133,38	89,48	106,94	77,64	161,18	0,038	0,424
HDLc (mg/dL)	446	52,07	13,00	50,18	42,00	59,26	-0,022	0,644
LDLc (mg/dL)	446	119,64	36,39	117,23	96,15	139,57	0,027	0,576
Calcio total (mg/dL)	389	9,05	4,03	8,5	6,2	11,2	-0,010	0,849
TSH (μUI/mL)	446	2,311	8,00	1,59	1,09	2,35	0,081	0,089
T4L (μUI/mL)	40	1,21	0,27	1,20	1,10	1,32	0,068	0,676
PCR (mg/L)	445	2,51	3,61	1,46	0,76	2,82	0,024	0,609
TFG (mL/min/1,73m)	446	85,09	15,10	86,02	74,49	95,33	-0,113	0,017

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

7.4 Análise dos níveis plasmáticos de trombotomodulina

As estatísticas descritivas para os níveis de TM na amostra dos participantes são apresentadas na Tabela 4. O valor médio de TM para os 446 participantes em estudo foi de (0,250 ng/mL) e o mediano de (0,223 ng/mL).

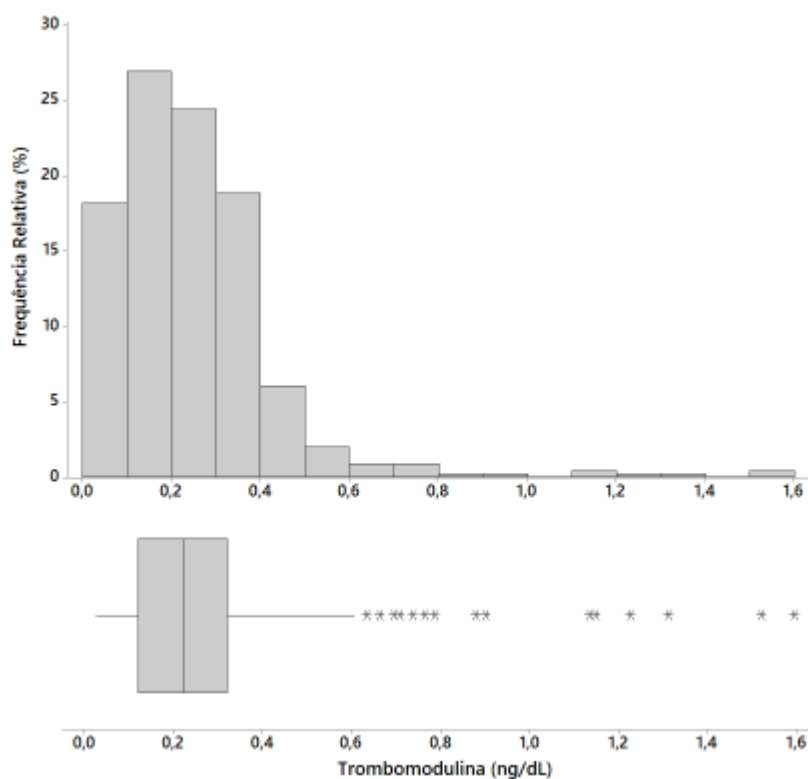
No histograma e no boxplot apresentados na Figura 3, pode-se observar que os valores de TM têm uma distribuição assimétrica com concentração à esquerda e alguns valores mais altos, podendo ser considerados divergentes.

Tabela 4 - Níveis plasmáticos de trombotomodulina dos participantes do estudo (n=446).

Variável	Média	DP	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
Trombotomodulina (ng/mL)	0,250	0,191	0,026	0,121	0,223	0,321	1,594

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 3 - Histograma e boxplot dos níveis séricos de trombomodulina dos participantes do estudo (n=446).

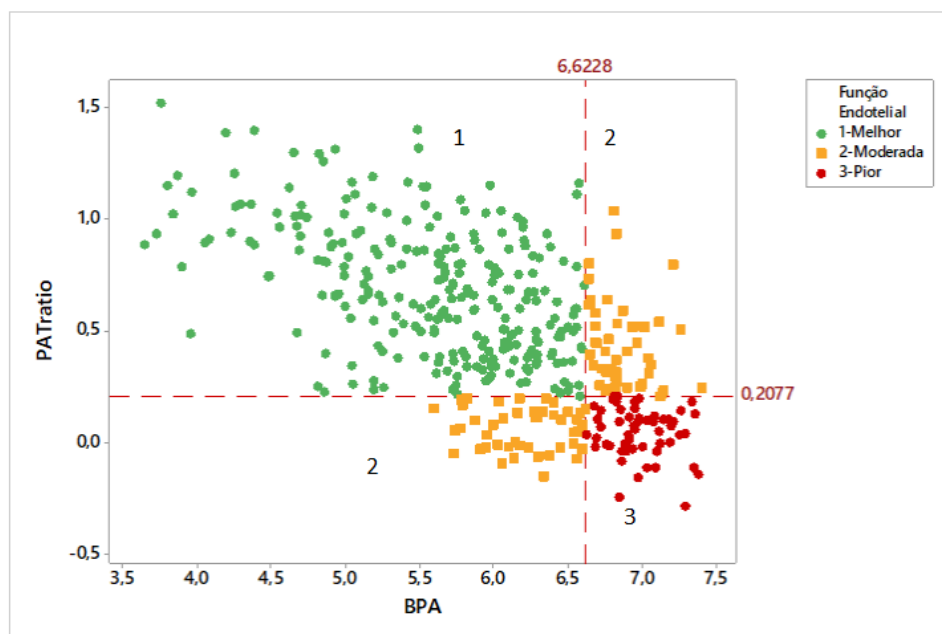


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

7.5 Função endotelial e relação com trombomodulina

A Figura 4 mostra o diagrama de dispersão dos valores de BPA e PATratio, destacando as categorias da classificação da função endotelial definidas na Seção 5.5. Os 283 (63,45%) dos participantes que foram classificados com melhor função endotelial são representados pelos pontos no quadrante 1; os 104 (23,32%) participantes com função endotelial moderada estão nos quadrantes 2; e os 59 (13,23%) participantes classificados com pior função endotelial estão no quadrante 3.

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



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os quatro quadrantes, na Figura 4, foram usados para classificar a função endotelial dos participantes de acordo com os indicadores BPA e PATratio (Quadro 1).

Quadro 1 - Grupos de classificação da função endotelial segundo os marcadores BPA e PATratio

MFE:	Melhor função endotelial	(BPA < 6,63 e PATratio > 0,21)
MDE1:	Moderada disfunção endotelial 1	(BPA ≥ 6,63 e PATratio > 0,21)
MDE2:	Moderada disfunção endotelial 2	(BPA < 6,63 e PATratio ≤ 0,21)
PFE:	Pior função endotelial	(BPA ≥ 6,63 e PATratio ≤ 0,21)

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

As estatísticas descritivas, dos marcadores de função endotelial PATratio e BPA para os participantes do estudo, são apresentadas na Tabela 5. Apenas o BPA teve uma correlação positiva com os níveis de TM ($p=0,065$), indicando uma tendência a valores altos de TM associados a valores altos de BPA, ou seja, uma possível disfunção endotelial.

Tabela 5 - Estatísticas descritivas dos marcadores de função endotelial e seus coeficientes de correlação linear de Spearman (r) com trombomodulina (n=446).

Variável	Média	DP	Mediana	Q1	Q3	r	Valor-p
PATratio	0,50	0,35	0,49	0,20	0,78	-0,047	0,320
BPA	5,98	0,80	6,07	5,52	6,62	0,087	0,065

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Foi apresentada na Tabela 6, as estatísticas descritivas e testes com os valores de TM para as categorias de função endotelial, com junção das categorias melhorada e moderada. Os valores de TM apresentaram média e mediana maior para os participantes classificados com função endotelial melhor ou moderada. Entretanto, nota-se nos *boxplots* da Figura 5, que os valores discrepantes apontados estão em sua maioria nesse grupo, com função endotelial melhor/moderada.

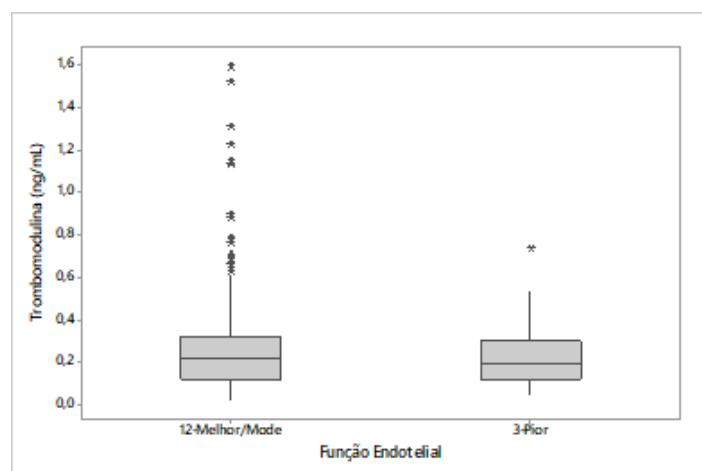
Tabela 6 - Estatísticas descritivas e testes dos valores de trombomodulina (ng/mL), segundo categorias da função endotelial (n=446).

Função endotelial	N	Média (DP)	Valor-p ⁽¹⁾	Mediana (Q1-Q3)	Valor-p ⁽²⁾
Melhor/Moderada	387	0,25 (0,19)	0,092	0,2250 (0,12-0,32)	0,352
Pior	59	0,22 (0,13)		0,1950 (0,12-0,30)	

1. Teste t de student; 2. Teste de Teste Mann Whitney.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 5 - *Boxplots* dos níveis séricos de trombomodulina, segundo as categorias de função endotelial.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

7.5.1 Modelo de regressão logística para função endotelial explicada pela trombomodulina e variáveis de controle

Como mostrado nas seções anteriores, apresentam-se associadas ao nível de TM as variáveis: sexo, escolaridade, consumo excessivo de álcool, reumatismo, TFG e artrose. Para os demais parâmetros, uso de inibidor plaquetário, glicose, artrite e TSH foi considerado ($p < 0,1$) para entrar no modelo.

Dentre estas variáveis, analisando a mesma base de dados, Souza (2023) encontrou associação com a função endotelial apenas para as variáveis sexo e glicose, enquanto reumatismo, uso de inibidor plaquetário, TSH e TFG não foram testadas.

Desse modo, o modelo inicial de regressão logística para o evento “ter função endotelial pior” em função da TM, como variável explicativa principal, tendo como variáveis de controle além de sexo e glicose, também artrose (reumatismo foi desconsiderado por apresentar apenas quatro casos), uso de inibidor plaquetário, TSH e TFG. Nesse modelo inicial, apenas a variável sexo mostrou-se associada à piora da função endotelial ao nível de significância de 5% ($p < 0,001$).

Retiradas as demais variáveis e ajustando novamente o modelo apenas com TM e sexo, chegou-se ao modelo final cujos resultados mostraram que, considerando a variável sexo, valores mais altos de TM levaram à redução da probabilidade de o participante ter função endotelial melhor, ou seja, a cada uma unidade (ng/mL) a mais no nível de TM, reduz-se em 79% a chance de o participante ter função endotelial melhor. Da mesma forma que no modelo anterior, a variável sexo continuou-se associada à piora da função endotelial ao nível de significância de 5% ($p < 0,001$). Entretanto, a TM apresentou ($p = 0,074$) que, embora maior que 5%, ainda é um valor muito baixo (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados de ajuste do modelo de regressão logística múltipla para função endotelial piorada ($n = 446$).

