

Alline Maria Rezende Beleigoli

**RELAÇÕES ENTRE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS,
PEPTÍDEO NATRIURÉTICO TIPO B E MORTALIDADE EM
DEZ ANOS DE IDOSOS DO ESTUDO DE BAMBUÍ SOBRE
SAÚDE E ENVELHECIMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde do Adulto (área de concentração: Ciências Clínicas)

Orientador: Prof. Dr. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Coorientadores: Profa. Dra. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz

Profa. Dra. Maria Fernanda Lima-Costa

Belo Horizonte

2012

B42r Belegoli, Aline Maria Rezende.
Relações entre medidas antropométricas, peptídeo natriurético tipo B e mortalidade em dez anos de idosos do estudo de Bambuí ... [manuscrito]. / Aline Maria Rezende Belegoli. - - Belo Horizonte: 2012. 94f.: il.
Orientador: Antônio Luiz Pinho Ribeiro.
Co-Orientadores: Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz, Maria Fernanda Lima-Costa.
Área de concentração: Saúde do Adulto.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Obesidade. 2. Índice de Massa Corporal. 3. Circunferência Abdominal. 4. Peptídeos Natriuréticos. 5. Idosos. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Ribeiro, Antônio Luiz Pinho. II. Diniz, Maria de Fátima Haueisen Sander. III. Lima-Costa, Maria Fernanda. IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título.
NLM: WD 210

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais

Reitor

Prof. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora

Prof^a. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa

Renato de Lima Santos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor

Prof. Francisco José Penna

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Manoel Otávio Costa Rocha

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Coordenadora do Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Subcoordenadora do Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Valéria Maria Azeredo Passos

Membros do Colegiado do Curso

Francisco Eduardo Costa Cardoso

Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Marcus Vinícius Melo de Andrade

Suely Meireles Rezende

Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Valéria Maria de Azeredo Passos

Andréa de Lima Bastos (Representante discente)



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO


Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores Antônio Luiz Pinho Ribeiro, Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz, Ana Lúcia Cândido, Flávio Chaimowicz, Erika Aparecida da Silveira e Manoel Domingos de Carvalho Oliveira, aprovou a defesa da tese intitulada: **"RELAÇÕES ENTRE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS, PEPTÍDEO NATRIURÉTICO TIPO B E MORTALIDADE EM DEZ ANOS DE IDOSOS DO ESTUDO DE BAMBUÍ SOBRE SAÚDE E ENVELHECIMENTO"**, apresentada pela doutoranda **ALLINE MARIA REZENDE BELEIGOLI**, para obtenção do título de Doutora em Saúde do Adulto, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto – área de concentração em Ciências Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 17 de agosto de 2012.


Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro
Orientador


Prof. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz
Coorientadora


Prof. Ana Lúcia Cândido


Prof. Flávio Chaimowicz


Prof. Erika Aparecida da Silveira


Prof. Manoel Domingos de Carvalho Oliveira



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 34099640 FAX: (31) 34099641



ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO de ALLINE MARIA REZENDE BELEIGOLI, nº de registro 2010667977. Às quatorze horas do dia dezessete do mês de agosto de dois mil e doze, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG, a Comissão Examinadora de tese indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar o trabalho final intitulado: "RELAÇÕES ENTRE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS, PEPTÍDEO NATRIURÉTICO TIPO B E MORTALIDADE EM DEZ ANOS DE IDOSOS DO ESTUDO DE BAMBUÍ SOBRE SAÚDE E ENVELHECIMENTO", requisito final para a obtenção do grau de doutor em Saúde do Adulto, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto – área de concentração em Ciências Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final, passou a palavra à candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro/Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Profa. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz/Coorien.	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Profa. Ana Lúcia Cândido	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Prof. Flávio Chaimowicz	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Profa. Erika Aparecida da Silveira	Instituição: UFG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Prof. Manoel Domingos de Carvalho Oliveira	Instituição: FHEMIG	Indicação: <u>APROVADA</u>

Pelas indicações, a candidata foi considerada: APROVADA

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 17 de agosto de 2012.

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro _____
 Profa. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz _____
 Profa. Ana Lúcia Cândido _____
 Prof. Flávio Chaimowicz _____
 Profa. Erika Aparecida da Silveira _____
 Prof. Manoel Domingos de Carvalho Oliveira _____
 Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari/Coordenadora _____

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.


CONFERE COM ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina - UFMG

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari
Coord. PG. em Ciências Aplicadas
à Saúde do Adulto
Faculdade de Medicina / UFMG

Ao André, meu presente de Deus, por me fazer voar e,
quando necessário, pisar em terra firme

Aos meus queridos pais, por terem dedicado suas vidas
a ser amor, exemplo e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador, Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro, pelo incentivo, pela generosidade em compartilhar suas experiências e boas ideias e pelo bom humor de sempre

À coorientadora e amiga, Prof. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz, por ser exemplo e inspiração como médica, professora e mãe

À coorientadora, Prof. Maria Fernanda Lima-Costa, pelos ensinamentos

Ao Prof. Eric Boersma pela supervisão e atenção cuidadosa que ajudaram a tornar o estágio sanduíche momento de prazeroso aprendizado

À CAPES pelo financiamento do estágio de doutorado sanduíche no exterior

À Prof. Teresa Ferrari, ao Colegiado e aos funcionários da Pós Graduação por toda a ajuda com os procedimentos do doutorado sanduíche e defesa da tese

Ao Dr. Marcos Roberto de Sousa e aos professores Maria Marta Sarquis e Fernando Proietti pelas preciosas sugestões e comentários na qualificação da tese

Ao Dr. André Queiroz de Andrade, pela escuta interessada e ajuda paciente no uso dos programas de estatística

À colega e Prof. Milena Marcolino, por generosamente ter dividido dicas valiosas de sua experiência “holandesa”

Ao Dr. Reginaldo Valácio, pela capacidade de despertar em mim e em muitos colegas o interesse por pesquisa clínica e Prática Baseada em Evidências

Aos colegas do Hospital Odilon Behrens pelo apoio e pelas “trocas de horário”

Às queridas famílias Rezende Beleigoli e Queiroz de Andrade por serem fontes constantes de apoio e alegrias

**“Minhas ideias são de uma lógica indiscutível;
a única coisa que me faz duvidar é que não
tenham sido aplicadas anteriormente.”**

Antonio Gaudí

Resumo

Os fenômenos de transição demográfica, nutricional e tecnológica, que ocorreram no Brasil de forma marcante nos últimos 20 anos, levaram a aumento importante do número de indivíduos com excesso de peso entre os idosos. O impacto da obesidade sobre a morbimortalidade de idosos é questão de interesse tanto na prática clínica quanto no planejamento em saúde pública. Adicionalmente, esta é a faixa da população em que há maior prevalência de doenças cardiovasculares. Biomarcadores, como o peptídeo natriurético tipo B (BNP), veem sendo estudados amplamente em populações de idosos com o intuito de diagnosticar, estratificar o risco e avaliar resposta a tratamento em pacientes com doenças cardiovasculares. BNP é um peptídeo secretado pelos cardiomiócitos em resposta à sobrecarga hemodinâmica de pressão e/ou volume. Embora a obesidade esteja associada a condições que geram esse tipo de sobrecarga, estudos prévios mostraram níveis reduzidos de BNP em obesos em comparação a indivíduos magros. Esses achados paradoxais associados a evidências recentes de efeito lipolítico dos peptídeos natriuréticos chamam atenção para o papel dos peptídeos na fisiopatologia da obesidade e levantam questões quanto à aplicabilidade do BNP como biomarcador em obesos. A presente tese teve dois objetivos principais: investigar o impacto de sobrepeso/obesidade, medidos através do índice de massa corporal (IMC) e da circunferência abdominal (CA), sobre a mortalidade em longo prazo em idosos brasileiros; e estudar as relações entre BNP e medidas antropométricas nesses idosos.

A população do estudo foi constituída pelos adultos com idade igual ou superior a 60 anos do Estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento. Trata-se de estudo de coorte prospectiva que está em andamento na cidade de Bambuí, Minas Gerais, Brasil, desde janeiro de 1997. A cidade de Bambuí era região endêmica de Doença de Chagas e, apesar da interrupção da transmissão vetorial na região desde a década de 1970, há elevada prevalência em idosos devido à infecção desses indivíduos quando eram jovens. O estudo de Bambuí tem como principal objetivo investigar efeitos isolados e conjuntos da infecção por *Trypanosoma cruzi* e de doenças não comunicantes sobre a saúde de adultos com idade igual ou superior a 60 anos. Peso, altura, IMC, CA e espessura da prega tricípital foram medidas antropométricas aferidas à linha de base e no terceiro e quinto anos de seguimento do estudo e que foram usadas na presente análise. O evento morte foi confirmado, em quase sua totalidade (98,9%), por certificados de óbito e para esta análise foram usados dados até 31 de dezembro de 2007.

BNP plasmático foi dosado em amostras de sangue coletadas à linha de base e, posteriormente, estocadas sob refrigeração. Os resultados foram organizados no formato de dois artigos científicos, de acordo com as normas do Programa de Pós Graduação em Ciências Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da UFMG.

No primeiro artigo, observou-se que valores de IMC, nas faixas de sobrepeso e obesidade classe I, segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde, foram associados a menores taxas de morte em dez anos em idosos da coorte de Bambuí. Além disso, a CA isoladamente não apresentou efeito significativo sobre a mortalidade em dez anos. Apenas quando analisada em conjunto com o IMC, o aumento dos valores de CA foi associado a aumento discreto do risco de morte. Os achados apresentados no segundo artigo revelaram que níveis de BNP foram inversamente relacionados a IMC, CA e prega tricípital à linha de base, independentemente da infecção por *Trypanosoma cruzi*.

Tais resultados sugerem que os valores de IMC e CA utilizados como pontos de corte para indicar intervenções para controle e perda de peso na população adulta em geral não refletem adequadamente o risco de morte entre idosos brasileiros. Em relação ao uso do BNP em idosos, concluiu-se que é possível que os níveis plasmáticos do peptídeo não reflitam adequadamente a sobrecarga hemodinâmica e o risco de morte em idosos obesos. Tal questão é clinicamente relevante e deve ser mais detalhadamente investigada em estudos futuros.

Abstract

The demographic, nutritional and technological transition phenomena that have been taking place in Brazil in the last two decades led to a dramatic increase in the number of older adults with excessive weight. The impact of obesity on the health conditions of the elderly is an important issue both in clinical practice and in public health. Additionally, the elderly are the age group with the highest prevalence of cardiovascular diseases. Biomarkers, such as the B-type natriuretic peptide, have been studied with the aim to diagnose cardiovascular diseases, stratify the risk of subjects with these diseases and evaluate the response to treatment. The B-type natriuretic peptide (BNP), which is secreted by the cardiomyocytes under hemodynamic (pressure or volume) overload, is among these biomarkers. Although obesity is associated with hemodynamic overload, low BNP levels have been described in obese subjects. Combined with evidence of lipolytic and metabolic action of the natriuretic peptides, the role of these peptides on the biological mechanisms of obesity and the usefulness of BNP as a biomarker in obese individuals are put into question.

The aims of this thesis were to investigate the impact of overweight and obesity on mortality and also the relationship between BNP and anthropometric measures in Brazilian elderly. These issues were investigated in the Bambuí (Brazil) Cohort Study of Ageing, which is an ongoing cohort study in Bambuí, Minas Gerais, Brazil, since 1997. The region was endemic for Chagas disease, despite the interruption of the vectorial transmission by 1970, there is a high prevalence of elderly who were infected at young ages. The Bambuí Study was designed to study the isolated and combined consequences of *Trypanosoma cruzi* infection and noncommunicable diseases on the health of adults aged 60 or older. Weight, height, body mass index (BMI), waist circumference and triceps skinfold thickness were some of the anthropometric measures assessed at baseline and repeated in the third and fifth years of follow-up. The outcome studied in this thesis was death until the 31st December 2007, which was ascertained by death certificates in the majority (98.9%) of the cases. Plasmatic BNP was measured in blood samples collected at baseline and stored under -80°C.

We found that overweight and class I obesity, as measured by BMI and defined according to WHO criteria, were associated with the lowest rates of death in the follow-up of 10 years of the elderly of the BHAS. This suggests that the cut-off points used to indicate weight control and loss interventions in adults do not grade appropriately the risk of death in Brazilian

elderly individuals. Additionally, we found that BNP levels were inversely associated with the anthropometric measures at baseline regardless of *Trypanosoma cruzi* infection status. This finding is probably related to BNP metabolic actions and suggests that neither BNP might reflect the hemodynamic burden nor predict adequately the risk of death in elderly obese individuals. This is an issue of great clinical importance, which needs to be clarified by further prospective studies.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AMPc Monofosfato cíclico de adenosina

ANP Peptídeo natriurético atrial

AVE Acidente vascular encefálico

ATGL Lipase de triacilglicerol do adipócito

BHAS Bambuí (Brazil) Cohort Study of Ageing

BMI *Body Mass Index*

BNP Peptídeo natriurético tipo B

CA Circunferência abdominal

CAPES Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior

DEXA Densitometria com raio X duo-energético

ECG Eletrocardiograma

FAPEMIG Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

GET Gasto energético total

GMPc Monofosfato cíclico de guanosina

HOMA *Homeostatic model assessment*

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IL Interleucina

IMC índice de massa corporal

INF Interferon

LPL Lipase lipoproteica

mRNA RNA mensageiro

NHANES *National Health and Nutrition Examination Survey*

OMS Organização Mundial de Saúde

PDEE Programa de Doutorando com Estágio no Exterior

PN Peptídeos natriuréticos

PPAR-c *Peroxisome proliferator activated receptor*

RM Ressonância magnética

RX Raio X

T.cruzi *Trypanosoma cruzi*

TC Tomografia computadorizada

TNF Fator de necrose tumoral

WC *Waist Circumference*

WHO *World Health Organization*

SUMÁRIO

1. Considerações iniciais	1
1.1-Epidemiologia do sobrepeso/obesidade	3
1.2- Medidas antropométricas, composição corporal e envelhecimento	5
1.3- Medidas antropométricas, gordura corporal e risco cardiometabólico e de morte em idosos	11
1.4- Peptídeos natriuréticos E obesidade	15
1.4.1- BNP, medidas antropométricas e doença de Chagas	18
1.5-Estrutura do volume	21
2- Objetivos	21
3-Artigo 1.....	22
3.1-Introduction	24
3.2-Methods.....	25
3.2.1-Ethics Statement	25
3.2.2-Study design and population	25
3.2.3-Outcome Ascertainment.....	25
3.2.4-Anthropometric measurements	26
3.2.5-Other measures	26
3.2.6-Statistical Analysis.....	27
3.3-Results.....	28
3.4-Discussion	29
4- Artigo 2.....	46
3.1-Introduction	47
3.2- Material and Methods	48
3.2.1-Study Population.....	48
3.2.2-BNP measurement	48
3.2.3-Body mass index and the other anthropometric measures	48
3.2.4- <i>Trypanossoma cruzi</i> infection	49
3.2.5-Other measures	49
3.2.6-Statistical analysis	50
3.3-Results.....	50
3.4-Discussion	52
3.5- Conclusions	54
3.6- Glossary.....	54
5- Considerações finais.....	62

5.1- Artigo 1.....	62
5.2- Artigo 2.....	69
5.3- CONCLUSÃO	71
APÊNDICES	72
APÊNDICE A	72
PROJETO DE PESQUISA.....	72
APÊNDICE B	87
ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA PEPTIDES.....	87
ANEXOS	94
ANEXO A.....	94
APROVAÇÃO DO PROJETO BAMBUÍ NO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA	94

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O envelhecimento da população brasileira secundário à queda das taxas de mortalidade e natalidade levou ao aumento absoluto e relativo do número de idosos no Brasil nas últimas duas décadas. Os fenômenos de transição nutricional e tecnológica, com aumento do consumo de alimentos pré-processados e de alto conteúdo energético e estímulo ao sedentarismo, provavelmente contribuíram para o aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade entre os idosos brasileiros^{1 2}. O impacto da obesidade sobre a saúde de idosos é questão relevante tanto para prática clínica quanto para planejamento em saúde pública. Apesar de ser fator de risco independente para grande número de doenças cardiovasculares^{3 4 5}, metabólicas⁶ e neoplásicas⁷, achados de maior sobrevida em idosos com sobrepeso e/ou obesidade, quando comparados a idosos com peso normal, foram descritos em populações norte-americanas, europeias e asiáticas^{8 9 10 11}. Adicionalmente, esta é a faixa da população em que há maior prevalência de doenças cardiovasculares, que constituem a principal causa de morte entre os idosos brasileiros¹². O peptídeo natriurético tipo B (BNP) vem sendo estudado e utilizado como ferramenta para diagnóstico, estratificação de risco e avaliação de resposta terapêutica em pacientes com doenças cardiovasculares^{13 14 15}. Devido à forte associação entre sobrepeso/obesidade e doenças cardiovasculares, conhecer sobre o uso do BNP em idosos com sobrepeso e/ou obesidade é importante para a prática clínica. Estas questões clínico-epidemiológicas motivaram e embasaram esta tese.

¹ [cited 2011 Dec 6]; Available from: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/>

² IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 [cited; Available from: www.ibge.gov.br

³ Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, et al. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med*. 1990 Mar 29;322(13):882-9.

⁴ Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PWF, Benjamin EJ, Larson MG, et al. Obesity and the Risk of Heart Failure. *NEJM*. 2002;347(5):305-13.

⁵ Frost L, Hune LJ, Vestergaard P. Overweight and obesity as risk factors for atrial fibrillation or flutter: The Danish Diet, Cancer, and Health Study. *Am J Med*. 2005;118:489-95.

⁶ Flegal KM, Williamson DF, Pamuk ER, Rosenberg HM. The Burden of Obesity. *American Journal of Public Health*. 2004;94(9):1486-9.

⁷ Klenk J, Nagel G, Ulmer H, Strasak A, Concin H, Diem G, et al. Body mass index and mortality: results of a cohort of 184,697 adults in Austria. *Eur J Epidemiol*. 2009;24(2):83-91.

⁸ Dolan CM, Kraemer H, Browner W, Ensrud K, Kelsey JL. Associations between body composition, anthropometry, and mortality in women aged 65 years and older. *Am J Public Health*. 2007 May;97(5):913-8.

⁹ Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Body mass index is inversely related to mortality in older people after adjustment for waist circumference. *J Am Geriatr Soc*. 2005 Dec;53(12):2112-8.

¹⁰ Flicker L, McCaul KA, Hankey GJ, Jamrozik K, Brown WJ, Byles JE, et al. Body mass index and survival in men and women aged 70 to 75. *Ibid*. 2010 Feb;58(2):234-41.

¹¹ Tamakoshi A, Yatsuya H, Lin Y, Tamakoshi K, Kondo T, Suzuki S, et al. BMI and all-cause mortality among Japanese older adults: findings from the Japan collaborative cohort study. *Obesity (Silver Spring)*. 2010 Feb;18(2):362-9.

¹² Lima-Costa MF, DL M. Tendências das condições de saúde e uso de serviços de saúde da população idosa brasileira: 20 anos de Sistema Único de Saúde. In: Departamento de Análise de Situação de Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. . *Saúde Brasil 2008: 20 anos de Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil*. Brasília Ministério da Saúde 2009 385-406.

¹³ McCullough P, Nowak R, McCord J, Hollander J, Herrmann H, Steg P, et al. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation*. 2002;106(4):416-22.

¹⁴ Ribeiro AL, dos Reis AM, Barros MV, de Sousa MR, Rocha AL, Perez AA, et al. Brain natriuretic peptide and left ventricular dysfunction in Chagas' disease. *Lancet*. 2002 Aug 10;360(9331):461-2.

¹⁵ Doust JA, Pietrzak E, Dobson A, Glasziou P. How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review. *BMJ*. 2005 Mar 19;330(7492):625.

A presente tese integra o Estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento. Trata-se de estudo de coorte prospectivo que tem como principal objetivo investigar efeitos isolados e conjuntos da infecção por *Trypanosoma cruzi* e de doenças não transmissíveis sobre a saúde de idosos. Está em andamento na cidade de Bambuí, Minas Gerais, Brasil, desde 01 de janeiro de 1997. Entre aproximadamente 15.000 habitantes da cidade à época, todos os que tinham idade igual ou superior a 60 anos foram convidados a participar do estudo (1742). Destes, 1606 (92,2%) assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, autorizaram consulta a registros médicos e certificados de óbito e participaram de entrevista na linha de base ¹⁶.

A entrevista foi constituída por questões que abordavam: características sócio-demográficas (idade, sexo, etnia, história recente de migração, estado conjugal, escolaridade, escolaridade do cônjuge, religião, renda pessoal e familiar, história ocupacional passada e atual); fatores psicossociais (suporte social, eventos de vida e traços de personalidade selecionados); hábitos de vida (tabagismo, consumo de álcool, hábitos de dieta, atividade física); estado de saúde autodeclarado (condição de saúde e diagnósticos médicos prévios); sintomas físicos (angina, claudicação intermitente, dor crônica em mãos e pés, déficits neurológicos); sintomas mentais e relacionados ao sono (distúrbios psiquiátricos comuns, insônia, sonolência diurna e hábitos de sono); funcionalidade (cognição, desempenho em atividades de vida diária e instrumentais); quedas; uso de serviços de saúde e medicações. Foi realizado exame clínico com aferição de pressão arterial (três medidas) e das seguintes medidas antropométricas (em 90,5% dos participantes): peso, altura, circunferências abdominal (CA), do quadril, do punho e do antebraço, prega cutânea tricipital e semienvergadura.

Foram realizadas coleta e estocagem de amostras de plasma sob refrigeração a -80°C para realização dos seguintes exames (em 85,8% dos participantes): bioquímicos (glicemia em jejum, creatinina, ureia, proteínas totais e albumina, ácido úrico, cálcio, fósforo, magnésio, colesterol total e frações LDL e HDL, triglicérides, proteína C reativa ultra-sensível e peptídeo natriurético cerebral-BNP), hematológicos (contagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos, leucócitos globais e plaquetas); estudos genéticos (polimorfismo da apolipoproteína E e *scan* do genoma); sorológicos (pesquisa de anticorpos anti-receptores muscarínicos e exames sorológicos (hemaglutinação e dois testes ELISA) para detecção de infecção por *Trypanosoma cruzi*). Estes últimos foram realizados por previamente se saber que Bambuí foi, durante muitos anos, região endêmica de doença de

¹⁶ Lima-Costa MF, Firmo JO, Uchoa E. Cohort profile: the Bambui (Brazil) Cohort Study of Ageing. Int J Epidemiol. 2011 Aug;40(4):862-7.

Chagas e antecipar-se que os indivíduos idosos haviam sido infectados quando jovens. Adicionalmente, foram realizados eletrocardiograma em 91,0% dos participantes à linha de base¹⁷.

Em entrevistas nos seguimentos anuais, foram coletados dados sobre condições de saúde autodeclaradas, uso de serviços de saúde e medicações, distúrbios psiquiátricos, atividades de vida diária e instrumentais e alterações de hábitos de vida. Medidas antropométricas e de pressão arterial foram repetidas em 2000, 2002 e 2008. Dados das medidas na linha de base e das duas primeiras repetições foram usados no presente estudo. Verificação de atestados de óbitos é realizada continuamente e dados sobre mortalidade até 31 de dezembro de 2007 foram analisados no presente estudo.

O projeto Bambuí foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil e procedimentos não abordados no projeto inicial foram aprovados pelo Comitê de Ética do Instituto René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, Brasil. Foi financiado por Financiadora de Estudos e Projetos, Rio de Janeiro, Brasil; Ministério da Saúde, Brasília, Brasil; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Belo Horizonte, Brasil.

A autora desta tese participou da análise e interpretação dos dados previamente coletados do Estudo de Bambuí e da redação dos artigos científicos correspondentes. Foi financiada pelo Programa de Doutorando em Estágio no Exterior (PDEE) do Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES, Brasil) para realização de estágio no Departamento de Epidemiologia Cardiovascular da Universidade Erasmus Medical Center, Rotterdam, Holanda, sob supervisão do Prof. Eric Boersma.

Em seguida, serão discutidos pontos teóricos que motivaram as questões da tese, embasaram a investigação e análise dos resultados.

1.1-EPIDEMIOLOGIA DO SOBREPESO/OBESIDADE

¹⁷ Ibid.

A prevalência de sobrepeso (Índice de Massa Corporal- $25 \leq \text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$) e obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), conforme definição da Organização Mundial de Saúde (OMS), vem aumentando gradativamente nos últimos 25 anos em idosos no mundo ocidental, assim como na população adulta^{18 19}. Nos Estados Unidos, com base em dados do NCHS / NHANES, 35% das mulheres não institucionalizados entre 65-74 anos de idade e 27% de mulheres com idade igual ou superior a 75 anos de idade eram obesas no período de 2007- 2008, enquanto no período de 1988-1994, a prevalência de obesidade nesses grupos era de 27% e 19%, respectivamente. Para os homens, de 1988 a 1994, 24% dos que tinham entre 65 e 74 anos de idade e 13% dos com idade igual ou superior a 75 anos eram obesos em comparação a 40% e 26%, respectivamente, no período de 2007-2008²⁰.

No Brasil, situação semelhante foi observada. A queda das taxas de mortalidade e de fertilidade levou ao fenômeno da transição demográfica, fazendo com que o número de idosos aumentasse em 54% de 1989 a 2008, segundo dados dos censos demográficos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)²¹. Associado a isso, a transição nutricional, com maior disponibilidade e consumo de alimentos processados e com maior teor energético, e a transição tecnológica, possivelmente contribuindo para o sedentarismo, podem ser considerados alguns dos fatores responsáveis pelo aumento de 30% a 55%, do número de idosos com excesso de peso ($\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$) e de 6% a 17% dos obesos entre os idosos com mais de 65 anos²².

O impressionante aumento de prevalência de idosos com excesso de peso no Brasil, e o papel da obesidade como fator de risco revelam o potencial impacto de sobrepeso/obesidade para a saúde pública. A associação entre obesidade e aumento da incidência de vários fatores de risco de morte como diabetes, hipertensão arterial²³, doença coronariana, fibrilação atrial²⁴ e insuficiência cardíaca²⁵ é bem descrita em vários estudos epidemiológicos com populações de adultos de todas as faixas etárias. O impacto do sobrepeso, entretanto, apresenta maiores

¹⁸ Doak CM, Wijnhoven TM, Schokker DF, Visscher TL, Seidell JC. Age standardization in mapping adult overweight and obesity trends in the WHO European Region. *Obes Rev.* 2012 Feb;13(2):174-91.

¹⁹ Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *Jama.* 2012 Feb 1;307(5):491-7.

²⁰ Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2012 Jan 3;125(1):e2-e220.

²¹ IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 [cited; Available from: www.ibge.gov.br

²² Ibid. [cited; Available from:

²³ Garrison RJ, Kannel WB, Stokes J, 3rd, Castelli WP. Incidence and precursors of hypertension in young adults: the Framingham Offspring Study. *Prev Med.* 1987 Mar;16(2):235-51.

²⁴ Wang TJ, Parise H, Levy D, D'Agostino RB, Sr., Wolf PA, Vasan RS, et al. Obesity and the risk of new-onset atrial fibrillation. *Jama.* 2004 Nov 24;292(20):2471-7.

²⁵ Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG, et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med.* 2002 Aug 1;347(5):305-13.

variações entre os estudos. Alguns autores mostram aumento do risco de doenças cardiovasculares e metabólicas^{26 27} e morte^{28 29 30}, enquanto outros descrevem proteção^{31 32} ou ausência de efeito do sobrepeso sobre esses desfechos³⁶ em adultos e idosos. O impacto da obesidade sobre morte em população geral de idosos da comunidade também é bastante controverso. A maior parte dos estudos investigou a questão em populações europeia, norte americana e asiática, sendo que sobrepeso/obesidade foram descritos tanto como fatores de risco^{37 38 39 40 41}, de proteção^{42 43} ou não significativamente associados à mortalidade de idosos⁴⁴. Nesse contexto de indefinição, a investigação da associação entre sobrepeso/obesidade e morte em população brasileira pode gerar evidências para definição de políticas públicas de saúde e decisões clínicas quanto ao tratamento da obesidade em idosos e foi a primeira questão abordada por este trabalho.

1.2- MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS, COMPOSIÇÃO CORPORAL E ENVELHECIMENTO

²⁶ Wilson PW, D'Agostino RB, Sullivan L, Parise H, Kannel WB. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med.* 2002 Sep 9;162(16):1867-72.

²⁷ Seidell JC, Verschuren WM, van Leer EM, Kromhout D. Overweight, underweight, and mortality. A prospective study of 48,287 men and women. *Ibid.* 1996 May 13;156(9):958-63.

²⁸ Adams KF, Schatzkin A, Harris TB, Kipnis V, Mouw T, Ballard-Barbash R, et al. Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old. *N Engl J Med.* 2006 Aug 24;355(8):763-78.

²⁹ Gu D, He J, Duan X, Reynolds K, Wu X, Chen J, et al. Body weight and mortality among men and women in China. *Jama.* 2006 Feb 15;295(7):776-83.

³⁰ Seidell JC, Verschuren WM, van Leer EM, Kromhout D. Overweight, underweight, and mortality. A prospective study of 48,287 men and women. *Arch Intern Med.* 1996 May 13;156(9):958-63.

³¹ Flicker L, McCaul KA, Hankey GJ, Jamrozik K, Brown WJ, Byles JE, et al. Body mass index and survival in men and women aged 70 to 75. *J Am Geriatr Soc.* 2010 Feb;58(2):234-41.

³² Heiat A, Vaccarino V, Krumholz HM. An evidence-based assessment of federal guidelines for overweight and obesity as they apply to elderly persons. *Arch Intern Med.* 2001 May 14;161(9):1194-203.

³³ Auyeung TW, Lee JS, Leung J, Kwok T, Leung PC, Woo J. Survival in older men may benefit from being slightly overweight and centrally obese--a 5-year follow-up study in 4,000 older adults using DXA. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2010 Jan;65(1):99-104.

³⁴ Tamakoshi A, Yatsuya H, Lin Y, Tamakoshi K, Kondo T, Suzuki S, et al. BMI and all-cause mortality among Japanese older adults: findings from the Japan collaborative cohort study. *Obesity (Silver Spring).* 2010 Feb;18(2):362-9.

³⁵ Dolan CM, Kraemer H, Browner W, Ensrud K, Kelsey JL. Associations between body composition, anthropometry, and mortality in women aged 65 years and older. *Am J Public Health.* 2007 May;97(5):913-8.

³⁶ Kannel WB, Wilson PW, Nam BH, D'Agostino RB. Risk stratification of obesity as a coronary risk factor. *Am J Cardiol.* 2002 Oct 1;90(7):697-701.

³⁷ Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, Flint AJ, Hannan L, MacInnis RJ, et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *N Engl J Med.* 2010 Dec 2;363(23):2211-9.

³⁸ Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, Halsey J, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet.* 2009 Mar 28;373(9669):1083-96.

³⁹ Adams KF, Schatzkin A, Harris TB, Kipnis V, Mouw T, Ballard-Barbash R, et al. Overweight, Obesity, and Mortality in a Large Prospective Cohort of Persons 50 to 71 Years Old. *New England Journal of Medicine.* 2006;355(8):763-78.

⁴⁰ Corrada MM, Kawas CH, Mozaffar F, Paganini-Hill A. Association of Body Mass Index and Weight Change with All-Cause Mortality in the Elderly. *Am J Epidemiol.* 2006;163:938-49.

⁴¹ Tamakoshi A, Yatsuya H, Lin Y, Tamakoshi K, Kondo T, Suzuki S, et al. BMI and all-cause mortality among Japanese older adults: findings from the Japan collaborative cohort study. *Obesity (Silver Spring).* 2010 Feb;18(2):362-9.

⁴² Wee CC, Huskey KW, Ngo LH, Fowler-Brown A, Leveille SG, Mittlemen MA, et al. Obesity, race, and risk for death or functional decline among Medicare beneficiaries: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2011 May 17;154(10):645-55.

⁴³ Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Body mass index is inversely related to mortality in older people after adjustment for waist circumference. *J Am Geriatr Soc.* 2005 Dec;53(12):2112-8.

⁴⁴ Flicker L, McCaul KA, Hankey GJ, Jamrozik K, Brown WJ, Byles JE, et al. Body mass index and survival in men and women aged 70 to 75. *Ibid.* 2010 Feb;58(2):234-41.

A aferição de medidas antropométricas tem como objetivos identificar individualmente pessoas com necessidade de atenção ou de procedimentos especiais e/ou de verificar a resposta a algum tipo de tratamento ⁴⁵, ou seja, as medidas antropométricas têm importância na triagem, diagnóstico e prognóstico de diversas condições de saúde. As explicações biológicas para justificar a capacidade diagnóstica e prognóstica das medidas antropométricas envolvem a acurácia delas como marcadores de massa corporal total, composição corporal (relação massa magra/gorda) e distribuição da gordura corporal (visceral ou subcutânea, central ou periférica) ⁴⁶. Em idosos, essas questões são influenciadas pelas alterações na massa e composição corporal durante o processo de envelhecimento.

Grandes estudos de base populacional descreveram que há aumento gradual do peso ao longo da vida adulta até 50-59 anos de idade ^{47 48}. A partir dessa idade, os estudos são controversos quanto ao comportamento do peso corporal. Dados de estudos longitudinais mostraram, em média, leve redução do peso em idosos a partir de 65-70 anos ^{49 50}. Em relação à estatura, foi observada redução a partir de 29-30 anos de idade com declínio maior a partir dos 70 anos, devido à compressão vertebral e aumento da cifose torácica ^{51 52}. Adicionalmente, a composição corporal se altera consideravelmente durante o processo de envelhecimento ⁵³. Declínio progressivo da massa magra e aumento proporcional da massa gorda acontecem a partir da terceira e quarta décadas de vida, de forma que o pico de massa magra acontece por volta dos 20-30 anos e o pico da massa gorda entre 60 e 70 anos. A partir de então, há declínio de massa magra de forma mais significativa nos membros que em regiões centrais do corpo, devido à sarcopenia que leva à perda mais acentuada da musculatura esquelética ⁵³. O tecido adiposo, por sua vez, fica diminuído no subcutâneo e aumenta nas regiões intraabdominal, omental e mesentérica (gordura visceral), intrahepática e intramuscular ⁵³.