Variável	Coeficiente	Valor-p	Razão de Chances		
			Estimativa	IC de 95%	IC de 90%
Trombomodulina	-1,57	0,074	0,21	(0,03; 1,38)	(0,04; 1,02)
Sexo Masculino	1,41	0,000	4,11	(2,14; 7,89)	(2,38; 7,11)

IC: intervalo de confiança

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

7.5.2 Marcadores inflamatórios (índices) derivados do hemograma e relação com função endotelial

Na Tabela 8 as estatísticas descritivas dos marcadores inflamatórios, NLR, PLR, LMR, dNLR, SIRI, AISI, SII e eritrócitos, são apresentadas para os grupos de participantes classificados de acordo com os indicadores de função endotelial BPA e PATratio, definidos no Quadro 1 da página 37.

O teste de Kruskal-Wallis conseguiu identificar, entre os quatro grupos, diferença significativa apenas para os marcadores PLR ($p=0,030$) e eritrócitos ($p<0,001$) (Tabela 8). O teste pos hoc de Dunn foi então utilizado para verificar quais grupos eram diferentes nestes marcadores. Para o marcador PLR, o teste não encontrou distinção entre os grupos. Nos eritrócitos, o teste pos hoc apontou que o grupo MFE difere de MDE2 que, por sua vez, difere de PFE (Figura 6).

Tabela 8 - Estatística descritiva para os marcadores inflamatórios, segundo os grupos de função endotelial, Quadro 1, página 37 (n=446).

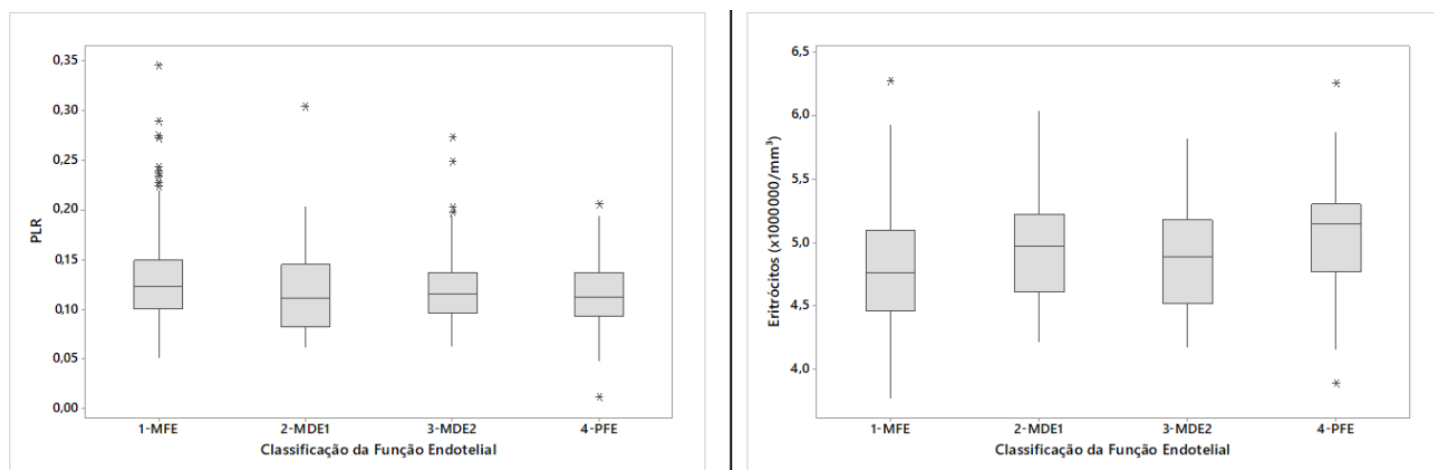
Variável	MFE (n=283)		MDE1 (n=52)		MDE2 (n=52)		PFE (n=59)		Valor-p*
	Mediana	Q1-Q3	Mediana	Q1-Q3	Mediana	Q1-Q3	Mediana	Q1-Q3	
NLR	1,91	1,42-2,46	1,84	1,36-2,31	1,78	1,43-2,18	1,86	1,48-2,75	0,552
PLR	0,12	0,10-0,15	0,11	0,08-0,14	0,11	0,09-0,14	0,11	0,09-0,14	0,030
LMR	3,85	2,97-4,71	4,03	2,87-5,03	3,76	3,11-4,59	3,75	3,04-4,80	0,999
dNLR	1,37	1,00-1,72	1,28	1,04-1,64	1,33	1,06-1,59	1,37	1,14-1,82	0,376
SIRI	867,7	612,4-1285,8	850	607-1241	822,7	664,5-1251,9	992,1	668,1-1305,3	0,644
AISI	198086	129120-311517	165705	125550-299430	165543	138252-302613	218323	121713-345278	0,777
SII	425,6	313,0-594,4	354,8	268,3-492,4	411,1	285,1-529,1	422,3	272,6-546,8	0,181
Eritrócitos	4,76	4,46-5,09	4,97	4,61-5,22	4,88	4,51-5,17	5,14	4,77-5,3	<0,001

(x10000
00/mm³
)

*Teste de Kruskal-Wallis. MFE: Melhor função endotelial; MDE1: Moderada disfunção endotelial 1; MDE2: Moderada disfunção endotelial 2; PFE: Pior função endotelial; NLR: Relação neutrófilo/linfócito; PLR: Relação plaquetas/linfócito; LMR: Relação monócito/Linfócito; dNLR: Derivado NLR; SIRI: Índice de resposta à inflamação sistêmica; AISI: Índice agregado de inflamação sistêmica; SII: Índice de inflamação imunológica sistêmica.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Figura 6 - Boxplots para os valores de relação plaquetas/linfócitos (PLR) e eritrócitos segundo os grupos de classificação da função endotelial do Quadro1.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Devido a um número menor de participantes nos grupos MDE1, MDE2 e PFE, esses foram reunidos em um novo grupo chamado de “função endotelial alterada”, e comparado com o grupo MFE, ou seja, com a função endotelial não alterada. O teste de Mann-Whitney foi utilizado e diferenças significativas foram encontradas para os marcadores PLR ($p=0,004$) e eritrócitos ($p<0,001$) e, uma tendência para o marcador SII ($p=0,062$) entre os participantes classificados quanto à função endotelial, não alterada e alterada (Tabela 9).

Tabela 9 - Estatística para os marcadores inflamatórios segundo os grupos, MFE (n=283) função endotelial não alterada e alterada (MDE1+MDE2+PFE) (n=163)

Variável	Função endotelial	Q1	Mediana	Q3	Valor-p*
NLR	Não alterada	1,41	1,91	2,4607	0,546
	Alterada	1,44	1,83	2,4479	
PLR	Não alterada	0,100	0,12	0,14937	0,004
	Alterada	0,09	0,11	0,13750	
LMR	Não alterada	2,97	3,85	4,714	0,995
	Alterada	3,06	3,76	4,800	
dNLR	Não alterada	1,10	1,37	1,7248	0,355
	Alterada	1,09	1,32	1,6738	
SIRI	Não alterada	612,4	867,7	1285,8	0,627
	Alterada	630,3	927,2	1270,2	
AISII	Não alterada	129120	198086	311517	0,674
	Alterada	130016	193124	306231	
SII	Não alterada	313,0	425,6	594,4	0,062
	Alterada	279,6	396,1	516,1	
Eritrócitos (x1000000/mm ³)	Não alterada	4,46	4,76	5,0900	<0,001
	Alterada	4,65	5,01	5,2500	

*Teste de Mann-Whitney. NLR: Relação neutrófilo/linfócito; PLR: Relação plaquetas/linfócito; LMR: Relação monócito/Linfócito; dNLR: Derivado NLR; SIRI: Índice de resposta à inflamação sistêmica; AISII: Índice agregado de inflamação sistêmica; SII: Índice de inflamação imunológica sistêmica.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

7.6 Parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios e relação com função endotelial, segundo relato de doenças crônicas

Dos 446 participantes, 107 (24%) não relataram apresentar nenhuma das seguintes doenças crônicas: dislipidemia, HAS, DM, DC, câncer, artrose e reumatismo, consideradas no estudo. Os demais 339 (76%) relataram possuir uma das sete doenças. Observou-se também que 137 (40%) dos participantes classificados com “função endotelial alterada” e, que relataram ter pelo menos uma doença crônica apresentaram uma diferença estatística significativa para eritrócitos, CHCM, hematócrito e plaquetas (teste Qui-quadrado de Pearson $p=0,03$), em relação aos 26 participantes, (24%) também classificados com “função endotelial alterada”, porém, sem comorbidades.

Em função da presença de doenças crônicas, descrita para os 339 participantes, e, em alguns casos associadas à alteração da função endotelial foi realizada uma comparação entre os parâmetros laboratoriais hematológicos e marcadores inflamatórios para todos os 446 participantes, os quais foram divididos em quatro subgrupos como descrito a seguir:

- Sem doenças crônicas e sem alteração na função endotelial: 81 (18,2%) participantes;
- Sem doenças crônicas e com alteração na função endotelial: 26 (5,8%) participantes;
- Com doenças crônicas e sem alteração na função endotelial: 202 (45,3%) participantes;
- Com doenças crônicas e com alteração na função endotelial: 137 (30,7%) participantes.

Dessa forma, os parâmetros laboratoriais hematológicos e marcadores inflamatórios derivados do hemograma foram analisados e, diferenças significativas foram encontradas ao se utilizar o teste de Kruskal-Wallis, entre os quatro subgrupos, para os seguintes parâmetros: eritrócitos ($p < 0,001$), hemoglobina ($p < 0,001$), CHCM ($p < 0,001$), hematócrito ($p < 0,001$), plaquetas ($p = 0,033$) e PLR ($p = 0,032$) e para os leucócitos observou-se apenas uma tendência ($p = 0,090$), (Tabela 10).

Tabela 10 - Estatística descritiva para os parâmetros laboratoriais hematológicos e marcadores de função endotelial, segundo relato de doenças crônicas e alteração na função endotelial (n=446).