⁴⁵ Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894:i-xii, 1-253.

⁴⁶ Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu CY, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007 Jul 3;116(1):39-48.

⁴⁷ Droyvold WB, Nilsen TI, Kruger O, Holmen TL, Krokstad S, Midthjell K, et al. Change in height, weight and body mass index: Longitudinal data from the HUNT Study in Norway. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Jun;30(6):935-9.

⁴⁸ Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. *JAMA*. 2010 Jan 20;303(3):235-41.

⁴⁹ Droyvold WB, Nilsen TI, Kruger O, Holmen TL, Krokstad S, Midthjell K, et al. Change in height, weight and body mass index: Longitudinal data from the HUNT Study in Norway. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Jun;30(6):935-9.

⁵⁰ Arnold AM, Newman AB, Cushman M, Ding J, Kritchevsky S. Body weight dynamics and their association with physical function and mortality in older adults: the Cardiovascular Health Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010 Jan;65(1):63-70.

⁵¹ Sorkin JD, Muller DC, Andres R. Longitudinal change in height of men and women: implications for interpretation of the body mass index: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Am J Epidemiol*. 1999 Nov 1;150(9):969-77.

⁵² Droyvold WB, Nilsen TI, Kruger O, Holmen TL, Krokstad S, Midthjell K, et al. Change in height, weight and body mass index: Longitudinal data from the HUNT Study in Norway. *Int J Obes (Lond)*. 2006 Jun;30(6):935-9.

⁵³ Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. Philadelphia: Elsevier Saunders 2012.

As alterações de peso e composição corporal decorrem provavelmente do balanço entre consumo de calorias e gasto energético total (GET). O primeiro tende a ser estável ou diminuir com o envelhecimento. Portanto, a redução do GET é o fator de maior impacto no ganho de massa gorda associado ao envelhecimento. O GET é composto pela taxa metabólica em repouso (70%), que se refere à energia gasta com a manutenção das células e postura corporal; pelo efeito térmico dos alimentos (10-20%), que está relacionado ao gasto com absorção e digestão dos alimentos; e pelo gasto com atividade física (10-20%). Há redução absoluta de todos os principais componentes do GET com a idade, sendo que o declínio do gasto energético associado à atividade física parece ser o que mais contribui proporcionalmente (50%) para o declínio do GET. A causa desta redução parece estar relacionada à diminuição das reações oxidativas geradas por hormônios tireoidianos. Associadamente à redução do GET, a redução na secreção de hormônio do crescimento, e nos níveis de testosterona e, por outro lado, aumento da resistência à leptina são alterações que promovem redução de massa muscular e aumento de massa gorda⁵⁴.

Como medida da massa corporal, o índice de massa corporal ($IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura (m)}^2$) reflete tanto gordura corporal total quanto massa muscular (massa magra)⁵⁵. Naturalmente, as mudanças individuais nos níveis de IMC ao longo dos anos dependem da proporção entre as mudanças no peso e altura. As alterações na altura e na composição corporal ao longo do processo de envelhecimento podem modificar, além dos valores absolutos do IMC, sua relação com adiposidade, fazendo com que o índice possa tanto superestimar quanto subestimar a gordura corporal em idosos. Considerando a redução da altura observada em nove medidas, durante 15 anos de seguimento, em população predominantemente branca do estudo *Baltimore Longitudinal Study of Aging*, estimou-se que, se o peso corporal for mantido constante entre os 20 e 80 anos de idade, o IMC aumenta, em média, $1,5 \text{ kg/m}^2$ em homens e $2,5 \text{ kg/m}^2$ em mulheres⁵⁶. Dessa forma, o aumento do IMC associado ao declínio da estatura levaria à superestimação da gordura corporal. Por outro lado, as alterações de composição corporal secundárias ao envelhecimento (redução de massa magra e aumento de massa gorda) podem alterar a correlação entre IMC e adiposidade no sentido oposto. Níveis mais altos de IMC podem refletir, na verdade, maior massa muscular (menos perda muscular) e não níveis altos de adiposidade, enquanto níveis baixos podem representar baixas quantidades de massa

54 Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. Philadelphia: Elsevier Saunders 2011.

55 Hu F. *Obesity Epidemiology*. New York: Oxford University Press, Inc. 2008.

56 Sorkin JD, Muller DC, Andres R. Longitudinal change in height of men and women: implications for interpretation of the body mass index: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Am J Epidemiol*. 1999 Nov 1;150(9):969-77.

muscular e elevada adiposidade. Neste caso, então, o IMC tenderia a subestimar a gordura corporal. Estudo com aproximadamente 13 mil adultos (20-79,9 anos) americanos investigou a acurácia do IMC em identificar obesidade estimada por bioimpedância elétrica e definida segundo critérios da OMS como proporção de gordura corporal igual ou superior a 25% em homens e a 35% em mulheres ⁵⁷. Os resultados mostraram baixa sensibilidade e especificidade do IMC, principalmente na faixa de sobrepeso (25-29,9 kg/m²). Em estudo com amostra de homens e mulheres idosos em Florianópolis, Santa Catarina, que estudou a concordância entre vários pontos de corte de IMC e gordura corporal medida por densitometria com raioX duo-energético (DEXA), IMC=27 kg/m² e 25 kg/m² apresentaram maiores concordâncias com a porcentagem de gordura corporal em homens (kappa=0,43) e mulheres (kappa=0,22), respectivamente, em comparação ao valor de IMC=30 kg/m² ⁵⁸. No entanto, resultados diferentes foram demonstrados em outras populações de idosos. Estudo com mulheres com mais de 65 anos verificou forte correlação entre IMC e gordura corporal total medida por bioimpedância elétrica (r=0,92) ⁵⁹ e IMC foi a medida que, isoladamente, explicou maior parte da variação da gordura corporal total medida por tomografia computadorizada (TC) em idosos ⁶⁰. Em estudo de correlação entre IMC e porcentagem de gordura corporal medida por DEXA com base no inquérito epidemiológico norte-americano NAHNES (*National Health and Nutrition Examination Survey*), a correlação foi de moderada a forte (r=0,74) em idosos de 60-79 anos, discretamente inferior à correlação em adultos na faixa etária de 20-39 anos (r=0,79) ⁶¹.

Menos divergentes são os resultados da relação entre IMC e distribuição da gordura corporal. Sabe-se que IMC não reflete adequadamente a distribuição da gordura corporal, sendo utilizadas, com esse intuito, principalmente, medidas como CA, relação cintura/quadril e cintura/altura ⁶². Na presente análise do estudo de Bambuí, optou-se pela utilização de CA por ser medida de fácil aplicação clínica. CA representa a gordura abdominal total que é constituída pelo tecido adiposo subcutâneo do abdome e pela gordura visceral. Esta medida antropométrica é considerada, juntamente com o diâmetro torácico e a prega subescapular,

57 Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J, et al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Jun;32(6):959-66.

58 Cordeiro BA. Sensibilidade e especificidade do índice de massa corporal (imc) no diagnóstico de obesidade em idosos: comparação com a absorptometria por raio-x de dupla energia (DEXA) e proposta de novos pontos de corte. [Dissertação]. Florianópolis, SC: Universidade Federal de Santa Catarina; 2006.

59 Dolan CM, Kraemer H, Browner W, Ensrud K, Kelsey JL. Associations between body composition, anthropometry, and mortality in women aged 65 years and older. *Am J Public Health*. 2007 May;97(5):913-8.

60 Storti KL, Brach JS, FitzGerald SJ, Bunker CH, Kriska AM. Relationships among body composition measures in community-dwelling older women. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Feb;14(2):244-51.

61 Flegal KM, Shepherd JA, Looker AC, Graubard BI, Borrud LG, Ogden CL, et al. Comparisons of percentage body fat, body mass index, waist circumference, and waist-stature ratio in adults. *Am J Clin Nutr*. 2009 Feb;89(2):500-8.

62 Hu F. *Obesity Epidemiology*. New York: Oxford University Press, Inc. 2008.

marcador de gordura na parte superior do corpo⁶³. Estudo que correlacionou CA ao volume de gordura corporal total e regional, medidos por múltiplas imagens de ressonância magnética (RNM), em indivíduos entre 18 e 88 anos e com IMC variando entre 16 e 48 kg/m², mostrou correlação elevada com gordura visceral ($r=0,87$ em mulheres e $r=0,74$ em homens), moderada com gordura abdominal subcutânea ($r=0,72$ e $r=0,70$, em mulheres e homens, respectivamente), forte com gordura abdominal total ($r=0,85$ e $r=0,82$, em mulheres e homens, respectivamente) e também forte com gordura corporal total ($r=0,93$ e $r=0,82$, em mulheres e homens, respectivamente)⁶⁴. Este mesmo trabalho objetivou construir modelo multivariado que melhor identificasse preditores de gordura visceral utilizando como covariáveis a idade e diversas medidas antropométricas. Nessa análise, CA elevou significativamente a explicação do modelo (R^2 0,60 para 0,76, em mulheres, e R^2 0,46 a 0,57 em homens), quando foi acrescentada ao modelo após IMC. Em estudos que selecionaram apenas idosos, a correlação da CA com a gordura visceral variou de moderada^{65 66} a forte^{67 68}.

As pregas cutâneas também são utilizadas como medidas indiretas de gordura corporal total e da distribuição da gordura corporal. Boa acurácia com gordura periférica estimada por DEXA⁶⁹ ou TC⁷⁰ foi verificada, quando a média das pregas em vários locais foi usada em combinação ou quando a razão entre prega subescapular e tricípital foi usada. A prega cutânea tricípital é uma medida de gordura subcutânea das extremidades superiores do corpo. Frequentemente, é usada em conjunto com medidas de gordura subcutânea medida na região do bíceps e nos membros inferiores como estimativa da gordura periférica corporal, em oposição à gordura central, representada pela medida da CA, relação cintura/quadril e/ou gordura do tronco (prega cutânea subescapular).

⁶³ Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, eds. Williams Textbook of Endocrinology Philadelphia: Elsevier Saunders 2012.

⁶⁴ Janssen I, Heymsfield SB, Allison DB, Kotler DP, Ross R. Body mass index and waist circumference independently contribute to the prediction of nonabdominal, abdominal subcutaneous, and visceral fat. *Am J Clin Nutr*. 2002 Apr;75(4):683-8.

⁶⁵ Storti KL, Brach JS, FitzGerald SJ, Bunker CH, Kriska AM. Relationships among body composition measures in community-dwelling older women. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Feb;14(2):244-51.

⁶⁶ Harris TB, Visser M, Everhart J, Cauley J, Tylavsky F, Fuerst T, et al. Waist circumference and sagittal diameter reflect total body fat better than visceral fat in older men and women. The Health, Aging and Body Composition Study. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 May;904:462-73.

⁶⁷ Dolan CM, Kraemer H, Browner W, Ensrud K, Kelsey JL. Associations between body composition, anthropometry, and mortality in women aged 65 years and older. *Am J Public Health*. 2007 May;97(5):913-8.

⁶⁸ Snijder MB, Visser M, Dekker JM, Seidell JC, Fuerst T, Tylavsky F, et al. The prediction of visceral fat by dual-energy X-ray absorptiometry in the elderly: a comparison with computed tomography and anthropometry. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 Jul;26(7):984-93.

⁶⁹ Ketel IJ, Volman MN, Seidell JC, Stehouwer CD, Twisk JW, Lambalk CB. Superiority of skinfold measurements and waist over waist-to-hip ratio for determination of body fat distribution in a population-based cohort of Caucasian Dutch adults. *Eur J Endocrinol*. 2007 Jun;156(6):655-61.

⁷⁰ Orphanidou C, McCargar L, Birmingham CL, Mathieson J, Goldner E. Accuracy of subcutaneous fat measurement: comparison of skinfold calipers, ultrasound, and computed tomography. *J Am Diet Assoc*. 1994 Aug;94(8):855-8.

Além da idade, diferenças entre as diversas populações estudadas, em relação a gênero e/ou etnia ⁷¹, podem explicar os resultados conflitantes de estudos que correlacionam medidas antropométricas à gordura corporal e seus compartimentos. A concordância entre medidas antropométricas e porcentagem de gordura corporal medida por DEXA em estudo com dados do inquérito NHANES apresentou alterações discretas em relação a diferenças de gênero e idade, mas substanciais em relação à etnia: a correlação foi significativamente maior em negros não hispânicos que em brancos tanto para IMC quanto para CA ⁷². Adicionalmente, diferentes definições dos compartimentos corporais de gordura podem explicar os resultados conflitantes entre os estudos. Atualmente, DEXA e exames de imagem como TC e RM são os métodos mais acurados para estimar a composição e a distribuição da gordura corporal ⁷³. A definição anatômica de gordura visceral envolve adipócitos localizados no omento e no mesentério, o que exclui a gordura extraperitoneal, correspondendo a cortes tomográficos no nível das vértebras T10-T11 a L5-S1. No entanto, alguns estudos usam gordura intra e retroperitoneal e outros ainda associam a gordura intrapélvica para estimar a gordura visceral ⁷⁴. Além disso, não existe definição explícita do que corresponderia à gordura subcutânea abdominal.

Outro ponto que dificulta a comparação da correlação entre medidas antropométricas e composição/ distribuição de gordura corporal diz respeito a controvérsias quanto à técnica de maior acurácia para estimar gordura corporal total e regional utilizando métodos de imagem. Estudos que compararam estimativas derivadas de diferentes tipos de imagem encontraram variação substancial entre as estimativas de gordura visceral, abdominal subcutânea e periférica e, conseqüentemente, diferentes correlações entre estas e as medidas antropométricas ^{75 76}. Esta questão, que pode parecer a princípio estritamente anatômica, pode ser importante por diferenças funcionais e metabólicas do tecido adiposo em regiões diferentes e até na mesma região.

⁷¹ Camhi SM, Bray GA, Bouchard C, Greenway FL, Johnson WD, Newton RL, et al. The relationship of waist circumference and BMI to visceral, subcutaneous, and total body fat: sex and race differences. *Obesity* (Silver Spring). 2011 Feb;19(2):402-8.

⁷² Flegal KM, Shepherd JA, Looker AC, Graubard BI, Borrud LG, Ogden CL, et al. Comparisons of percentage body fat, body mass index, waist circumference, and waist-stature ratio in adults. *Am J Clin Nutr*. 2009 Feb;89(2):500-8.

⁷³ Hu F. *Obesity Epidemiology*. New York: Oxford University Press, Inc. 2008.

⁷⁴ Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. Philadelphia: Elsevier Saunders 2011.

⁷⁵ Wong S, Janssen I, Ross R. Abdominal adipose tissue distribution and metabolic risk. *Sports Med*. 2003;33(10):709-26.

⁷⁶ Bonora E, Micciolo R, Ghiatas AA, Lancaster JL, Alyassin A, Muggeo M, et al. Is it possible to derive a reliable estimate of human visceral and subcutaneous abdominal adipose tissue from simple anthropometric measurements? *Metabolism*. 1995 Dec;44(12):1617-25.

1.3- MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS, GORDURA CORPORAL E RISCO CARDIOMETABÓLICO E DE MORTE EM IDOSOS

Há evidências de que os diferentes compartimentos de gordura conferem diferentes níveis de risco cardiovascular e metabólico. Há ainda lacunas quanto à forma como isso acontece, mas sabe-se que diferenças em relação à sensibilidade à insulina ⁷⁷, à taxa de lipólise e ao acesso dos ácidos graxos livres à veia cava e/ou à expressão e liberação de adipocinas associadas a cada compartimento podem explicar essas diferenças. Portanto, é esperado que, se forem bons marcadores da composição e distribuição da gordura corporal, as medidas antropométricas reflitam essas diferenças.

A gordura visceral é mais proinflamatória e mais associada a risco metabólico que a gordura subcutânea ⁷⁸ e o tecido abdominal subcutâneo localizado profundamente à fáscia subcutânea é metabolicamente mais ativo que o mais superficial e, provavelmente, é esta parte do tecido adiposo abdominal subcutâneo que influencia no risco metabólico e cardiovascular. Apesar dos resultados não serem consistentes, alguns estudos demonstraram taxas reduzidas de lipólise no tecido adiposo subcutâneo quando comparado ao visceral, quando são conjuntamente consideradas as taxas de lipólise basal, induzida por catecolaminas e induzida por peptídeos natriuréticos (PN) e o efeito antilipolítico de insulina, adenosina e prostaglandinas E ^{79 80}. É possível que taxas reduzidas de lipólise sejam os mediadores dos efeitos clínicos positivos associados ao tecido adiposo periférico, uma vez que os ácidos graxos livres circulantes resultantes da atividade lipolítica, quando em grande quantidade, interferem nos mecanismos de sinalização de insulina, gerando hiperinsulinemia e efeitos deletérios ao endotélio. Quanto à diferença na secreção de adipocinas entre os diferentes depósitos de gordura, a leptina, peptídeo produzido pelo tecido adiposo, com função de regular o apetite e o balanço energético, apresenta produção aumentada no tecido adiposo periférico quando comparada ao visceral ^{81 82 83}. Por outro lado, estudos comparando a

⁷⁷ Wagenknecht LE, Langefeld CD, Scherzinger AL, Norris JM, Haffner SM, Saad MF, et al. Insulin sensitivity, insulin secretion, and abdominal fat: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Family Study. *Diabetes*. 2003 Oct;52(10):2490-6.

⁷⁸ Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu CY, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007 Jul 3;116(1):39-48.

⁷⁹ van Harmelen V, Dicker A, Ryden M, Hauner H, Lonnqvist F, Naslund E, et al. Increased lipolysis and decreased leptin production by human omental as compared with subcutaneous preadipocytes. *Diabetes*. 2002 Jul;51(7):2029-36.

⁸⁰ Dicker A, Astrom G, Wahlen K, Hoffstedt J, Naslund E, Wiren M, et al. Primary differences in lipolysis between human omental and subcutaneous adipose tissue observed using in vitro differentiated adipocytes. *Horm Metab Res*. 2009 May;41(5):350-5.

⁸¹ Gottschling-Zeller H, Birgel M, Scriba D, Blum WF, Hauner H. Depot-specific release of leptin from subcutaneous and omental adipocytes in suspension culture: effect of tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta1. *Eur J Endocrinol*. 1999 Oct;141(4):436-42.

⁸² van Harmelen V, Dicker A, Ryden M, Hauner H, Lonnqvist F, Naslund E, et al. Increased lipolysis and decreased leptin production by human omental as compared with subcutaneous preadipocytes. *Diabetes*. 2002 Jul;51(7):2029-36.

expressão e secreção de adiponectina, adipocina com propriedades antiinflamatórias, entre o tecido adiposo visceral e subcutâneo mostram resultados variados, não sendo possível, até o momento, confirmar ou refutar a hipótese de que o tecido adiposo periférico contribui de forma proporcionalmente mais importante para os níveis circulantes de adiponectina^{84 85}. O mesmo acontece com a hipótese de que o tecido adiposo periférico contribui proporcionalmente com menores níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), o que estaria associado a menos efeitos inflamatórios deletérios da citocina. A expressão dos receptores e da citocina são maiores no tecido adiposo periférico, mas sua secreção aparentemente não difere entre a gordura visceral e subcutânea⁸⁶.

Gordura visceral foi ótimo discriminador de risco de síndrome metabólica em idosos, principalmente em não obesos⁸⁷. Com referência ao risco cardiovascular, alguns estudos mostram CA como preditor melhor que o IMC⁸⁸. Em relação à mortalidade específica, estudo com homens e mulheres com idade média de 69 e 67 anos, respectivamente, encontrou aumento do risco de morte por causas respiratórias, cardiovasculares e neoplásicas associado à diâmetro da cintura maior que 100 cm em homens e 95 cm em mulheres⁸⁹. Após ajuste para o IMC, os valores de CA que conferiram aumento de risco de morte por essas causas específicas foram ainda menores. Em relação ao impacto do aumento da CA (obesidade abdominal) na mortalidade geral, os resultados dos estudos com idosos são conflitantes com estudos mostrando ausência de associação^{90 91}, proteção⁹² e aumento do risco^{93 94}. Estudo com adultos com mais de 50 anos (média de 69 anos) que ajustou o impacto da CA na mortalidade por níveis de IMC, observou que a associação entre CA e mortalidade é mais

⁸³ Montague CT, Prins JB, Sanders L, Zhang J, Sewter CP, Digby J, et al. Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. *Ibid.* 1998 Sep;47(9):1384-91.

⁸⁴ Perrini S, Laviola L, Cignarelli A, Melchiorre M, De Stefano F, Caccioppoli C, et al. Fat depot-related differences in gene expression, adiponectin secretion, and insulin action and signalling in human adipocytes differentiated in vitro from precursor stromal cells. *Diabetologia*. 2008 Jan;51(1):155-64.

⁸⁵ Fisher FM, McTernan PG, Valsamakis G, Chetty R, Harte AL, Anwar AJ, et al. Differences in adiponectin protein expression: effect of fat depots and type 2 diabetic status. *Horm Metab Res*. 2002 Nov-Dec;34(11-12):650-4.

⁸⁶ van Harmelen V, Dicker A, Ryden M, Hauner H, Lonnqvist F, Naslund E, et al. Increased lipolysis and decreased leptin production by human omental as compared with subcutaneous preadipocytes. *Diabetes*. 2002 Jul;51(7):2029-36.

⁸⁷ Goodpaster BH, Krishnaswami S, Harris TB, Katsiaras A, Kritchevsky SB, Simonsick EM, et al. Obesity, regional body fat distribution, and the metabolic syndrome in older men and women. *Arch Intern Med*. 2005 Apr 11;165(7):777-83.

⁸⁸ Baik I, Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci E, Spiegelman D, Stampfer MJ, et al. Adiposity and mortality in men. *Am J Epidemiol*. 2000 Aug 1;152(3):264-71.

⁸⁹ Jacobs EJ, Newton CC, Wang Y, Patel AV, McCullough ML, Campbell PT, et al. Waist circumference and all-cause mortality in a large US cohort. *Arch Intern Med*. 2010 Aug 9;170(15):1293-301.

⁹⁰ Baik I, Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci E, Spiegelman D, Stampfer MJ, et al. Adiposity and mortality in men. *Am J Epidemiol*. 2000 Aug 1;152(3):264-71.

⁹¹ Price GM, Uauy R, Breeze E, Bulpitt CJ, Fletcher AE. Weight, shape, and mortality risk in older persons: elevated waist-hip ratio, not high body mass index, is associated with a greater risk of death. *Am J Clin Nutr*. 2006 Aug;84(2):449-60.

⁹² Auyeung TW, Lee JS, Leung J, Kwok T, Leung PC, Woo J. Survival in older men may benefit from being slightly overweight and centrally obese--a 5-year follow-up study in 4,000 older adults using DXA. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010 Jan;65(1):99-104.

⁹³ Jacobs EJ, Newton CC, Wang Y, Patel AV, McCullough ML, Campbell PT, et al. Waist circumference and all-cause mortality in a large US cohort. *Arch Intern Med*. 2010 Aug 9;170(15):1293-301.

⁹⁴ Wannamethee SG, Shaper AG, Lennon L, Whincup PH. Decreased muscle mass and increased central adiposity are independently related to mortality in older men. *Am J Clin Nutr*. 2007 Nov;86(5):1339-46.

forte em mulheres com IMC normal que naquelas com IMC elevado ⁹⁵. Tal achado pode refletir o impacto de dois fatores que muito provavelmente aumentam risco de morte em idosos: menores níveis de massa magra (menor IMC) com maiores níveis de gordura visceral (maior CA).

O impacto das medidas de gordura periférica na saúde de adultos e idosos varia bastante, de acordo com a população estudada e com a metodologia de construção dos modelos multivariados de sobrevivência. Em relação a desfechos intermediários de doenças cardiovasculares, foi demonstrado que gordura periférica das extremidades superior e inferior tem relação inversa com a rigidez de grandes artérias, um possível mediador de doença aterosclerótica, quando ajustado para gordura do tronco, em adultos jovens e aparentemente saudáveis ⁹⁶. Em relação às alterações metabólicas, o acúmulo de gordura nos membros inferiores foi associado a menores níveis de glicemia plasmática em jejum e índice HOMA (*homeostatic model assessment*) em idosos de ambos os sexos e menores níveis de glicemia após sobrecarga apenas em homens idosos, quando ajustado para medidas de massa gorda central e massa magra periférica ⁹⁷. Quanto a desfechos clínicos, o risco de morte por acidente vascular encefálico (AVE) em 23 anos de acompanhamento de homens com, pelo menos 40 anos de idade no início do seguimento, foi maior naqueles em que havia predomínio de gordura no tronco em relação àqueles com mais gordura periférica ⁹⁸ e a mortalidade por câncer em homens franceses seguidos por 15 anos foi maior naqueles com menores quantidades de gordura periférica ⁹⁹. No entanto, alguns estudos não mostram redução de mortalidade associado à gordura periférica. Em análise de 30 anos de acompanhamento de adultos com 40-64 anos na linha de base, a prega tricípital subcutânea não teve associação significativa com mortalidade geral, mas aumentou o risco de morte por doença coronariana em mulheres ¹⁰⁰. Numa análise de participantes dos estudos NHANES I e II, Z-score das

⁹⁵ Jacobs EJ, Newton CC, Wang Y, Patel AV, McCullough ML, Campbell PT, et al. Waist circumference and all-cause mortality in a large US cohort. *Arch Intern Med.* 2010 Aug 9;170(15):1293-301.

⁹⁶ Ferreira I, Snijder MB, Twisk JWR, Mechelen WV, Kemper HCG, Seidell JC, et al. Central Fat Mass Versus Peripheral Fat and Lean Mass: Opposite (Adverse Versus Favorable) Associations with Arterial Stiffness? The Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004;89(6):2632-9.

⁹⁷ Snijder MB, Dekker JM, Visser M, Bouter LM, Stehouwer CDA, Yudkin JS, et al. Trunk Fat and Leg Fat Have Independent and Opposite Associations With Fasting and Postload Glucose Levels. *Diabetes Care.* 2004;27:372-7.

⁹⁸ Tanne D, Medalie JH, Goldbourt U. Body Fat Distribution and Long-Term Risk of Stroke Mortality. *Stroke.* 2005; 36:1021-5.

⁹⁹ Oppert J-M, Charles M-A, Thibault N, Guy-Grand B, Eschwège E, Ducimetière P. Anthropometric estimates of muscle and fat mass in relation to cardiac and cancer mortality in men: the Paris Prospective Study. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:1107-13.

¹⁰⁰ Kim J, Meade T, Haines A. Skinfold thickness, body mass index, and fatal coronary heart disease: 30 year follow up of the Northwick Park heart study. *J Epidemiol Community Health.* 2006;60:275-9.

pregas subcutâneas tricipital e subescapular foi associado a aumento do risco de morte em 14,6 e 12,9 anos de seguimento, respectivamente ¹⁰¹.

Assim como acontece com estudos sobre a relação entre medidas antropométricas e compartimentos de gordura, o uso de diferentes técnicas em métodos de imagem dificulta a comparação dos resultados que correlacionam compartimentos de gordura e risco metabólico. Três questões principais são motivo de debate a esse respeito: local das medidas, uso de corte único versus múltiplo para estimativa da área e uso da medida da área versus do volume de gordura. A área de tecido adiposo no nível das vértebras lombares L4-L5 ou L3-L4 para estimar gordura visceral e no nível do umbigo para gordura abdominal subcutânea são as técnicas mais utilizadas ^{102 103}, mas o número de cortes empregados para estimar a área de gordura visceral e periférica, pode alterar a relação entre cada compartimento de gordura e risco metabólico ¹⁰⁴. A medida do volume, por sua vez, considera heterogeneidade na distribuição da gordura no abdome, o que teoricamente pode ter maior correlação com risco metabólico, apesar da maior dificuldade técnica ¹⁰⁵.

Com referência à influência que particularidades de cada população podem exercer sobre os resultados de investigações sobre a associação entre medidas antropométricas e risco de morte ou de doenças metabólicas e cardiovasculares, sabe-se que idade, sexo, raça, variação longitudinal de peso, condicionamento físico e distribuição do peso corporal são alguns desses fatores. Alguns exemplos ilustram essa influência: o risco de diabetes tipo 2 associado a aumento da CA é maior nas mulheres que nos homens ¹⁰⁶; para o mesmo valor de IMC, asiáticos apresentam maior risco cardiovascular que caucasianos ou negros ¹⁰⁶; negros apresentam menor proporção de gordura visceral que caucasianos, considerando o peso total ¹⁰⁷; numa mesma faixa de IMC ou de cintura, pacientes que apresentaram variação de peso na

¹⁰¹ Allison D, Zhu S, Plankey M, Faith M, Heo M. Differential associations of body mass index and adiposity with all-cause mortality among men in the first and second National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES I and NHANES II) follow-up studies. *International Journal of Obesity*. 2002;26:410-6.

¹⁰² Kuk JL, Church TS, Blair SN, Ross R. Does measurement site for visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue alter associations with the metabolic syndrome? *Diabetes Care*. 2006 Mar;29(3):679-84.

¹⁰³ Lee S, Janssen I, Ross R. Interindividual variation in abdominal subcutaneous and visceral adipose tissue: influence of measurement site. *J Appl Physiol*. 2004 Sep;97(3):948-54.

¹⁰⁴ Ellis KJ, Grund B, Visnegarwala F, Thackeray L, Miller CG, Chesson CE, et al. Visceral and subcutaneous adiposity measurements in adults: influence of measurement site. *Obesity (Silver Spring)*. 2007 Jun;15(6):1441-7.

¹⁰⁵ Kuk JL, Church TS, Blair SN, Ross R. Measurement site and the association between visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue with metabolic risk in women. *Ibid.* 2010 Jul;18(7):1336-40.

¹⁰⁶ Hu F. *Obesity Epidemiology*. New York: Oxford University Press, Inc. 2008.

¹⁰⁷ Storti KL, Brach JS, FitzGerald SJ, Bunker CH, Kriska AM. Relationships among body composition measures in community-dwelling older women. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Feb;14(2):244-51.

vida adulta apresentam maior risco de morte ^{108 109}; níveis de condicionamento cardiorespiratório modificam a relação entre adiposidade e mortalidade em adultos ^{110 111}.

1.4- PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS E OBESIDADE

A segunda questão investigada por meio da coorte de Bambuí diz respeito à relação entre BNP e medidas antropométricas. BNP e seu precursor NT-proBNP são, juntamente com o peptídeo natriurético atrial (ANP) e NT-proANP, os membros mais estudados da família de PN. Estes peptídeos são sintetizados pelo miocárdio, especialmente pelo ventrículo esquerdo, em resposta à sobrecarga hemodinâmica de pressão e/ou volume. As formas biologicamente ativas reduzem a sobrecarga de volume no sistema cardiovascular, através de vasodilatação, natriurese, aumento da diurese e oposição ao sistema renina-angiotensina-aldosterona ^{112 113}. Apresentam também ações autócrinas e parácrinas sobre a regulação da permeabilidade vascular, crescimento e proliferação celular e hipertrofia cardíaca ¹¹⁴, sendo importantes integrantes do eixo neurohormonal de várias doenças, tais como insuficiência cardíaca e hipertensão arterial. Apesar de muito estudados e aplicados como biomarcadores, NT-proANP e NT-proBNP são formas precursoras sem atividade biológica.

Expressão gênica de receptores dos peptídeos natriuréticos no tecido adiposo e efeito lipolítico semelhante em magnitude ao das catecolaminas, substâncias que eram, até recentemente reconhecidas como a principal via da lipólise humana, foram demonstrados e chamaram atenção para o potencial papel dos PN nos mecanismos biológicos da obesidade ^{115 116 117}. O efeito lipolítico dos PN ocorre através de uma via de transdução de sinais mediada pelo

¹⁰⁸ Corrada MM, Kawas CH, Mozaffar F, Paganini-Hill A. Association of Body Mass Index and Weight Change with All-Cause Mortality in the Elderly. *Am J Epidemiol*. 2006;163:938-49.

¹⁰⁹ Shimazu T, Kuriyama S, Ohmori-Matsuda K, Kikuchi N, Nakaya N, Tsuji I. Increase in body mass index category since age 20 years and all-cause mortality: a prospective cohort study (the Ohsaki Study). *Int J Obes (Lond)*. 2009 Apr;33(4):490-6.

¹¹⁰ McAuley PA, Kokkinos PF, Oliveira RB, Emerson BT, Myers JN. Obesity paradox and cardiorespiratory fitness in 12,417 male veterans aged 40 to 70 years. *Mayo Clin Proc*. 2010 Feb;85(2):115-21.

¹¹¹ Goel K, Thomas RJ, Squires RW, Coutinho T, Trejo-Gutierrez JF, Somers VK, et al. Combined effect of cardiorespiratory fitness and adiposity on mortality in patients with coronary artery disease. *Am Heart J*. 2011 Mar;161(3):590-7.

¹¹² Nakao K, Y. Ogawa, S. Suga, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *J Hypertension*. 1992;10:907-12.

¹¹³ Nakao K, Y. Ogawa, S. Suga, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertension*. 1992;10:1111-4.

¹¹⁴ Nishikimi T, Maeda N, Matsuoka H. The role of natriuretic peptides in cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 2006 Feb 1;69(2):318-28.

¹¹⁵ Spagnolo D, Giantomassi L, Espinosa E, Rappelli A, Dessì-Fulgheri P, Sarzani R, et al. Low Calorie Diet Enhances Renal, Hemodynamic, and Humoral Effects of Exogenous Atrial Natriuretic Peptide in Obese Hypertensives. *Hypertension*. 1999;33:658-62.

¹¹⁶ Moro C, Galitzky J, Sengenès C, Crampes F, Lafontan M, Berlan M. Functional and pharmacological characterization of the natriuretic peptide-dependent lipolytic pathway in human fat cells. *J Pharm Exp Therap*. 2004;308(3):984-92.

¹¹⁷ Galitzky J, Sengenès C, Thalamas C, Marques MA, Senard JM, Lafontan M, et al. The lipid-mobilizing effect of atrial natriuretic peptide is unrelated to sympathetic nervous system activation or obesity in young men. *J Lipid Res*. 2001;42(4):536-44.

monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), em contraste ao das catecolaminas que ocorre via monofosfato cíclico de adenosina (AMPc). A ligação de ANP ou BNP ao receptor tipo A leva a aumento do GMPc que, por sua vez, ativa a proteína quinase G. Essa proteína fosforila a lipase hormônio-sensível e a perilipina A, substância que induz alteração física da superfície de gotículas de gordura e facilita a ação da lipase hormônio-sensível. Dessa maneira, níveis elevados de PN induzem maior degradação de triglicérides, armazenados no tecido adiposo. A potência lipolítica dos PN mais estudados se dá da seguinte maneira: ANP>BNP¹¹⁸.

Em conjunto com os estudos experimentais usando adipócitos *in vitro*, relatos de níveis reduzidos de PN em indivíduos obesos, mesmo após ajuste para fatores conhecidos por elevar os níveis desse peptídeo, como sexo feminino, idade, insuficiência cardíaca e insuficiência renal^{119 120 121 122 123 124 125}, sugerem que os PN podem atuar na fisiopatologia da obesidade. Em estudos em que a composição corporal foi medida por métodos mais acurados que as medidas antropométricas, há resultados diversos: em alguns, a massa gorda se correlacionou inversamente aos níveis de PN¹²⁶, enquanto outro em outro estudo de base populacional, apenas o aumento da massa magra se correlacionou a níveis reduzidos de PN¹²⁷. Adicionalmente, estudos de intervenção em humanos, como o que demonstrou aumento da lipólise após infusão de ANP em mulheres obesas submetidas à dieta de baixo teor calórico constituem evidências clínicas de que os PN podem induzir perda de peso¹²⁸.

O comportamento dos PN em obesos é aparentemente paradoxal, uma vez que a obesidade leva a aumento do volume circulante e da sobrecarga sobre o miocárdio, que são estímulos

¹¹⁸ Sengenés C, Moro C, Galitzky J, Berlan M, Lafontan M. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human fat cells. *Med Sci*. 2005;21(dec):29-33.

¹¹⁹ Horwich TB, Hamilton MA, Fonarow GC. B-type natriuretic peptide levels in obese patients with advanced heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;47(1):85-90.

¹²⁰ Mehra M, Uber P, Park M, Scott R, Ventura H, Harris B, et al. Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1590-5.

¹²¹ Beleigoli AMR, Diniz MFHS, Ribeiro ALP. Natriuretic peptides: linking heart and adipose tissue in obesity and related conditions – a systematic review. *Obes Rev*. 2009;10:617–26.

¹²² Wang TJ, Larson MG, Keyes MJ, Levy D, Benjamin EJ, Vasan RS. Association of plasma natriuretic peptide levels with metabolic risk factors in ambulatory individuals. *Circulation*. 2007;115(11):1345-53.

¹²³ Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PWF, et al. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Ibid*. 2004;109(5):594-600.

¹²⁴ Dokainish H, Gonzalez R, Hartley WB, Caldera A, Koshy S, Sengupta R, et al. Usefulness of B-type natriuretic peptide levels to predict left ventricular filling pressures in patients with body mass index >35, 31 to 35, and < or =30 kg/m². *Am J Cardiol*. 2007 Oct 1;100(7):1166-71.

¹²⁵ Horwich TB, Hamilton MA, Fonarow GC. B-type natriuretic peptide levels in obese patients with advanced heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;47(1):85-90.

¹²⁶ Cheng S, Fox CS, Larson MG, Massaro JM, McCabe EL, Khan AM, et al. Relation of visceral adiposity to circulating natriuretic peptides in ambulatory individuals. *Am J Cardiol*. 2010 Oct 1;108(7):979-84.

¹²⁷ Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, et al. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides - Results from the Dallas heart study. *Circulation*. 2005;112(14):2163-8.

¹²⁸ Sengenés C, Stich V, Berlan M, Hejnova J, Lafontan M, Pariskova Z, et al. Increased lipolysis in adipose tissue and lipid mobilization to natriuretic peptides during low calorie diet in obese women. *International Journal of Obesity* 2002; 26:24-32.

para a síntese de PN ¹²⁹. As hipóteses descritas até o momento não conseguem explicá-lo completamente e envolvem basicamente dois mecanismos: aumento da depuração e/ou redução da secreção dos PN. O aumento da depuração pode se dar por expressão e/ou atividade aumentada de enzimas endoteliais (neprilisinase) e/ou por aumento de expressão dos receptores de clearance dos PN ou tipo C no tecido adiposo ^{130 131}. No entanto, esta última hipótese não explica os níveis reduzidos em obesos de frações amino-terminais dos PN que não são depuradas por esses receptores. Em relação à redução da secreção, achados de aumento dos níveis de PN após perda de peso ^{132 133 134}, sugerem que a síntese ou liberação dos PN pelo miocárdio pode estar comprometida em indivíduos obesos. Acúmulo de lípidos nos cardiomiócitos ¹³⁵, resistência insulínica ¹³⁶ e as ações da testosterona tanto sobre a massa magra quanto sobre os níveis de PN ¹³⁷ são prováveis mediadores da redução da secreção de PN pelo miocárdio de obesos.

Os PN são utilizados na prática clínica como biomarcadores para diagnóstico diferencial de dispneia, reconhecimento/exclusão de disfunção ventricular esquerda, avaliação prognóstica de pacientes com insuficiência cardíaca aguda e crônica, síndrome coronariana aguda, tromboembolismo pulmonar e avaliação de resposta a tratamento em pacientes com insuficiência cardíaca ^{138 139 140 141 142 143 144}. Níveis plasmáticos de BNP apresentam

¹²⁹ Nakao K, Y. Ogawa, S. Suga, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *J Hypertension*. 1992;10:907-12.

¹³⁰ Sarzani R, Dessì-Fulgheri P, Paci VM E, E, Rappelli A. Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest*. 1996 Oct;19(9):581-5.

¹³¹ Dessì-Fulgheri P, Sarzani R, Rappelli A. The natriuretic peptide system in obesity-related hypertension: new pathophysiological aspects. *J Nephrol*. 1998 Nov-Dec;11(6):296-9.

¹³² St Peter JV, Hartley GG, Murakami MM, Apple FS. B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP in obese patients without heart failure: Relationship to body mass index and gastric bypass surgery. *Clin Chem*. 2006;52(4):680-5.

¹³³ Chen-Tournoux A, Khan AM, Baggish AL, Castro VM, Semigran MJ, McCabe EL, et al. Effect of weight loss after weight loss surgery on plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels. *Am J Cardiol*. 2010 Nov 15;106(10):1450-5.

¹³⁴ Chainani-Wu N, Weidner G, Purnell DM, Frensdal S, Merritt-Worden T, Kemp C, et al. Relation of B-type natriuretic peptide levels to body mass index after comprehensive lifestyle changes. *Ibid*. Jun 1;105(11):1570-6.

¹³⁵ Bartels ED, Nielsen JM, Bisgaard LS, Goetze JP, Nielsen LB. Decreased expression of natriuretic peptides associated with lipid accumulation in cardiac ventricle of obese mice. *Endocrinology*. 2010 Nov;151(11):5218-25.

¹³⁶ Khan AM, Cheng S, Magnusson M, Larson MG, Newton-Cheh C, McCabe EL, et al. Cardiac natriuretic peptides, obesity, and insulin resistance: evidence from two community-based studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Oct;96(10):3242-9.

¹³⁷ Chang AY, Abdullah SM, Jain T, Stanek HG, Das SR, McGuire DK, et al. Associations among androgens, estrogens, and natriuretic peptides in young women: observations from the Dallas Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Jan 2;49(1):109-16.

¹³⁸ Davis M, Espiner E, Richards G, Billings J, Town I, Neill A, et al. Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnoea. *Lancet*. 1994 343(8895):440-4.

¹³⁹ Lainchbury J, Campbell E, Frampton C, Yandle T, Nicholls M, Richards A. Brain natriuretic peptide and n-terminal brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in patients with acute shortness of breath. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(4):728-35.

¹⁴⁰ Morrison L, Harrison A, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Maisel A. Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol*. 2002 39(2):202-9.

¹⁴¹ Nielsen L, Svanegaard J, Klitgaard N, Egeblad H. N-terminal pro-brain natriuretic peptide for discriminating between cardiac and non-cardiac dyspnoea. *Eur J Heart Fail*. 2004;6(1):63-70.

¹⁴² Feola M, Aspromonte N, Canali C, Ceci V, Giovannozzo P, Milani L, et al. Prognostic Value of Plasma Brain Natriuretic Peptide, Urea Nitrogen, and Creatinine in Outpatients >70 Years of Age With Heart Failure. *Am J Cardiol*. 2005;96:705-9.

¹⁴³ Lorgis L, Zeller M, Dentan G, Sicard P, Buffet P, L'Huillier I, et al. Prognostic value of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in elderly people with acute myocardial infarction: prospective observational study. *BMJ*. 2009;338(b):1605.

¹⁴⁴ Alehagen U, Svensson E, Dahlström U. Natriuretic Peptide Biomarkers as Information Indicators in Elderly Patients With Possible Heart Failure Followed Over Six Years: A Head-to-Head Comparison of Four Cardiac Natriuretic Peptides. *J Cardiac Failure*. 2007;13(6):452-61.

correlação positiva com a idade ¹⁴⁵ e, em idosos, mesmo sem manifestação de doença cardíaca, níveis altos de PN se correlacionaram a aumento de hospitalização e mortalidade por causas cardiovasculares e gerais ^{146 147 148 149 150}. Diante do aumento expressivo da prevalência de obesidade em idosos e da alta prevalência e impacto de doenças cardiovasculares sobre a mortalidade de idosos, conhecer a acurácia dos peptídeos natriuréticos como biomarcadores em idosos obesos é potencialmente importante para determinar sua utilidade na prática clínica nesse grupo. Essa investigação envolve inicialmente conhecer a relação existente entre BNP e medidas antropométricas, que foi investigada no presente estudo.

1.4.1- BNP, MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E DOENÇA DE CHAGAS

Outro ponto que pode ser investigado, devido à elevada prevalência de participantes infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, foi a influência da infecção na relação entre BNP e IMC. Estima-se que a prevalência da infecção por *Trypanosoma cruzi* na América Latina seja de aproximadamente 16 a 18 milhões de indivíduos. Adicionalmente, milhares de casos são encontrados nos Estados Unidos e Europa devido à imigração ¹⁵¹. A doença tem como vetor um triatomíneo hematófago. A transmissão na região de Bambuí foi interrompida pelo uso de inseticidas ainda na década de 1970, mas a hipótese de prevalência elevada em idosos que se infectaram na juventude foi considerada ainda na fase de planejamento do estudo e confirmada posteriormente (37,5% de sorologia positiva nos três exames realizados) ¹⁵².

A doença caracteriza-se por duas fases distintas: aguda e crônica. A primeira dura cerca de seis a oito semanas e acompanha-se de intensa reação inflamatória na porta de entrada do protozoário que, quando na conjuntiva, origina edema periorbital e periocular e adenopatia

¹⁴⁵ Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PWF, et al. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *American Journal of Cardiology*. 2002;90(3):254-8.

¹⁴⁶ Lebourgeois F, Bussy C, Myara J. Plasma Brain Natriuretic Peptide Measured In Stable Conditions Is Related To Mortality In Frail And Very Old Patients. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2009;57 (2).

¹⁴⁷ Alehagen U, Svensson E, Dahlstro U. Natriuretic Peptide Biomarkers as Information Indicators in Elderly Patients With Possible Heart Failure Followed Over Six Years: A Head-to-Head Comparison of Four Cardiac Natriuretic Peptides. *J Cardiac Failure*. 2007;13(6):452-61.

¹⁴⁸ Wallen T, Landahl S, Hedner T, Nakao K, Sait Y. Brain natriuretic peptide predicts mortality in the elderly. *Heart*. 1997;77:264-7.

¹⁴⁹ Witham MD, Gillespie ND, Hutcheon SD, Struthers AD, Marion ET, McMurdo M. B-Type Natriuretic Peptide Is Associated with Mortality in Older Functionally Impaired Patients. *J Am Ger Soc*. 2005;53:1991-5.

¹⁵⁰ Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, Gustafsson F, Faber J, Hildebrandt P. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide, C-Reactive Protein, and Urinary Albumin Levels as Predictors of Mortality and Cardiovascular Events in Older Adults. *JAMA*. 2005;293(13):1609-16.

¹⁵¹ Biolo A, Ribeiro AL, Clausell N. Chagas cardiomyopathy--where do we stand after a hundred years? *Prog Cardiovasc Dis*. 2010;52(4):300-16.

¹⁵² Lima-Costa MF, Firmo JO, Uchoa E. Cohort profile: the Bambui (Brazil) Cohort Study of Ageing. *Int J Epidemiol*. 2011 Aug;40(4):862-7.

pré-auricular (sinal de Romana). Febre, mialgia, mal-estar, sudorese, hepatoesplenomegalia, miocardite com insuficiência cardíaca, derrame pericárdico, linfocitose e meningoencefalite são algumas das manifestações clínicas. Há regressão espontânea do quadro em 95% dos casos, após a qual, cerca de 40% dos infectados terão sorologia positiva, mas não terão lesão miocárdica, esofágica ou colônica clinicamente manifesta, caracterizando a forma indeterminada da doença. Após alguns anos, 10 a 40% dos infectados irão desenvolver algum tipo de lesão. Nessa fase crônica, o envolvimento cardíaco levando à cardiomiopatia chagásica é a mais importante manifestação clínica, devido à frequência (cerca de 20-30% dos infectados) e à gravidade do quadro que envolve uma gama de manifestações: insuficiência cardíaca, arritmias, bloqueios cardíacos, tromboembolismo, acidente vascular cerebral e morte súbita ¹⁵³.

Já foi demonstrado o papel do BNP tanto em estratégias com foco no diagnóstico da cardiomiopatia chagásica quanto no prognóstico da Doença de Chagas. BNP é marcador de disfunção sistólica na cardiomiopatia chagásica ¹⁵⁴ e apresentou maior acurácia que a abordagem diagnóstica tradicional (ECG anormal e RX tórax alterado), quando associado a qualquer uma dessas alterações ¹⁵⁵. Também foi demonstrado seu papel como marcador de disfunção diastólica na cardiomiopatia chagásica ¹⁵⁶ e da frequência de arritmias ventriculares independentemente da fração de ejeção ¹⁵⁷. Estudo realizado na coorte de Bambuí mostrou que o peptídeo é preditor independente e forte de mortalidade em dez anos entre portadores da infecção ¹⁵⁸.

Mais recentemente, foi descrito o acometimento do tecido adiposo tanto na fase aguda quanto crônica da Doença de Chagas. A presença intracelular do *T.cruzi* em adipócitos de tecido perirenal, visceral e tecido adiposo marrom foi descrita em camundongos com infecção aguda (30-90 dias), sendo observado que a carga parasitária era maior no tecido adiposo que em

¹⁵³ Biolo A, Ribeiro AL, Clausell N. Chagas cardiomyopathy--where do we stand after a hundred years? Prog Cardiovasc Dis. 2010;52(4):300-16.

¹⁵⁴ Ribeiro AL, dos Reis AM, Barros MV, de Sousa MR, Rocha AL, Perez AA, et al. Brain natriuretic peptide and left ventricular dysfunction in Chagas' disease. Lancet. 2002 Aug 10;360(9331):461-2.

¹⁵⁵ Ribeiro AL, Teixeira MM, Reis AM, Talvani A, Perez AA, Barros MV, et al. Brain natriuretic peptide based strategy to detect left ventricular dysfunction in Chagas disease: a comparison with the conventional approach. Int J Cardiol. 2006 Apr 28;109(1):34-40.

¹⁵⁶ Oliveira BM, Botoni FA, Ribeiro AL, Pinto AS, Reis AM, Nunes Mdo C, et al. Correlation between BNP levels and Doppler echocardiographic parameters of left ventricle filling pressure in patients with Chagasic cardiomyopathy. Echocardiography. 2009 May;26(5):521-7.

¹⁵⁷ Talvani A, Rocha MO, Cogan J, Maewal P, de Lemos J, Ribeiro AL, et al. Brain natriuretic peptide measurement in Chagas heart disease: marker of ventricular dysfunction and arrhythmia. Int J Cardiol. 2005 Apr 28;100(3):503-4.

¹⁵⁸ Lima-Costa MF, Cesar CC, Peixoto SV, Ribeiro AL. Plasma {beta}-type natriuretic peptide as a predictor of mortality in community-dwelling older adults with Chagas disease: 10-Year follow-up of the Bambui Cohort Study of Aging. Am J Epidemiol. 2010;172(2):190-6.

órgãos classicamente acometidos pela infecção aguda, como o coração e o baço ¹⁵⁹ ¹⁶⁰. Associado à infecção foram observados elevação local e sistêmica de substâncias pró-inflamatórias, como TNF-alfa, interleucina (IL)-1 e interferon (INF)- gama, e redução da expressão e dos níveis plasmáticos de adiponectina, substância com efeitos antiinflamatórios ¹⁶¹. Posteriormente, observou-se a presença do protozoário em tecido adiposo branco e marrom em camundongos em fase em que ainda não há parasitemia (15 dias) ou doença manifesta. Além de perfil proinflamatório semelhante ao de fases posteriores da infecção, foram descritos aumento significativo da expressão das lipases hormônio-sensível, lipase de triacilglicerol do adipócito(ATGL) e lipase lipoproteica (LPL); redução significativa de 2,8 a 4,2 vezes da área dos adipócitos. Adicionalmente, observou-se no tecido adiposo branco, elevação dos níveis de RNA mensageiro (mRNA) e da expressão do PPAR-c (*peroxisome proliferator activated receptor*), um receptor nuclear com função importante na diferenciação, proliferação e metabolismo dos adipócitos. No tecido adiposo marrom, observou-se redução dos níveis de mRNA, sem alterações dos níveis proteicos. O mesmo grupo de cientistas demonstrou acometimento do tecido adiposo durante a fase crônica da infecção em modelo animal ¹⁶² e, posteriormente, investigou a presença do parasita no tecido adiposo subcutâneo de dez pacientes portadores de cardiomiopatia chagásica avançada, encontrando parasitismo em três ¹⁶³. Em conjunto, tais achados resultaram nas hipóteses de que as alterações de níveis locais e sistêmicos de citocinas e adipocinas induzidas pela infecção do tecido adiposo pelo *T.cruzi* contribuem para alterações metabólicas em portadores de Doença de Chagas ¹⁶⁴ ¹⁶⁵ e que, a recrudescência da infecção em estados de imunossupressão é muito dependente de reservatórios do parasita no tecido adiposo.

Dessa forma, a hipótese de que a infecção por *Trypanosoma cruzi* pode alterar a relação entre BNP e obesidade é plausível biologicamente, já que a ação do protozoário no tecido adiposo e o estado inflamatório resultante podem interferir nos níveis plasmáticos e no efeito lipolítico do BNP.

¹⁵⁹ Combs TP, Nagajyothi, Mukherjee S, de Almeida CJ, Jelicks LA, Schubert W, et al. The adipocyte as an important target cell for *Trypanosoma cruzi* infection. *J Biol Chem*. 2005 Jun 24;280(25):24085-94.

¹⁶⁰ Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Thiruvur N, Weiss LM, Braunstein VL, Albanese C, et al. *Trypanosoma cruzi* infection of cultured adipocytes results in an inflammatory phenotype. *Obesity (Silver Spring)*. 2008 Sep;16(9):1992-7.

¹⁶¹ *Ibid.*

¹⁶² Combs TP, Nagajyothi, Mukherjee S, de Almeida CJ, Jelicks LA, Schubert W, et al. The adipocyte as an important target cell for *Trypanosoma cruzi* infection. *J Biol Chem*. 2005 Jun 24;280(25):24085-94.

¹⁶³ Ferreira AV, Segatto M, Menezes Z, Macedo AM, Gelape C, de Oliveira Andrade L, et al. Evidence for *Trypanosoma cruzi* in adipose tissue in human chronic Chagas disease. *Microbes Infect*. 2011 Nov;13(12-13):1002-5.

¹⁶⁴ Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Weiss LM, Chua S, Albanese C, Machado FS, et al. Chagas disease, adipose tissue and the metabolic syndrome. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 Jul;104 Suppl 1:219-25.

¹⁶⁵ Tanowitz HB, Jelicks LA, Machado FS, Esper L, Qi X, Desruisseaux MS, et al. Adipose tissue, diabetes and Chagas disease. *Adv Parasitol*. 2010;76:235-50.

1.5-ESTRUTURA DO VOLUME

A investigação destas duas questões principais resultou em dois artigos científicos. O artigo referente à primeira questão intitulado *Overweight and class I obesity are associated with lower 10-year risk of mortality in Brazilian older adults: the Bambuí Cohort Study of Ageing* está sendo avaliado para publicação em revista de Clínica Médica. O segundo artigo intitulado *B-type natriuretic peptide and anthropometric measures in a Brazilian elderly population with a high prevalence of Trypanosoma cruzi infection* foi publicado na revista *Peptides* em setembro de 2011. A seguir serão apresentados os artigos e feitas considerações finais a respeito do artigo e da tese.

2- OBJETIVOS

- A) Investigar a influência de sobrepeso e obesidade, medidos através do índice de massa corporal e da circunferência abdominal, na mortalidade em dez anos de idosos do estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento

- B) Investigar a relação entre peptídeo natriurético tipo B (BNP) e medidas antropométricas, na coorte de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento

3-ARTIGO 1

Overweight and class I obesity are associated with lower 10-year risk of mortality in Brazilian older adults: the Bambuí Cohort Study of Ageing

Alline Maria Beleigoli a, MD; Eric Boersma b, PhD; Maria de Fátima H. Diniz a,c, MD; Maria Fernanda Lima-Costa a, d, MD; Antonio Luiz Ribeiro a, c, MD

a Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Alfredo Balena, 190-Belo Horizonte, Brazil, CEP 30130-100

b Erasmus Medical Center, Department of Cardiology, room Bd38, 's Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam

c Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Alfredo Balena, 110-Belo Horizonte, Brazil, CEP 30130-100

d Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Augusto de Lima, 1715-Belo Horizonte, Brazil, CEP 30190-002

Abstract

Background Prospective studies mostly with European and North-American populations have shown inconsistent results regarding the association of overweight/obesity and mortality in older adults. Our aim was to investigate the relationship between overweight/ obesity and mortality in an elderly Brazilian population.

Methods and Findings

Participants were 1,450 (90.2% from total) individuals aged 60 years and over from the Bambuí (Brazil) community- based Cohort Study of Ageing. From 1997 to 2007, 521 participants died and 89 were lost, leading to 12,905 person-years of observation. Body mass index (BMI) and waist circumference (WC) were assessed at baseline and at the 3rd and 5th years of follow-up. Multiple imputation was performed to deal with missing values. Hazard

ratios (HR) of mortality for BMI alone (continuous and categorical), WC alone (continuous), and BMI and WC together (continuous) were estimated by extended Cox regression models, which were fitted for clinical, socioeconomic and behavioral confounders. Adjusted absolute rates of death at 10-year follow-up were estimated for the participants with complete data at baseline. Continuous BMI (HR 0.85; 95% CI 0.80-0.90) was inversely related to mortality, even after exclusion of smokers (HR 0.85; 0.80-0.90), and participants who had weight variation and died within the first 5 years of follow-up (HR 0.83; CI 95% 0.73-0.94). Overweight (BMI 25-30 kg/m²) was inversely (HR 0.76; 95%CI 0.61-0.93) and obesity (BMI \geq 30 kg/m²; HR 0.85; 95% CI 0.64-1.14) not significantly associated with mortality. Subjects with BMI between 25-35 kg/m² (23.8-25.9%) had the lowest absolute rates of death at 10-years follow-up. The association between WC and death was not significant, except when WC was adjusted for BMI, when it turned into marginally positive (HR 1.01; CI 95% 1.00-1.02).

Conclusions The usual BMI and WC cut-off points should not be used to guide public health and clinical weight control interventions in elderly in Brazil.

Keywords: Overweight; Obesity; Elderly; Mortality; Obesity paradox

3.1-INTRODUCTION

The public burden attributed to obesity relates to findings of increased morbidity and mortality associated with excessive weight in the general adult population [1]. Whether overweight and obesity lead to an increased risk of death in elderly is still debatable. Several studies have shown decreased rates of death in older adults with excessive body weight in comparison to the ones with normal weight ($18.50 \leq \text{BMI} < 25 \text{ Kg/m}^2$) [2,3,4,5,6,7]. This elderly “obesity paradox” is part of a broad range of originally unexpected findings of a protective effect of obesity on survival described in patients in dialysis [8], and with cardiovascular diseases [9],[10,11],[12]. However, large epidemiological studies with predominantly Western European and North-American populations, found that overweight (body mass index [BMI] $\geq 25 \text{ Kg/m}^2$) and obesity (BMI $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$) are positively associated with mortality with only a slight attenuation in the risk throughout the lifespan [13,14]. The controversial results on whether BMI levels associated with high risk of death in the general adult population apply to the elderly may be explained by particularities of each elderly population, such as ethnicity and lifestyle habits, differences in the methods used to assess body fat, and length of follow-up. Use of single point or longitudinal anthropometric measurements, and diverse approach to adjusting for confounders can also explain the different findings [15].

Studying this issue in other Western populations of older adults in the context of demographic, nutritional and technological transitions, such as the Brazilian one [16], is critical to planning public health policies. These strategies may be of great impact due the combination of the ageing of the population and the increase in the prevalence of obesity. In Brazil, the number of individuals with 65 years or over increased 54% in the last 20 years, and the prevalence of overweight and obesity among them raised from 30% to 55%, and from 6% to 17%, respectively [17,18]. Additionally, this investigation may aid to clarify the role of individual clinical interventions towards overweight and obesity.

The objective of this study was to investigate the relationships between overweight and obesity assessed by BMI and waist circumference (WC) at various time-points, and the overall mortality in 10 years of follow-up in the community-dwelling elderly of the Bambuí (Brazil) Cohort Study of Aging (BHAS). Additionally, we aimed at verifying whether these relationships were modified by age, gender, smoking and physical activity, and in subgroups

of non-smokers, and participants who had stable weight and did not die within the first five years of follow-up.

3.2-METHODS

3.2.1-ETHICS STATEMENT

Participants signed an informed consent form and authorized death certificate verification. The BHAS was approved by the ethics board of the Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, Brazil.

3.2.2-STUDY DESIGN AND POPULATION

The study was conducted in the Bambuí City (approximately 15,000 inhabitants), located in the state of Minas Gerais in the southeast region of Brazil. Procedures used in the BHAS have been described in detail elsewhere [19]. Briefly, the baseline cohort population comprised 1,606 (92.2%) of all the 1,742 residents aged 60 years or more on January 1, 1997, who were identified by means of a complete census carried out in the city. Baseline data collection was performed from February to May 1997, comprising standardized interviews, blood tests, blood pressure measurements, and electrocardiograms (ECGs). Bambuí city was an endemic area of Chagas disease (*Trypanosoma cruzi* infection) and the infection remained highly prevalent in old persons due to a cohort effect, despite the successful interruption of the transmission by 1970.

3.2.3-OUTCOME ASCERTAINMENT

Deaths assigned to any cause occurring from study enrolment to December 31st, 2007 were included in this analysis. Deaths reported by next of kin during the annual follow-up interview were ascertained through the Brazilian mortality information system (Sistema de Informações sobre Mortalidade) with the permission of the Ministry of Health. Death certificates were obtained for 98.9% of all deceased participants.

3.2.4-ANTHROPOMETRIC MEASUREMENTS

Two high-precision digital scales (range 0–150 kg×0.1 kg) were used for the measurement of weight (kg) and ACMS Portable Stadiometer kit (CMS Weighing Equipment Ltd., London) was used for measurements of height (cm). Waist circumference (WC) was measured at umbilicus height using inelastic tapes. The reliability of these measurements was determined by repeating them in a 5% cohort of all of the study participants. All measures were performed with individuals wearing light clothing and no shoes in the baseline and repeated in the participants who survived in 2000 and 2002 [20]. BMI was calculated using the conventional formula of weight in kilograms divided by the square of the height in meters, and categorized according to the World Health Association (WHO) convention: underweight (<18.5 Kg/m²); normal weight (18.5-24.9 Kg/m²); overweight (25-29.9 Kg/m²); obesity (≥30 Kg/m²) [21].

3.2.5-OTHER MEASURES

Systolic blood pressure was defined as the mean of the two lowest measurements out of three using standard protocols. The use of anti-hypertensive medication and digoxin was assessed by standardized interview. Fasting blood glucose and creatinine levels were measured by traditional enzymatic methods. Diagnosis of chronic Chagas disease was defined in the baseline by seropositivity of three different assays performed concurrently as detailed elsewhere [19]. Plasmatic B-type natriuretic peptide (BNP) was measured as described elsewhere and is a sensitive marker of heart dysfunction and a strong predictor of mortality in BHAS [22]. Diabetes was defined as a 12-h-fast glucose ≥126 mg/dL and/or the use of insulin or oral hypoglycaemic agents. 12-lead ECGs were digitally recorded at rest using standardized procedures, analyzed by experienced cardiologists at the ECG Reading Center (EPICARE Center, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, NC), codified according to the Minnesota Code (MC) [23], and classified as abnormal in the presence of major abnormalities [24] or of frequent supra-ventricular and ventricular premature beats (MC 8.1.1, 8.1.2 or 8.1.3). Monthly household income, education, current smoking and leisure physical activity (walking and/or practicing any other physical exercise for at least 20-30min within the last 90 days) were verified through standardized interview [19].

3.2.6-STATISTICAL ANALYSIS

We used histograms and Shapiro-Wilk tests to verify normality. Skewed variables were log-transformed. The Chi-square test for linear trends, the ANOVA and the Kruskal-Wallis tests were used, respectively, to verify differences in frequencies, mean and median for the categorical and continuous baseline variables across the BMI groups. We use the ANOVA test for repeated measures with Greenhouse-Geisser correction and the Friedman test to compare the mean and median values, respectively, of BMI and WC in 1997, 2000 and 2002. Spearman coefficients were used to calculate the correlation between BMI and WC at each time-point.

To deal with missing values, we performed missing value analysis. After assuming that these values were missing at random and performing log-transformations for variables with skewed distribution, we performed multiple imputation [25,26]. This procedure consisted in generating five complete datasets by a set of values yielded by logistic and linear regression models, for categorical and continuous variables, respectively. Both the predictors and the outcome were used to fit these models, as well as other variables of the Bambuí dataset which were thought to be related to the missing values, but were not directly implicated in the present analysis. The combination of these datasets was used to calculate hazard ratios (HR) and 95% confidence intervals (CI) of mortality for BMI alone (continuous and quadratic term, and four WHO categories), WC alone (continuous), and BMI (continuous and quadratic term) and WC (continuous). Extended Cox regression models were chosen to test these associations because the measurements of BMI and WC at baseline, 3rd and 5th years of follow-up were used as time-dependent covariates, which by definition do not satisfy the proportional hazard assumption [27]. Each model was adjusted for both an extensive and a restricted set of co-variables. The extensive model included age (continuous), gender, Chagas disease (no, yes), current smoking (no, yes), log-transformed serum B-type natriuretic peptide (continuous), the presence of major ECG abnormalities (no, yes), systolic blood pressure (continuous), total cholesterol (continuous), diabetes mellitus (no, yes), log-transformed serum creatinine levels (continuous), physical activity (< or \geq 3-5 times/week), education (never, < 4, \geq 4 school years), monthly household income (1-4, 4-10, \geq 10 minimum wage), anti-hypertensive medication (no, yes) as co-variables. In the restricted model, we excluded total cholesterol, diabetes, systolic blood pressure and anti-hypertensive treatment, in order to verify whether the presence of these intermediates on the causal pathway between obesity and mortality led to an inappropriate attenuation of the risk of mortality associated with an excess of body fat.

Results yielded by multiple imputation datasets were compared to the ones with complete data.

Additionally, we added multiplicative interaction terms between BMI/ WC, and age, gender, smoking and physical activity, and performed sensitivity analyses by investigating the relationships of interest in the subgroups of non-smokers, and of participants who did not lose ($\geq 10\%$ decrease) or gain ($\geq 10\%$ increase) weight significantly and did not die within the first five years of follow-up. The absolute rate of events in the 10-years follow-up was calculated according to each BMI unit and also to BMI WHO categories for the whole population and for the subgroups of interest by multiplying the exp (absolute risk) by the baseline survival function, which was estimated by Kaplan–Meier curves. All analyses were performed considering $p < 0.05$ as a significant level. We used SPSS 17.0 for Windows (Chicago, IL), and SAS 9.2 for Windows (Institute Inc. Cary, NC, USA).

3.3-RESULTS

Of the 1,606 cohort subjects enrolled, 1,450 had BMI measures at baseline and 89 (5.5%) were lost to follow-up. Those who were followed were older (68.9 years (SD 7.2) versus 67.3 years (SD 5.9), respectively) and had higher BMI values at baseline (24.8 kg/m², IQR 21.7-27.9, versus 23.4 kg/m², IQR 21.7-28.0; $p=0.047$) than those who were lost to follow-up. There were 12,905 person-years of observation and 521 (35.9%) deaths in a mean follow-up time of 8.9 (SD 3.1) years. Overall, 12.9% of values of all variables and cases had missing values, were imputed and used for estimation of HR. Regarding the repeated anthropometric measures, participants who survived had the following number of missing values in 2000 and 2002, respectively: 153(12.0%) and 167 (14.2%) missing weight; 160 (12.4%) and 172 (14.6%) missing height; 160 (12.4%) and 172 (14.6%) missing WC values. Median BMI was 24.8 kg/m² (IQR 21.6-28.0), 24.7 kg/m² (IQR 21.8-27.8), 24.6 kg/m² (IQR 21.6-27.9); $p < 0.001$, and mean WC was 91 cm (IQR 84-98), 90 cm(IQR 82-97), 93 cm (IQR 84-99); $p < 0.001$, at baseline, 2000 and 2002, respectively. BMI and WC were strongly correlated ($r=0.82$, $r=0.81$ and $r=0.66$, at baseline, 3rd and 5th years of follow-up, respectively). The number of subjects with waist increase was significantly different across BMI categories at baseline: one in the underweight (0.0%), 130 (20.2%) in the normal weight, 328 (63.8%) and

178 (94.2%) in the obese category ($p < 0.001$). The baseline characteristics of all the eligible subjects and according to BMI categories are depicted in Table 1.