Variável	Doença s crônicas	Alteração na função endotelial	Q1	Mediana	Q3	Valor-p*
Eritrócitos (x1000000 /mm ³)	Não	Não	4,4550	4,6500	5,0350	<0,001
	Não	Sim	4,6625	5,0850	5,2250	
	Sim	Não	4,4775	4,7800	5,1125	
	Sim	Sim	4,6450	5,0100	5,2600	
Hemoglobina (g%)	Não	Não	13,250	13,900	14,700	<0,001
	Não	Sim	13,675	14,900	16,150	
	Sim	Não	13,300	14,100	15,425	
	Sim	Sim	13,900	14,900	15,800	
CHCM (%)	Não	Não	33,000	33,500	34,300	<0,001
	Não	Sim	33,675	34,400	35,000	
	Sim	Não	33,200	33,900	34,500	
	Sim	Sim	33,550	34,200	34,950	

Hematócrito (%)	Não	Não	39,500	41,600	43,500	<0,001
	Não	Sim	41,000	44,600	46,025	
	Sim	Não	39,400	41,850	45,000	
	Sim	Sim	41,100	43,800	45,900	
Leucócitos (mm ³)	Não	Não	4755	5660	6875	0,090
	Não	Sim	4970	5610	6903	
	Sim	Não	5190	6130	7103	
	Sim	Sim	5120	6320	7260	
Plaquetas (x1000/mm ³)	Não	Não	190,50	221,00	254,00	0,033
	Não	Sim	164,25	208,00	233,50	
	Sim	Não	197,00	227,50	265,50	
	Sim	Sim	178,00	219,00	257,00	
NLR	Não	Não	1,384	1,908	2,470	0,897
	Não	Sim	1,470	1,945	2,472	
	Sim	Não	1,4369	1,9082	2,4585	
	Sim	Sim	1,4345	1,8077	2,4457	
PLR	Não	Não	0,10071	0,12877	0,15523	0,032
	Não	Sim	0,09320	0,11268	0,14491	
	Sim	Não	0,10015	0,12176	0,14924	
	Sim	Sim	0,08966	0,11383	0,13736	
LMR	Não	Não	2,844	4,000	4,689	0,853
	Não	Sim	2,834	3,592	4,699	
	Sim	Não	2,976	3,814	4,798	
	Sim	Sim	3,095	3,772	4,836	
dNLR	Não	Não	1,068	1,3923	1,7473	0,760
	Não	Sim	1,113	1,407	1,712	
	Sim	Não	1,111	1,3669	1,7137	
	Sim	Sim	1,085	1,3095	1,6455	
SIRI	Não	Não	547,7	809,7	1205,7	0,696
	Não	Sim	590	797	1436	
	Sim	Não	620	895,3	1354,5	
	Sim	Sim	651	945	1259	
AISII	Não	Não	116049	175325	304393	0,562
	Não	Sim	98089	190200	311695	
	Sim	Não	135808	210231	311651	
	Sim	Sim	130388	193124	306567	
SII	Não	Não	294,3	393,1	528,2	0,205
	Não	Sim	270,8	406,6	510,9	
	Sim	Não	317,7	438,7	597,8	
	Sim	Sim	280,2	388,7	529,5	

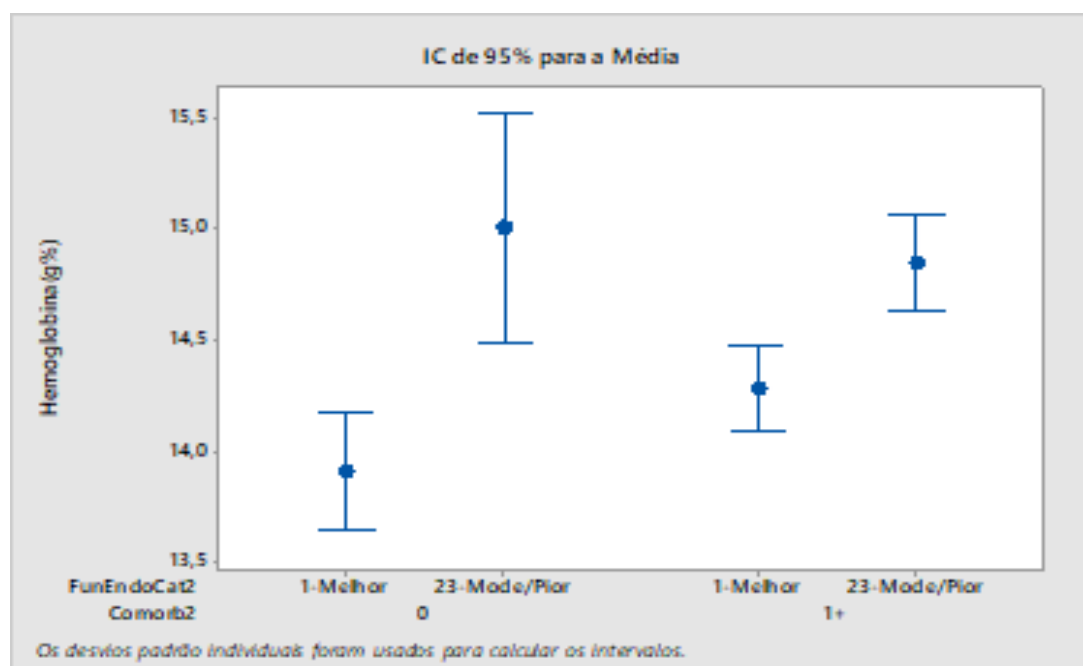
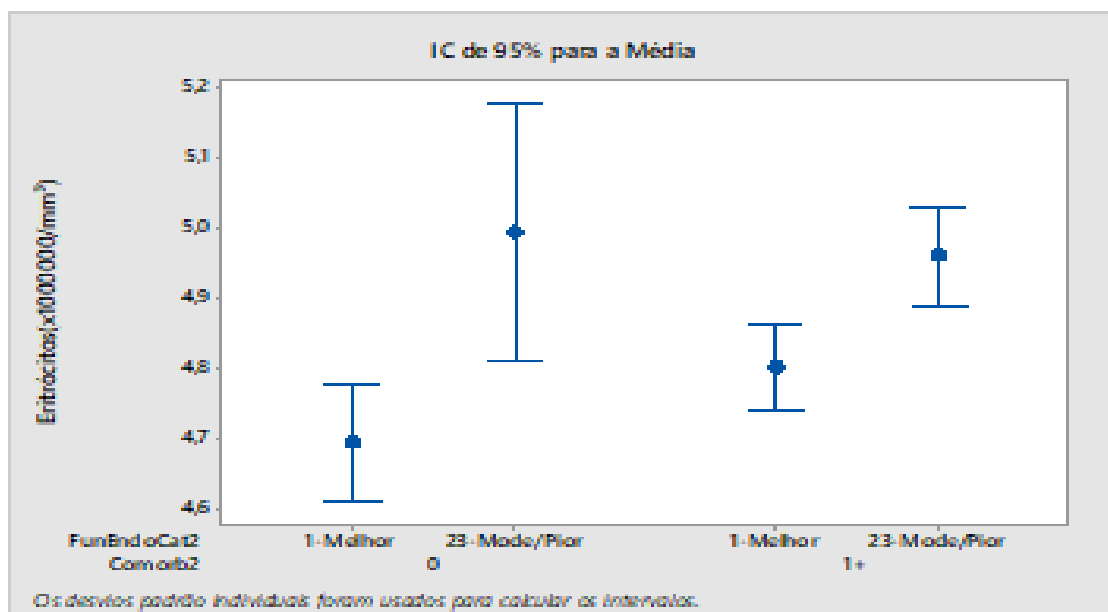
*Teste de Kruskal-Wallis. CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média; NLR: Relação neutrófilo/linfócito; PLR: Relação plaquetas/linfócito; LMR: Relação monócito/Linfócito; dNLR: Derivado NLR; SIRI: Índice de resposta à inflamação sistêmica; AISII: Índice agregado de inflamação sistêmica; SII: Índice de inflamação imunológica sistêmica.

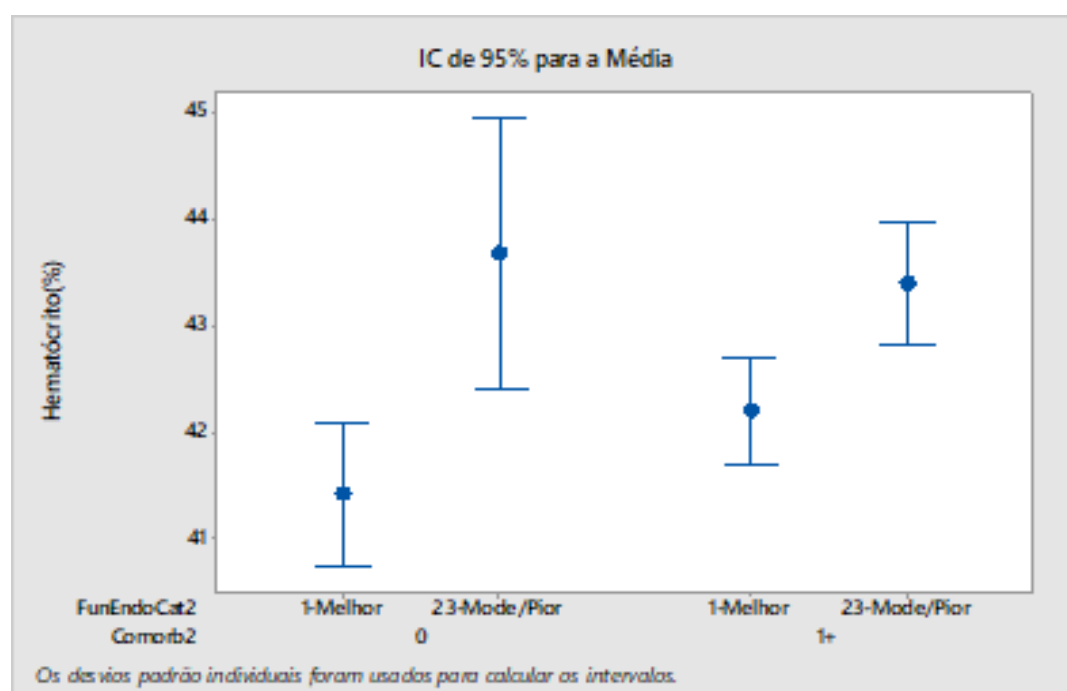
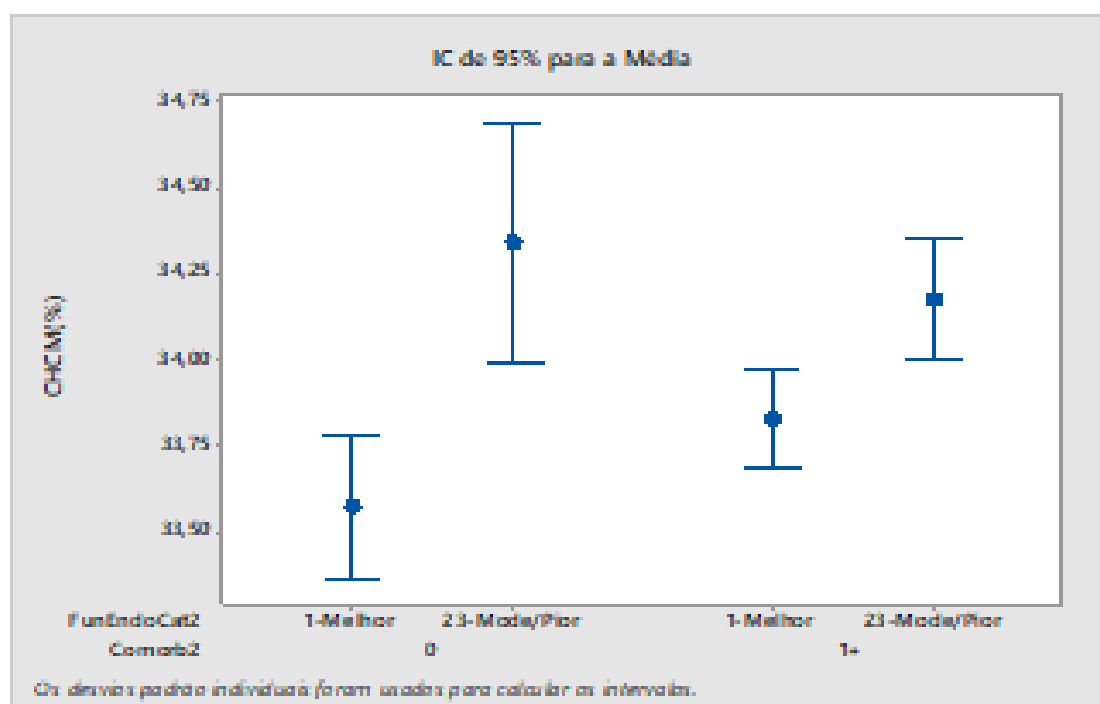
Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

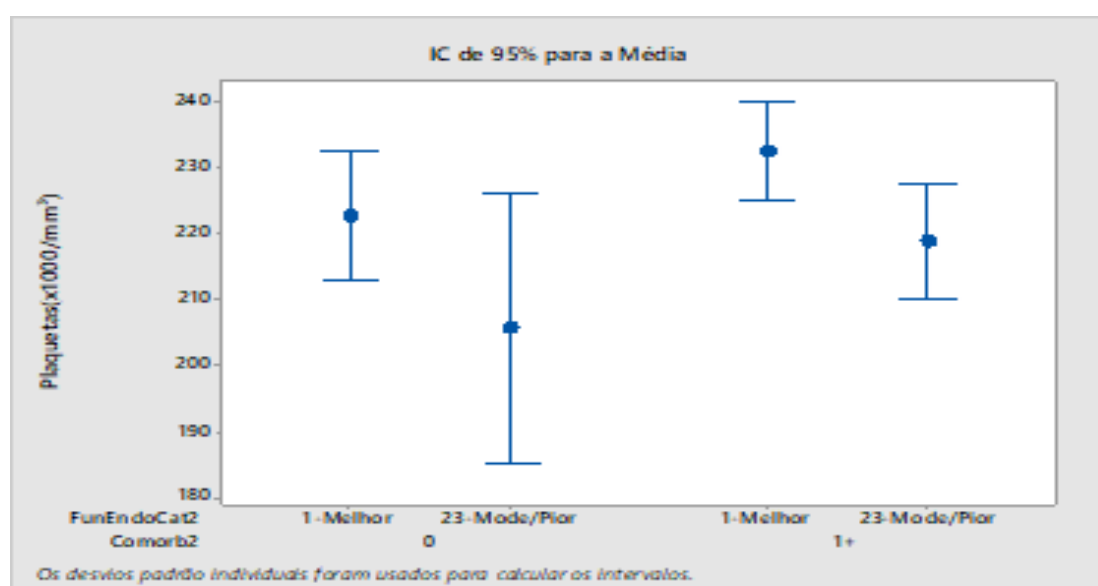
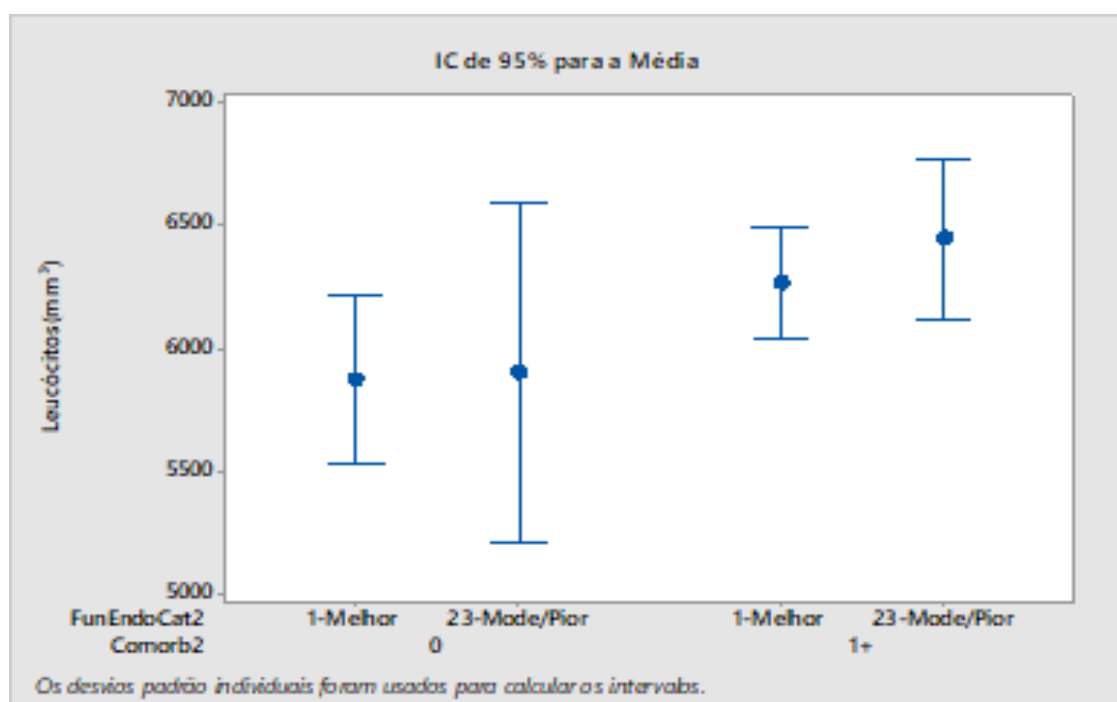
Para os marcadores significantes, foi feito um modelo de regressão linear para estimar o efeito de alteração na função endotelial e comorbidade. Para uma melhor visualização dos resultados da Tabela 10, é apresentado na Figura 7 os intervalos de confiança de 95% para as médias dos parâmetros laboratoriais hematológicos e marcadores inflamatórios que apresentaram diferenças significativas na estratificação dos participantes, segundo presença de doenças crônicas e alteração na função endotelial.

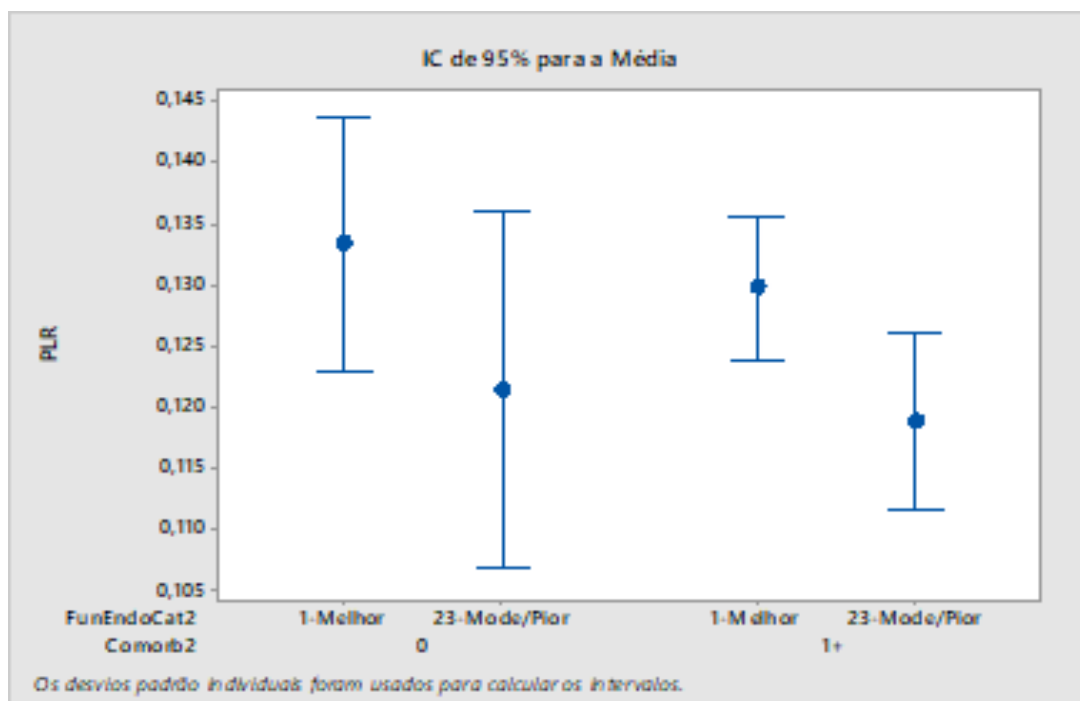
Nota-se nesses gráficos que, tanto para os participantes sem doenças crônicas quanto para aqueles com doenças crônicas, os valores médios de eritrócitos, hemoglobina, CHCM, hematócrito e leucócitos são mais elevados no grupo de participantes com alteração na função endotelial; e o contrário acontece com plaquetas e PLR. Entretanto, a distância das médias dessas variáveis é maior entre os participantes sem doenças crônicas (exceto para leucócitos, plaquetas e PLR), indicando que essas variáveis parecem ser melhores marcadores de alteração na função endotelial para as pessoas sem doenças crônicas.

Figura 7 - Parâmetros laboratoriais hematológicos, marcadores inflamatórios e intervalos de confiança para a média dos valores, segundo ausência de comorbidade ou presença de comorbidade ou ainda presença de doenças crônicas e classificação da função endotelial.









Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

7.6.1 Parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios e relação com função endotelial na ausência de doenças crônicas

Devido ao exposto no parágrafo anterior, foi realizada a análise dos parâmetros laboratoriais hematológicos e marcadores inflamatórios em relação à função endotelial, apenas para os participantes sem relato de doenças crônicas foram considerados neste estudo.

- Sem doenças crônicas e sem alteração na função endotelial: 81 (18,2%) participantes;
- Sem doenças crônicas e com alteração na função endotelial: 26 (5,8%) participantes;
- Com doenças crônicas e sem alteração na função endotelial: 202 (45,3%) participantes;
- Com doenças crônicas e com alteração na função endotelial: 137 (30,7%) participantes.

Para os 107 participantes que relataram não apresentar nenhuma doença crônica, observou-se que, dentre aqueles com função endotelial alterada (n=26), houve aumento significativo para os valores de eritrócitos ($p=0,03$), hemoglobina ($p=0,001$), CHCM ($p=0,001$) e

hematócrito ($p=0,005$), e redução na mediana das plaquetas, porém não significativa ($p=0,085$) (Tabela 11).

Para os parâmetros que foram estatisticamente diferentes entre os grupos de participantes com função endotelial alterada e não alterada, curvas ROC foram construídas (Figura 08). Verificou-se que nenhum dos testes apresentou bom desempenho como marcador de alteração na função endotelial em pessoas sem doenças crônicas, tendo em vista os valores de AUC-ROC (área abaixo da curva ROC).

Tabela 11 - Estatística descritiva para parâmetros laboratoriais hematológicos e marcadores inflamatórios, segundo alteração na função endotelial em participantes sem relato de doenças crônicas ($n=107$).

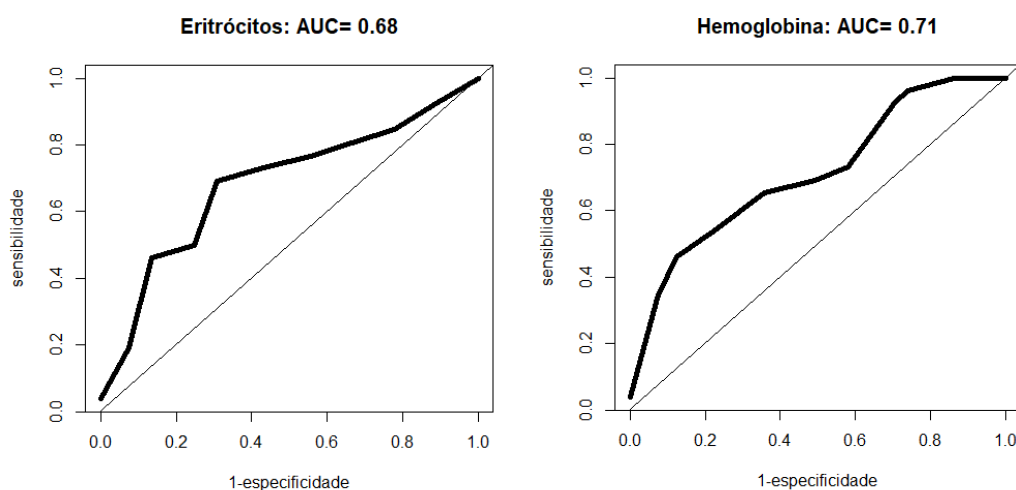
Variável	Função endotelial	Média	Desvio padrão	Q1	Mediana	Q3	Valor-p*
Eritrócitos (x1000000/mm ³)	Não alterada	4,6956	0,3825	4,4550	4,6500	5,0350	0,003
	Alterada	4,9950	0,4551	4,6625	5,0850	5,2250	
VCM (fl)	Não alterada	88,375	4,229	85,200	89,000	91,400	0,301
	Alterada	87,631	3,555	85,925	87,800	90,275	
HCM (pg)	Não alterada	29,668	1,627	28,850	29,800	30,900	0,173
	Alterada	30,123	1,584	29,100	30,600	31,300	
Hemoglobina (g%)	Não alterada	13,912	1,176	13,250	13,900	14,700	0,001
	Alterada	15,012	1,279	13,675	14,900	16,150	
CHCM (%)	Não alterada	33,574	0,945	33,000	33,500	34,300	0,001
	Alterada	34,342	0,863	33,675	34,400	35,000	
RDW (%)	Não alterada	13,159	0,721	12,600	13,100	13,500	0,474
	Alterada	13,073	0,745	12,675	13,000	13,350	
Hematócrito (%)	Não alterada	41,423	3,040	39,500	41,600	43,500	0,005
	Alterada	43,681	3,130	41,000	44,600	46,025	
Leucócitos (mm ³)	Não alterada	5876	1541	4755	5660	6875	0,980
	Alterada	5903	1704	4970	5610	6903	
Plaquetas (x1000/mm ³)	Não alterada	222,78	44,42	190,50	221,00	254,00	0,085
	Alterada	205,73	50,62	164,25	208,00	233,50	