For BMI as a continuous variable, we found a significant inverse relationship with mortality. The magnitude of HR was quite similar between the models with the whole population and in the subgroups of interest. Results did not change appreciably between the extensive and restricted set of co-variables either (Table 2). Thus, we considered the extensive models for the whole population for estimating the 10-year cumulative incidence of death. Age, gender (p for interaction=0.56 and 0.83, respectively; Figures 2 and 3) and smoking status (p for interaction=0.85) did not modify the association between BMI and mortality. Across the observed BMI values in the whole population, BMI=30 Kg/m² (23.8%) and the range between 25-35 Kg/m² (23.8-25.9%) at baseline were associated with the lowest absolute rates of death at 10-year follow-up (Figure 1). Physical activity modified the association between BMI and death (p for interaction=0.04), and the 10-year absolute mortality rate was lowest at BMI 32 kg/m² for the physically active (19.1%) and at BMI 30 kg/ m² (24.6 %) for the non-physically active (Figure 4).

In the analysis based on current BMI criteria defined by WHO, we found that compared to normal weight, underweight subjects had a higher (HR 1.54; 95% CI 1.02-1.89), and overweight (HR 0.76; 95% CI 0.61-0.93) had a lower relative risk of dying at 10-year follow-up. Obesity was not significantly associated with death (HR 0.85; 95% CI 0.64-1.14). Absolute rates of death at 10-year follow-up were lower in the overweight (24 - 27%; 95% CI 20 to 30%) and obese (24 - 25%; 95% CI 20 to 30%) categories, and higher in the underweight group (39 - 42%; 95% CI 34 to 48%) than in the normal weight category (27 - 36%; 95% CI 24 to 40%).

Neither was the relationship between WC alone and mortality significant in the whole population nor in the subgroups of interest (Table 2). This relationship was not modified by age, gender, smoking status or physical activity (p for interaction=0.63, 0.69, 0.87 and 0.09, respectively). After controlling for WC, BMI retained its protective effect on death, whereas after controlling for BMI, WC was positively associated with death in the whole population, but not in the subgroups of interest (Table 2).

3.4-DISCUSSION

The present analysis based on anthropometry at various time-points found that BMI alone and adjusted for WC is inversely related to mortality in a population of Brazilian elderly. These results did not change appreciably when we tried to minimize potential bias by excluding smokers, and participants who had weight variation and died early. Additionally, we demonstrated that when BMI was assessed by WHO categories, overweight was inversely and obesity not significantly associated with death. When the adjusted absolute rates of death were taken into account, BMI levels within the range of overweight and class I obesity were associated with the lowest rates of death in the follow-up of 10 years of the elderly of the BHAS.

Although the findings of large epidemiological studies in North-America and Europe have shown a positive association between BMI ≥ 25 kg/m² and death in older adults [13,14,28], our results are in line with several others in the fields of geriatrics/gerontology and public health [2,3,5,6,7] which did not enroll elderly by the presence of chronic diseases. The interrelations between adiposity, fitness and mortality are among the possible methodological and biological factors explanations to these different findings regarding the “obesity paradox”. Studies which investigated the issue in patients with coronary heart disease (CHD), have demonstrated that fitness influences the occurrence of the “obesity paradox” [9,29,30]. Patients with CHD with high levels of fitness survived longer than the ones with low levels of fitness, independently of BMI category [9,30], whereas overweight and obesity were protective factors in those with high fitness, but not in those with low fitness [29] in another study with middle-aged and older adults. The lack of data on fitness in the BHAS prevented us for adjusting for this potential confounder. However, we found that physical activity significantly modified the association between BMI and mortality. Although BMI values associated with the lowest rates of death were within the obesity range in both groups, the values were higher in the active than in the non-active group (32 versus 30 kg/m²). We do think that this statistical interaction implies biological synergy, not only because physical activity acts on intermediate mechanisms of death, such as oxidation, endothelial dysfunction, and insulin resistance [4,31], but also because it may be a proxy of fitness [32] and other unmeasured confounding factors, such as healthy lifestyle behavior and better functional status.

Death of the individuals more susceptible to the adverse effects of obesity leading to selective survival bias, and weight loss associated with underlying disease leading to reverse causality bias may account for an underestimation of the effect of obesity on mortality. Reverse

causality was addressed in our study by excluding both subjects who had a significant weight change between the first and last measurement and died prematurely. Since both weight loss and gain have been demonstrated to be related to chronic disease and increased mortality [33], we excluded subjects with weight variation in either direction. However, we are aware that this approach might not have fully addressed the issue [34]. The methodological approach to smoking is another factor that is thought to influence on the estimations of the effect of obesity on mortality. Given that smoking is related to both low weight and mortality, the “obesity paradox” could be explained by the protective effect of high BMI levels in smokers rather than in non-smokers [35,36]. However, this does not seem to be the case in our population as there was not a significant interaction between smoking and BMI or WC, and the protective effect of high BMI levels was consistent both after adjusting for current smoking, and after excluding smokers from the analysis.

Regarding the biological mechanisms to explain the “obesity paradox” in the elderly, a greater metabolic reserve and a potentially better nutritional status in overweight and obese subjects than in those with underweight or normal weight are possible mechanisms. Inflammatory and neuro-hormonal mechanisms, such as neutralization of the adverse effects of tumor necrosis factor (TNF)- α by soluble receptors in the adipose tissue [37], neutralization of lipopolysaccharides (stimulants of the release of inflammatory cytokines) by higher cholesterol levels in the plasma of obese, and protective alterations in the activation of neuro-hormonal pathways in the obese subjects [38], are commonly investigated to explain the “obesity paradox” in patients with cardiovascular disease (CVD). As most of these patients are elderly, it is possible that these factors may explain at some extent the existence of the “obesity paradox” in elderly not specifically enrolled by CVD as well.

An additional explanation to the findings of the “obesity paradox” mainly in the elderly and in different clinical/epidemiological settings involves the accuracy of the anthropometric measures as surrogates of adiposity. As a measure of total body mass, BMI reflects both lean and fat mass. The aging process involves decline in stature and changes in body composition, such as loss of lean and increase of fat depots, which may lead to either underestimation or overestimation of overall adiposity by BMI [39]. Normal BMI levels, thus, may reflect a combination of low muscle mass and high adiposity rather than normal adiposity, which can explain the lower survival rates of elderly within the normal BMI range, due to the well-established increased risk of disability associated with loss of muscle mass and/or function[40,41]. Contrary to this hypothesis, however, are previous findings of a strong

correlation between BMI and total body fat in the elderly [42], and of non-significant [32] and inverse association between body fat measured by more accurate methods and death in community-dwelling elderly [5]. All this suggests not only that BMI may be a good marker of adiposity in the elderly, but also that adiposity per se can be a protective factor against death. Lower rates of loss of bone mass, which may reduce the risk of falls and offer protection against trauma, and larger nutritional reserves in periods of acute stress [43] are among the potential advantages of higher amounts of body fat in older adults.

However, BMI does not reflect body fat distribution, which can be particularly important in the elderly due to body fat redistribution associated with ageing. In this regard, neither did we find a significant association between WC and death, nor between waist to hips ratio and death (data not shown). This relationship was not modified by gender, age, physical activity and smoking status. Previous studies with older adults showed contradictory results [44,45]. The positive association is usually explained by the interrelations between WC, visceral fat, and conditions considered to be pro-atherogenic, such as insulin resistance, hypertriglyceridemia, high atherogenic cholesterol profile and inflammation [42,46]. However, ethnicity and sex might change the magnitude of the correlation between WC and visceral fat [47]. We think that an attenuation of the association between WC and death might have happened in our population in case total body mass [48] and/or the abdominal subcutaneous component, which has a less pathogenic metabolic and cardiovascular profile [49], had been proportionately more important than visceral fat in determining WC values. A modest increase in the risk of death related to WC levels was observed when WC was adjusted for BMI in the whole population, but not in the subgroups of interest. These results are in line with studies with different populations of community-dwelling elderly [3,45,50], as well as in elderly patients enrolled by CHD [51]. It is argued that the adjustment of WC for BMI yields a less confounded estimate of the association between WC and mortality because under these circumstances BMI reflects better lean than fat mass [52]. This is thought to be particularly true in elderly with low BMI, but our study lacked power to detect differences in the influence of WC on mortality according to BMI categories because of both the small number of subjects in the underweight category with high WC, and of subjects in the obese category with low WC.

Our findings suggest that current BMI cut-off points established as of high risk for the adult population did not grade appropriately the risk of death in the elderly subjects of the BHAS. We believe that these results can be generalized to the Brazilian urban elderly population, due

to similarities in terms of the predominance of the female gender, educational level, prevalence of overweight and obesity, tobacco use, and diabetes, but not physical activity [18]. Hence, public policies and individual recommendations of weight loss for elderly individuals with $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ in Brazil based on the argument that lean people have longer survival do not seem adequate particularly if a proportionate reduction in WC does not accompany the reduction in BMI. However, intentional weight loss may lead to other benefits which were not evaluated in this investigation, such as the prevention of diabetes, disability and physical frailty, chronic knee and back pain [28,40]. Thus, the premises of individualization of treatments and focus on quality of life rather than on the search for the 'ideal weight' seem to be even more important in older adults. For the elderly who possibly benefit of weight loss, our findings have two main implications. First, the increased risk of death associated with WC when adjusted for BMI, suggests that interventions should be focused on reducing WC rather than BMI. Secondly, the enhanced protection of overweight/obese elderly by physical activity suggests that physical activity is a key element in the weight management in the elderly, corroborating the findings of some interventional studies [53,54].

Strengths and limitations

As far as we know, our study is unique in prospectively investigating the association of anthropometric measures and long-term mortality in a Brazilian elderly population, and provides further contribution to the field by the use of directly measured dynamic changes of BMI and WC to investigate this relationship, and not only baseline self-reported data. The minimal number of losses to follow-up (6%), the high rate of objective outcome events (35.9%), and the sensitivity analyses make our results quite confident. Moreover, the large set of co-variables allowed us to account not only for biological/clinical factors, but also for potential socioeconomic and lifestyle-related determinants of death.

Several limitations warrant mention. The risk of death in severely obese elderly was not properly addressed in our study due to the low number of subjects (14; 0.9%) within the BMI range at baseline above 40 kg/m^2 . The generalizability of the results to the elderly male population is also limited because of the small number of cases of obesity (35; 5.5%) and abdominal obesity (73; 11.4%) among men in our population. Residual confounding is possible because of lack of data on fitness and on dietary patterns, and the quite simple assessment of physical activity. The results on the influence of smoking are weakened at some

extent, due to lack of data on past habits and quantity of smoking. Moreover, further insights into the mechanisms of the “obesity paradox” are limited by the potential limitations of BMI as a surrogate of adiposity in the elderly, and by the absence of more accurate measurements of muscle mass/function, as well as of body composition and body fat distribution. It is noticeable, however, that techniques such as abdominal computed tomography or magnetic resonance imaging are expensive, difficult to use in large-scale epidemiological research and most importantly, are rarely available and not always adequate for clinical settings.

In conclusion, the inverse relationship between mortality and BMI measured at various time-points and the lack of significant association with WC alone in the 10-year follow-up of a Brazilian cohort of elderly suggest that the usual cut-off points used to grade the effect of overall and abdominal obesity on the risk of mortality in adults do not apply to the elderly. Hence, the strict use of these values to guide obesity treatment and define public policies in obesity in Brazil should be avoided. In addition, the positive association between WC and death when adjusted for BMI, and the joint protective effects of BMI and physical activity, suggest that abdominal obesity and physical activity should probably be the focuses of interventions in the elderly who are thought to benefit of weight loss.

References

1. Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH (2005) Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA* 293: 1861-1867.
2. Dolan CM, Kraemer H, Browner W, Ensrud K, Kelsey JL (2007) Associations between body composition, anthropometry, and mortality in women aged 65 years and older. *Am J Public Health* 97: 913-918.
3. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R (2005) Body mass index is inversely related to mortality in older people after adjustment for waist circumference. *J Am Geriatr Soc* 53: 2112-2118.
4. Flicker L, McCaul KA, Hankey GJ, Jamrozik K, Brown WJ, et al. (2010) Body mass index and survival in men and women aged 70 to 75. *J Am Geriatr Soc* 58: 234-241.
5. Auyeung TW, Lee JS, Leung J, Kwok T, Leung PC, et al. (2010) Survival in older men may benefit from being slightly overweight and centrally obese--a 5-year follow-up study in 4,000 older adults using DXA. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65: 99-104.
6. McAuley P, Pittsley J, Myers J, Abella J, Froelicher VF (2009) Fitness and fatness as mortality predictors in healthy older men: the veterans exercise testing study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64: 695-699.
7. Kulminski AM, Arbeev KG, Kulminskaya IV, Ukraintseva SV, Land K, et al. (2008) Body mass index and nine-year mortality in disabled and nondisabled older U.S. individuals. *J Am Geriatr Soc* 56: 105-110.
8. McAuley PA, Blair SN (2011) Obesity paradoxes. *J Sports Sci* 29: 773-782.
9. Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO (2009) Obesity and Cardiovascular Disease Risk Factor, Paradox, and Impact of Weight Loss. *J Am Coll Cardiol* 53: 1925-1932.
10. Uretsky S, Messerli FH, Bangalore S, Champion A, Cooper-Dehoff RM, et al. (2007) Obesity paradox in patients with hypertension and coronary artery disease. *Am J Med* 120: 863-870.
11. Clark AL, Fonarow GC, Horwich TB (2011) Waist circumference, body mass index, and survival in systolic heart failure: the obesity paradox revisited. *J Card Fail* 17: 374-380.

12. Badheka AO, Rathod A, Kizilbash MA, Garg N, Mohamad T, et al. (2010) Influence of obesity on outcomes in atrial fibrillation: yet another obesity paradox. *Am J Med* 123: 646-651.
13. Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, Flint AJ, Hannan L, et al. (2010) Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *N Engl J Med* 363: 2211-2219.
14. Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, et al. (2009) Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet* 373: 1083-1096.
15. He J, McGee D, Niu X, Choi W (2009) Examining the dynamic association of BMI and mortality in the Framingham Heart Study. *Int J Environ Res Public Health* 6: 3115-3126.
16. <https://apps.who.int/infobase/CountryProfiles.aspx>.
17. Tavares EL, Anjos LA (1999) Anthropometric profile of the elderly Brazilian population: results of the National Health and Nutrition Survey, 1989. *Cad Saude Publica* 15: 759-768.
18. <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/>.
19. Lima-Costa MF, Firmo JO, Uchoa E (2011) Cohort profile: the Bambui (Brazil) Cohort Study of Ageing. *Int J Epidemiol* 40: 862-867.
20. Beleigoli AM, Lima-Costa MF, Diniz Mde F, Ribeiro AL (2011) B-type natriuretic peptide and anthropometric measures in a Brazilian elderly population with a high prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection. *Peptides* 32: 1787-1792.
21. (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 894: i-xii, 1-253.
22. Lima-Costa MF, Cesar CC, Peixoto SV, Ribeiro AL (2010) Plasma {beta}-type natriuretic peptide as a predictor of mortality in community-dwelling older adults with Chagas disease: 10-Year follow-up of the Bambui Cohort Study of Aging. *Am J Epidemiol* 172: 190-196.
23. Prineas RJ, Crow RS, H. B (1982) *The Minnesota Code Manual of Electrocardiographic Findings*. Littleton, MA: John Wright-PSG.

24. Denes P, Larson JC, Lloyd-Jones DM, Prineas RJ, Greenland P (2007) Major and minor ECG abnormalities in asymptomatic women and risk of cardiovascular events and mortality. *JAMA* 297: 978-985.
25. Sterne JA, White IR, Carlin JB, Spratt M, Royston P, et al. (2009) Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research: potential and pitfalls. *BMJ* 338: b2393.
26. Klebanoff MA, Cole SR (2008) Use of multiple imputation in the epidemiologic literature. *Am J Epidemiol* 168: 355-357.
27. Kleinbaum DG, Klein M (2005) *Survival Analysis. A Self-Learning Text*; Gail M, Krickeberg K, Samet J, Tsiatis A, Wong W, editors. Atlanta, GA: Springer.
28. Wee CC, Huskey KW, Ngo LH, Fowler-Brown A, Leveille SG, et al. (2011) Obesity, race, and risk for death or functional decline among Medicare beneficiaries: a cohort study. *Ann Intern Med* 154: 645-655.
29. McAuley PA, Kokkinos PF, Oliveira RB, Emerson BT, Myers JN (2010) Obesity paradox and cardiorespiratory fitness in 12,417 male veterans aged 40 to 70 years. *Mayo Clin Proc* 85: 115-121.
30. Goel K, Thomas RJ, Squires RW, Coutinho T, Trejo-Gutierrez JF, et al. (2011) Combined effect of cardiorespiratory fitness and adiposity on mortality in patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 161: 590-597.
31. Knuops KT, de Groot LC, Kromhout D, Perrin AE, Moreiras-Varela O, et al. (2004) Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA* 292: 1433-1439.
32. Sui X, LaMonte MJ, Laditka JN, Hardin JW, Chase N, et al. (2007) Cardiorespiratory fitness and adiposity as mortality predictors in older adults. *JAMA* 298: 2507-2516.
33. Rapp K, Klenk J, Ulmer H, Concini H, Diem G, et al. (2008) Weight change and cancer risk in a cohort of more than 65,000 adults in Austria. *Ann Oncol* 19: 641-648.
34. Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Cooper RS (2011) Reverse causation and illness-related weight loss in observational studies of body weight and mortality. *Am J Epidemiol* 173: 1-9.

35. Zamboni M, Mazzali G, Zoico E, Harris TB, Meigs JB, et al. (2005) Health consequences of obesity in the elderly: a review of four unresolved questions. *Int J Obes (Lond)* 29: 1011-1029.
36. Oreopoulos A, Kalantar-Zadeh K, Sharma AM, Fonarow GC (2009) The obesity paradox in the elderly: potential mechanisms and clinical implications. *Clin Geriatr Med* 25: 643-659, viii.
37. Feldman AM, Combes A, Wagner D, Kadakomi T, Kubota T, et al. (2000) The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 35: 537-544.
38. Weber MA, Neutel JM, Smith DH (2001) Contrasting clinical properties and exercise responses in obese and lean hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 37: 169-174.
39. Wannamethee SG, Shaper AG, Lennon L, Whincup PH (2007) Decreased muscle mass and increased central adiposity are independently related to mortality in older men. *Am J Clin Nutr* 86: 1339-1346.
40. Baumgartner RN, Wayne SJ, Waters DL, Janssen I, Gallagher D, et al. (2004) Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obes Res* 12: 1995-2004.
41. Al Snih S, Ottenbacher KJ, Markides KS, Kuo YF, Eschbach K, et al. (2007) The effect of obesity on disability vs mortality in older Americans. *Arch Intern Med* 167: 774-780.
42. Storti KL, Brach JS, FitzGerald SJ, Bunker CH, Kriska AM (2006) Relationships among body composition measures in community-dwelling older women. *Obesity (Silver Spring)* 14: 244-251.
43. Bouillanne O, Dupont-Belmont C, Hay P, Hamon-Vilcot B, Cynober L, et al. (2009) Fat mass protects hospitalized elderly persons against morbidity and mortality. *Am J Clin Nutr* 90: 505-510.
44. Reis JP, Macera CA, Araneta MR, Lindsay SP, Marshall SJ, et al. (2009) Comparison of overall obesity and body fat distribution in predicting risk of mortality. *Obesity (Silver Spring)* 17: 1232-1239.
45. Jacobs EJ, Newton CC, Wang Y, Patel AV, McCullough ML, et al. (2010) Waist circumference and all-cause mortality in a large US cohort. *Arch Intern Med* 170: 1293-1301.

46. Snijder MB, Visser M, Dekker JM, Seidell JC, Fuerst T, et al. (2002) The prediction of visceral fat by dual-energy X-ray absorptiometry in the elderly: a comparison with computed tomography and anthropometry. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26: 984-993.
47. Camhi SM, Bray GA, Bouchard C, Greenway FL, Johnson WD, et al. (2011) The relationship of waist circumference and BMI to visceral, subcutaneous, and total body fat: sex and race differences. *Obesity (Silver Spring)* 19: 402-408.
48. Harris TB, Visser M, Everhart J, Cauley J, Tylavsky F, et al. (2000) Waist circumference and sagittal diameter reflect total body fat better than visceral fat in older men and women. The Health, Aging and Body Composition Study. *Ann N Y Acad Sci* 904: 462-473.
49. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, et al. (2007) Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 116: 39-48.
50. Guallar-Castillon P, Balboa-Castillo T, Lopez-Garcia E, Leon-Munoz LM, Gutierrez-Fisac JL, et al. (2009) BMI, waist circumference, and mortality according to health status in the older adult population of Spain. *Obesity (Silver Spring)* 17: 2232-2238.
51. Coutinho T, Goel K, Correa de Sa D, Kragelund C, Kanaya AM, et al. (2011) Central obesity and survival in subjects with coronary artery disease: a systematic review of the literature and collaborative analysis with individual subject data. *J Am Coll Cardiol* 57: 1877-1886.
52. Hu FB (2008) Measurements of adiposity and body composition In: Hu FB, editor. *Obesity Epidemiology*. New York, NY: Oxford University Press. pp. 53-83.
53. Villareal DT, Chode S, Parimi N, Sinacore DR, Hilton T, et al. (2011) Weight loss, exercise, or both and physical function in obese older adults. *N Engl J Med* 364: 1218-1229.
54. Messier SP, Loeser RF, Miller GD, Morgan TM, Rejeski WJ, et al. (2004) Exercise and dietary weight loss in overweight and obese older adults with knee osteoarthritis: the Arthritis, Diet, and Activity Promotion Trial. *Arthritis Rheum* 50: 1501-1510.

Table 1- Characteristics of participants with Body Mass Index (BMI) measured at baseline, and comparison according to BMI category.

Characteristics	Total	BMI category				P value*
		Underweight	Normal weight	Overweight	Obesity	
	(n=1450)	(n=104;7.2%)	(n=643;44.3%)	(n=514;35.4%)	(n=189;13.0%)	
Deaths, n (%)	521 (35.9)	58 (58.6)	262 (41.5)	145 (28.8)	56 (30.3)	0.01
Age, mean (SD)	68.9 (7.0)	72 (7.0)	69 (7.0)	68 (7.0)	67 (6.0)	<0.001
Female sex, n (%)	879 (60.9)	58 (55.8)	337 (52.4)	330 (64.2)	154 (81.5)	<0.001
Smoking, n (%)	251 (17.7)	33 (33.3)	150 (23.8)	55 (10.9)	13 (7.0)	<0.001
BNP in pg/ml, median (IQR)	80 (43-148)	102 (56-163)	87 (49-160)	74 (40-136)	65 (35-131)	0.010
Chagas disease	536 (37.8)	57 (57.6)	263 (41.7)	155 (30.8)	61 (33.0)	<0.001
Systolic blood pressure in mm Hg, mean (SD)	137 (22.4)	130 (24.0)	137 (24.0)	139 (21.0)	140 (21.0)	0.002
Diabetes mellitus, n (%)	207 (14.6)	6 (6.1)	63 (10.0)	83 (16.5)	55 (29.7)	<0.001
Serum creatinine in	0.85 (0.77-	0.90 (0.77-1.01)	0.86 (0.76-0.99)	0.85 (0.75-0.98)	0.83 (0.71-0.98)	0.070

mg/dL, median (IQR)	0.99)					
Total cholesterol , mean (SD)	234 (49.2)	231 (49.0)	239 (50.0)	235 (49.0)	236(48.0)	0.008
ECG with major abnormalities†	574 (40.5)	49 (49.5)	279 (44.2)	179 (35.5)	67 (36.2)	0.001
Physically active‡, n (%)	312 (21.5)	10 (9.6)	123 (19.1)	139 (27.1)	40 (21.2)	0.002
Education§, n (%)						
Lower	454 (31.3)	47 (45.2)	236 (36.7)	125 (24.3)	46 (24.3)	
Intermediate	837 (57.7)	54 (51.9)	354 (55.1)	321 (62.5)	108 (57.1)	<0.001
Higher	159 (11.0)	3 (2.9)	53 (8.2)	68 (13.2)	35 (18.5)	
Monthly household income , n (%)						
Lower	962 (66.9)	79 (76.7)	459 (71.8)	310 (61.0)	114 (60.3)	
Intermediate	358 (24.9)	23 (22.3)	136 (21.3)	148 (29.1)	51 (27.0)	<0.001
Higher	119 (8.3)	1 (1.0)	44 (6.9)	50 (9.8)	24 (12.7)	

*P value: Student's t test, Pearson's chi-square test for trends and the Kruskal Wallis test for differences between means, frequencies and medians, respectively †Major ECG abnormalities were defined by the following alterations and Minnesota codes (MC): ventricular conduction defect (MC 7.1, 7.2, 7.4, or 7.8); possible old myocardial infarction (MC 1.1.x, 1.2.x and 1.3.x and (4.1.x, 4.2, 5.1, or 5.2)), major isolated ST segment and T wave abnormalities (MC 4.1.x, 4.2, 5.1, or 5.2), left ventricular hypertrophy (MC 3.1 and (4.1.x, 4.2, 5.1, or 5.2)), atrial fibrillation (MC 8.3.1, 8.3.3), major atrio-ventricular conduction abnormalities (MC 6.1.1, 6.2.1,

6.2.2, 6.2.3, 6.4.1, 8.6.1, 8.6.2), pacemaker use (MC 6.8.1) , other major arrhythmias (MC 8.2.1, 8.2.2, 8.2.3, 8.2.4, 8.3.2, 8.3.4, 8.4.2), frequent supraventricular and ventricular premature beats (MC 8.1.1, 8.1.2 or 8.1.3) ‡
Leisure physical activity (walking or any other physical exercise) for at least 20-30min, ≥ 3 -5 times/week §
Education: lower category-never studied, intermediate category < 4 school years, higher category ≥ 4 school years) || Monthly household income in minimum wages (lower category 1-4 , intermediate category 4-10, higher category ≥ 10)

Table 2- Hazard ratios (HR) and 95% confidence intervals (95% CI) of mortality related to body mass index (BMI) and waist circumference (WC)

Models		HR (95% CI) Multiple Imputation dataset		HR (95% CI) Complete dataset	
		BMI	WC	BMI	WC
All participants	Unadjusted	0.78 [§] (0.74-0.82)	0.99 (0.98 -1.00)	0.77 [§] (0.72-0.83)	0.99 (0.98-1.00)
	Restricted model*	0.86 [§] (0.81- 0.91)	1.00 (0.99-1.01)	0.85 [§] (0.79-0.92)	1.00 (0.99-1.01)
	Extensive model†	0.85 [§] (0.80-0.90)	1.00 (0.99-1.00)	0.85 [§] (0.79-0.92)	1.00 (1.00-1.02)
	BMI and WC together‡	0.81 [§] (0.76-0. 86)	1.01 (1.00-1.02)	0.81 [§] (0.73-0.89)	1.00 (1.00-1.03)
	Unadjusted	0.79 [§] (0.75-0. 83)	0.99 (0.98-1.00)	0.77 [§] (0.71-0.83)	0.99 (0.98-1.00)
	Restricted model	0.86 [§] (0.81-0.91)	1.00 (0.99-1.01)	0.85 [§] (0.78-0.92)	1.00 (0.99-1.01)
Exclusion of smokers	Extensive model	0.85 [§] (0.80-0. 90)	1.00 (0.99-1.00)	0.84 [§] (0.77-0.91)	1.00 (0.99-1.01)
	BMI and WC together	0.82 [§] (0.76-0.88)	1.01 (0.99-1.02)	0.82 [§] (0.73-0.92)	1.00 (0.99-1.03)

Exclusion of participants who lost or gained 10% or more of the weight at baseline and died within 5 years of follow-up	Unadjusted	0.75 [§] (0.67-0.84)	0.99 (0.98-1.00)	0.85 [§] (0.79 -0.91)	1.00 (0.99- 1.01)
	Restricted model	0.82 [§] (0.73-0.93)	1.00 (0.99-1.01)	0.85 [§] (0.79-0.91)	0.99 (0.98-1.01)
	Extensive model	0.83 [§] (0.73-0.94)	1.00 (0.99-1.01)	0.82 [§] (0.74-0.90)	1.00 (0.99-1.01)
	BMI and WC together	0.80 [§] (0.71-0.90)	1.01 (1.00-1.03)	0.81 [§] (0.72 -0.91)	1.01 (0.99 -1.03)

*Restricted model: Time-dependent BMI (continuous and quadratic term) or WC (continuous) plus age, sex, smoking (no, yes), Chagas disease (no, yes), log-transformed creatinine (continuous), log-transformed BNP levels (continuous), major ECG abnormalities (no, yes), physical activity within the last 90 days (no, yes), household income (<4, 4-10, ≥10 minimum wage), and education (never, 1-4, ≥4 years)† Extensive model: Restricted model plus diabetes (no, yes), total cholesterol (continuous), systolic blood pressure (continuous), anti-hypertensive treatment (no, yes).‡BMI and WC together: BMI (continuous and quadratic term), WC (continuous) plus extensive model § p<0.001; ||p<0.05; all other values p>0.05

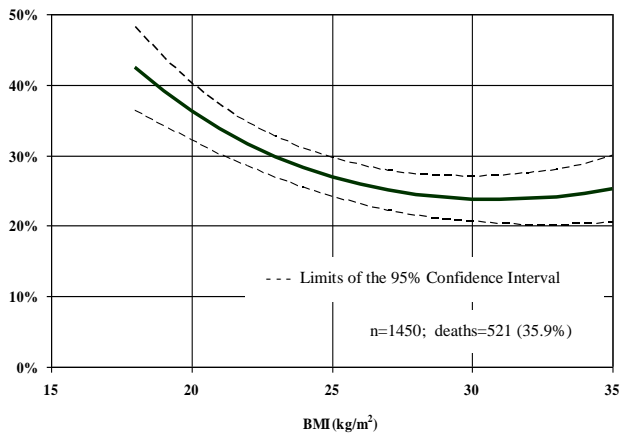


Figure 1-10-year cumulative incidence of death per BMI unit at baseline

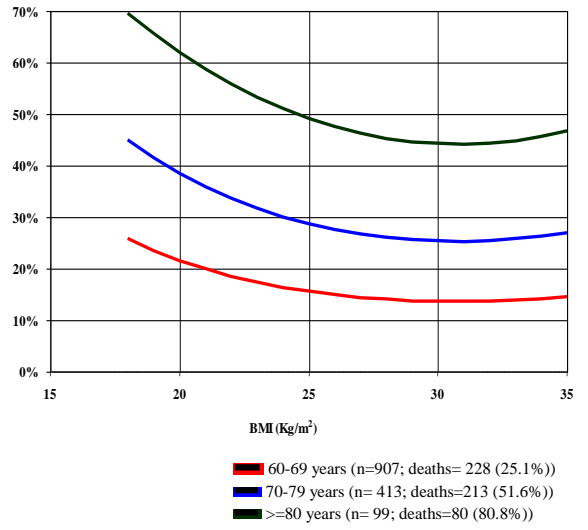


Figure 2-10-year cumulative incidence of death per BMI unit at baseline according to age groups

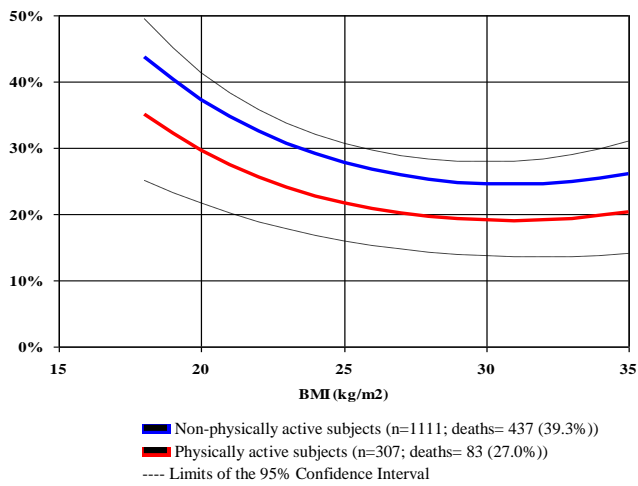


Figure 3-10-year cumulative incidence of death per BMI unit at baseline according to physical activity status

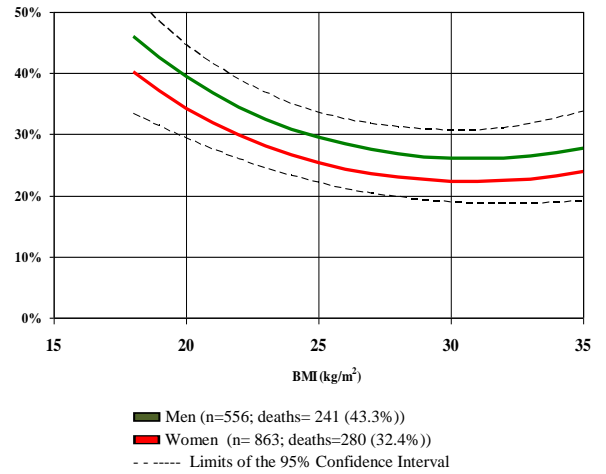


Figure 4-10-year cumulative incidence of death per BMI unit at baseline according to gender

4- ARTIGO 2

B-type natriuretic peptide and anthropometric measures in a Brazilian elderly population with a high prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection

Authors: Alline Maria Beleigoli, MD

Maria Fernanda Lima-Costa, MD, PhD

Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz, MD, PhD

Antônio Luiz Ribeiro, MD, PhD

Abstract

B-type natriuretic peptide (BNP) is a diagnostic and prognostic tool in Chagas disease, which is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and has cardiomyopathy as a main feature. BNP lipolytic actions and *T. cruzi* infection in the adipose tissue have been recently described. We aim to investigate the relationship between BNP levels and anthropometric measures and whether this association is influenced by *T. cruzi* infection. We measured BNP, body mass index (BMI), waist circumference (WC), triceps skin-fold thickness (TSF) and performed serological, biochemical and electrocardiographic exams in 1,398 subjects (37.5% infected with *T. cruzi*) in a community-dwelling elderly population in Bambuí city, Brazil. Linear multivariate regression analysis was performed to investigate determinants of BNP levels. BNP levels were significantly ($p < 0.05$) higher in *T. cruzi*-infected subjects than in the non-infected group (median = 121 and 64 pg/mL, respectively). BMI, WC and TSF in infected subjects were significantly lower than those in non-infected subjects (24.3 vs. 25.5 kg/m²; 89.2 vs. 92.4 cm; and 14.5 vs. 16.0 mm, respectively). There was an inverse relationship between BNP levels and BMI ($b = -0.018$), WC ($b = -0.005$) and TSF ($b = -0.193$) levels. The infected and non-infected groups showed similar inverse relationships between BNP and BMI ($b = -0.014$ and $b = -0.015$, respectively). In conclusion, there was an inverse relationship between BNP levels and the anthropometric measures. Despite the *T. cruzi* actions in the adipose tissue, the infection did not modify the associations between BNP and BMI, suggesting that body mass does not modify the accuracy of BNP in Chagas disease.

Key-words: B-type natriuretic peptide; body mass index; anthropometric measures; Chagas disease; metabolism; adipose tissue

3.1-INTRODUCTION

B-type natriuretic peptide (BNP), a 32-amino-acid peptide member of the natriuretic peptide (NP) family, is released by ventricular cardiomyocytes under high pressure and volume overload states. Vasodilation, diuresis, natriuresis, and inhibition of the activities of the renin–angiotensin–aldosterone and the sympathetic nervous systems are among its hemodynamic actions. In clinical practice, BNP plasmatic measurement is used both as a diagnostic tool for exclusion of heart failure [21] and as a predictor of coronary heart disease, stroke, and other cardiovascular outcomes [11]. An additional but less well studied function of BNP is its action as a promoter of lipolysis in the adipose tissue, which has generated speculation regarding its involvement in the biological mechanisms of obesity and cardiac cachexia[4, 14, 32]. Population-based studies performed in North America, Europe and Asia have shown that body mass index (BMI) is inversely related to BNP levels, and, consequently, obese individuals have lower BNP levels than lean ones, even in the presence of heart failure [8, 9, 20, 38]. Few studies have addressed the influence of other measures of adiposity on BNP levels that may be important in the application of the peptide as a diagnostic or prognostic tool [9, 33].

Cardiomyopathy is the main feature of Chagas disease [6], a disorder caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, endemic in South America and Central America. It is characterized by heart block, ventricular arrhythmia, and heart failure with left ventricular systolic and/or diastolic dysfunction. Left ventricular systolic and diastolic dysfunctions are associated with higher BNP levels [2, 29]. Recently, a large community-based study showed that there was a graded and strong cross-sectional relationship between BNP levels and *T. cruzi* infection in old age and that BNP is an independent predictor for the 10-year mortality rate in infected elderly [16]. In addition, adipose tissue has been described as an important target organ for *T. cruzi* infection [24]. To our knowledge, the effect of *T. cruzi* infection on the relationship between BNP and BMI or other anthropometric measures is unknown.

We aimed to investigate the relationship between BNP and anthropometric measures (BMI, waist circumference and triceps skin-fold thickness) in a large community-dwelling elderly population in Brazil. An additional objective was to examine whether *T. cruzi* infection has an influence on these associations.

3.2- MATERIAL AND METHODS

3.2.1-STUDY POPULATION

The study was conducted in Bambuí city (~15,000 inhabitants), which is situated in the southeastern Brazil and is one of the oldest known endemic areas for Chagas disease. The procedures used in the Bambuí Cohort Study of Aging have been described in detail elsewhere [17]. Briefly, the baseline cohort population comprised all residents who were 60 years old or older on January 1, 1997, and who were identified by means of a complete census conducted in the city. A total of 1,606 (92.2%) of the 1,742 eligible residents participated. The present study is based on the baseline data collection, performed in 1997, comprising standardized interviews, blood tests, blood pressure measurements, and electrocardiogram (ECG).

Participants signed an informed consent form and authorized death-certificate verification. The Bambuí Cohort Study of Aging was approved by the ethics board of the Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

3.2.2-BNP MEASUREMENT

Blood samples for the measurement of BNP were collected in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). BNP was measured using a microparticle-based immunoassay (MEIA/AxSYM, Abbott Laboratories). The lower limits of detection and the average interassay coefficients of variation were less than 15 pg/mL and 12%, respectively. Subjects were asked to fast for 12 hours prior to an early-morning (6:30–8:30 AM) phlebotomy. The samples were aliquoted and stored at -80°C until used.

3.2.3-BODY MASS INDEX AND THE OTHER ANTHROPOMETRIC MEASURES

Anthropometric measures used in the analysis were BMI, waist circumference and triceps skin-fold thickness. Two high-precision digital scales (range 0-150 kg x 0.1 kg) were used for the measurement of weight (kg) and height (cm). BMI was calculated using the conventional formula of weight in kilograms divided by the square of the height in meters. A CMS Portable

Stadiometer kit (CMS Weighing Equipment Ltd., London) was used for measurements of the waist circumference (WC) at umbilicus height and triceps skin-fold thickness (TSF) (mm). The reliability of these measurements was determined by repeating them in a 5% cohort of all of the study participants[18]. All measures were performed with individuals wearing light clothing and no shoes.

3.2.4-*TRYPANOSOMA CRUZI* INFECTION

Infection with *T. cruzi* at baseline was assessed by concurrently performing a hemagglutination assay (Biolab Mérieux SA, Rio de Janeiro, Brazil) and two enzyme-linked immunosorbent assays (Abbott Laboratories, Inc., North Chicago, Illinois; and Wiener Laboratories, Rosario, Argentina). The agreement (Cohen's kappa) among these assays was 0.989 ($P < 0.001$). Seropositivity in all three examinations was the criterion for the presence of infection; absence of infection was defined as consistent seronegativity.

3.2.5-OTHER MEASURES

The following other measures that had been previously described as being associated with BNP levels were included in this study: age, sex, systolic blood pressure, diabetes mellitus, creatinine, and possible old myocardial infarction [23, 37, 39]. In addition, the ECG abnormalities related with Chagas disease that have already been associated with increased BNP levels in Bambui cohort population were considered in the analysis[16]. Systolic blood pressure was defined as the mean of two out of three measurements using standard protocols. Fasting blood glucose and creatinine levels were assessed by traditional enzymatic methods. Diabetes was defined as a 12-hour-fast glucose ≥ 126 mg/dL and/or the use of insulin or oral hypoglycemic agents. Electrocardiographic variables were verified by 12-lead ECGs digitally recorded at rest using standardized procedures. ECGs were analyzed by experienced cardiologists at the ECG Reading Center (EPICARE Center, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina) and classified according to the Minnesota code criteria [28]. ECG abnormalities considered in this study were possible history of myocardial infarction (Minnesota codes 1.3.x and 4.1.x, 4.2, 5.1, or 5.2), complete intra-ventricular block (Minnesota code 7.1, 7.2, 7.4, or 7.8) and frequent ventricular premature beats (Minnesota code 8.1.2 or 8.1.3).

3.2.6-STATISTICAL ANALYSIS

Verification of the normal distribution of continuous data was accomplished by construction of histograms and normal plots. Variables with a skewed distribution were log-transformed. Continuous variables were described by the mean and standard deviation or the median and the inter-quartile range. Participant characteristics, stratified by *T. cruzi*-infection, were compared by the Student's t-test, Pearson's chi-square test or the Mann-Whitney two-sample rank-sum test for differences between means, frequencies or medians, respectively. Multivariable linear regression models were performed with the log BNP as the dependent variable to assess the association of BNP with anthropometric measures. One model with only one anthropometric measure was performed for each of the anthropometric measures of interest (BMI, waist circumference and triceps skin-fold thickness) to prevent collinearity. In each model, we first estimated the crude association between BNP level and the anthropometric measure under study. Next, we incrementally adjusted for age and sex and for the presence of Chagas disease, systolic blood pressure, diabetes mellitus, log-transformed serum creatinine levels, possible history of myocardial infarction, complete intra-ventricular block and frequent ventricular premature beats on an ECG. Afterwards, we performed an additional analysis to examine the influence of *T. cruzi* infection on the relationship between the anthropometric measures and BNP. We tested the null hypothesis by comparing the regression coefficients of infected persons with non-infected persons ($H_0: B_{CHD} = B_{non-CHD}$, where B_{CHD} is the regression coefficient for infected and $B_{non-CHD}$ is the regression coefficient for non-infected) [1]. All tests were two-sided and a significance level of 5% was used. Statistical analyses were conducted using STATA 10.1 statistical software (Stata Corporation, College Station, Texas).

3.3-RESULTS

Of the 1,606 cohort subjects enrolled, 1,398 participants (87.1%) for whom complete data on all study variables were available were included in this analysis. Exclusion criteria included the absence of blood tests for BNP concentration and/or *T. cruzi* infection ($n = 132$), missing data for any other variable in the study ($n = 59$), and inconclusive results for *T. cruzi* infection ($n = 17$). The subjects included in the analysis were younger than those who were excluded

(mean ages were 68.9 years (standard deviation (SD), 7.0) and 72.4 years (SD, 9.3), respectively; $P < 0.001$).

The baseline prevalence of *T. cruzi* infection was 37.5%, comprising 524 and 874 participants in the *T. cruzi*-infected and non-infected groups, respectively. Females were predominant in both groups (67.9% and 56.5%, respectively). The median BNP level was 80 pg/mL (interquartile range (IQ) 43–148), with significantly higher values in the *T. cruzi*-infected than in the non-infected group (median BNP 121 pg/mL (IQ, 63-204.5) versus 64 pg/mL (IQ 34-112), respectively). Regarding the anthropometric measures, BMI was significantly lower in the *T. cruzi*-infected than in the non-infected group (24.3 (SD 5.0) versus 25.5 (SD 4.8), respectively). Waist circumference (89.2 cm (SD 11.2) versus 92.4 cm (SD 11.0)) and triceps skin-fold thickness (14.5 mm (IQ 10.2-22.2) versus 16.0 mm (IQ 11.0-23.0) were significantly lower in infected than in non-infected individuals. Overall participant characteristics and characteristics for each group are depicted in Table 1.

We found an inverse relationship between BNP levels and BMI, which was independent of age and sex ($B = -0.024$; 95% CI -0.034 to -0.013; $p < 0.001$). This association remained highly significant in the fully adjusted model ($B = -0.018$; 95% CI -0.028 to -0.008; $p < 0.001$). We also found an inverse association between waist circumference and BNP levels in the age-sex adjusted model ($B = -0.008$; 95% CI -0.013 to -0.004; $p < 0.001$) and in the fully adjusted model ($B = -0.005$; 95% CI -0.010 to -0.001; $p < 0.05$). Furthermore, an inverse relationship between BNP levels and triceps skin-fold thickness was also found in both univariate and adjusted models ($B = -0.193$; 95% CI -0.306 to -0.081; $p < 0.01$) (Table 2).

Table 3 shows the final results of the multivariate analysis for the association between BNP and anthropometric measures, stratified by *T. cruzi* infection. Both *T. cruzi*-infected ($B = -0.022$; 95% CI -0.039 to -0.005; $p = 0.013$) and non-infected ($B = -0.015$; 95% CI -0.028 to -0.003; $p = 0.017$) subjects showed a significant inverse association between BNP levels and BMI. Statistically significant associations between BNP levels and waist circumference ($B = -0.009$; 95% CI -0.017 to -0.002; $p = 0.017$) and triceps skin-fold thickness ($B = -0.328$; 95% CI -0.517 to -0.139; $p = 0.001$) were verified among *T. cruzi*-infected subjects; however, this association was not statistically significant in the non-infected group ($B = -0.003$; CI -0.008 to 0.002; $p = 0.222$ and $B = -0.105$; CI -0.246 to 0.362; $p = 0.145$, respectively). In addition, the differences of the regression coefficients between the infected and non-infected groups were not statistically significant for any of the anthropometric measures considered in the present

analysis (p values = 0.562, 0.178 and 0.390 for BMI, waist circumference and log triceps skin-fold, respectively).

3.4-DISCUSSION

The results of this cross-sectional study of community-dwelling elderly with a high prevalence of *T. cruzi* infection showed an inverse relationship between BMI and BNP levels. This association was independent of age, sex, systolic blood pressure, diabetes mellitus, blood creatinine, and selected ECG abnormalities previously reported as being associated with increased BNP levels. Most important, our results showed for the first time that this inverse association is also present in elderly individuals infected with *T. cruzi*.

Population-based studies have demonstrated an inverse relationship between BNP and BMI [9, 33, 38]. This relationship seems to be consistent throughout diverse clinical contexts, such as acute dyspnea in the emergency department [20] and ambulatory patients with metabolic syndrome [37]. A recent review performed by our group showed low BNP levels in obese subjects, even when they presented with heart failure [4]. Lower BNP levels have been proposed to maintain the diagnostic accuracy of the peptide in obese patients [8]. To the best of our knowledge, none of these studies specifically addressed the relationship between BNP and BMI in elderly subjects.

The findings of an inverse association between BNP and BMI are considered paradoxical because higher BMI levels are associated with a pressure and volume overload in the heart, which should lead to increased BNP secretion by cardiomyocytes. Most likely, there is a connection between the recently described action of NP as potent activators of lipolysis in adipocytes, their role in the perpetuation of obesity states and the paradoxically low levels of BNP in obese subjects [31]. Binding of NP to the trans-membrane type-A receptor (NPAr) in adipocytes leads to increased levels of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) and the activation of human phospholipase and perilipin A. This activation ultimately results in the hydrolyzation of triglycerides into non-esterified fatty acids and glycerol [32]. NP clearance receptors (NPCr) are also highly expressed in human adipose tissue and could contribute to

increased clearance and the consequent low levels of circulating NP in obesity. However, the fact that the biologically inactive amino-terminal fraction of BNP (NT-proBNP), which is not degraded by NPCr, is also decreased in obese persons weakens this hypothesis [30]. Hence, alternative explanations for the reduced levels of BNP in obese subjects involve increased degradation of NP by neutral endopeptidases, which are zinc metallo-peptidases widely expressed in the vasculature, or by the action of phosphodiesterases, which are biological regulators of cGMP activity [22].

Another important role of BNP is related to its prognostic value, which has been extensively investigated in heart failure [5], acute coronary syndrome [19]. In the elderly, BNP is an independent predictor of mortality from heart failure [12, 27, 35] and from non-cardiac conditions [3, 36, 40]. BMI is also a predictor of overall mortality in the elderly- underweight and obese older subjects are at greater risk of death than normal weight and overweight persons [7]. BMI also predicts mortality in subjects with heart failure, with lower mortality rates in the overweight and obese categories, a phenomenon called obesity paradox [26]. Thus, it is appropriate to consider whether the relation between BNP and BMI affects the prognostic role of BNP. In subjects with Chagas disease, increased BNP levels are independent predictors of mortality in both clinical settings and in the community [16]; however, the influence of BMI on this association warrants further investigation.

Adipocytes are an important target of *T. cruzi* infection and a reservoir from which parasites can be reactivated during periods of immunosuppression [24, 25]. Furthermore, individuals with Chagas disease and chronic heart failure with high NP levels have low leptin levels that are independent of BMI levels [13]. We sought to determine whether there is a connection between natriuretic peptides, the inflammatory phenotype induced by infection in the adipocytes and the consequences on adipocytokines. The denervation of the sympathetic nervous system induced by *T. cruzi* in both the heart and the adipose tissue [10] can also be related to energy stores, metabolic profile and BMI in Chagas disease. We found an inverse relationship between BNP and waist circumference and skin-fold thickness, which are measures of visceral and subcutaneous fat mass, respectively [15]. Few population-based studies have investigated the relationship between BNP levels and these markers of fat mass [9, 33, 34]. Our results are consistent with the findings of an Asian cohort, which detected that these two components of fat mass were inversely related to BNP levels [33]. Conversely, the results of another large-based population cohort with individuals aged 30 to 65 years found

only lean mass to be inversely related to BNP [9]. Apparently only infected subjects showed a significant inverse association between BNP and visceral and subcutaneous fat mass after stratification to Chagas disease. Further analysis demonstrated that there was no difference in the B coefficient between the infected and non-infected groups. These controversial results indicate the need for larger studies regarding the issue.

The major strengths of this study include the composition and size of the population based sample, the standardized measurement of parameters, and the inclusion of cardiovascular disease risk factors and several other factors previously described as being associated with BNP levels. The high prevalence of *T. cruzi* infection makes the Bambuí Cohort unique for studying the influence of BMI and body composition for the potential prognostic clinical use of BNP in Chagas disease. However, this study was limited by its inability to make conclusions on the temporal relationship between BNP levels and anthropometric measures, owing to its cross-sectional nature.

3.5- CONCLUSIONS

In conclusion, our results showed an inverse relationship between BNP levels and BMI, waist circumference, and triceps skin-fold thickness. This finding is probably related to BNP metabolic actions that have already been demonstrated by experimental studies. We also found that *T. cruzi* infection does not modify the nature of these associations. The influence of these associations on the predictive value of BNP in elderly patients and in individuals with *T. cruzi* infection is a subject of great clinical importance, which needs to be clarified by further prospective studies.

3.6- GLOSSARY

Trypanosoma cruzi: protozoan which is endemic in South America and Central America

Chagas disease: disease caused by the infection by *Trypanosoma cruzi*. The main clinical characteristics are the cardiomyopathy and the gastrointestinal disorders. In some cases, there is serological infection, but not clinical manifestations (indeterminate form).

Acute coronary syndrome: lack of adequate blood supply for the myocardium due to partial or complete obstruction of the coronary arteries. It results in two main clinical manifestations: angina and myocardial infarction.

Complete intra-ventricular block: disorder of the electrical conduction in the heart

Frequent ventricular premature beats: disorder of the electrical conduction in the heart characterized by the occurrence of a premature beat. It is considered frequent when it occurs at least six times in a minute.

Dyspnea: feeling or sensation of heavy and difficult breath

Heart failure: clinical syndrome resultant of the inappropriate blood ejection and/or filling of the heart.

Acknowledgments

This work was supported by the Financiadora de Estudos e Projetos, Rio de Janeiro, Brazil; the Ministério da Saúde, Brasília, Brazil; and the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. M. F. Lima-Costa and A. L. Ribeiro are fellows of the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Disclosure statement: The authors do not have any conflicts of interest. All authors have approved the final article.

References

- [1] Introduction to SAS. [cited 2010 December, 9]; Available from: <http://www.ats.ucla.edu/stat/sas/notes2/>
- [2] Barbosa MM, Nunes MC, Ribeiro AL, Barral MM, Rocha MO. N-terminal proBNP levels in patients with Chagas disease: a marker of systolic and diastolic dysfunction of the left ventricle. *Eur J Echocardiogr* 2007;8:204-12.
- [3] Barents M, Hillege HH, van der Horst IC, de Boer RA, Koster J, Muskiet FA, et al. BNP and NT-proBNP, predictors of 1-year mortality in nursing home residents. *J Am Med Dir Assoc* 2008;9:580-5.

- [4] Beleigoli AMR, Diniz MFHS, Ribeiro ALP. Natriuretic peptides: linking heart and adipose tissue in obesity and related conditions – a systematic review. *Obes Rev* 2009;10:617–26.
- [5] Bettencourt P, Azevedo A, Pimenta J, Frioies F, Ferreira S, Ferreira A. N-terminal-pro-brain natriuretic peptide predicts outcome after hospital discharge in heart failure patients. *Circulation* 2004;110:2168-74.
- [6] Biolo A, Ribeiro AL, Clausell N. Chagas cardiomyopathy--where do we stand after a hundred years? *Prog Cardiovasc Dis* 2010;52:300-16.
- [7] Corrada MM, Kawas CH, Mozaffar F, Paganini-Hill A. Association of Body Mass Index and Weight Change with All-Cause Mortality in the Elderly. *Am J Epidemiol* 2006;163:938-49.
- [8] Daniels L, Clopton P, Bhalla V, Krishnaswamy P, Nowak R, McCord J, et al. How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am Heart J* 2006;151:999-1005.
- [9] Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, et al. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides - Results from the Dallas heart study. *Circulation* 2005;112:2163-8.
- [10] de Souza MM, Andrade SG, Barbosa AA, Jr., Macedo Santos RT, Alves VA, Andrade ZA. Trypanosoma cruzi strains and autonomic nervous system pathology in experimental Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996;91:217-24.
- [11] Di Angelantonio E, Chowdhury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, et al. B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. *Circulation* 2009;120:2177-87.
- [12] Feola M, Aspromonte N, Canali C, Ceci V, Giovinazzo P, Milani L, et al. Prognostic Value of Plasma Brain Natriuretic Peptide, Urea Nitrogen, and Creatinine in Outpatients >70 Years of Age With Heart Failure. *Am J Cardiol* 2005;96:705-9.
- [13] Fernandes F, Dantas S, Ianni BM, Ramires FJ, Buck P, Salemi VM, et al. Leptin levels in different forms of Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:1631-6.
- [14] Kalra PR, Tigas S. Regulation of lipolysis: natriuretic peptides and the development of cachexia. *Int J Cardiology* 2002;85:125-32.
- [15] Ketel IJ, Volman MN, Seidell JC, Stehouwer CD, Twisk JW, Lambalk CB. Superiority of skinfold measurements and waist over waist-to-hip ratio for determination of

body fat distribution in a population-based cohort of Caucasian Dutch adults. *Eur J Endocrinol* 2007;156:655-61.

[16] Lima-Costa MF, Cesar CC, Peixoto SV, Ribeiro AL. Plasma {beta}-type natriuretic peptide as a predictor of mortality in community-dwelling older adults with Chagas disease: 10-Year follow-up of the Bambuí Cohort Study of Aging. *Am J Epidemiol* 2010;172:190-6.

[17] Lima-Costa MF, Firmo JO, Uchoa E. Cohort Profile: The Bambuí (Brazil) Cohort Study of Ageing. *Int J Epidemiol* 2010:1-6.

[18] Lima e Costa MFF, Uchoa E, Guerra HL, Firmo JO, Vidigal PG, Barreto SM. The Bambuí health and ageing study (BHAS): methodological approach and preliminary results of a population-based cohort study of the elderly in Brazil. *Rev Saúde Pública* 2000;34:126-35.

[19] Lorgis L, Zeller M, Dentan G, Sicard P, Buffet P, L'Huillier I, et al. Prognostic value of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in elderly people with acute myocardial infarction: prospective observational study. *BMJ* 2009;338:1605.

[20] McCord J, Mundy BJ, Hudson MP, Maisel AS, Hollander JE, Abraham AT, et al. Relationship between obesity and B-type natriuretic peptide levels. *Arch Intern Med* 2004;164:2247-52.

[21] McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, et al. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation* 2002;106:416-22.

[22] Moro C, Klimcakova E, Lafontan M, Berlan M, Galitzky J. Phosphodiesterase-5A and neutral endopeptidase activities in human adipocytes do not control atrial natriuretic peptide-mediated lipolysis. *Br J of Pharmacology* 2007;152:1102-10.

[23] Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Circulation* 2007;115:e356-75.

[24] Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Thiruvur N, Weiss LM, Braunstein VL, Albanese C, et al. Trypanosoma cruzi infection of cultured adipocytes results in an inflammatory phenotype. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1992-7.

[25] Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Weiss LM, Chua S, Albanese C, Machado FS, et al. Chagas disease, adipose tissue and the metabolic syndrome. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104 Suppl 1:219-25.

- [26] Oreopoulos A, Padwal R, Kalantar-Zadeh K, Fonarow GC, Norris CM, McAlister FA. Body mass index and mortality in heart failure: a meta-analysis. *Am Heart J* 2008;156:13-22.
- [27] Pfisterer M, Buser P, Rickli H, Gutmann M, Erne P, Rickenbacher P, et al. BNP-guided vs symptom-guided heart failure therapy: the Trial of Intensified vs Standard Medical Therapy in Elderly Patients With Congestive Heart Failure (TIME-CHF) randomized trial. *JAMA* 2009;301:383-92.
- [28] Prineas RJ, Crow RS, H. B. The Minnesota Code Manual of Electrocardiographic Findings. Littleton, MA: John Wright-PSG; 1982.
- [29] Ribeiro AL, Teixeira MM, Reis AM, Talvani A, Perez AA, Barros MV, et al. Brain natriuretic peptide based strategy to detect left ventricular dysfunction in Chagas disease: a comparison with the conventional approach. *Int J Cardiol* 2006;109:34-40.
- [30] Rivera M, Cortes R, Salvador A, Bertomeu V, de Burgos FG, Paya R, et al. Obese subjects with heart failure have lower N-terminal pro-brain natriuretic peptide plasma levels irrespective of aetiology. *Eur J Heart Fail* 2005;7:1168-70.
- [31] Sarzani R, Dessì-Fulgheri P, Paci VM E, E, Rappelli A. Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest* 1996;19:581-5.
- [32] Sengenès C, Berlan M, De Glisezinski I, Lafontan M, Galitzky J. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *Faseb Journal* 2000;14:1345-51.
- [33] Sugisawa T, Kishimoto I, Kokubo Y, Makino H, Miyamoto Y, Yoshimasa Y. Association of plasma B-type natriuretic peptide levels with obesity in a general urban Japanese population: the Suita Study. *Endocr J* 2010.
- [34] Sugisawa T, Kishimoto I, Kokubo Y, Nagumo A, Makino H, Miyamoto Y, et al. Visceral fat is negatively associated with B-type natriuretic peptide levels in patients with advanced type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;89:174-80.
- [35] Tamura K, Takahashi N, Nakatani Y, Onishi S, Iwasaka T. Prognostic impact of plasma brain natriuretic peptide for cardiac events in elderly patients with congestive heart failure. *Gerontology* 2001;47:46-51.
- [36] Vaes B, de Ruijter W, Degryse J, Westendorp RG, Gussekloo J. Clinical relevance of a raised plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide level in a population-based cohort of nonagenarians. *J Am Geriatr Soc* 2009;57:823-9.
- [37] Wang TJ, Larson MG, Keyes MJ, Levy D, Benjamin EJ, Vasan RS. Association of plasma natriuretic peptide levels with metabolic risk factors in ambulatory individuals. *Circulation* 2007;115:1345-53.

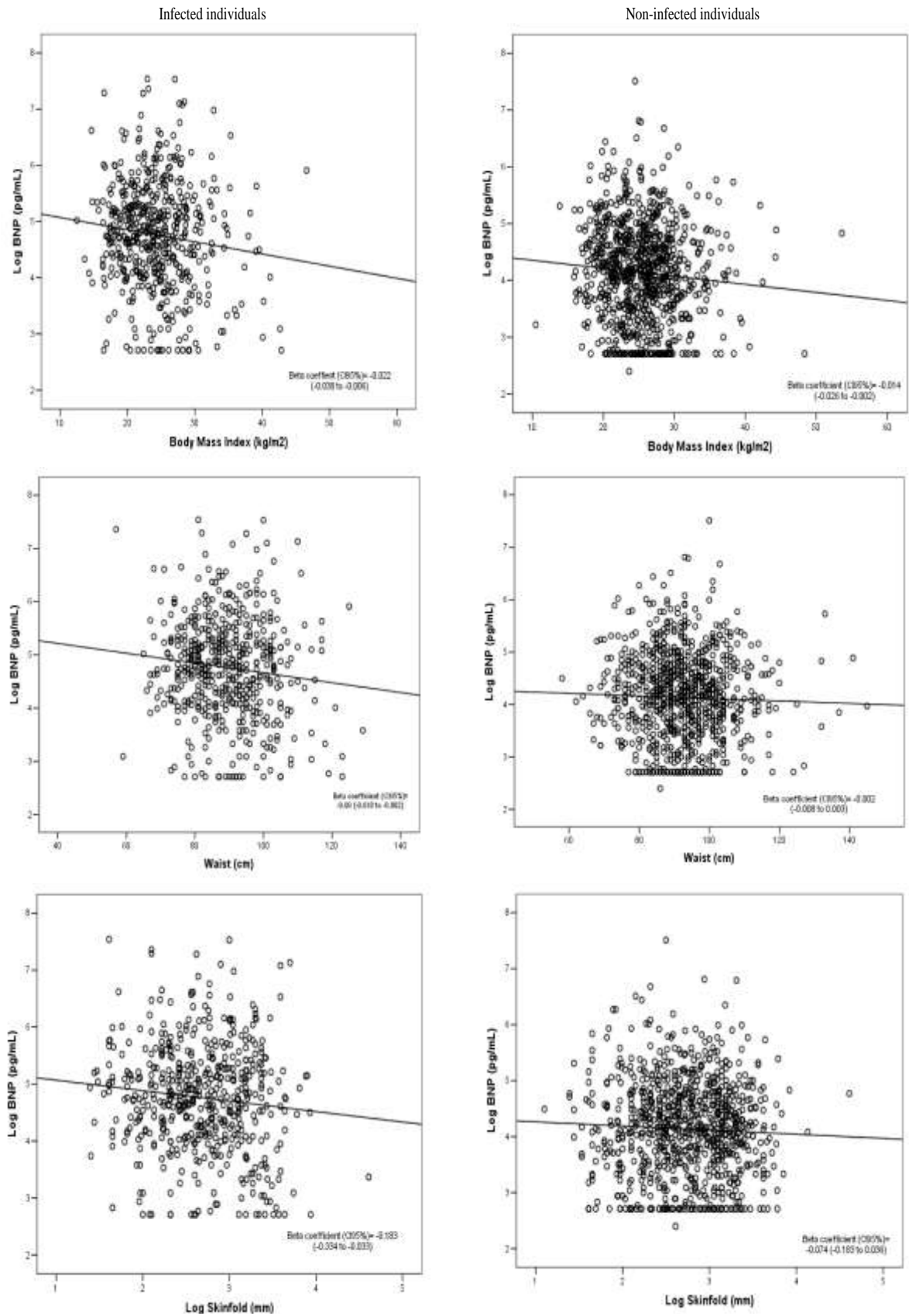
- [38] Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PWF, et al. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation* 2004;109:594-600.
- [39] Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PWF, et al. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol* 2002;90:254-8.
- [40] Witham MD, Gillespie ND, Hutcheon SD, Struthers AD, Marion ET, McMurdo M. B-Type Natriuretic Peptide Is Associated with Mortality in Older Functionally Impaired Patients. *J Am Ger Soc* 2005;53:1991-5.

Table 1 Characteristics of total and *Trypanosoma cruzi*-infected and non-infected participants

Characteristics	Total (n 1398)	<i>Trypanosoma cruzi</i> infection		P value
		Yes (n= 524)	No (n= 874)	
Age, mean (SD)	68.9 (7.0)	69.2 (6.9)	68.6 (7.0)	0.108
Female sex, n (%)	850 (60.8)	396 (67.9)	454 (56.5)	<0.001
BNP in pg/ml, median (IQR)	80 (43-148)	121 (63-204.5)	64 (34-112)	<0.001
Body mass index in kg/m ² , mean (SD)	25.0 (4.9)	24.3 (5.0)	25.5 (4.8)	<0.001
Waist circumference in cm, mean (SD)	91.2 (11.2)	89.2 (11.2)	92.4 (11.0)	<0.001
Skin-fold thickness in mm, median (IQR)	15.5 (10.2-22.4)	14.5 (10.2-22.2)	16.0 (11.0-23.0)	0.042
Systolic blood pressure in mm Hg, mean (SD)	137.4 (22.4)	135.5 (22.90)	138.6 (22.0)	0.012
Diabetes mellitus, n (%)	200 (14.3)	55 (10.5)	145 (16.6)	0.002
Serum creatinine in mg/dL, median (IQR)	0.85 (0.75-0.99)	0.85 (0.76-0.98)	0.85 (0.75-0.99)	0.601
Potential prior myocardial infarction, n (%)	57 (4.1)	29 (5.5)	28 (3.2)	0.036
Intraventricular block, n (%)	191 (13.7)	144 (27.5)	47 (5.4)	<0.001
Frequent premature beats, n (%)	90 (6.4)	53 (10.1)	37 (4.2)	<0.001
Pathological Q wave, n (%)	57 (4.1)	29 (5.5)	28 (3.2)	0.024

P value: Student's t test, Pearson's chi-square test and the Mann-Whitney two-sample rank-sum test for differences between means, frequencies and medians, respectively

Figure 1. Correlation between log-transformed B-type Natriuretic Peptide (BNP) levels and Body Mass Index, waist circumference and log-transformed skin-fold thickness among individuals



5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1- ARTIGO 1

Os resultados do primeiro artigo apontam para a presença de associação inversa entre IMC e morte em dez anos e para ausência de relação entre CA e morte na população de idosos de Bambuí. Os valores de IMC associados às menores taxas de morte ao longo do acompanhamento variaram entre 26 e 33 kg/m², valor bastante superior ao das recomendações para adultos que preconizam perda de peso a partir de IMC 25 kg/m².

Como em qualquer estudo de coorte que investiga preditores para desfechos de saúde, há que se considerar três hipóteses para explicar a associação encontrada ¹⁶⁶:

- a) Trata-se de associação espúria

As associações espúrias podem ser induzidas pelo acaso (erros aleatórios) ou por viés (erros sistemáticos). Como estratégias para evitar ocorrência de erros aleatórios, empregam-se padronização dos métodos de aferições, treinamento e certificação do observador, otimização e automatização dos instrumentos e repetição da aferição. Estas estratégias foram, na maior parte, utilizadas na coorte de Bambuí. O método de aferição de medidas foi explicitado no manual de operações do estudo e os observadores (técnicos em saúde) foram treinados para realização das medidas. O uso de equipamento padronizado e da observância de que os participantes estivessem em uso de roupas leves para realização das medidas são exemplos de como a padronização dos métodos foi uma preocupação na realização da antropometria. Houve repetição das medidas antropométricas em 5% de toda a população para testar-se a precisão das medidas e também de outras covariáveis, como por exemplo, pressão arterial. O uso de valor p e dos intervalos de confiança mostra que a probabilidade de erro aleatório para explicar os resultados é menor que 5%.