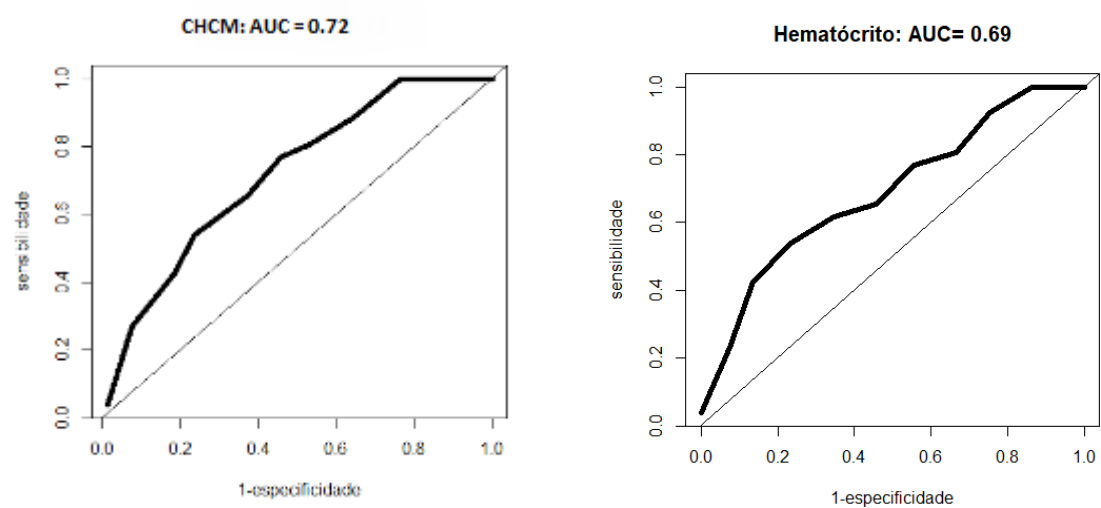
NLR	Não alterada	2,057	0,958	1,384	1,908	2,470	0,936
	Alterada	2,043	0,928	1,470	1,945	2,472	
PLR	Não alterada	0,13341	0,04715	0,10071	0,12877	0,15523	0,248
	Alterada	0,12144	0,03613	0,09320	0,11268	0,14491	
LMR	Não alterada	4,129	1,615	2,844	4,000	4,689	0,412
	Alterada	3,818	1,435	2,834	3,592	4,699	
dNLR	Não alterada	1,4776	0,6044	1,0685	1,3923	1,7473	0,980
	Alterada	1,436	0,559	1,113	1,407	1,712	
SIRI	Não alterada	983,1	585,0	547,7	809,7	1205,7	0,621
	Alterada	1101	733	590	797	1436	
AISI	Não alterada	224395	149708	116049	175325	304393	0,988
	Alterada	225348	152322	98089	190200	311695	
SII	Não alterada	461,7	239,9	294,3	393,1	528,2	0,637
	Alterada	409,2	181,9	270,8	406,6	510,9	

*Teste de Mann-Whitney. VCM: Volume corpuscular médio; HCM: Hemoglobina corpuscular média; CHCM: Concentração de hemoglobina corpuscular média; NLR: Relação neutrófilo/linfócito; PLR: Relação plaquetas/linfócito; LMR: Relação monócito/Linfócito; dNLR: Derivado NLR; SIRI: Índice de resposta à inflamação sistêmica; AISI: Índice agregado de inflamação sistêmica; SII: Índice de inflamação imunológica sistêmica.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Figura 8 - Curva ROC com AUC (área abaixo da curva), para os parâmetros laboratoriais hematológicos, segundo alteração relacionada à função endotelial para os participantes sem relato de doenças crônicas (n=107).





Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

8 DISCUSSÃO

8.1 Características dos participantes do estudo e níveis séricos de trombotomodulina

Com relação as características dos participantes do estudo e a relação com a TM, verificou-se valores mais altos de TM entre os participantes do sexo masculino, os que têm níveis de escolaridade fundamental ou médio e aqueles que consomem álcool de forma excessiva.

Já estudos relacionados aos gêneros sexuais na função endotelial são bem conflitantes, sendo que alguns estudos mostraram decréscimos mais precoces na função endotelial em homens, com aumento da expressão de TM concomitante a redução de ON, em relação as mulheres. Enquanto outros estudos demonstram que este decaimento na função endotelial é semelhante ao se ajustar à idade entre os sexos e, que fatores hormonais podem justificar parcialmente esses resultados. Em concordância com nossos dados, Stanhewicz (2018) sugere que mecanismos ligados aos hormônios masculinos e femininos podem levar a expressão de fatores como ET-1 que, por sua vez, induzem à produção de fatores de crescimento, ROS e mediadores inflamatórios, os quais podem contribuir para alterações vasculares levando a hiperatividade associada a liberação de ET-1 e ao aumento de TM (Stanhewicz *et al.*, 2018).

Quanto ao grau de instrução escolar um valor maior de TM foi observado nos participantes com o nível escolar fundamental e médio. Esses dados foram observados por Precoma, (2021), que em seus estudos aborda os dados levantados em 2015 pela American Heart Association, estabelecendo alguns conceitos de determinantes sociais para as doenças cardiovasculares, no qual esse posicionamento se baseou em fatores socioeconômicos, educação, emprego, raça, etnia, suporte social, cultural, acesso aos cuidados médicos e ambientes residenciais (Precoma *et al.*, 2021). E ainda os estudos de Khaing, (2017), apontam a relação entre o nível de escolaridade e fatores de risco cardiovascular, em sujeitos com uma baixa escolaridade, apresentarem uma probabilidade maior de desenvolver doenças como: hipertensão, diabetes, dislipidemia e excesso de peso. O estudo ainda relaciona a baixa escolaridade ao acometimento de doença cardíaca com uma função endotelial pior (Khaing *et al.*, 2017).

No presente estudo os níveis séricos de TM se mostraram aumentados de forma significativa nos participantes com consumo excessivo de álcool em relação aos que não consomem álcool. Os resultados apresentados neste estudo sinalizam para um efeito danoso ao ser humano, o consumo do álcool de forma excessiva. Em acordo com o estudo reportado por Rajendran *et al.* (2023), foi observado que o etanol tem efeitos bifásicos em diversas funções endoteliais, de modo que um nível moderado de álcool mantém o endotélio em um estado não ativado, enquanto em concentrações elevadas vem a causar disfunção endotelial, assim como o acetaldeído. Deve-se considerar também, a importância da dose quando se considera o efeito do etanol no endotélio arterial, o que também pode explicar, a relação entre a concentração de álcool e a aterosclerose relatada em estudo epidemiológico (Rajendran *et al.*, 2023). Por outro lado, tem-se uma alta prevalência quanto ao uso de álcool e a hipertensão, o que requer cuidado para todos àqueles que apresentam pressão arterial elevada. Já a intervenção precoce para o uso excessivo de álcool oferece a promessa de níveis mais baixos de pressão arterial e risco reduzido de resultados cardiovasculares adversos (Puddey *et al.*, 2019).

Um dos fatores, que ainda deve ser considerado, é o não consenso na literatura sobre a classificação a respeito dos níveis de consumo de álcool. De acordo com Roerecke, (2021), os valores variam de forma considerável, nos EUA a unidade de consumo padrão é de 14 g de álcool puro por bebida, no Reino Unido de 8 g de álcool puro e no Canadá é de 13,6 g, sendo que o consumo de álcool episódico, às vezes chamado de consumo excessivo de álcool, não é consistentemente definido em termos mundial (Roerecke *et al.*, 2021).

E ainda para Schmidt *et al.*, (2014), em seu trabalho, associado ao ELSA – Brasil, o consumo excessivo de álcool é considerado para valores acima de 210 g de álcool por semana para homens (30 g de álcool/dia) e acima de 140 g para mulheres (20 g de álcool/dia) (Schmidt *et al.*, 2014).

8.2 Doenças crônicas, uso de medicamentos e dados laboratoriais com níveis séricos de trombotomodulina

De acordo com os dados obtidos no presente estudo, somente os indivíduos que se autodeclararam com reumatismo (n=4) apresentaram níveis mais elevados de TM. Os dados publicados por Santos (2012), relacionaram pacientes com lúpus, artrite reumatoide

e artrose com níveis séricos de TM mais elevados, com aumento do risco de DCV o que se relaciona com dados encontrados em nosso trabalho (Santos *et al.*, 2012). Para as demais comorbidades e o uso de medicamentos não foi observada em nenhuma associação com os níveis de TM. Apesar do número reduzido de participantes já é descrito na literatura uma associação entre distúrbios autoimunes e disfunção endotelial conforme, descrito por Murdaca (2012), a disfunção endotelial em doenças reumáticas autoimunes, envolve respostas imunes inatas e inflamatórias (Murdaca *et al.*, 2012).

Quanto aos parâmetros laboratoriais, somente a TFG apresentou correlação negativa e significativa com a TM, indicando que quanto menor a TFG maior a TM. Estudos sugerem que a lesão endotelial da vasculatura renal pode desempenhar um papel importante na patogênese da lesão renal aguda (LRA), isquêmica, precoce e crônica. Além disso, alterações precoces no fluxo sanguíneo capilar e peri tubular durante a reperfusão estão associadas à perda da função normal das células endoteliais, tendo a TM e angiopoietinas relacionadas a lesão endotelial. De acordo com dados da literatura, pacientes com LRA apresentaram redução da TFG com elevação de TM (Liu *et al.*, 2014). E valores de TM demonstraram-se elevadas em pacientes de LRA e relacionada aos outros marcadores de disfunção endotelial com risco de LRA, sendo esses mesmos dados observados em pesquisas semelhantes, envolvendo LRA em coorte realizada na Finlândia (coorte FINNAKI) (Atreya *et al.*, 2023).

8.3 Função endotelial e relação com trombomodulina

Ao compararmos os valores de TM e BPA considerando a correlação linear de Spearman, observou-se uma correlação positiva com a disfunção endotelial moderada, com tendência a níveis de TM aumentados. Certamente, em indivíduos saudáveis as concentrações plasmáticas de TM permanecem relativamente baixas. Aliado à presença dos fatores de risco tradicionais, os resultados do BPA com disfunção endotelial moderada e TM aumentada, pode corroborar com a ideia de doença subclínica em alguns dos participantes. Uma vez que, o dano endotelial de qualquer origem resulta em proteólise e liberação de TM por parte das células endoteliais, resultando em um aumento de 1,5 a 2 vezes as concentrações plasmáticas de TM, e que concentrações mais elevadas refletem um estado pró-trombótico com baixo risco de primeiros eventos coronarianos, sendo assim valores

baixos de TM não excluem a possibilidade de disfunção endotelial a longo prazo (Demeulenare *et al.*, 2018).