Em relação à redução de erros sistemáticos, emprego dessas mesmas estratégias, além de outras relacionadas a aumentar a acurácia das medidas dos preditores e do desfecho, deve ser realizado. Cuidados com possíveis fontes de viés foram tomados na fase de delineamento, através de construção do questionário e treinamento da equipe para aplicação do mesmo de

¹⁶⁶ Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB, eds. Designing Clinical Research 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2007.

forma a evitar que o instrumento ou o observador pudessem induzir o participante a algum tipo de resposta. A objetividade do desfecho (mortes foram confirmadas por certificados de óbito em 98.9% dos casos) reduz consideravelmente a ocorrência de viés nesta medida. Viés do sujeito, ou seja, distorções originadas a partir dos próprios sujeitos podem ter ocorrido para co-variáveis relacionadas a hábitos de vida e situação social, como tabagismo, renda familiar e escolaridade, mas são pouco prováveis para outras co-variáveis do modelo usado nessa investigação. A validade das medidas antropométricas utilizadas como marcadores de adiposidade é difícil de ser avaliada e, como já discutido no item “Considerações Iniciais”, a investigação dessa questão em várias populações gerou resultados bem diversos. Idealmente, medidas de toda ou parte da população de Bambuí deveriam ter sido comparadas a medidas de adiposidade realizadas por métodos de maior acurácia como TC ou RM. No entanto, esta estratégia é cara, pouco reproduzível na prática clínica e, como também discutido previamente, a interpretação dos resultados gerados por tais métodos também é dificultada pela ausência de definições precisas sobre adiposidade e seus compartimentos. Além disso, o uso tanto do IMC quanto da CA para abordar a questão de pesquisa aumenta a probabilidade de que alguma das medidas represente adequadamente a adiposidade dos sujeitos da pesquisa.

b) Trata-se de associação real, mas não de causa-efeito

Hulley et al.¹⁶⁷ propõem que, antes de se considerar a natureza de uma dada associação como sendo de causa-efeito, deve-se confrontar essa explicação com rivais. A primeira explicação rival é que a associação aconteceu devido a confundimento. No presente estudo, efeitos de confundimento foram abordados na fase de análise por meio de ajuste multivariado, interação e estratificação. Ajuste multivariado foi realizado através de dois conjuntos de variáveis. Optou-se pela comparação entre modelos com e sem comorbidades cardiovasculares e metabólicas como covariáveis e não foram verificadas alterações na direção nem na magnitude das associações entre os dois tipos de modelo. A crítica à presença de comorbidades como fatores de confusão em modelos que relacionam IMC a desfechos de saúde deve-se à potencial atenuação dos riscos relativos na presença destas, dado que são mecanismos intermediários na associação entre excesso de peso e eventos adversos de saúde¹⁶⁸. Contudo, opiniões contrárias a essa abordagem argumentam que é necessário ajustar para essas comorbidades porque, tanto elas podem existir na ausência de obesidade, quanto elas

¹⁶⁷ Ibid.

¹⁶⁸ Manson JE, Stampfer MJ, Hennekens CH, Willett WC. Body weight and longevity. A reassessment. JAMA. 1987 Jan 16;257(3):353-8.

não explicam totalmente a associação entre obesidade e risco de morte encontrada em populações adultas em geral. Adicionalmente, são cada vez mais descritas condições em que a obesidade, independentemente de outros fatores de risco clássicos, é implicada como fator causal, como cardiomiopatia^{169 170} e nefropatia da obesidade¹⁷¹.

Outro fator de confusão importante a ser controlado nesse contexto é o tabagismo¹⁷². Tabagismo é o fator de risco a que são atribuídas mais mortes no mundo ocidental¹⁷³. Estudos metodológicos discutem que a forma de se controlar essa variável, por exclusão dos fumantes ou por inclusão do tabagismo em ajuste multivariado, pode levar a resultados diferentes na associação IMC e morte^{174 175 176 177 178 179}. Argumenta-se que a inclusão de fumantes na análise leva à redução artificial dos riscos relativos entre IMC e mortalidade e superestima os níveis de IMC associados a menor risco¹⁸⁰. No entanto, estudos comparando análises que excluam fumantes e as que apenas ajustaram para tabagismo revelaram resultados opostos: em alguns, a exclusão gerou riscos relativos diferentes do ajuste multivariado¹⁸¹, enquanto em outros, não houve diferença entre os riscos relativos gerados por exclusão ou ajuste¹⁸². As duas estratégias (ajuste multivariado e exclusão) foram adotadas no presente estudo, sem diferença importante entre os riscos relativos resultantes. A associação não foi estudada no grupo de fumantes devido ao pequeno número de casos e eventos e ao baixo poder estatístico da análise. Entretanto, a ausência de significância estatística da interação entre IMC e tabagismo revela que não há modificação do efeito do IMC na mortalidade na presença ou ausência de tabagismo. Merece ser ressaltado, no entanto, que o fato de ter sido considerado apenas tabagismo atual (à linha de base), pela ausência de

¹⁶⁹ Alpert MA. Obesity Cardiomyopathy: Pathophysiology and Evolution of the Clinical Syndrome. *Am J Med Sci.* 2001;321(4):225-36.

¹⁷⁰ Di Bello V, Santini F, Di Cori A, Pucci A, Palagi C, Delle Donne MG, et al. Obesity Cardiomyopathy: Is It a Reality? An Ultrasonic Tissue Characterization Study. *J Am Soc Echocardiogr.* 2006;19:1063-71.

¹⁷¹ Kambham N, Markowitz GS, Valeri AM, Lin J, D'Agati VD. Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. *Kidney Int.* 2001 Apr;59(4):1498-509.

¹⁷² Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Impact of smoking and preexisting illness on estimates of the fractions of deaths associated with underweight, overweight, and obesity in the US population. *Am J Epidemiol.* 2007 Oct 15;166(8):975-82.

¹⁷³ Reuser M, Bonneux LG, Willekens FJ. Smoking kills, obesity disables: a multistate approach of the US Health and Retirement Survey. *Obesity (Silver Spring).* 2009 Apr;17(4):783-9.

¹⁷⁴ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Impact of smoking and preexisting illness on estimates of the fractions of deaths associated with underweight, overweight, and obesity in the US population. *Am J Epidemiol.* 2007 Oct 15;166(8):975-82.

¹⁷⁵ Greenberg JA. Correcting biases in estimates of mortality attributable to obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2006 Nov;14(11):2071-9.

¹⁷⁶ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Correcting bias, or biased corrections? *Ibid.* 2008 Feb;16(2):229-31.

¹⁷⁷ Greenberg JA, Fontaine K, Allison DB. Putative biases in estimating mortality attributable to obesity in the US population. *Int J Obes (Lond).* 2007 Sep;31(9):1449-55.

¹⁷⁸ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA.* 2005 Apr 20;293(15):1861-7.

¹⁷⁹ Lawlor DA, Hart CL, Hole DJ, Davey Smith G. Reverse causality and confounding and the associations of overweight and obesity with mortality. *Obesity (Silver Spring).* 2006 Dec;14(12):2294-304.

¹⁸⁰ Greenberg JA, Fontaine K, Allison DB. Putative biases in estimating mortality attributable to obesity in the US population. *Int J Obes (Lond).* 2007 Sep;31(9):1449-55.

¹⁸¹ Lawlor DA, Hart CL, Hole DJ, Davey Smith G. Reverse causality and confounding and the associations of overweight and obesity with mortality. *Obesity (Silver Spring).* 2006 Dec;14(12):2294-304.

¹⁸² Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Impact of smoking and preexisting illness on estimates of the fractions of deaths associated with underweight, overweight, and obesity in the US population. *Am J Epidemiol.* 2007 Oct 15;166(8):975-82.

dados sobre história pregressa de tabagismo, duração ou carga tabágica e tabagismo passivo pelos indivíduos da coorte de Bambuí, pode ter reduzido a validade desta medida em refletir os efeitos do cigarro sobre a mortalidade em dez anos desta população de idosos.

Apesar das estratégias usadas para controle de fatores de confusão, não é possível descartar confundimento residual por fatores, conhecidos e desconhecidos, que não foram medidos. Dentre os fatores que reconhecidamente poderiam alterar a associação estudada, está o condicionamento cardiorespiratório. Estudo observacional com mais de 25 mil homens e seguimento por 10 anos, mostrou que baixos níveis de condicionamento cardiorespiratório são preditores independentes de morte em geral e cardiovascular, com magnitude de associação semelhante a de diabetes, hipertensão arterial, níveis de colesterol e tabagismo, principalmente entre indivíduos com sobrepeso e obesidade ¹⁸³. Apesar de atividade física recreativa nos últimos 90 dias ter sido usada como fator de confusão na presente análise, a forma pela qual foi avaliada (questionário relativamente simples) e ausência de informações sobre intensidade do exercício podem ter levado à redução da validade desta medida. Não há estudos de validação para o questionário usado em Bambuí, mas estudos que examinaram a correlação entre questionários relativamente simples e medida padrão-ouro de atividade física encontraram coeficientes relativamente baixos ($r = 0,3$ a $0,5$) ¹⁸⁴. Adicionalmente, níveis altos de condicionamento cardiorespiratório implicam em perfil metabólico que é simultaneamente relacionado a melhor controle de peso e à proteção cardiovascular, o que não necessariamente acontece com atividade física. Revisão sistemática que analisou estudos que compararam efeitos de condicionamento cardiorespiratório e atividade física em adultos magros e obesos (poucos dados sobre $IMC >35$ kg/m²) mostrou que o risco de morte em geral e por causas cardiovasculares é menor em obesos com altos níveis de condicionamento cardiorespiratório que em magros com baixos níveis ¹⁸⁵. No entanto, indivíduos obesos com altos níveis de atividade física apresentaram maior risco de diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares que magros com baixo nível de atividade física, mostrando que as duas avaliações (condicionamento cardiorespiratório e atividade física) não são totalmente concordantes.

¹⁸³ Wei M, Kampert JB, Barlow CE, Nichaman MZ, Gibbons LW, Paffenbarger RS, Jr., et al. Relationship between low cardiorespiratory fitness and mortality in normal-weight, overweight, and obese men. *JAMA*. 1999 Oct 27;282(16):1547-53.

¹⁸⁴ van Poppel MN, Chinapaw MJ, Mokkink LB, van Mechelen W, Terwee CB. Physical activity questionnaires for adults: a systematic review of measurement properties. *Sports Med*. 2010 Jul 1;40(7):565-600.

¹⁸⁵ Fogelholm M. Physical activity, fitness and fatness: relations to mortality, morbidity and disease risk factors. A systematic review. *Obes Rev*. 2010 Mar;11(3):202-21.

Outra questão que pode gerar associações distorcidas entre preditores e desfecho é a chamada de regressão por diluição (*regression-dilution*), fenômeno que é atribuído ao fenômeno de regressão à média do IMC. Erros de medida e variabilidade intraindividual destas medidas em curto prazo, devido à variação circadiana ou sazonal, por exemplo, além de variabilidade individual ao longo do tempo, podem levar a diferenças superestimadas nos níveis de exposição entre os indivíduos na linha de base. Isso pode resultar em associações incorretas (geralmente, subestimadas) entre fatores medidos na linha de base e desfechos futuros e em diferentes magnitudes de associação conforme o tempo de seguimento do estudo^{186 187}. O uso de fatores de correção baseados em medidas repetidas dos preditores em amostra da população do estudo ao longo do tempo¹⁸⁸ e, no caso das medidas antropométricas em idosos, o uso do IMC usual (e não do medido à linha de base) ou da média das medidas na vida adulta (já que a maioria dos fatores de risco se desenvolve ao longo da vida adulta)^{189 190} podem corrigir essa distorção, gerando estimativas mais reais da associação entre a exposição e o desfecho de interesse. No presente estudo, as medidas antropométricas foram repetidas em outros períodos, mas é possível que a relação entre morte e os outros preditores estudados que foram medidos apenas na linha de base esteja subestimada, o que pode, naturalmente, interferir na relação entre medidas antropométricas e morte ajustada por esses preditores. Esta limitação é comum à maioria de estudos de coorte que descreveram os principais fatores de risco até hoje conhecidos.

A segunda explicação rival colocada por Hulley et al.¹⁹¹ é a possibilidade de tratar-se de associação de efeito-causa (causalidade reversa). Esse fenômeno se refere à situação em que o desfecho precede a exposição e, portanto, é geralmente um problema para interpretação de associações encontradas em estudos transversais ou caso-controle. No entanto, este termo é muito discutido em artigos que debatem a metodologia de estudos de coorte prospectivos que testam medidas antropométricas como preditores de desfechos de saúde^{192 193 194}. Nesse

¹⁸⁶ Clarke R, Shipley M, Lewington S, Youngman L, Collins R, Marmot M, et al. Underestimation of risk associations due to regression dilution in long-term follow-up of prospective studies. *Am J Epidemiol*. 1999 Aug 15;150(4):341-53.

¹⁸⁷ Emberson JR, Whincup PH, Morris RW, Walker M. Re-assessing the contribution of serum total cholesterol, blood pressure and cigarette smoking to the aetiology of coronary heart disease: impact of regression dilution bias. *Eur Heart J*. 2003 Oct;24(19):1719-26.

¹⁸⁸ Clarke R, Shipley M, Lewington S, Youngman L, Collins R, Marmot M, et al. Underestimation of risk associations due to regression dilution in long-term follow-up of prospective studies. *Am J Epidemiol*. 1999 Aug 15;150(4):341-53.

¹⁸⁹ Greenberg JA. Biases in the mortality risk versus body mass index relationship in the NHANES-1 Epidemiologic Follow-Up Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001 Jul;25(7):1071-8.

¹⁹⁰ Greenberg JA. Correcting biases in estimates of mortality attributable to obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Nov;14(11):2071-9.

¹⁹¹ Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB, eds. *Designing Clinical Research* 3ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2007.

¹⁹² Flanders WD, Augestad LB. Adjusting for reverse causality in the relationship between obesity and mortality. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Aug;32 Suppl 3:S42-6.

¹⁹³ Lawlor DA, Hart CL, Hole DJ, Davey Smith G. Reverse causality and confounding and the associations of overweight and obesity with mortality. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Dec;14(12):2294-304.

contexto, o termo refere-se ao fenômeno de relação entre perda de peso gerada por doença subjacente e, conseqüentemente, aumento do risco de mortalidade. Vários epidemiologistas consideram que esse fenômeno leva a aumento artefactual de risco de mortalidade associado a níveis baixos de IMC e à redução da magnitude dos riscos relativos de valores mais altos de IMC e mortalidade. Não há, contudo, concordância entre os autores quanto a certos detalhes deste fenômeno, como, por exemplo: o termo refere-se apenas a doenças não previamente conhecidas; devem ser considerados apenas os casos de morte causados pela doença que levou à perda de peso; ganho de peso causado por doenças também deve ser considerado; há diferenças em relação à perda de peso intencional e não intencional? Além disso, o termo não considera que a própria variação de peso (tanto perda quanto ganho de peso) são preditores independentes de eventos em saúde^{195 196}.

Propostas para controlar a ocorrência de causalidade reversa abrangem estudar a hipótese apenas em participantes “saudáveis”, através da exclusão de participantes com doenças conhecidas à linha de base, exclusão de indivíduos que tiveram morte precoce ou que tiveram perda de peso durante o acompanhamento^{197 198 199 200 201}. Entretanto, todas essas estratégias são sujeitas a críticas. A exclusão de participantes não “saudáveis” não é garantida, uma vez que não é possível ao sujeito e ao pesquisador conhecer doenças que ainda estão em fase subclínica^{202 203}. A exclusão de mortes precoces, por sua vez, não necessariamente exclui sujeitos com baixo peso (como ocorreu no presente estudo). Também não exclui necessariamente participantes com doenças crônicas: em estudo austríaco que investigou variação de peso em 65000 adultos por 5 a 9 anos e, em seguida, observou a incidência de câncer (não melanoma) por tempo médio de 8 anos, não encontrou associação entre ocorrência de novos casos de vários tipos de câncer combinados (3128, no total) e variação

¹⁹⁴ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Cooper RS. Reverse causation and illness-related weight loss in observational studies of body weight and mortality. *Am J Epidemiol.* 2011 Jan 1;173(1):1-9.

¹⁹⁵ Corrada MM, Kawas CH, Mozaffar F, Paganini-Hill A. Association of Body Mass Index and Weight Change with All-Cause Mortality in the Elderly. *Ibid.* 2006;163:938-49.

¹⁹⁶ Shimazu T, Kuriyama S, Ohmori-Matsuda K, Kikuchi N, Nakaya N, Tsuji I. Increase in body mass index category since age 20 years and all-cause mortality: a prospective cohort study (the Ohsaki Study). *Int J Obes (Lond).* 2009 Apr;33(4):490-6.

¹⁹⁷ Greenberg JA. Biases in the mortality risk versus body mass index relationship in the NHANES-1 Epidemiologic Follow-Up Study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001 Jul;25(7):1071-8.

¹⁹⁸ Greenberg JA. Correcting biases in estimates of mortality attributable to obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2006 Nov;14(11):2071-9.

¹⁹⁹ Flanders WD, Augustad LB. Adjusting for reverse causality in the relationship between obesity and mortality. *Int J Obes (Lond).* 2008 Aug;32 Suppl 3:S42-6.

²⁰⁰ Stevens J, Juhaeri, Cai J. Changes in body mass index prior to baseline among participants who are ill or who die during the early years of follow-up. *Am J Epidemiol.* 2001 May 15;153(10):946-53.

²⁰¹ Greenberg JA. Biases in the mortality risk versus body mass index relationship in the NHANES-1 Epidemiologic Follow-Up Study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001 Jul;25(7):1071-8.

²⁰² Flanders WD, Augustad LB. Adjusting for reverse causality in the relationship between obesity and mortality. *Int J Obes (Lond).* 2008 Aug;32 Suppl 3:S42-6.

²⁰³ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Cooper RS. Reverse causation and illness-related weight loss in observational studies of body weight and mortality. *Am J Epidemiol.* 2011 Jan 1;173(1):1-9.

de peso ²⁰⁴. Associação tanto com perda quanto com ganho de peso em anos anteriores foi encontrada somente para determinados tipos de neoplasia. Outra crítica a essa abordagem é que ela, ao invés de eliminar, pode introduzir novas fontes de erro à análise. Estes são relacionados a: redução do poder estatístico do estudo; aumento da probabilidade de se encontrar resultados falso-positivos devido a testes estatísticos repetidos em exclusões repetidas; criação de subgrupos não previamente definidos; apresentação de resultados apenas para o grupo selecionado e falta de uso testes formais para avaliar diferenças encontradas entre os subgrupos ²⁰⁵.

No presente estudo, comparou-se a magnitude da associação entre IMC e morte usando dados da população total e dados do subgrupo que manteve peso estável e não apresentou evento nos primeiros cinco anos do seguimento. Por essa estratégia, 220 participantes foram eliminados da análise, sendo que, 15 (6,8%), 112 (50,9%), 72 (32,7%) e 21 (9,5%) eram classificados como desnutridos, peso normal, sobrepeso e obesos, respectivamente, à linha de base, segundo os critérios da OMS. Assim como em outros estudos ²⁰⁶, não foi encontrada diferença importante entre os riscos relativos gerados pelos modelos em que toda a população foi incluída e nos subgrupos de interesse. De acordo com a proposta de Flegal et al., em artigo que discute a existência e abordagem do fenômeno de causalidade reversa ²⁰⁷, tal resultado pode significar que: a) IMC é protetor tanto em sujeitos saudáveis à linha de base quanto em não-saudáveis e não existe atuação do fenômeno de efeito-causa nesta população; b) as estratégias empregadas foram responsáveis pela exclusão de grande número de casos com redução do poder estatístico e sem correção do viés; c) a exclusão de grande número de idosos com perda de peso não relacionada à doença, mas à sarcopenia e/ou perda de massa óssea, por exemplo, mascarou o efeito de excluir alguns indivíduos com perda de peso relacionada a doenças subjacentes (caquexia).

c) Trata-se de associação de causa-efeito

²⁰⁴ Rapp K, Klenk J, Ulmer H, Concin H, Diem G, Oberaigner W, et al. Weight change and cancer risk in a cohort of more than 65,000 adults in Austria. *Ann Oncol.* 2008 Apr;19(4):641-8.

²⁰⁵ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Cooper RS. Reverse causation and illness-related weight loss in observational studies of body weight and mortality. *Am J Epidemiol.* 2011 Jan 1;173(1):1-9.

²⁰⁶ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Impact of smoking and preexisting illness on estimates of the fractions of deaths associated with underweight, overweight, and obesity in the US population. *Ibid.* 2007 Oct 15;166(8):975-82.

²⁰⁷ Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Cooper RS. Reverse causation and illness-related weight loss in observational studies of body weight and mortality. *Ibid.* 2011 Jan 1;173(1):1-9.

Uma série de limitações, inerentes aos estudos observacionais e particulares deste estudo, como discutido acima, não permitem que se conclua sobre a existência de associação causal entre sobrepeso/obesidade e redução do risco de morte em idosos. A contribuição do presente estudo, no entanto, está em se conhecer o papel do IMC como preditor de morte em idosos brasileiros, ressaltando-se que níveis elevados de IMC e CA em idosos não devem necessariamente implicar em intervenções clínicas para sua redução com fins de se prolongar a vida. O emprego da técnica de imputação múltipla é um dos pontos fortes do artigo por possibilitar que a incerteza acerca da influência dos valores faltantes sobre os resultados das análises seja minimizada. A ocorrência de valores faltantes é comum em estudos epidemiológicos e a exclusão dos casos com dados incompletos, abordagem mais frequentemente utilizada, pode introduzir vieses na análise por meio de redução do poder e da precisão das estimativas²⁰⁸.

A validade externa dos resultados para população brasileira de idosos é provável. Apesar da questão da elevada prevalência de doença de Chagas ser característica específica da população de Bambuí, a presença ou ausência da doença não modificou a relação entre IMC, CA e mortalidade (interação entre medidas antropométricas e Chagas não foi significativa; dado não mostrado no artigo).

5.2- ARTIGO 2

O segundo artigo mostrou existência de relação inversa entre BNP, IMC, CA e prega cutânea tricúspide em população de idosos, independente de fatores que reconhecidamente modificam os níveis plasmáticos de BNP, inclusive Doença de Chagas. Esta relação é semelhante à descrita em pacientes com obesidade grave, em estudo realizado por membros deste grupo de pesquisa²⁰⁹.

Algumas limitações do presente estudo, no entanto, merecem ser mais profundamente discutidas. A condição hemodinâmica dos participantes do estudo, que é conhecido fator determinante dos níveis plasmáticos de BNP, não pode ser avaliada, devido à ausência de dados clínicos, como dispnéia, ortopneia e edema, assim como da fração de ejeção do

²⁰⁸ Sterne JA, White IR, Carlin JB, Spratt M, Royston P, Kenward MG, et al. Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research: potential and pitfalls. *BMJ*. 2009;338:b2393.

²⁰⁹ Beleigoli A, Diniz M, Nunes M, Barbosa M, Fernandes S, Abreu M, et al. Reduced brain natriuretic peptide levels in class III obesity: the role of metabolic and cardiovascular factors. *Obes Facts*. 2011;4(6):427-32.

ventrículo esquerdo na coorte de Bambuí. Confundimento residual gerado pela ausência de ajuste para esses fatores, além, naturalmente, da ausência de controle de fatores desconhecidos que alteram os níveis plasmáticos de BNP, poderiam alterar os resultados do presente estudo. Entretanto, em estudos em que esses fatores foram controlados e com pacientes em diversos contextos clínicos, como insuficiência cardíaca aguda e crônica, dispneia aguda de causa desconhecida na emergência e portadores de síndrome metabólica, a relação inversa entre BNP e medidas antropométricas se manteve^{210 211 212 213 214 215 216}.

A interpretação da relação BNP e adiposidade foi limitada pela ausência de medidas mais acuradas de composição corporal e distribuição de gordura (por DEXA, TC ou RM, por exemplo). Além disso, a medida isolada da prega cutânea tricípital limita a interpretação dos achados, uma vez que não há dados na literatura sobre a correlação desta única medida de prega cutânea com o tecido adiposo subcutâneo ou periférico.

Outra questão que limita a confiabilidade dos resultados é que a medida de BNP foi realizada apenas na linha de base, em amostra única. Além disso, deve-se considerar a possibilidade de decaimento dos níveis de BNP na amostra durante o tempo de armazenamento. Estudos que investigaram o comportamento dos níveis de BNP em plasma armazenado a -20°C ou -80°C, no período de três meses a um ano, revelam resultados diversos. Para diferentes métodos, foram descritos desde inalteração dos níveis plasmáticos²¹⁷ até redução superior a 50%²¹⁸ nos primeiros três meses de armazenamento sem a adição de inibidores de protease. Investigação que utilizou método diferente do empregado no presente estudo observou redução mais acentuada e estatisticamente significativa dos níveis de BNP, quando os valores

²¹⁰ Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, et al. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides - Results from the Dallas heart study. *Circulation*. 2005;112(14):2163-8.

²¹¹ Taylor JA, Christenson RH, Rao K, Jorge M, Gottlieb SS. B-type natriuretic peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide are depressed in obesity despite higher left ventricular end diastolic pressures. *Am Heart J*. 2006;152(6):1071-6.

²¹² Daniels L, Clopton P, Bhalla V, Krishnaswamy P, Nowak R, McCord J, et al. How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Ibid.*;151(5):999-1005.

²¹³ Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, et al. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides - Results from the Dallas heart study. *Circulation*. 2005;112(14):2163-8.

²¹⁴ McCord J, Mundy BJ, Hudson MP, Maisel AS, Hollander JE, Abraham AT, et al. Relationship between obesity and B-type natriuretic peptide levels. *Arch Intern Med*. 2004;164(20):2247-52.

²¹⁵ Krauser DG, Lloyd-Jones DM, Chae CU, Cameron R, Anwaruddin S, Baggish AL, et al. Effect of body mass index on natriuretic peptide levels in patients with acute congestive heart failure: A ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) substudy. *Am Heart J*. 2005;149(4):744-50.

²¹⁶ Hong SN, Ahn Y, Yoon NS, Moon JY, Kim KH, Hong YJ, et al. N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Level Is Depressed in Patients With Significant Coronary Artery Disease Who Have High Body Mass Index. *Int Heart J*. 2008;49(4):403-12.

²¹⁷ Pereira M, Azevedo A, Severo M, Barros H. Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide during storage at -20 degrees C for later measurement with Biosite Triage assay. *Clin Biochem*. 2007 Oct;40(15):1104-7.

²¹⁸ Mueller T, Gegenhuber A, Dieplinger B, Poelz W, Haltmayer M. Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide (BNP) and amino terminal proBNP (NT-proBNP) in frozen plasma samples. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(8):942-4.

eram altos no plasma no momento da coleta ²¹⁹. No entanto, a ocorrência de decaimento heterogêneo entre as amostras não é provável no presente estudo, já que valores bastante altos foram encontrados em nossa população.

5.3- CONCLUSÃO

Neste estudo, foram descritas relações inversas entre IMC, em níveis considerados como sobrepeso e obesidade classe I pela OMS, e mortalidade em dez anos e também entre BNP e medidas antropométricas em idosos do Estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento. Espera-se que este estudo impulse investigações sobre o impacto do sobrepeso e obesidade em várias questões clínicas e epidemiológicas envolvendo idosos, além de questões sobre o uso clínico dos PN. Seria interessante, por exemplo, estudar a associação entre obesidade e outros desfechos de saúde importantes em idosos, como dependência funcional e uso de serviços de saúde. A influência da obesidade na acurácia diagnóstica e/ou prognóstica de PN em idosos, além de evidências da influência dos PN na determinação do peso corporal em longo prazo são questões relevantes e ainda sem respostas definitivas que podem vir a ser exploradas.

²¹⁹ Pereira M, Azevedo A, Severo M, Barros H. Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide after storage at -20 degrees C or -80 degrees C. *Ibid.*2008;46:1171-4.

APÊNDICES

APÊNDICE A

PROJETO DE PESQUISA

PROTOCOLO DE PESQUISA

I.1. TÍTULO DO PROJETO:

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PEPTÍDEO NATRIURÉTICO CEREBRAL SOBRE ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E DESFECHOS DE MORBIMORTALIDADE NO SEGUIMENTO DE DEZ ANOS DO ESTUDO DE BAMBUÍ SOBRE SAÚDE E ENVELHECIMENTO

I.2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL*

Nome: Alline Maria Rezende Beleigoli (aluno)

Correio eletrônico: beleigoli@yahoo.com

Nome: Antonio Luiz Pinho Ribeiro (orientador)

Correio eletrônico: tom@hc.ufmg

Nome: Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz (coorientadora)

Correio eletrônico: mfhsdiniz@ufmg.br

Nome: Maria Fernanda Lima-Costa (coorientadora)

Correio eletrônico:lima-costa@cpqrr.fiocruz.br

* Orientador(a) e Aluno(a) em caso de programas de mestrado ou doutorado. O princípio da co-responsabilidade é válido. Para alunos(as) de graduação, somente o(a) orientador(a).

I.3. INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL:

DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA DA FACULDADE DE MEDICINA-

- UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

II. TÍTULO DO PROJETO

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PEPTÍDEO NATRIURÉTICO CEREBRAL SOBRE ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E DESFECHOS DE MORBIMORTALIDADE NO SEGUIMENTO DE DEZ ANOS DO ESTUDO DE BAMBUÍ SOBRE SAÚDE E ENVELHECIMENTO

III. SUMÁRIO DO PROJETO

A influência do índice de massa corporal (IMC) e parâmetros nutricionais na morbidade e mortalidade de idosos difere dos adultos e é motivo de investigação em várias populações. Hábitos alimentares e de atividade física, fatores genéticos e questões metabólicas associadas ao tecido adiposo, ainda incompletamente identificadas, influenciam no peso, na composição corporal e em suas variações ao longo do tempo. O peptídeo natriurético cerebral (BNP), substância bem conhecida por seus efeitos sobre a hemodinâmica corporal, apresenta também ação lipolítica sobre o tecido adiposo e, provavelmente, está envolvido na fisiopatologia da obesidade. Idade e IMC são fatores que influenciam os níveis plasmáticos de BNP. Os peptídeos natriuréticos são preditores de morte por causas gerais e cardiovasculares em idosos, independente da presença de insuficiência cardíaca. O estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento é um estudo epidemiológico, de base populacional, conduzido na cidade de Bambuí, Minas Gerais, Brasil, com o objetivo de identificar preditores de mortalidade, hospitalização e déficits físicos e cognitivos em população não urbana, com idade igual ou superior a 60 anos. Os objetivos do presente projeto são: verificar a relação entre BNP e IMC; avaliar o impacto do IMC e de suas variações ao longo do tempo, assim como o impacto dos níveis de BNP, na morbimortalidade em dez anos e avaliar a influência do BNP na evolução de dez anos dos parâmetros nutricionais, em indivíduos com 60 anos ou mais, participantes do estudo de Bambuí. A influência do BNP e IMC na morbimortalidade de idosos é ainda pouco explorada em população de idosos. O acompanhamento da evolução do IMC e medidas antropométricas pode constituir importante evidência clínica da lipólise induzida por BNP e é uma questão que merece ser estudada, devido à crescente prevalência de obesidade. A coorte de Bambuí fornece dados confiáveis para tais investigações, uma vez que, na linha de base do estudo em 1997, foram realizadas medidas antropométricas, dosagem de BNP e coleta de dados referentes a hábitos alimentares e atividade física dos participantes. As medidas antropométricas e a coleta de dados sobre hábitos de vida foram repetidas ao longo do seguimento de dez anos.

Palavras-chave (8 palavras, no máximo): idoso, nutrição, índice de massa corporal, peptídeo natriurético cerebral, morbimortalidade

Data prevista para o início do projeto: Fevereiro de 2010

Data prevista para o encerramento: Fevereiro de 2014

Declaração de apoio institucional

Eu confirmo ter lido este protocolo e, se a proposta for financiada, o trabalho será realizado e administrado pelo Departamento/Instituição, de acordo com as condições gerais do edital e das normas do Conselho Nacional de Saúde. Eu também confirmo que o Pesquisador Principal é funcionário desta instituição.

IV. DESCRIÇÃO DA PESQUISA

IV.1. Objetivos da pesquisa / Hipóteses a testar

1-Verificar a correlação entre índice de massa corporal (IMC) e valores de peptídeo natriurético cerebral (BNP), testando a hipótese de que BNP e IMC estão inversamente relacionados, em indivíduos com 60 anos ou mais do estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento.

2-Verificar a relação entre a ocorrência de morte e IMC e BNP, em indivíduos com 60 anos ou mais do estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento, testando a hipótese de que IMC e BNP são fatores preditores de eventos adversos (morte e hospitalização), no seguimento de dez anos da coorte.

IV.2. Antecedentes científicos, relevância e justificativa da pesquisa (explicitando as referências bibliográficas)

O estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento (BHAS) é um estudo epidemiológico, de base populacional, conduzido na cidade de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Tem por objetivo identificar preditores de mortalidade, hospitalização e déficits físicos e cognitivos em população não-urbana, com idade igual ou superior a 60 anos. A linha de base do projeto foi realizada em 1997 com realização de entrevistas que abordavam aspectos sociodemográficos e psicossociais, de autopercepção de condições de saúde, história patológica selecionada e história reprodutiva, hábitos de vida (dieta, atividade física, etilismo, tabagismo), funcionalidade física e estado mental. Também foram realizados exames clínicos, laboratoriais e eletrocardiogramas dos participantes[1]. Dos 1742 residentes com 60 anos ou mais de Bambuí, no momento do estudo transversal da linha de base, 1.451 realizaram medidas antropométricas. A média do IMC foi de 25.0 kg/m² (DP = 4,9). Total de 208 indivíduos (14,4%) apresentavam baixo peso (IMC \leq 20 kg/m²) e 185 (12,8%) eram obesos (IMC \geq 30 kg/m²) [2]. O seguimento é realizado anualmente e os principais desfechos (mortalidade, hospitalização e déficits físicos e cognitivos) são avaliados por meio de entrevistas, atestados de óbito e registros de internações em hospitais públicos da cidade e de quatro municípios vizinhos [1]. No seguimento, foram realizados exame clínico com medidas de dados antropométricos nos anos de 2000, 2002 e 2008. Dosagem de BNP de 1437 participantes foi realizada na linha de base em 1997.

A influência do IMC e parâmetros nutricionais na morbidade e mortalidade de idosos ainda é motivo de investigação em várias populações. Estudos epidemiológicos mostram três tipos de relações diferentes entre IMC e mortalidade em idosos: inversa [3-6], não significativa [7] e em curva em U ou J [8]. Metanálise recente com 32 estudos de coorte mostra que sobrepeso é fator protetor, mas obesidade aumenta discretamente o risco de morte em idosos[9]. Tais achados revelam que a questão ainda não está bem definida. Esses resultados controversos provavelmente estão relacionados a diferentes metodologias de obtenção de dados antropométricos: alguns estudos realizaram medidas dos participantes, enquanto outros se basearam em relatos individuais de peso e altura. Diferenças entre os sexos e raciais e fatores confundidores, como tabagismo e perda de peso não intencional associada a doenças, como demência, são outros aspectos que podem explicar as diferenças do impacto do IMC sobre a mortalidade em idosos entre os estudos. A real capacidade do IMC em determinar quantidade e distribuição de gordura corporal em idosos; o impacto proporcionalmente maior de outros fatores de risco de mortalidade, em relação à vida adulta; e a mortalidade precoce dos indivíduos com IMC alto são pontos que confundem a interpretação dos achados da relação entre IMC e mortalidade [9]. Outros parâmetros nutricionais, como a circunferência abdominal e o índice cintura-quadril, vem sendo estudados como preditores melhores do que o IMC da mortalidade em idosos [3, 7].

Hábitos alimentares e de atividade física, fatores genéticos e questões metabólicas associadas ao tecido adiposo, ainda incompletamente identificadas, influenciam no peso e na quantidade e distribuição da gordura corporal e em suas variações ao longo do tempo. O peptídeo natriurético cerebral (BNP) é exemplo de substância que, recentemente, teve sua ação sobre o tecido adiposo descrita. O BNP é, juntamente com o peptídeo natriurético atrial (ANP), o membro mais estudado dessa família de polipeptídeos. É sintetizado pelo miocárdio, especialmente no ventrículo esquerdo, em resposta à sobrecarga de pressão e/ou volume. Suas ações visam a reduzir a sobrecarga de volume no sistema cardiovascular, através de vasodilatação, natriurese, aumento da diurese e oposição ao sistema renina-angiotensina-aldosterona [10, 11]. O BNP integra o eixo neurohormonal de várias doenças, tais como insuficiência cardíaca, hipertensão arterial e doenças renais. Sendo assim, é utilizado, na prática clínica, para diagnóstico diferencial de dispnéia, reconhecimento de disfunção ventricular esquerda e determinação do prognóstico de pacientes com insuficiência cardíaca[12-15]. Níveis plasmáticos de BNP apresentam correlação positiva com a idade[16]. Os peptídeos natriuréticos são preditores fortes de morte cardiovascular em idosos com insuficiência cardíaca e com síndrome coronariana aguda[17-19]. Estudos de coorte mostram que, mesmo em pacientes sem manifestação de doença cardíaca, os peptídeos natriuréticos se relacionam a aumento de mortalidade por causas cardiovasculares e gerais em idosos [19-23].

A recente demonstração da expressão gênica de receptores dos peptídeos natriuréticos no tecido adiposo sugeriu possível ação metabólica dos peptídeos. Crescente número de evidências mostra que os peptídeos natriuréticos exercem efeito lipolítico tão importante quanto o das catecolaminas, que eram, até recentemente, reconhecidas como a principal via da lipólise humana [24-26]. Este efeito ocorre através de uma via de transdução de sinais mediada pelo monofosfato cíclico de guanosina (GMPc). A ligação do peptídeo natriurético a um receptor tipo A leva a aumento do GMPc que, por sua vez, ativa a proteína quinase G. Essa proteína fosforila a lipase hormônio-sensível e a perilipina A, substância que induz alteração física da superfície de gotículas de gordura e facilita a ação da lipase hormônio-sensível. Dessa maneira, níveis elevados de peptídeo natriurético induzem maior degradação de triglicérides, armazenados no tecido adiposo. Estudo com modelos animais transgênicos, mostrou

aumento de peso corporal e intolerância à glicose em ratos knockout para GMP cíclico ligado a receptor de peptídeo natriurético [27].

Além de achados experimentais, há evidências clínicas que sugerem a participação dos peptídeos natriuréticos na fisiopatologia da obesidade. Níveis plasmáticos de peptídeos natriuréticos são inversamente proporcionais ao índice de massa corporal [28-34]. Valores menores de BNP são encontrados em indivíduos obesos e/ou portadores de síndrome metabólica, mesmo após ajuste para fatores conhecidos por elevar os níveis desse peptídeo, como sexo feminino, idade, insuficiência cardíaca e insuficiência renal [35-41]. Estudo com mulheres obesas submetidas à dieta de baixo teor calórico que demonstrou aumento da lipólise após infusão de peptídeo natriurético atrial constitui mais uma evidência clínica de que níveis mais altos de peptídeos natriuréticos podem induzir perda de peso [42].

A relação entre BNP e IMC é questão ainda pouco estudada em população de idosos. O impacto do BNP, assim do IMC e de suas variações ao longo do tempo, na morbimortalidade de idosos também não está bem definida. Como o conhecimento nessas áreas são ainda incipientes, a relevância do presente trabalho reside na possibilidade de estudar essas questões em população brasileira de idosos, que apresenta hábitos de vida, dieta, características clínicas e culturais diversas de outros locais do mundo. Além disso, ao avaliar a influência dos níveis de BNP na evolução do IMC e medidas antropométricas, o projeto pode trazer maior entendimento da importância clínica dos efeitos metabólicos do BNP e, conseqüentemente, contribuir para os estudos no campo da obesidade, doença com prevalência crescente em todo o mundo [43].

IV.3. Descrição detalhada e ordenada do projeto de pesquisa (material e métodos, casuística)

Material e métodos

Todas as informações sociais e demográficas, sobre comorbidades e uso de medicamentos, hábitos de vida (atividade física, tabagismo, etilismo e hábitos alimentares), que serão utilizadas nesse projeto foram obtidas por meio do questionário Bambuí Health and Aging Study (BHAS). As entrevistas foram realizadas no domicílio do participante. Os entrevistadores foram selecionados entre membros da comunidade com pelo menos 11 anos de escolaridade completa e foram exaustivamente treinados por um dos pesquisadores. Quando o idoso não estava em condições de responder à entrevista devido a déficit cognitivo ou outro problema de saúde, um respondente próximo foi entrevistado, mas as perguntas que requeriam julgamento pessoal não eram respondidas [1]. O projeto será baseado nos dados da linha de base e do seguimento longitudinal de dez anos da coorte de Bambuí.

Serão analisados os seguintes dados antropométricos coletados na linha de base em 1997 e nos seguimentos em 2000, 2002 e 2008: peso, altura, circunferências do braço, punho, cintura, quadril, prega cutânea tricipital e demi-span. Tais medidas foram realizadas por técnicos de saúde especialmente treinados, usando equipamentos padrões. Todos os pacientes foram pesados sem sapatos e com roupas leves em balanças digitais de alta precisão com capacidade de até 150 kg e acurácia de 100 gramas. A altura foi aferida com os pacientes descalços e eretos, com os pés paralelos e com calcanhares, tronco, ombros e cabeça tocando o estadiômetro, com acurácia de 0,5 cm. As medidas antropométricas de altura, circunferências do braço, punho, cintura, quadril, prega cutânea

tricipital e demi-span foram realizadas utilizando-se equipamento padrão (CMS Weighing Equipment Ltd, UK). O índice de massa corporal será calculado a partir do peso e altura do paciente [IMC=peso(kg)/altura²(m²)]. O índice cintura-quadril será calculado pela razão da medida da cintura no ponto médio entre a margem da última costela e a crista ilíaca, estando o paciente em posição ortostática, e da medida do quadril, em sua maior circunferência, sobre os grandes trocânteres e o índice cintura-altura pela razão entre a medida da cintura e a altura.

Dados referentes à pressão arterial também serão analisados. As medidas de pressão arterial foram realizadas respeitando-se intervalo mínimo de 30 minutos após o consumo de cafeína ou cigarro. Três aferições foram realizadas após 5 minutos de descanso inicial e, em seguida, a cada dois minutos. O valor da pressão arterial resultou da média aritmética da segunda e terceira aferições. Hipertensão arterial sistêmica (HAS) será definida de acordo com os critérios do Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure [44]: pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pela pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg, e/ou pelo uso de antihipertensivos.

A avaliação laboratorial envolveu coletas de sangue após jejum de 12 horas. Os exames realizados foram: glicemia, colesterol total, HDL, LDL, triglicérides. As dosagens de creatinina sérica foram realizadas por analisador automatizado (Eclipse Vitalab, Merck do Brasil, São Paulo, SP, Brasil), calibrado de acordo com as especificações do fabricante, usando a reação de Jaffe (reação com picrato em meio alcalino) [45]. As dosagens de glicemia foram realizadas por analisador automático (Eclipse Vitalab, Merck, Netherlands). A presença de diabetes mellitus será definida com base nos seguintes critérios: glicemia de jejum ≥ 126 mg/dl e/ou uso de insulina e/ou anti-diabéticos orais [46]. A definição sorológica de Doença de Chagas foi dada pela presença de anticorpos contra *Trypanosoma cruzi* por dois métodos: hemaglutinação indireta (Biolab) e ELISA (Abbott Brazil)[47].

A dosagem de BNP foi realizada em amostras de plasma coletadas na linha de base e, posteriormente, armazenadas em freezers a -80° C, com controle de armazenamento por software. Para dosagem quantitativa foi utilizado o Abbott AxSYM® BNP assay (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL), um imunoenensaio enzimático de micropartículas em 2 etapas. A performance analítica do método foi estabelecida por estudos prévios: precisão com CV total de 6,5 – 9,4%; estabilidade do sistema após 336 horas de armazenamento onboard no analisador AxSYM® e de mais de 10 meses quando plasma é congelado a -20° .; sensibilidade analítica de menos de 8pg/mL; limite de detecção de 0 a 4.000 pg/mL e interferência de menos de 10% nos valores de BNP na presença de triglicérides, proteínas, hemoglobina, bilirrubina, colesterol e de 49 drogas usadas para tratamento de doenças cardiovasculares. Não há reação cruzada com ANP, CNP e NT-proBNP por esse método [48, 49].

Casística

Toda a população com idade igual ou superior a 60 anos da cidade de Bambuí, Minas Gerais, Brasil (1742 habitantes) foi selecionada a participar do estudo. Desta, 92,2% dos indivíduos foram entrevistados e 85,9% submetidos a exames clínicos e laboratoriais na linha de base do projeto BHAS em 1997. Dados de medidas antropométricas de 1.451 indivíduos idosos da linha de base estão disponíveis. Novas medidas antropométricas foram realizadas em 2000, 2002 e 2008. O seguimento de dez anos da coorte conta com 1437 indivíduos, o que denota perda de seguimento de aproximadamente 2% ao ano [50].

IV.4. Plano de coleta e análise dos dados

O projeto será dividido em três etapas:

1- A primeira etapa consiste em estudo transversal com objetivo de avaliar a relação entre BNP e IMC. Para isso, serão analisados os dados da linha de base do projeto BHAS. Variáveis contínuas serão descritas pela média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil, dependendo da distribuição dos dados ser normal ou não. Poderão ser criadas variáveis qualitativas a partir da categorização de variáveis contínuas (ex. hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemia) e estas serão descritas pelas proporções. Transformação logarítmica de dados não normais será realizada para permitir a análise posterior.

Coefficientes de Pearson ou Spearman serão utilizados para mensurar a correlação entre as variáveis e a análise de regressão linear será obtida para descrever a relação entre as variáveis. Com o intuito de se obter o melhor modelo de regressão, análise de regressão linear múltipla será delineada entre BNP, variável dependente, e variáveis independentes, como índice de massa corporal, índice cintura-quadril, circunferências do braço, punho, cintura, quadril, prega cutânea tricipital e demi-span. Os valores de BNP serão ajustados por idade, sexo e status sorológico em relação à doença de Chagas, além de fatores de risco cardiovasculares, como níveis séricos de colesterol total e suas frações e triglicérides, glicemia de jejum e pressão arterial.

2- A segunda etapa consiste em estudo de coorte histórica que tem por objetivo avaliar a influência do IMC e medidas antropométricas no prognóstico dos idosos na coorte de Bambuí, ao longo do seguimento de dez anos da coorte de Bambuí (1997-2008). Os desfechos a serem avaliados são mortalidade e hospitalização. Características basais dos pacientes em cada categoria de IMC (< 20 , entre 20 e 30, e ≥ 30), serão comparadas através do teste ANOVA para variáveis contínuas e do teste χ^2 de Pearson para variáveis categóricas. Transformação logarítmica de dados não normais será realizada para permitir a análise. Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier serão construídas para cada faixa de IMC e os desfechos analisados. Estas serão comparadas pelo teste do log-rank, com nível de significância estatística de 0,05 e cálculo de intervalo de confiança de 95%. Para ajuste das variáveis confundidoras e outras variáveis preditoras de sobrevivência, será feita análise multivariada através do modelo de riscos proporcionais de Cox e hazard ratios (HR) serão calculados. Devido à influência dos níveis de BNP e do status sorológico em relação à Doença de Chagas, na mortalidade em dez anos dos indivíduos da coorte de Bambuí (dados ainda não publicados), os dois fatores serão levados em conta na análise, seja por estratificação, seja por ajuste estatístico.

IV.5. Análise crítica dos possíveis riscos e benefícios

O estudo não envolve riscos adicionais aos sujeitos da pesquisa, uma vez que entrevistas e exames clínicos e laboratoriais já foram realizados. Os benefícios do estudo estão relacionados a maior entendimento sobre o comportamento do BNP em grupos em que ainda há lacunas na literatura científica sobre seu papel diagnóstico e prognóstico: idosos, obesos e portadores de doença de Chagas. Um outro ponto importante refere-se à investigação dos efeitos metabólicos do BNP recentemente descritos, através da observação da influência do

BNP sobre IMC e parâmetros nutricionais de idosos brasileiros. O BHAS fornece dados confiáveis para essa investigação, uma vez que dados antropométricos, nutricionais e referentes a hábitos alimentares e exercício físico foram coletados de maneira padronizada, sistemática e foram repetidos ao longo do seguimento. Além disso, o estudo vai gerar conhecimento em relação à influência de medidas antropométricas e nutricionais e BNP na morbidade e mortalidade de idosos brasileiros.

IV.6. Plano de divulgação dos resultados

Divulgação através de tese de doutorado, apresentação de trabalhos em eventos científicos e publicação de artigos em revistas científicas.

IV.7. Explicitação dos critérios para interromper ou suspender a pesquisa

Não se aplica ao presente trabalho.

IV.8. Local da pesquisa (detalhar as instalações dos serviços, centros, comunidades e instituições nas quais se processarão as várias etapas da pesquisa; Demonstrativo da existência de infraestrutura necessária ao desenvolvimento da pesquisa e para atender os eventuais problemas dela resultantes):

Os dados já foram coletados e o banco de dados construído. A análise será realizada em programa Stata 10, de propriedade do Professor Antônio Luiz Pinho Ribeiro.

IV.9. Orçamento financeiro detalhado (recursos, fontes e destinação, bem como a forma e o valor da remuneração do pesquisador) - preencher as folhas específicas

Os pesquisadores não receberão qualquer remuneração pelo trabalho. O projeto não envolve custos adicionais, dado que a coleta de dados clínicos e laboratoriais já foi realizada. Eventuais gastos com a contratação de profissionais estatísticos para auxílio na análise serão custeados com verba própria do professor Antonio Luiz Pinho Ribeiro que é bolsista do CNPq.

IV.10. Explicitação de existência ou não de acordo preexistente quanto à propriedade das informações geradas (demonstrando a inexistência de qualquer cláusula restritiva quanto à divulgação pública dos resultados, a menos que se trate de caso de obtenção de patenteamento; neste caso, os resultados devem se tornar públicos tão logo se encerre a etapa de patenteamento).

Se houver acordo ou contrato, incluí-lo.

Não há cláusula restritiva quanto à divulgação pública dos resultados gerados pela pesquisa e nem acordo preexistente quanto à propriedade das informações

IV.12. Declaração que os resultados da pesquisa serão tornados públicos, sejam eles favoráveis ou não.

Declaramos que os resultados do estudo proposto serão divulgados publicamente independentemente dos resultados obtidos.

IV.13. Declaração sobre o uso e destinação do material e/ou dados coletados

Os resultados serão apresentados exclusivamente na forma de publicações de cunho científico.

V. INFORMAÇÕES RELATIVAS AOS SUJEITOS DA PESQUISA

V.1. Descrição das características da população a estudar (tamanho, faixa etária, sexo, cor (classificação do IBGE), estado geral de saúde, classes e grupos sociais, etc. Caso se trate de pesquisa em grupos vulneráveis, justificar as razões para o envolvimento destes grupos).

A população de Bambuí era constituída por 1742 indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos, em 1997. Destes 92,2% participaram da entrevista e 85,9% foram submetidos a exames clínicos e laboratoriais, na linha de base do projeto BHAS em 1997. Entre os participantes, 60% eram mulheres; 58,1% tinham entre 60 e 69 anos de idade; 48,9% eram casados e 35,4% viúvos; 89,1% tinham menos de 4 anos de escolaridade; 76,7% eram chefes de família e 62,0% tinham renda mensal entre 1 e 2,99 salários-mínimos[51]. Bambuí era importante área endêmica para Doença de Chagas. Apesar da interrupção da transmissão de *Trypanosoma cruzi*, por efeito coorte, a prevalência da infecção entre os indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos, na linha de base, é em torno de 38%[47]. No primeiro ano de seguimento em 1998, houve 1,7% de perdas ou recusas à participação. A mortalidade foi de 4,6% nesse período[1]. Até o 6º. ano de seguimento, a média da perda de seguimentos se manteve em torno de 2%[50]. Outros dados de seguimento da coorte ainda não foram divulgados.

V.2. Descrição dos métodos que possam afetar diretamente os sujeitos da pesquisa

Não se aplica ao presente trabalho.

V.3. Identificação das fontes de material para a pesquisa (tais como espécimens, registros e dados a serem obtidos de seres humanos), com indicações se esse material será usado especificamente para os propósitos da pesquisa ou se será usado para outros fins

Todas as informações sociais e demográficas, sobre uso de medicamentos e hábitos de vida (atividade física, tabagismo, etilismo e hábitos alimentares), que serão utilizadas nesse projeto, foram obtidas por meio do questionário Bambuí Health and Aging Study (BHAS). Dados clínicos e laboratoriais foram coletados no estudo transversal da linha de base em 1997 e nos seguimentos do estudo de coorte. Soro e plasma foram identificados individualmente e armazenados em freezers a -80 graus Celsius. Todos os dados foram armazenados em banco de dados criado através do software Stata 10.

V.4. Descrição do plano de recrutamento de indivíduos e os procedimentos a serem seguidos

Não se aplica ao presente trabalho.

V.5. Anexar o formulário de consentimento livre e esclarecido (de acordo com o item IV da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde), específico para a pesquisa, para a apresentação do Comitê de Ética em Pesquisa, com informações sobre as circunstâncias nas quais o consentimento será obtido, quem irá tratar de obtê-lo e a natureza das informações a serem fornecidas aos sujeitos da pesquisa. O BHAS foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinki e foi aprovado pelo Comitê de Ética da Fundação Oswaldo Cruz. A participação foi voluntária e termo de consentimento foi obtido de todos os participantes.

V.6. Descrição de quaisquer riscos, com avaliação de sua possibilidade e gravidade

Não se aplica ao presente trabalho.

V.7. Descrição das medidas para proteção ou minimização de quaisquer riscos eventuais (quando apropriado, descrever as medidas para assegurar os necessários cuidados à saúde, no caso de danos aos indivíduos; e os procedimentos para monitoramento de coleta de dados para prover a segurança dos indivíduos, incluindo as medidas de proteção a confidencialidade das informações obtidas). O banco de dados do Estudo de Bambuí sobre Saúde e Envelhecimento respeita o sigilo dos participantes. Os indivíduos da pesquisa foram identificados apenas por número, sem nomes. O acesso ao banco de dados é exclusivo aos pesquisadores, apenas para finalidade científica.

V.8. Explicitar se há previsão de ressarcimento de gastos (quais) aos sujeitos da pesquisa (a importância referente não poderá ser de tal monta que possa interferir na decisão do indivíduo ou responsável de participar ou não da pesquisa)

Não se aplica ao presente trabalho.

TERMO DE COMPROMISSO

Termo de Compromisso do pesquisador responsável em cumprir os termos da Resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde (Escrever o termo, sendo assinado por todos os pesquisadores envolvidos na pesquisa).

Vide Anexo 2

VI. QUALIFICAÇÃO DOS PESQUISADORES

Curriculum vitae simplificado (modelo Lattes) do pesquisador responsável e de cada um dos demais participantes.

Vide Anexos 3,4 e5.

Referências bibliográficas:

- [1] Lima e Costa MFF, Uchoa E, Guerra HL, Firmo JO, Vidigal PG, Barreto SM. The Bambuí health and ageing study (BHAS): methodological approach and preliminary results of a population-based cohort study of the elderly in Brazil. *Rev Saúde Pública*. 2000;34(2):126-35.
- [2] SM, Passos VMA, Lima-Costa MFF. Obesity and underweight among Brazilian elderly. The Bambuí Health and Aging Study. *Cad Saúde Pública*. 2003;19(2):605-12.
- [3] Cabrera MAS, Wajngarten M, Gebara OCE, Diament J. Relação do índice de massa corporal, da relação cintura-quadril e da circunferência abdominal com a mortalidade em mulheres idosas: seguimento de 5 anos. *Cad Saúde Pública*. 2005;21(3):767-75.
- [4] Dey D, Rothenberg E, Sundh V, Bosaeus I, Steen B. Body mass index, weight change and mortality in the elderly. A 15 y longitudinal population study of 70 y olds. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2001;55:482-92.
- [5] Weiss A, Beloosesky Y, Boaz M, Yalov A, Kornowski R, Grossman E. Body Mass Index is Inversely Related to Mortality in Elderly Subjects. *J Gen Intern Med*. 2008;23(1):19-24.
- [6] Zoppini G, Verlato G, Leuzinger C, Zamboni C, Brun E, Bonora E, et al. Body mass index and the risk of mortality in type II diabetic patients from Verona. *International Journal of Obesity* 2003;27:281-5.
- [7] Visscher T, Seidell J, Molarius A, van der Kuip D, Hofman A, Witteman J. A comparison of body mass index, waist – hip ratio and waist circumference as predictors of all-cause mortality among the elderly: the Rotterdam study. *International Journal of Obesity* 2001;25:1730-5.
- [8] Corrada MM, Kawas CH, Mozaffar F, Paganini-Hill A. Association of Body Mass Index and Weight Change with All-Cause Mortality in the Elderly. *Am J Epidemiol*. 2006;163:938-49.
- [9] Janssen I, Mark AE. Elevated body mass index and mortality risk in the elderly. *Obesity Reviews* 2007;8:41-59.
- [10] Nakao K, Y. Ogawa, S. Suga, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *JHypertension*. 1992;10:907-12.
- [11] Nakao K, Y. Ogawa, S. Suga, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertension*. 1992;10:1111-4.
- [12] Davis M, Espiner E, Richards G, Billings J, Town I, Neill A, et al. Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnoea. *Lancet*. 1994 343(8895):440-4.
- [13] Lainchbury JG, Campbell E, Frampton CM, Yandle TG, Nicholls MG, AM R. Brain natriuretic peptide and n-terminal brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in patients with acute shortness of breath. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(4):728-35.

- [14] Morrison LK, Harrison A, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, A M. Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol.* 2002 39(2):202-9.
- [15] Nielsen LS, Svanegaard J, Klitgaard NA, H E. N-terminal pro-brain natriuretic peptide for discriminating between cardiac and non-cardiac dyspnoea. *Eur J Heart Fail.* 2004;6(1):63-70.
- [16] Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PWF, et al. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *American Journal of Cardiology.* 2002;90(3):254-8.
- [17] Feola M, Aspromonte N, Canali C, Ceci V, Giovinazzo P, Milani L, et al. Prognostic Value of Plasma Brain Natriuretic Peptide, Urea Nitrogen, and Creatinine in Outpatients >70 Years of Age With Heart Failure. *Am J Cardiol.* 2005;96:705-9.
- [18] Lorgis L, Zeller M, Dentan G, Sicard P, Buffet P, L'Huillier I, et al. Prognostic value of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in elderly people with acute myocardial infarction: prospective observational study. *BMJ.* 2009;338(b):1605.
- [19] Alehagen U, Svensson E, Dahlstro" U. Natriuretic Peptide Biomarkers as Information Indicators in Elderly Patients With Possible Heart Failure Followed Over Six Years: A Head-to-Head Comparison of Four Cardiac Natriuretic Peptides. *Journal of Cardiac Failure.* 2007;13(6):452-61.
- [20] Lebourgeois F, Bussy C, Myara J. Plasma Brain Natriuretic Peptide Measured In Stable Conditions Is Related To Mortality In Frail And Very Old Patients. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2009;57 (2).
- [21] Wallen T, Landahl S, Hedner T, Nakao K, Sait Y. Brain natriuretic peptide predicts mortality in the elderly. *Heart.* 1997;77:264-7.
- [22] Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, Gustafsson F, Faber J, Hildebrandt P. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide, C-Reactive Protein, and Urinary Albumin Levels as Predictors of Mortality and Cardiovascular Events in Older Adults. *JAMA.* 2005;293(13):1609-16.
- [23] Witham MD, Gillespie ND, Hutcheon SD, Struthers AD, Marion ET, McMurdo M. B-Type Natriuretic Peptide Is Associated with Mortality in Older Functionally Impaired Patients. *Journal of the American Geriatrics Society.* 2005;53:1991-5.
- [24] Spagnolo D, Giantomassi L, Espinosa E, Rappelli A, Dessì-Fulgheri P, Sarzani R, et al. Low Calorie Diet Enhances Renal, Hemodynamic, and Humoral Effects of Exogenous Atrial Natriuretic Peptide in Obese Hypertensives. *Hypertension.* 1999;33:658-62.
- [25] Moro C, Galitzky J, Sengenès C, Crampes F, Lafontan M, Berlan M. Functional and pharmacological characterization of the natriuretic peptide-dependent lipolytic pathway in human fat cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2004;308(3):984-92.

- [26] Galitzky J, Sengenès C, Thalamas C, Marques MA, Senard JM, Lafontan M, et al. The lipid-mobilizing effect of atrial natriuretic peptide is unrelated to sympathetic nervous system activation or obesity in young men. *Journal of Lipid Research*. 2001;42(4):536-44.
- [27] Miyashita K, Itoh H, Tsujimoto H, Tamura N, Fukunaga Y, Sone M, et al. Natriuretic Peptides/cGMP/cGMP-dependent Protein Kinase Cascades Promote Muscle Mitochondrial Biogenesis and Prevent Obesity. *Diabetes*. 2009 Aug 18.
- [28] Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, et al. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides - Results from the Dallas heart study. *Circulation*. 2005;112(14):2163-8.
- [29] Taylor JA, Christenson RH, Rao K, Jorge M, Gottlieb SS. B-type natriuretic peptide and N-terminal pro B-type natriuretic peptide are depressed in obesity despite higher left ventricular end diastolic pressures. *American Heart Journal*. 2006;152(6):1071-6.
- [30] Daniels LB, Clopton P, Bhalla V, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, et al. How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the Breathing Not Properly Multinational Study. . *Am Heart J*. 2006;151(5):999-1005.
- [31] McCord J, Mundy BJ, Hudson MP, Maisel AS, Hollander JE, Abraham AT, et al. Relationship between obesity and B-type natriuretic peptide levels. *Archives of Internal Medicine*. 2004;164(20):2247-52.
- [32] Krauser DG, Lloyd-Jones DM, Chae CU, Cameron R, Anwaruddin S, Baggish AL, et al. Effect of body mass index on natriuretic peptide levels in patients with acute congestive heart failure: A ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) substudy. *American Heart Journal*. 2005;149(4):744-50.
- [33] Kimmenade Rv, Dielen Fv, Bakker J, Nijhuis J, Crijns H, Buurman W, et al. Is Brain Natriuretic Peptide Production Decreased in Obese Subjects? *JACC*. 2006;47(4):886-7.
- [34] Hong SN, Ahn Y, Yoon NS, Moon JY, Kim KH, Hong YJ, et al. N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide Level Is Depressed in Patients With Significant Coronary Artery Disease Who Have High Body Mass Index. *International Heart Journal*. 2008;49(4):403-12.
- [35] Horwich TB, Hamilton MA, Fonarow GC. B-type natriuretic peptide levels in obese patients with advanced heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;47(1):85-90.
- [36] Mehra MR, Uber PA, Park MH, Scott RL, Ventura HO, Harris BC, et al. Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004;43(9):1590-5.
- [37] Beleigoli A, Diniz M, Ribeiro A. Natriuretic peptides: linking heart and adipose tissue in obesity and related conditions – a systematic review. *Obesity Reviews* 2009:1-10.

- [38] Wang TJ, Larson MG, Keyes MJ, Levy D, Benjamin EJ, Vasan RS. Association of plasma natriuretic peptide levels with metabolic risk factors in ambulatory individuals. *Circulation*. 2007;115(11):1345-53.
- [39] Dokainish H, Gonzalez R, Hartley WB, Caldera A, Koshy S, Sengupta R, et al. Usefulness of B-type natriuretic peptide levels to predict left ventricular filling pressures in patients with body mass index > 35, 31 to 35, and <= 30 kg/m(2). *American Journal of Cardiology*. 2007;100:1166-71.
- [40] Bayes-Genis A, Lloyd-Jones DM, van Kimmenade RR, Lainchbury JG, Richards AM, Ordonez-Llanos J, et al. Effect of body mass index on diagnostic and prognostic usefulness of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with acute dyspnea. *Arch Intern Med*. 2007 Feb 26;167(4):400-7.
- [41] Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PWF, et al. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation*. 2004;109(5):594-600.
- [42] Sengen's C, Stich V, Berlan M, Hejnova J, Lafontan M, Pariskova Z, et al. Increased lipolysis in adipose tissue and lipid mobilization to natriuretic peptides during low calorie diet in obese women. *International Journal of Obesity* 2002; 26:24-32.
- [43] Stein CJ, Colditz GA. The Epidemic of Obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2522-5.
- [44] Chobanian AV, Bakris GL, HR B. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. In: *JAMA*, editor.; 2003; 2003. p. 2560-72.
- [45] Passos VMA, Barreto SM, Lima-Costa MFF. Detection of renal dysfunction based on serum creatinine levels in a Brazilian community. The Bambuí Health and Ageing Study. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36(3):393-401.
- [46] Genuth S, Alberti K, Bennett P. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:3160.
- [47] Lima e Costa MFF, Barreto SM, Guerra HL, Uchoa E, Vidigal PG. Ageing with Trypanosoma cruzi infection in a community where transmission has been interrupted: the Bambuí Health and Aging Study (BHAS). *International Journal of Epidemiology*. 2001;30:887-93.
- [48] Kelly P, Foreman P, Taylor V, Black M, Grant L, McAllister J, et al. Analytical Performance Evaluation of the Abbott AxSYM® BNP Assay. *American Association for Clinical Chemistry Annual Meeting*; 2004; Los Angeles, California; 2004.
- [49] Kelly P, Foreman P, Taylor V, Brooksbank K, Black M, Grant L, et al. Stability of BNP in Whole Blood and Plasma. *American Association for Clinical Chemistry Annual Meeting*. Los Angeles, California 2004.
- [50] [cited; Available from: http://www.cpqrr.fiocruz.br:81/nespe/NESPE_Portuguese/bambui_p.php

[51] Lima e Costa MFF, Guerra HL, Firmo JO, Uchoa E. Projeto Bambuí: um Estudo Epidemiológico de Características Sociodemográficas, Suporte Social e Indicadores de Condição de Saúde dos Idosos em Comparação aos Adultos Jovens. Informe Epidemiológico do SUS. 2002;11(2):91 - 105.

APÊNDICE B

ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA PEPTIDES



B-type natriuretic peptide and anthropometric measures in a Brazilian elderly population with a high prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection

Alline Maria Beleigoli^{a,*}, Maria Fernanda Lima-Costa^{a,b}, Maria de Fátima Haueisen Diniz^{a,c}, Antônio Luiz Ribeiro^{a,c}

^a Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Alfredo Balena, 190, Belo Horizonte, CEP 30130-100, Brazil

^b Centro de Pesquisas René Rachos, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Augusto de Lima, 1715, Belo Horizonte, CEP 30190-002, Brazil

^c Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Alfredo Balena, 110 Belo Horizonte, CEP 30130-100, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 June 2011

Received in revised form 12 August 2011

Accepted 12 August 2011

Available online 22 August 2011

Keywords:

B-type natriuretic peptide

Body mass index

Anthropometric measures

Chagas disease

Metabolism

Adipose tissue

ABSTRACT

B-type natriuretic peptide (BNP) is a diagnostic and prognostic tool in heart failure and also in Chagas disease, which is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and has cardiomyopathy as a main feature. BNP lipolytic actions and *T. cruzi* infection in the adipose tissue have been recently described. We aim to investigate the relationship between BNP and anthropometric measures and whether it is influenced by *T. cruzi* infection. We measured BNP, body mass index (BMI), waist circumference (WC), triceps skin-fold thickness (TSF) and performed serological, biochemical and electrocardiographic exams in 1398 subjects (37.5% infected with *T. cruzi*) in a community-dwelling elderly population in Bambuí city, Brazil. Linear multivariate regression analysis was performed to investigate determinants of BNP levels. BNP levels were significantly ($p < 0.05$) higher in *T. cruzi*-infected subjects than in the non-infected group (median = 121 and 64 pg/mL, respectively). BMI, WC and TSF in infected subjects were significantly lower than those in non-infected subjects (24.3 vs. 25.5 kg/m²; 89.2 vs. 92.4 cm; and 14.5 vs. 16.0 mm, respectively). There was an inverse relationship between BNP levels and BMI ($b = -0.018$), WC ($b = -0.005$) and TSF ($b = -0.193$) levels. Infected and non-infected groups showed similar inverse relationships between BNP and BMI ($b = -0.021$ and $b = -0.015$, respectively). In conclusion, there was an inverse relationship between BNP levels and the anthropometric measures. Despite the actions in the adipose tissue, *T. cruzi* infection did not modify the associations between BNP and BMI, suggesting that body mass does not modify the accuracy of BNP in Chagas disease.