8.4 Modelo de regressão logística para função endotelial explicada pela trombomodulina e variáveis de controle

Por meio da análise de regressão logística múltipla foram avaliadas as variáveis relacionadas com alterações da função endotelial e com os níveis de TM para os participantes do estudo. Foi observado, nesse modelo, que indivíduos do sexo masculino apresentaram 04 vezes mais chances de terem níveis mais elevados de TM. O que leva à redução da probabilidade de uma função endotelial melhor.

Em suma, os níveis de TM variaram em função das características sociodemográficas e clínicas dos participantes do estudo, podendo estar associados a presença de disfunções endoteliais ainda iniciais, uma vez que houve uma tendência a níveis aumentados de TM com maiores valores do BPA. O acesso à informação frente ao autocuidado, e uma não preexistência de comorbidades correlacionaram de forma positiva com a saúde dos vasos e, por conseguinte, do endotélio vascular.

8.5 Análise da Função Endotelial e Índices Inflamatórios Derivados do Hemograma

A disfunção endotelial é um processo complexo que envolve vasoconstrição, trombose e processo inflamatório. Dessa forma, os marcadores inflamatórios apresentados no presente estudo são importantes para avaliar entre outras condições, alterações envolvendo os vasos sanguíneos. Ao avaliar a função endotelial dos participantes foi observado que o valor dos eritrócitos foi maior e diferente entre os grupos MFE e MDE e, a MDE em relação ao grupo com a PFE, ainda que os valores dos eritrócitos estejam dentro dos valores de referência, isso pode ser um indicativo que indivíduos com moderada e pior função endotelial possam estar desenvolvendo algum problema circulatório. Ao passo, que a razão PLR por ser também um índice inflamatório, podendo ser um indicador de inflamação sistêmica, foi observado também diferença entre os grupos analisados. Por outro lado, as suas variações da razão PLR devem ser avaliadas juntamente com outros índices hematológicos, particularmente com o NLR, que, no entanto, não se mostrou diferente entre os grupos.

Devido a um menor número de participantes presentes nos grupos MDE1, MDE2 e PFE em relação aos participantes com MFE, esses foram reunidos e classificados como função endotelial alterada, e foram então comparados com o grupo MFE, ou seja, grupo esse classificado com função endotelial não alterada. Os valores medianos do marcador PLR, foram maiores naqueles participantes com função endotelial não alterada, ou seja, com a MFE, e mais uma vez os valores dos eritrócitos foram maiores nos participantes classificados com função endotelial alterada.

Os eritrócitos aumentados podem ser explicados a partir de dados da literatura em que os eritrócitos absorvem e inativam o ON derivado do endotélio, por meio de reação rápida com a oxiemoglobina para formar metemoglobina e nitrato, limitando assim o ON disponível para vasodilatação, resultando em uma função endotelial prejudicada (Cortese *et al.*, 2014). Valores elevados de eritrócitos e hematócrito cursaram com uma função endotelial moderada a pior, sendo que o estresse por cisalhamento ocasiona aumento da expressão de TM com redução a expressão de ON, levando a uma função endotelial prejudicada, uma vez que a ação destes dois agentes reduz a capacidade de resposta do vaso ao estímulo de relaxamento.

Quanto aos marcadores inflamatórios aumentados nos participantes com a MFE, isso, pode indicar alguma alteração não somente envolvendo a função endotelial, mas, também algum outro processo inflamatório relacionado a prováveis doenças presentes no contexto desses participantes. O índice de inflamação imunológica e sistêmica, SII, teve uma tendência a valores mais elevados também no grupo com função endotelial não alterada, MFE. Podendo ser interpretado da mesma forma, ou seja, alguma fisiopatologia envolvida que não a função endotelial, nesses participantes com a MFE.

8.6 Parâmetros laboratoriais e marcadores inflamatórios e relação com função endotelial segundo relato de doenças crônicas

Em função da presença de doenças crônicas presentes entre os participantes, e em alguns casos associadas ou não, com alteração na função endotelial. Os participantes foram então subdivididos, sem doenças crônicas com e sem alteração na função endotelial, e, com doenças crônicas com e sem alteração na função endotelial. Uma vez, que a função endotelial tem como variáveis explicativas os índices inflamatórios derivados do

hemograma, mas também parâmetros hematológicos, eritrócitos, hemoglobina, CHCM, hematócrito. Os intervalos de confiança de 95% para as médias dos parâmetros laboratoriais hematológicos e marcadores inflamatórios apresentaram diferenças significativas na estratificação dos participantes segundo presença de doenças crônicas e alteração na função endotelial. Tanto para os participantes sem doenças crônicas quanto para aqueles com doenças crônicas, os valores médios de eritrócitos, hemoglobina, CHCM e hematócrito foram mais elevados no grupo de participantes com alteração na função endotelial. Ao contrário, para as plaquetas e o marcador PLR, com maiores valores para aqueles com melhor função endotelial independente da presença ou ausência da doença crônica. Entretanto, a distância das médias dessas variáveis é maior entre os participantes sem doenças crônicas (exceto para leucócitos, plaquetas e PLR), indicando que essas variáveis parecem ser melhores marcadores de alteração da função endotelial para as pessoas sem doenças crônicas.

Os eritrócitos parecem ter um efeito positivo na função endotelial, ou seja, apenas a alteração da função endotelial foi o suficiente para aumentar os eritrócitos. Porém a hemoglobina elevada na presença pior função endotelial está em desacordo com FE, uma vez que valores reduzidos de hemoglobina cursam com anemia inflamatória, tendo como origem processos ligados a doenças autoimunes e infecções crônicas, onde a terapêutica para mitigar tais efeitos são medicamentos que promovam aumento da hemoglobina (Weiss *et al.*, 2018) (Koutrobakis *et al.*, 2015).

Valores elevados de plaquetas e PLR, na presença ou não de comorbidades, cursaram com função endotelial melhor, o que difere com dados descritos na literatura, pois a hiperatividade plaquetária aumenta o estresse oxidativo e a inflamação de baixo grau, levando a um aumento da vasoconstrição, tensão por cisalhamento e formação de trombos, com isso, a uma piora da função endotelial (Kaur *et al.*, 2018). Nesse ponto as plaquetas estão em acordo com o presente estudo, tendo valores alterados na presença de comorbidades, porém para valores de PLR não foi observado essa mesma correlação. Sendo assim, esses marcadores podem estar aumentados em função de alguma alteração que não a função endotelial e nem a associação com as comorbidades avaliadas.

Ao acompanhar a variação da sensibilidade e especificidade para os parâmetros hematológicos, eritrócitos, hemoglobina, CHCM, e hematócrito, por meio da curva ROC, para os participantes do estudo na ausência de comorbidades, verificou-se que, nenhum dos

testes apresentou bom desempenho como marcador de alteração na função endotelial em pessoas sem doenças crônicas. Tendo em vista os baixos valores de AUC-ROC, o que pode demonstrar que tais marcadores não seriam uma boa escolha para avaliar disfunção endotelial, sem a presença de comorbidades.

Embora seja razoável a associação entre TM e disfunção endotelial, o estudo transversal (delineamento do estudo) é ainda frágil em estabelecer uma relação de causa-efeito, pois não existe uma sequência temporal clara entre a TM e a função endotelial. E esse pode ser um ponto interessante a ser ressaltado como uma limitação do estudo. Em contrapartida, como fator positivo, o tamanho amostral. Por outro lado, os eritrócitos tiveram um efeito positivo na função endotelial, ou seja, apenas a alteração da função endotelial foi o suficiente para aumentar os eritrócitos.

9 CONCLUSÃO

Os resultados em conjunto nos remetem as seguintes conclusões:

- a) A associação entre TM e disfunção endotelial se mostrou positiva em participantes do sexo masculino, com reumatismo e TFG, demonstrando que TM poderia ser alvo para identificação de disfunção endotelial nesses casos.
- b) Os eritrócitos e hematócrito tiveram uma relação positiva com a função endotelial, ou seja, apenas a elevação desses fatores foi suficiente para alterar a função endotelial.
- c) Índices derivados do hemograma em pessoas sem doenças crônicas não apresentaram bom desempenho, não sendo indicado sua análise em pacientes sem tais condições.

REFERÊNCIAS

ALBDELGHANYA, T. M. et al. Cigarette smoke constituents cause endothelial nitric oxide synthase dysfunction and uncoupling due to depletion of tetrahydrobiopterin with degradation of GTP cyclohydrolase. **Nitric Oxide**, v. 76 p.113-121, 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.

ANASTASIOU, G. et al. Thrombomodulin as a regulator of the anticoagulant pathway: implication in the development of thrombosis. **Blood Coagulation & Fibrinolysis: an International Journal in Haemostasis and Thrombosis**, v. 23, n.1, p. 1-10, 2012.

ASMAT, U; ABAD, K; ISMAIL, K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. **Saudi Pharm J**. v.24, n. 5, p. 547-553, 2016.

ATREYA, M. R. et. al. Prognostic and predictive value of endothelial dysfunction biomarkers in sepsis-associated acute kidney injury: risk-stratified analysis from a prospective observational cohort of pediatric septic shock. **Crit Care**, v. 27, n.1, p.260, 2023.

BALTA, S. et al. The Relation Between Atherosclerosis and the Neutrophil-Lymphocyte Ratio. **Clin Appl Thromb Hemost**, v. 22, n. 5, p. 405-411, 2016.

BARROSO,W et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BATKO, K. et al. Proteoglycan/glycosaminoglycan and collagen content in the arterial wall of patients with end-stage renal disease: new indicators of vascular disease. **Pol Arch Intern Med**, v. 129, n.11, p.781-789, 2019.

BENSEÑOR, I. M.; LOTUFO, P. A. Secondary prevention of cardiovascular disease in Brazil: lessons from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **São Paulo Medical Journal**, v. 137, n. 6, p. 477-478, 2019.

BERTOLUCI, M. C. et al. Disfunção endotelial no diabetes melito tipo 1 [Endothelial dysfunction in type 1 diabetes]. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 2, p. 416-426, 2008.

BLANN, A. D. et al. Circulating endothelial cell markers in peripheral vascular disease: relationship to the location and extent of atherosclerotic disease. **Eur J Clin Invest**, v. 27, n.11, p. 916-921, 1997.

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].

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.

BRAVO BAPTISTA, S. et al. Early peripheral endothelial dysfunction predicts myocardial infarct extension and microvascular obstruction in patients with ST-elevation myocardial infarction. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 36, n. 10, p. 731-742, 2017.

CABRAL, M. D. et al. Marcadores de função endotelial no hipotireoidismo [Markers of endothelial function in hypothyroidism]. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 53, n. 3, p. 303 – 309, 2009.

CAIMI, G. et al. Behaviour of the neutrophil to lymphocyte ratio in young subjects with acute myocardial infarction. **Clin Hemorheol Microcirc**, v. 62, n. 3, p. 239-247, 2016.

CAPONE, M. et al. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and derived NLR could predict overall survival in patients with advanced melanoma treated with nivolumab. **J Immunother Cancer**, v.6, n. 1, p. 74, 2018.

CARNEVALE, R. et al. Acute Impact of Tobacco vs Electronic Cigarette Smoking on Oxidative Stress and Vascular Function. **Chest**, v. 50, n. 3, p. 606-612, 2016.

CIUMARNEAN, L. et al. Cardiovascular Risk Factors and Physical Activity for the Prevention of Cardiovascular Diseases in the Elderly. **Int J Environ Res Public Health**, v. 19, n.1, p. 207, 2021.

CHAO, T. H. et al. Elevation of the soluble thrombomodulin levels is associated with inflammation after percutaneous coronary interventions. **Clin Cardiol**, v. 27, n. 7, p. 407-410, 2004.

CHAUDHARI, A. M.; HEARN, B. K.; ANDRIACCHI, T. P. Sport-dependent variations in arm position during single-limb landing influence knee loading: implications for anterior cruciate ligament injury. **Am J Sports Med**, v. 33, n. 6, p. 824-830, 2005.

CHEN, K. et al. Exosite 2-Directed Ligands Attenuate Protein C Activation by the Thrombin-Thrombomodulin Complex. **Biochemistry**, v. 56, n. 24, p. 3119-3128, 2017.

CHEN, H. et al. Monocyte/lymphocyte ratio is related to the severity of coronary artery disease and clinical outcome in patients with non-ST-elevation myocardial infarction. **Medicina (Baltimore)**, v. 98 p.162–167, 2019.

CORREIA, L. C. L; GARCIA, M. M. O; LIMA, P. R. P. Valor prognóstico da função endotelial em portadores de aterosclerose: revisão sistemática. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 99, n. 3, p. 857–865, 2012.

CORTESE-KROTT, M. M; KELM, M. Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: key to a new erythrocrine function? **Redox Biol**, v.2, p. 251-258, 2014.

CYR, A. R. et al. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. **Crit Care Clin**, v. 36, n. 2, p. 307-321, 2020.

DeMARCO, V.G; AROOR, A.R; SOWERS, J.R. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. **Nat Rev Endocrinol**, v.10, n.6, p. 364-376, 2014.

DEMEULENEAERE, M. et al. Thrombomodulin and Endothelial Dysfunction: A Disease-Modifier Shared between Malignant Hypertension and Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. **Nephron**, v. 140, n.1, p. 63-73, 2018.

DIKALOV, S. et al. Tobacco smoking induces cardiovascular mitochondrial oxidative stress, promotes endothelial dysfunction, and enhances hypertension. **American Journal of Physiology-Heart and Circulation Physiology**, v. 316, n. 3, p. H639-H646, 2019.

DURMUS, E. et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio are Predictors of Heart Failure. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 105, n. 6, p. 606–613, 2015.

DROZDZ, D. et al. Thrombomodulin as a New Marker of Endothelial Dysfunction in Chronic Kidney Disease in Children. **Oxid Med Cell Longev**, 2018.

EINARSON, T.R. et al. Economic Burden of Cardiovascular Disease in Type 2 Diabetes: A Systematic Review. **Value Health**, v. 21, n.7, p. 881-890, 2018.

FAN, W. et al. The Prognostic Value of Hematologic Inflammatory Markers in Patients With Acute Coronary Syndrome Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. **Clin Appl Thromb Hemost**, v. 28, 2022.

FEDELI, L.G. et al. Logística de coleta e transporte de material biológico e organização do laboratório central no ELSA-Brasil [Logistics of collection and transportation of biological samples and the organization of the central laboratory in the ELSA-Brasil]. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 6, p.63-71, 2013.

FEDERICO-CRUZ, F.J; BATISTA, F.P; SILVA, R.B.C.B. Avaliação da relação neutrófilo/linfócito como indicador prognóstico em pacientes sépticos de unidades de terapia intensiva de Recife-PE. **Arq Asma Alerg Imunol**, v. 3, n.4, p. 445-452, 2019.

FICHTLSCHERER, S. et al. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. **Circulation**. v. 102, n. 9, 2000.

FILIPPIN, L. I. et al. Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatóide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 48, n. 1, p. 17–24, 2008.

FINIGAN, J.H. The coagulation system and pulmonary endothelial function in acute lung injury. **Microvasc Res**, v.77, n.1, p. 35-38, 2009.

FORGET, P. et al. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? **BMC Res Notes**, v. 10, n.1, p. 12, 2017.

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

GASPARYAN, A.Y. et al. The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases. **Ann Lab Med**, v. 39, n. 4, p. 345-357, 2019.

GAWAZ, M; LANGER, H; MAY, A.E. Platelets in inflammation and atherogenesis. **J Clin Invest**, v. 115, n. 12, p. 3378-384, 2005.

GIRI, H. et al. Thrombomodulin is essential for maintaining quiescence in vascular endothelial cells. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.118, n.11, 2021.

GLEESON, M. et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nat Rev Immunol**, v.11, p. 607-615, 2011.

GRUENWALD, J. et al. Effects of aged garlic extract on arterial elasticity in a placebo-controlled clinical trial using EndoPAT™ technology. **Exp Ther Med**, v. 19, n.2, p.1490-1499, 2020.

GÜROL G. et al. Are there standardized cutoff values for neutrophil-lymphocyte ratios in bacteremia or sepsis? **J Microbiol Biotechnol**, v.25, n.4, p.521-525, 2015.

HANHUA, J.1. et al. Monocyte/lymphocyte ratio predicts the severity of coronary artery disease: a syntax score assessment. **Transtorno Cardiovascular BMC**, v.17, p.90–97, 2017.

HORNE B.D. et al. Intermountain Heart Collaborative Study Group. Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? **J Am Coll Cardiol**, v. 45, n. 10, p.1638-1643, 2005.

IBA, T; LEVY, J.H. Inflammation and thrombosis: roles of neutrophils, platelets and endothelial cells and their interactions in thrombus formation during sepsis. **J Thromb Haemost**, v.16, n.2, p.231-241, 2018.

Jl, H. et al. Monocyte/lymphocyte ratio predicts the severity of coronary artery disease: a syntax score assessment. **BMC Cardiovasc Disord**, v.17, n.1, p. 90, 2017.

JIN, Z. et al. The Associations of Two Novel Inflammation Indexes, SII and SIRI with the Risks for Cardiovascular Diseases and All-Cause Mortality: A Ten-Year Follow-Up Study in 85,154 Individuals. **J Inflamm Res**, v.14, p.131-140, 2021.

KAUR, R; KAUR, M; SIINGH, J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. **Cardiovasc Diabetol**, v.17, n.1, p.121, 2018.

KHAING, W. et al. Effects of education and income on cardiovascular outcomes: A systematic review and meta-analysis. **Eur J Prev Cardiol**. 2017, v.24, n.10, p. 1032-1042, 2017.

KIKUCHI, T; LIN, L; HORIGOME, H. Soluble thrombomodulin and cardiovascular disease risk factors in Japanese children. **Blood Coagul Fibrinolysis**, v. 32, n. 4, p.273-277, 2021.

KOH, Y.W. et al. The ratio of the absolute lymphocyte count to the absolute monocyte count is associated with prognosis in Hodgkin's lymphoma: correlation with tumor-associated macrophages. **Oncologist**, v.17, n. 6, p. 871-880, 2012.

KOUTROUBAKIS, I.E. et al. The Influence of Anti-tumor Necrosis Factor Agents on Hemoglobin Levels of Patients with Inflammatory Bowel Disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 21, n.7, p.1587-1593, 2015.

KRAAIJENHOF, J.M; HOVINGH, G.K; STROES, E.S.G; KROON, J. The iterative lipid impact on inflammation in atherosclerosis. **Curr Opin Lipidol**, v.32, n.5, p.286-292, 2021.

KRÜGER-GENGE A; BLOCKI, A; Franke R.P; JUNG, F. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update. **Int J Mol Sci**, v.20, n.18, 2019.

LASZIK, Z.G. et al. Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin in coronary atherosclerosis. **Am J Pathol**, v.159, n.3, p.797-802, 2001.

LASLOVICH, S; ALVAR, B.A; ALLISON, M; RAUH, M.J. Effects of Lifestyle Physical Activity on Vascular Function in Asymptomatic Peripheral Arterial Disease. **Med Sci Sports Exerc**, v. 52, n.1, p.8-15, 2020.

LEVEY, A.S. et al. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Ann Intern Med**, v.150, n. 9, p. 604-162, 2009.

LIN, K.B. et al. Systemic immune inflammation index and system inflammation response index are potential biomarkers of atrial fibrillation among the patients presenting with ischemic stroke. **Eur J Med Res**, v. 27, n.1, p.106, 2022.

LIU, K.L. et al. Elevated plasma thrombomodulin and angiopoietin-2 predict the development of acute kidney injury in patients with acute myocardial infarction. **Crit Care**, v.18, n.3, p. R100, 2014.

LIU, J. et al. The correlation between PLR-NLR and prognosis in acute myocardial infarction. **Am J Transl Res**, v.13, n.5, p. 4892-4899, 2021.

LOGHMANI, H; CONWAY, E.M. Exploring traditional and nontraditional roles for thrombomodulin. **Blood**, v.132, n.2, p.148-158, 2018.

LUI FILHO, J.F. et al. Epidemiologia da menopausa e dos sintomas climatéricos em mulheres de uma região metropolitana no sudeste do Brasil: inquérito populacional domiciliar [Factors associated with menopausal symptoms in women from a metropolitan region in Southeastern Brazil: a population-based household survey]. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 37, n.4, p. 152-158, 2015.

MACHADO, G.P. et al. Early vs. Late Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio for the Prediction of Adverse Outcomes in Patients with STEMI Undergoing Primary PCI. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** v.116, n. 3, p. 504-506, 2021.

MARIN, B.S. et al. Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio and Abdominal Aortic Atherosclerosis among Asymptomatic Individuals. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 118, n.4, p.729-734.

MARTIN, F.A; MURPHY, R.P; CUMMINS, P.M. Thrombomodulin and the vascular endothelium: insights into functional, regulatory, and therapeutic aspects. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 304, n. 12, p. H1585-H1597, 2013.

MARTIN, E.C. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio in the early diagnosis of sepsis in an intensive care unit: a case-control study. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 31, n.1, p. 64-70, 2019.

MARTELLI, A; ANDRADE, T. A.; ARO, A. A.; SANTOS, G. M. Aterosclerose e lesões do endotélio vascular e as perspectivas clínicas na utilização das células progenitoras endoteliais no seu reparo / Atherosclerosis and vascular endothelium lesions and the clinical perspectives in the use of endothelial progenitor cells in their repair. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 3207–3223, 2021.

MINICI, R. et al. Prognostic Role of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR), Lymphocyte-to-Monocyte Ratio (LMR), Platelet-to-Lymphocyte Ratio (PLR) and Lymphocyte-to-C Reactive Protein Ratio (LCR) in Patients with Hepatocellular Carcinoma

(HCC) undergoing Chemoembolizations (TACE) of the Liver: The Unexplored Corner Linking Tumor Microenvironment, Biomarkers and Interventional Radiology. **Cancers (Basel)**, v. 15 n.1, p. 257, 2022.

MOERLANDO, M. et al. Evaluation of the EndoPAT as a Tool to Assess Endothelial Function. **Int J Vasc Med**, v. 2012, 2012.

MORBIDELLI, L; TERZUOLI, E; DONNINI, S. Use of Nutraceuticals in Angiogenesis-Dependent Disorders. **Molecules**, v.23, n.10, p.2676, 2018.

MURDACA, G. et al. Endothelial dysfunction in rheumatic autoimmune diseases. **Atherosclerosis**, v. 224, n.2, p.309-317, 2012.

MOREAU, K.L. Modulatory influence of sex hormones on vascular aging. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.316, n.3, p.H522-H526, 2019.

MURAT, S.N. et al. The Relationship Between Lymphocyte-to-Monocyte Ratio and Bare-Metal Stent In-Stent Restenosis in Patients with Stable Coronary Artery Disease. **Clin Appl Thromb Hemost**, v.23, n.3, p.235-240, 2017.

NEUABAUER, K; ZIEGER, B. Endothelial cells and coagulation. **Cell Tissue Res**, v.387, n.3, p.391-398, 2022.

OGISO, H. et al. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. **Cell**. 2002 Sep 20; v.110, n.6, p.775-787, 2002.

PAPAGEORGIOU, C. et al. Disseminated Intravascular Coagulation: An Update on Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutic Strategies, **Clin Appl Thromb Hemost**, v.24, n.9, p. 8S- 28S, 2018.

PESTANA, R. Inflamação, estresse oxidativo e lesão endotelial: relação com o grau de nefropatia diabética. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1843/BUBD-ARFMC7>>. Acesso em: 27/07/2023.

PEDRO, A.O. et al. Idade de ocorrência da menopausa natural em mulheres brasileiras: resultados de um inquérito populacional domiciliar [Age at natural menopause among Brazilian women: results from a population-based survey]. **Cad Saude Publica**, v.19, n.1, p.17-25, 2003.

PETER, K. et al. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.17, n.3, p. 505-512, 1997.

PIETERSE, E. et al. Neutrophil Extracellular Traps Drive Endothelial-to-Mesenchymal Transition. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.37, n.7, p.1371-1379, 2017.

PLETSCH-BORBA, L. Biomarkers of vascular injury in relation to myocardial infarction risk: A population-based study. **Sci Rep**, v.9, n.1, p.3004, 2019.

PLUG, T. *et al.*. Selective modulation of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) activation by thrombin or the thrombin-thrombomodulin complex using TAFI-derived peptides. **J Thromb Haemost**, v.13, n.11, p.2093-2101, 2015.

PRECOMA, D.B. Education as a Social Determinant Associated with Cardiovascular Risk. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 117, n.1, p.13-14, 2021.

PUDDEY, I.B. et al. Alcohol and Hypertension-New Insights and Lingering Controversies. **Review Curr Hypertens Rep**, v. 21, n.10, p.79, 2019.

QUIJADA, Z. et al. The triglyceride/HDL-cholesterol ratio as a marker of cardiovascular risk in obese children; association with traditional and emergent risk factors. **Pediatr Diabetes**, v.9, n.5, p.464-471,2008.

RAJENDRAN, N.K. et al. Moderate dose alcohol protects against serum amyloid protein A1-induced endothelial dysfunction via both notch-dependent and notch-independent pathways. **Alcohol Clin Exp Res**, v.45, n.11, p.2217-2230, 2021.

RAJENDRAN, N. K. et. al. Alcohol and vascular endothelial function: Biphasic effect highlights the importance of dose. **Alcohol Clin Exp Res (Hoboken)**, v.47, n.8, p.1467-1477, 2023.

RENGARAJAN, A. et al. Immune cells and inflammatory mediators cause endothelial dysfunction in a vascular microphysiological system. **Lab Chip**, v. 24, n.6, p. 1808-1820, 2024.

ROERECKE, M. Alcohol's Impact on the Cardiovascular System. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p.3419, 2021.

ROE, K. An inflammation classification system using cytokine parameters. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.93, n. 2, 2020.

ROSENFELD, L. G. et al. Valores de referência para exames laboratoriais de hemograma da população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, p. E190003. SUPL.2, 2019.

SAEEDI, P. et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. **Diabetes Res Clin Pract**, v.157, 2019.

SALOMMA, V. et al. Cross-sectional association of soluble thrombomodulin with mild peripheral artery disease; the ARIC study. **Atherosclerosis Risk in Communities. Atherosclerosis**, v.157, n.2, p.309-314, 2001.

SANTOS, W.B. et al. Proteína-C-reativa e doença cardiovascular. As bases da evidência científica [C-reactive protein and cardiovascular disease. Basis of scientific evidence]. **Arq Bras Cardiol**, v.80, n.4, p.452-456, 2003.

SANTOS, V.M; CUNHA, S.F; CUNHA, D.F. Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidade e limitações [Erythrocyte sedimentation velocity: current use and limitations]. **Rev Assoc Med Bras** , v.46, n.3, p.232-236, 2000.

SAWAMURA, T. et al. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. **Nature**, v. 386, p.73-77, 1997.

SBC. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da Aterosclerose – 2017 Sociedade Brasileira de Cardiologia. [s.I: s.n].

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

SEIGNEUR, M. et al. Levels of plasma thrombomodulin are increased in atheromatous arterial disease. **Thromb Res**, v.1, n.6, p.423-431,1993.

SERNAU, T. et al. Thrombomodulin ist ein Marker für mikrovaskuläre, aber nicht für makrovaskuläre Endothelzellschädigung [Thrombomodulin is a marker of microvascular, but not for macrovascular endothelial cell damage]. **Vasa**, v.24, n.4, p.347-353, 1995.

SILVEIRA, C. F. S. M. P. et al. Infarto Agudo do Miocárdio como Primeira Manifestação da Policitemia Vera. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 114, n. 4, p. 27-30, 2020.

SCHULZ, E; GORI, T; MÜNZEL, T. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. **Hypertens Res**, v.34, n.6, p. 665-673, 2011.

SIMON, C.E. A Manual of Clinical Diagnosis by Means of Microscopical and Chemical Methods, for Students, Hospital Physicians, and Practitioners. 9º edição. Pennsylvania State University. Lea & Febiger,1922.

SOUSA, M.C.R. et al. Association of Vitamin D and Endothelial Function in a Subsample of the Participants in the Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-BRASIL). **Int J Nutr Sci**, v. 8, n.2, p. 1078, 2023.

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. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.315, n.6, p. H1569-H1588, 2018.

STEVENS, B. et al. The Economic Burden of Heart Conditions in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 111, n.1, p. 29-36, 2018.

TAHTO, E. *et al.* Neutrophil-to-lymphocyte Ratio and Its Relation with Markers of Inflammation and Myocardial Necrosis in Patients with Acute Coronary Syndrome. **Med Arch**, v. 71, n.5, p. 312-315, 2017.

TEIXEIRA, B. C. et al. Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.13, n.2, p.108–115, 2014.

TEMIZ, A. et al. Platelet/lymphocyte ratio and risk of in-hospital mortality in patients with ST-elevated myocardial infarction. **Med Sci Monit**, v.20, p.660-665, 2014.

TEO, K.K; RAFIQ, T. Cardiovascular Risk Factors and Prevention: A Perspective from Developing Countries. **Can J Cardiol**, v. 37, n.5, p.733-743, 2021.

THEOFILIS, P. et al. Inflammatory Mechanisms Contributing to Endothelial Dysfunction. **Biomedicines**, v.9, n.7,p.781, 2021.

VALENTE, A.J. *et al.* OxLDL induces endothelial dysfunction and death via TRAF3IP2: inhibition by HDL3 and AMPK activators. **Free Radic Biol Med**, v.70, 117-128, 2014.

VAN DREDEN, P. *et al.* Comparative evaluation of Tissue factor and Thrombomodulin activity changes during normal and idiopathic early and late foetal loss: the cause of hypercoagulability? **Thromb Res**, v.129, n.6, p.787-792, 2012.

VATANABE, I.P. et al. Ruthenium Complex Improves the Endothelial Function in Aortic Rings from Hypertensive Rats. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.109, n.2, 2017.

WANG, Y. et al. Evaluation of Plasma Thrombomodulin in Patients with Coronary Slow Flow. **Cardiology**, v.138, n.3, p.141-146, 2017.

WATANABE-KUSUNOKI, K. *et al.* Thrombomodulin as a Physiological Modulator of Intravascular Injury. **Front Immunol**, v. 11 n.575890, 2020.

WEISS, G; GANZ, T; GOODNOUGH L.T. Anemia of inflammation. **Blood**, v.133, n.1, p.40-50, 2019.

WOUWER, V.M; COLLEN, D; CONWAY, E.M. Thrombomodulin-protein C-EPCR system: integrated to regulate coagulation and inflammation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.24, n.8, p.1374-1383, 2004.

XIU, J. *et al.* The aggregate index of systemic inflammation (AISI): a novel predictor for hypertension. **Front Cardiovasc Med**, v.10 n.1163900, 2023.

YILMAZ, M.I. *et al.* The Effect of Corrected Inflammation, Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction on Fmd Levels in Patients with Selected Chronic Diseases: A Quasi-Experimental Study. **Sci Rep**, v.10, n.9018, 2020.

ZAHOREC, R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl Lek Listy*. 2001;102(1):5-14. English, Slovak. PMID: 11723675.

ZHANG, T.Y. *et al.* Relationship between monocyte/lymphocyte ratio and non-culprit plaque vulnerability in patients with acute coronary syndrome: An optical coherence tomography study. **Medicine (Baltimore)**, v.99, n.41, 2020.

ZAZULA, A.D. *et al.* An assessment of neutrophils/lymphocytes ratio in patients suspected of acute coronary syndrome. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.90, n.1, p.31-36, 2008.

ZINELLU A. *et al.* Blood Cell Count Derived Inflammation Indexes in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. **Lung**, v.198, n.5, p. 821-827, 2020.

ZINELLU, A; PALIOGIANNIS, P; MANGONI, A. A. Aggregate Index of Systemic Inflammation (AISI), Disease Severity, and Mortality in COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medicine**, n.14, p. 4584, 2023.

ANEXOS

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

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 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: ____/____/____

ANEXO 2 - 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 autoavaliada, 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
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 autoavaliado, peso ao nascer e peso aos 20 anos
História de peso corporal e imagem do corpo	imagem do corpo (atual e desejada)

(Continua)

(Continuação)

Questionários	Variáveis
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 <i>Trail Making Test B</i> para avaliação de funções executivas relacionadas à atenção, concentração e velocidade psicomotora

ANEXO 3 - EXAMES E MEDIDAS REALIZADAS NA LINHA DE BASE DO ELSA – Brasil

Procedimento	Descrição
Medidas antropométricas	peso, altura, altura, e medida de cintura, quadril e circunferência de pescoço
Pressão arterial	procedimento padrão (5 minutos em repouso e três determinações), usando esfigmomanômetro oscilométrico (Omron 765CP; Omron, Kioto, Japan)
Índice tornozelo/braquial	pressão arterial no braço e tornozelo, obtida usando procedimento Doppler padronizado
Teste de Hipotensão ortostática	após 20 minutos com o participante deitado, a medida da pressão arterial foi tomada, e a medida foi repetida com o participante na posição de pé
Eletrocardiograma	ECG 12-chumbeo faixa de ritmo de dois minutos (Burdick Atria 6100; Cardiac Science, Bothell, Washington). Leituras e critério de diagnóstico baseado no código de definições de Minnesota
Variabilidade na frequência cardíaca	índices temporais e espectrais determinados a partir de registro de ECG de 10 minutos obtido na posição deitado a partir da derivação DII a 250 Hz (WinCardio; Micromed, Brasília, Brazil)
Ecocardiografia transtorácica	obtida com sistema de ultrassom comercial de tradução de 2 para 3,5 mHz (Applio XG; Toshiba Corporation, Tshigi, Japan)
Velocidade da onda de pulso carotídeo-femoral	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 gordura abdominal	camada de gordura da preperitoneal e subcutânea obtida com tradutor linear (frequência nominal do tradutor de 7,5 MHz) (Applio X)
Esteatose não alcoólica	ultrassonografia do fígado (Applio XG)
Fotografia da retina	<i>continua</i> imagens centradas 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 4 - 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.


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