© 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

B-type natriuretic peptide (BNP), a 32-amino-acid peptide member of the natriuretic peptide (NP) family, is released by ventricular cardiomyocytes under high pressure and volume overload states. Vasodilation, diuresis, natriuresis, and inhibition of the activities of the renin–angiotensin–aldosterone and the sympathetic nervous systems are among its hemodynamic actions. In clinical practice, BNP plasmatic measurement is used both as a diagnostic tool for exclusion of heart failure [22] and as a predictor of

coronary heart disease, stroke, and other cardiovascular outcomes [11]. An additional but less well-studied function of BNP is its action as a promoter of lipolysis in the adipose tissue, which has generated speculation regarding its involvement in the biological mechanisms of obesity and cardiac cachexia [4,15,33]. Population-based studies performed in North America, Europe and Asia have shown that body mass index (BMI) is inversely related to BNP levels, and, consequently, obese individuals have lower BNP levels than lean ones, even in the presence of heart failure [8,9,21,38]. Few studies have addressed the influence of other measures of adiposity on BNP levels that may be important in the application of the peptide as a diagnostic or prognostic tool [9,34].

Cardiomyopathy is the main feature of Chagas disease [6], a disorder caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, endemic in South America and Central America. It is characterized by heart block, ventricular arrhythmia, and heart failure with left ventricular systolic and/or diastolic dysfunction. Left ventricular systolic and diastolic dysfunctions are associated with higher BNP levels [2,30]. Recently, a large community-based study showed that there was a graded and strong cross-sectional relationship between BNP

Abbreviations: BNP, B-type natriuretic peptide; NP, natriuretic peptides; BMI, body mass index; WC, waist circumference; TSF, triceps skin-fold thickness; *T. cruzi*, *Trypanosoma cruzi*; ECG, electrocardiogram; EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; MEIA, microparticle-based immunoassay; NPA, natriuretic peptide type-A receptor; cGMP, cyclic guanosine monophosphate; NPCr, natriuretic peptide clearance receptors; NT-proBNP, amino-terminal fraction of B-type natriuretic peptide.

* Corresponding author, Rua Rogério Fajardo, 180/401, CEP 30310-450, Belo Horizonte, MG, Brazil. Tel.: +55 31 32851491; fax: +55 31 32233328.

E-mail address: beleigoli@yahoo.com (A.M. Beleigoli).

levels and *T. cruzi* infection in old age and that BNP is an independent predictor for the 10-year mortality rate in infected elderly [17]. In addition, adipose tissue has been described as an important target organ for *T. cruzi* infection [25]. To our knowledge, the effect of *T. cruzi* infection on the relationship between BNP and BMI or other anthropometric measures is unknown.

We aimed to investigate the relationship between BNP and anthropometric measures (BMI, waist circumference and triceps skin-fold thickness) in a large community-dwelling elderly population in Brazil. An additional objective was to examine whether *T. cruzi* infection has an influence on these associations.

2. Materials and methods

2.1. Study population

The study was conducted in Bambuí city (~15,000 inhabitants), which is situated in the southeastern Brazil and is one of the oldest known endemic areas for Chagas disease. The procedures used in the Bambuí Cohort Study of Aging have been described in detail elsewhere [18]. Briefly, the baseline cohort population comprised all residents who were 60 years old or older on January 1, 1997, and who were identified by means of a complete census conducted in the city. A total of 1606 (92.2%) of the 1742 eligible residents participated. The present study is based on the baseline data collection, performed in 1997, comprising standardized interviews, blood tests, blood pressure measurements, and electrocardiogram (ECG).

Participants signed an informed consent form and authorized death-certificate verification. The Bambuí Cohort Study of Aging was approved by the ethics board of the Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil.

2.2. BNP measurement

Blood samples for the measurement of BNP were collected in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). BNP was measured using a microparticle-based immunoassay (MEIA/AXSYM, Abbott Laboratories). The lower limits of detection and the average inter-assay coefficients of variation were less than 15 pg/mL and 12%, respectively. Subjects were asked to fast for 12 h prior to an early-morning (6:30–8:30 AM) phlebotomy. The samples were aliquoted and stored at -80°C until used.

2.3. Body mass index and the other anthropometric measures

Anthropometric measures used in the analysis were BMI, waist circumference and triceps skin-fold thickness. Two high-precision digital scales (range 0–150 kg \times 0.1 kg) were used for the measurement of weight (kg) and height (cm). BMI was calculated using the conventional formula of weight in kilograms divided by the square of the height in meters. A CMS Portable Stadiometer kit (CMS Weighing Equipment Ltd., London) was used for measurements of the waist circumference (WC) at umbilicus height and triceps skin-fold thickness (TSF) (mm). The reliability of these measurements was determined by repeating them in a 5% cohort of all of the study participants [19]. All measures were performed with individuals wearing light clothing and no shoes.

2.4. *Trypanosoma cruzi* infection

Infection with *T. cruzi* at baseline was assessed by concurrently performing a hemagglutination assay (Biolab Mérieux SA, Rio de Janeiro, Brazil) and two enzyme-linked immunosorbent assays (Abbott Laboratories, Inc., North Chicago, IL; and Wiener Laboratories, Rosario, Argentina). The agreement (Cohen's kappa) among

these assays was 0.989 ($p < 0.001$). Seropositivity in all three examinations was the criterion for the presence of infection; absence of infection was defined as consistent seronegativity.

2.5. Other measures

The following other measures that had been previously described as being associated with BNP levels were included in this study: age, sex, systolic blood pressure, diabetes mellitus, creatinine, and possible old myocardial infarction [24,37,39]. In addition, the ECG abnormalities related with Chagas disease that have already been associated with increased BNP levels in Bambuí cohort population were considered in the analysis [17]. Systolic blood pressure was defined as the mean of two out of three measurements using standard protocols. Fasting blood glucose and creatinine levels were assessed by traditional enzymatic methods. Diabetes was defined as a 12-h-fast glucose ≥ 126 mg/dL and/or the use of insulin or oral hypoglycemic agents. Electrocardiographic variables were verified by 12-lead ECGs digitally recorded at rest using standardized procedures. ECGs were analyzed by experienced cardiologists at the ECG Reading Center (EPICARE Center, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, NC) and classified according to the Minnesota code criteria [29]. ECG abnormalities considered in this study were possible history of myocardial infarction (Minnesota codes 1.3.x and 4.1.x, 4.2, 5.1, or 5.2), complete intra-ventricular block (Minnesota code 7.1, 7.2, 7.4, or 7.8) and frequent ventricular premature beats (Minnesota code 8.1.2 or 8.1.3).

2.6. Statistical analysis

Verification of the normal distribution of continuous data was accomplished by construction of histograms and normal plots. Variables with a skewed distribution were log-transformed. Continuous variables were described by the mean and standard deviation or the median and the inter-quartile range. Participant characteristics, stratified by *T. cruzi*-infection, were compared by the Student's *t*-test, Pearson's chi-square test or the Mann-Whitney two-sample rank-sum test for differences between means, frequencies or medians, respectively. Multivariable linear regression models were performed to assess the association of log BNP with anthropometric measures (BMI, waist circumference and triceps skin-fold thickness) adjusting to age, sex, Chagas disease, systolic blood pressure, diabetes mellitus, log-transformed serum creatinine levels, possible history of myocardial infarction, complete intra-ventricular block and frequent ventricular premature beats on an ECG for the whole population and for *T. cruzi* infected and non-infected groups separately. Afterwards, we compared the regression coefficients of infected persons with non-infected persons ($H_0: B_{\text{CHD}} - B_{\text{non-CHD}}$, where B_{CHD} is the regression coefficient for infected and $B_{\text{non-CHD}}$ is the regression coefficient for non-infected) [1]. All tests were two-sided and a significance level of 5% was used. Statistical analyses were conducted using STATA 10.1 statistical software (Stata Corporation, College Station, TX).

3. Results

Of the 1606 cohort subjects enrolled, 1398 participants (87.1%) for whom complete data on all study variables were available were included in this analysis. Exclusion criteria included the absence of blood tests for BNP concentration and/or *T. cruzi* infection ($n = 132$), missing data for any other variable in the study ($n = 59$), and inconclusive results for *T. cruzi* infection ($n = 17$). The subjects included in the analysis were younger than those who were excluded (mean ages were 68.9 years (standard deviation (SD), 7.0) and 72.4 years (SD, 9.3), respectively; $p < 0.001$).

Table 1
 Characteristics of total and *Trypanosoma cruzi*-infected and non-infected participants.

Characteristics	Total (n 1398)	<i>Trypanosoma cruzi</i> infection		p-Value
		Yes (n= 524)	No (n= 874)	
Age, mean (SD)	68.9 (7.0)	69.2 (6.9)	68.6 (7.0)	0.108
Female sex, n (%)	850 (60.8)	396 (67.9)	454 (56.5)	<0.001
BNP in pg/mL, median (IQR)	80 (43–148)	121 (63–204.5)	64 (34–112)	<0.001
Body mass index in kg/m ² , mean (SD)	25.0 (4.9)	24.3 (5.0)	25.5 (4.8)	<0.001
Waist circumference in cm, mean (SD)	91.2 (11.2)	89.2 (11.2)	92.4 (11.0)	<0.001
Skin-fold thickness in mm, median (IQR)	15.5 (10.2–22.4)	14.5 (10.2–22.2)	16.0 (11.0–23.0)	0.042
Systolic blood pressure in mm Hg, mean (SD)	137.4 (22.4)	135.5 (22.90)	138.6 (22.0)	0.012
Diabetes mellitus, n (%)	200 (14.3)	55 (10.5)	145 (16.6)	0.002
Serum creatinine in mg/dL, median (IQR)	0.85 (0.75–0.99)	0.85 (0.76–0.98)	0.85 (0.75–0.99)	0.601
Potential prior myocardial infarction, n (%)	57 (4.1)	29 (5.5)	28 (3.2)	0.096
Intraventricular block, n (%)	191 (13.7)	144 (27.5)	47 (5.4)	<0.001
Frequent premature beats, n (%)	90 (6.4)	53 (10.1)	37 (4.2)	<0.001
Pathological Q wave, n (%)	57 (4.1)	29 (5.5)	28 (3.2)	0.024

p-Value: Student's *t*-test, Pearson's chi-square test and the Mann–Whitney two-sample rank-sum test for differences between means, frequencies and medians, respectively.

The baseline prevalence of *T. cruzi* infection was 37.5%, comprising 524 and 874 participants in the *T. cruzi*-infected and non-infected groups, respectively. Females were predominant in both groups (67.9% and 56.5%, respectively). The median BNP level was 80 pg/mL (interquartile range (IQ) 43–148), with significantly higher values in the *T. cruzi*-infected than in the non-infected group (median BNP 121 pg/mL (IQ, 63–204.5) versus 64 pg/mL (IQ 34–112), respectively). Regarding the anthropometric measures, BMI was significantly lower in the *T. cruzi*-infected than in the non-infected group (24.3 (SD 5.0) versus 25.5 (SD 4.8), respectively). Waist circumference (89.2 cm (SD 11.2) versus 92.4 cm (SD 11.0)) and triceps skin-fold thickness (14.5 mm (IQ 10.2–22.2) versus 16.0 mm (IQ 11.0–23.0)) were significantly lower in infected than in non-infected individuals. Overall participant characteristics and characteristics for each group are depicted in Table 1.

We found an inverse relationship between BNP levels and BMI, which was independent of age and sex ($B = -0.024$; 95% CI -0.034 to -0.013 ; $p < 0.001$). This association remained highly significant in the fully adjusted model ($B = -0.018$; 95% CI -0.028 to -0.008 ; $p < 0.001$). We also found an inverse association between waist circumference and BNP levels in the age–sex adjusted model ($B = -0.008$; 95% CI -0.013 to -0.004 ; $p < 0.001$) and in the fully adjusted model ($B = -0.005$; 95% CI -0.010 to -0.001 ; $p < 0.05$). Furthermore, an inverse relationship between BNP levels and triceps skin-fold thickness was also found in both univariate and adjusted models ($B = -0.193$; 95% CI -0.306 to -0.081 ; $p < 0.01$).

Both *T. cruzi*-infected ($B = -0.021$; 95% CI -0.039 to -0.005 ; $p = 0.013$) and non-infected ($B = -0.015$; 95% CI -0.028 to -0.003 ; $p = 0.017$) subjects showed a significant inverse association between BNP levels and BMI. Statistically significant associations between BNP levels and waist circumference ($B = -0.009$; 95% CI -0.017 to -0.002 ; $p = 0.017$) and triceps skin-fold thickness ($B = -0.328$; 95% CI -0.517 to -0.139 ; $p = 0.001$) were verified among *T. cruzi*-infected subjects; however, this association was not statistically significant in the non-infected group ($B = -0.003$; CI -0.008 to 0.002 ; $p = 0.222$ and $B = -0.105$; CI -0.246 to 0.362 ; $p = 0.145$, respectively). In addition, the differences of the regression coefficients between the infected and non-infected groups were not statistically significant for any of the anthropometric measures considered in the present analysis (p -values = 0.562, 0.178 and 0.390 for BMI, waist circumference and log triceps skin-fold, respectively). See Fig. 1 for crude correlations between log BNP and the anthropometric measures among infected and non-infected individuals.

4. Discussion

The results of this cross-sectional study of community-dwelling elderly with a high prevalence of *T. cruzi* infection showed an

inverse relationship between BMI and BNP levels. This association was independent of age, sex, systolic blood pressure, diabetes mellitus, blood creatinine, and selected ECG abnormalities previously reported as being associated with increased BNP levels. Most important, our results showed for the first time that this inverse association is also present in elderly individuals infected with *T. cruzi*.

Population-based studies have demonstrated an inverse relationship between BNP and BMI [9,34,38]. This relationship seems to be consistent throughout diverse clinical contexts, such as acute dyspnea in the emergency department [21] and ambulatory patients with metabolic syndrome [37]. A recent review performed by our group showed low BNP levels in obese subjects, even when they presented with heart failure [4]. Lower BNP levels have been proposed to maintain the diagnostic accuracy of the peptide in obese patients [8]. To the best of our knowledge, none of these studies specifically addressed the relationship between BNP and BMI in elderly subjects.

The findings of an inverse association between BNP and BMI are considered paradoxical because higher BMI levels are associated with a pressure and volume overload in the heart, which should lead to increased BNP secretion by cardiomyocytes. Most likely, there is a connection between the recently described action of NP as potent activators of lipolysis in adipocytes, their role in the perpetuation of obesity states and the paradoxically low levels of BNP in obese subjects [32]. Binding of NP to the trans-membrane type-A receptor (NPAR) in adipocytes leads to increased levels of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) and the activation of human phospholipase and perilipin A. This activation ultimately results in the hydrolyzation of triglycerides into non-esterified fatty acids and glycerol [33]. NP clearance receptors (NPCr) are also highly expressed in human adipose tissue and could contribute to increased clearance and the consequent low levels of circulating NP in obesity. However, the fact that the biologically inactive amino-terminal fraction of BNP (NT-proBNP), which is not degraded by NPCr, is also decreased in obese persons weakens this hypothesis [31]. Hence, alternative explanations for the reduced levels of BNP in obese subjects involve increased degradation of NP by neutral endopeptidases, which are zinc metallo-peptidases widely expressed in the vasculature, or by the action of phosphodiesterases, which are biological regulators of cGMP activity [23].

BNP has an important role in diagnosis and prognosis of various cardiac abnormalities, such as heart failure [5] and coronary disease [14,20]. In the elderly, BNP is an independent predictor of mortality from heart failure [12,28] and from non-cardiac conditions [3,36,40]. BMI is also a predictor of overall mortality in the elderly: underweight and obese older subjects are at greater risk of death than normal weight and overweight persons [7]. BMI also predicts

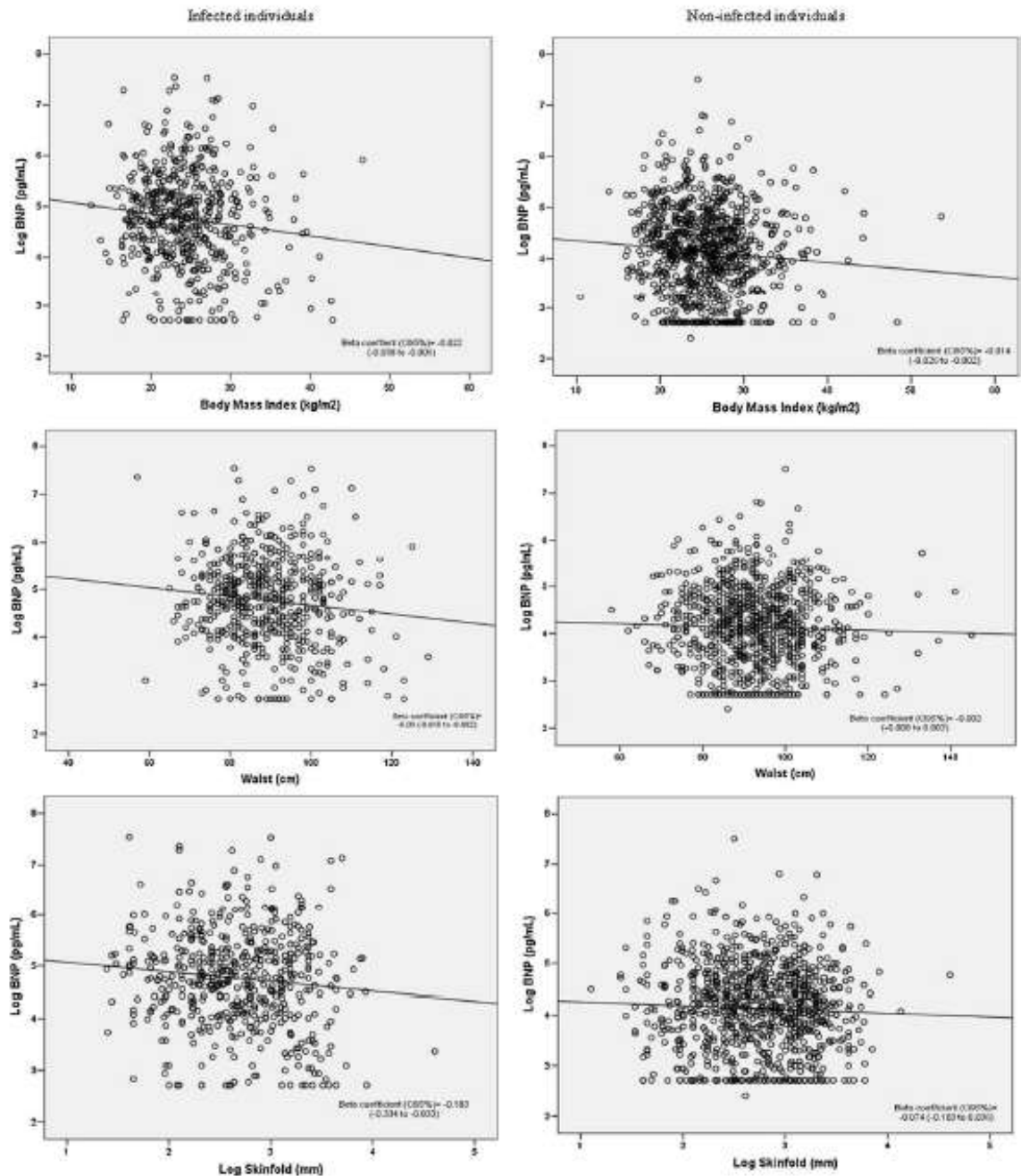


Fig. 1. Correlation between log-transformed B-type natriuretic peptide (BNP) levels and body mass index, waist circumference and log-transformed skin-fold thickness among individuals infected and non-infected with *Trypanosoma cruzi*.

mortality in subjects with heart failure, with lower mortality rates in the overweight and obese categories, a phenomenon called obesity paradox [27]. Thus, it is appropriate to consider whether the relation between BNP and BMI affects the prognostic role of BNP. In subjects with Chagas disease, increased BNP levels are

independent predictors of mortality in both clinical settings and in the community [17]; however, the influence of BMI on this association warrants further investigation.

Adipocytes are an important target of *T. cruzi* infection and a reservoir from which parasites can be reactivated during periods of

immunosuppression [25,26]. Furthermore, individuals with Chagas disease and chronic heart failure with high NP levels have low leptin levels that are independent of BMI levels [13]. We sought to determine whether there is a connection between natriuretic peptides, the inflammatory phenotype induced by infection in the adipocytes and the consequences on adipocytokines. The denervation of the sympathetic nervous system induced by *T. cruzi* in both the heart and the adipose tissue [10] can also be related to energy stores, metabolic profile and BMI in Chagas disease. We found an inverse relationship between BNP and waist circumference and skin-fold thickness, which are measures of visceral and subcutaneous fat mass, respectively [16]. Few population-based studies have investigated the relationship between BNP levels and these markers of fat mass [9,34,35]. Our results are consistent with the findings of an Asian cohort, which detected that these two components of fat mass were inversely related to BNP levels [34]. Conversely, the results of another large-based population cohort with individuals aged 30–65 years found only lean mass to be inversely related to BNP [9]. Apparently only infected subjects showed a significant inverse association between BNP and visceral and subcutaneous fat mass after stratification to Chagas disease. Further analysis demonstrated that there was no difference in the *B* coefficient between the infected and non-infected groups. These controversial results indicate the need for larger studies regarding the issue.

The major strengths of this study include the composition and size of the population based sample, the standardized measurement of parameters, and the inclusion of cardiovascular disease risk factors and several other factors previously described as being associated with BNP levels. The high prevalence of *T. cruzi* infection makes the Bambuí Cohort unique for studying the influence of BMI and body composition for the potential prognostic clinical use of BNP in Chagas disease. However, this study was limited by its inability to make conclusions on the temporal relationship between BNP levels and anthropometric measures, owing to its cross-sectional nature.

5. Conclusions

In conclusion, our results showed an inverse relationship between BNP levels and BMI, waist circumference, and triceps skin-fold thickness. This finding is probably related to BNP metabolic actions that have already been demonstrated by experimental studies. We also found that *T. cruzi* infection does not modify the nature of these associations.

Conflict of interest statement

The authors do not have any conflicts of interest. All authors have approved the final article.

Acknowledgments

This work was supported by the Financiadora de Estudos e Projetos, Rio de Janeiro, Brazil; the Ministério da Saúde, Brasília, Brazil; and the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil. M.F. Lima-Costa and A.L. Ribeiro are fellows of the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

References

- [1] Introduction to SAS. Available from: <http://www.ats.ucla.edu/stat/sas/notes2/> [cited 9.12.10].
- [2] Barbosa MM, Nunes MC, Ribeiro AL, Barral MM, Rocha MO. N-terminal proBNP levels in patients with Chagas disease: a marker of systolic and diastolic dysfunction of the left ventricle. *Eur J Echocardiogr* 2007;8:204–12.

- [3] Barents M, Hillege HH, van der Horst K, de Boer RA, Koster J, Muskiet FA, et al. BNP and NT-proBNP, predictors of 1-year mortality in nursing home residents. *J Am Med Dir Assoc* 2008;9:580–5.
- [4] Belegoli AMR, Diniz MFHS, Ribeiro ALP. Natriuretic peptides: linking heart and adipose tissue in obesity and related conditions—a systematic review. *Obes Rev* 2009;10:617–26.
- [5] Bettencourt P, Azevedo A, Pimenta J, Frices F, Ferreira S, Ferreira A. N-terminal pro-brain natriuretic peptide predicts outcome after hospital discharge in heart failure patients. *Circulation* 2004;110:2168–74.
- [6] Biolo A, Ribeiro AL, Claurell N. Chagas cardiomyopathy—where do we stand after a hundred years? *Prog Cardiovasc Dis* 2010;52:300–16.
- [7] Corrada MM, Kawas CH, Mozaffar F, Paganini-Hill A. Association of body mass index and weight change with all-cause mortality in the elderly. *Am J Epidemiol* 2006;163:938–49.
- [8] Daniels L, Clifton P, Bhalla V, Krishnaswamy P, Nowak R, McCord J, et al. How obesity affects the cut-points for B-type natriuretic peptide in the diagnosis of acute heart failure. Results from the breathing not properly multinational study. *Am Heart J* 2006;151:999–1005.
- [9] Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, et al. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides: results from the Dallas heart study. *Circulation* 2005;112:2163–8.
- [10] de Souza MM, Andrade SG, Barbosa Jr AA, Macedo Santos RT, Alves VA, Andrade ZA. Trypanosoma cruzi strains and autonomic nervous system pathology in experimental Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996;91:217–24.
- [11] Di Angelantonio E, Chowdhury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, et al. B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. *Circulation* 2009;120:2177–87.
- [12] Feola M, Aspromonte N, Canali C, Ceci V, Giovannazzo P, Milani L, et al. Prognostic value of plasma brain natriuretic peptide, urea nitrogen, and creatinine in outpatients >70 years of age with heart failure. *Am J Cardiol* 2005;96:705–9.
- [13] Fernandes F, Dantas S, Ianni BM, Ramires HJ, Buck P, Salemi VM, et al. Leptin levels in different forms of Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:1631–6.
- [14] Fontana E, Bernardi P, Pizzi C, Di Toro R, Spampinato S, Pich EM. Plasma brain natriuretic peptide at rest and after adenosine-induced myocardial ischemia in normotensive and essential hypertensive patients with suspected coronary artery disease. *Peptides* 2009;30:385–90.
- [15] Kalra PR, Tigas S. Regulation of lipolysis: natriuretic peptides and the development of cachexia. *Int J Cardiol* 2002;85:125–32.
- [16] Ketel IJ, Volman MN, Seidell JC, Stehouwer CD, Twisk JW, Lambalk CB. Superiority of skinfold measurements and waist over waist-to-hip ratio for determination of body fat distribution in a population-based cohort of Caucasian Dutch adults. *Eur J Endocrinol* 2007;156:655–61.
- [17] Lima-Costa MF, Cesar CC, Peixoto SV, Ribeiro AL. Plasma (beta)-type natriuretic peptide as a predictor of mortality in community-dwelling older adults with Chagas disease: 10-year follow-up of the Bambuí Cohort Study of Aging. *Am J Epidemiol* 2010;172:190–6.
- [18] Lima-Costa MF, Firmo JO, Uchoa E. Cohort profile: the Bambuí (Brazil) cohort study of ageing. *Int J Epidemiol* 2010;39:1–6.
- [19] Lima-Costa MF, Uchoa E, Guerra HL, Firmo JO, Vidigal PG, Barreto SM. The Bambuí health and ageing study (BHAS): methodological approach and preliminary results of a population-based cohort study of the elderly in Brazil. *Rev Saúde Pública* 2000;34:126–35.
- [20] Longis I, Zeller M, Dentan G, Sicard P, Buffet P, L'Huillier I, et al. Prognostic value of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in elderly people with acute myocardial infarction: prospective observational study. *BMJ* 2009;338:1605.
- [21] McCord J, Mundy BJ, Hudson MP, Maisel AS, Hollander JE, Abraham AT, et al. Relationship between obesity and B-type natriuretic peptide levels. *Arch Intern Med* 2004;164:2247–52.
- [22] McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, et al. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation* 2002;106:416–22.
- [23] Moro C, Klimcakova E, Lafontan M, Berlan M, Galitzky J. Phosphodiesterase-5A and neutral endopeptidase activities in human adipocytes do not control atrial natriuretic peptide-mediated lipolysis. *Br J Pharmacol* 2007;152:1102–10.
- [24] Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Circulation* 2007;115:e356–75.
- [25] Nagaoyoshi F, Desruisseaux MS, Thiruvur N, Weiss LM, Braunstein VL, Albanese C, et al. Trypanosoma cruzi infection of cultured adipocytes results in an inflammatory phenotype. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1992–7.
- [26] Nagaoyoshi F, Desruisseaux MS, Weiss LM, Chua S, Albanese C, Machado FS, et al. Chagas disease, adipose tissue and the metabolic syndrome. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104(Suppl. 1):219–25.
- [27] Oreopoulos A, Padwal R, Kalantar-Zadeh K, Fonarow GC, Norris CM, McAlister FA. Body mass index and mortality in heart failure: a meta-analysis. *Am Heart J* 2008;156:13–22.
- [28] Pflasterer M, Buser P, Rickli H, Gutmann M, Erne P, Rickenbacher P, et al. BNP-guided vs symptom-guided heart failure therapy: the trial of intensified vs standard medical therapy in elderly patients with congestive heart failure (TIME-CHF) randomized trial. *JAMA* 2009;301:383–92.
- [29] Prineas RJ, Crow RS, HB. The Minnesota code manual of electrocardiographic findings. Littleton, MA: John Wright-PSG; 1982.
- [30] Ribeiro AL, Teixeira MM, Reis AM, Talvani A, Perez AA, Barros MV, et al. Brain natriuretic peptide based strategy to detect left ventricular dysfunction in

- Chagas disease: a comparison with the conventional approach. *Int J Cardiol* 2006;109:34–40.
- [31] Rivera M, Cortes R, Salvador A, Bertomeu V, de Burgos FG, Paya R, et al. Obese subjects with heart failure have lower N-terminal pro-brain natriuretic peptide plasma levels irrespective of aetiology. *Eur J Heart Fail* 2005;7:1168–70.
- [32] Sarzani R, Dessi-Fulgheri P, Paci VME, Rappelli EA. Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest* 1996;19:581–5.
- [33] Sengenès C, Berlan M, De Gliseinski I, Lafontan M, Galitzky J. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J* 2000;14:1345–51.
- [34] Sugisawa T, Kishimoto I, Kokubo Y, Makino H, Miyamoto Y, Yoshimasa Y. Association of plasma B-type natriuretic peptide levels with obesity in a general urban Japanese population: the Suita Study. *Endocr J* 2010.
- [35] Sugisawa T, Kishimoto I, Kokubo Y, Nagumo A, Makino H, Miyamoto Y, et al. Visceral fat is negatively associated with B-type natriuretic peptide levels in patients with advanced type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;89:174–80.
- [36] Vaes B, de Ruijter W, Degryse J, Westendorp RG, Gussekloo J. Clinical relevance of a raised plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide level in a population-based cohort of nonagenarians. *J Am Geriatr Soc* 2009;57:823–9.
- [37] Wang TJ, Larson MG, Keyes MJ, Levy D, Benjamin EJ, Vasan RS. Association of plasma natriuretic peptide levels with metabolic risk factors in ambulatory individuals. *Circulation* 2007;115:1345–53.
- [38] Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PWF, et al. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation* 2004;109:584–600.
- [39] Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PWF, et al. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol* 2002;90:254–8.
- [40] Witham MD, Gillespie ND, Hutcheon SD, Struthers AD, Marion ET, McMurdo M. B-type natriuretic peptide is associated with mortality in older functionally impaired patients. *J Am Geriatr Soc* 2005;53:1991–5.

Glossary

Trypanosoma cruzi: protozoan which is endemic in South America and Central America.

Chagas disease: disease caused by the infection by *Trypanosoma cruzi*. The main clinical characteristics are the cardiomyopathy and the gastrointestinal disorders. In some cases, there is serological infection, but not clinical manifestations (indeterminate form).

Chagas disease: disease caused by the infection by *Trypanosoma cruzi*. The main clinical characteristics are the cardiomyopathy and the gastrointestinal disorders. In some cases, there is serological infection, but not clinical manifestations (indeterminate form).

Acute coronary syndrome: lack of adequate blood supply for the myocardium due to partial or complete obstruction of the coronary arteries. It results in two main clinical manifestations: angina and myocardial infarction.

Complete intra-ventricular block: disorder of the electrical conduction in the heart.

Frequent ventricular premature beats: disorder of the electrical conduction in the heart characterized by the occurrence of a premature beat. It is considered frequent when it occurs at least six times in a minute.

Dyspnea: feeling or sensation of heavy and difficult breath.

Heart failure: clinical syndrome resultant of the inappropriate blood ejection and/or filling of the heart.

ANEXOS

ANEXO A

APROVAÇÃO DO PROJETO BAMBUÍ NO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
 COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA



CONFIDENC

FIOCRUZ

Av. Brasil, 4385 - Manguinhos
 Cx. Postal 928 - CEP 20000
 Tel. (021) 280-9787 FAX
 Rio de Janeiro - RJ - BRASIL

Rio de Janeiro, 04 de novembro de 1986.

Ilustríssima Senhora
 Doutora MARIA FERNANDA FUERTADO DE LIMA E COSTA,
 DD. Chefe do Laboratório de Epidemiologia e Antropologia Médica,
 Centro de Pesquisas René Rachou - FIOCRUZ
 Att. Prof. Dr. Naftale Katz - DD. Diretor

Senhora Pesquisadora,

Tenho a satisfação de informar a Vossa Senhoria que esta Comissão aprovou, em sua reunião de 04/11/86, o projeto de pesquisa "Projeto Bambuí: Sistemas de Informações em Saúde, Diagnóstico de Saúde e Estudo Prospectivo em Idosos, com ênfase em Doenças Cardiovasculares e Aspectos Psico-Sociais".

Formulando votos de completo sucesso em sua investigação.

Atenciosamente,

Mário Antonio Sayeg
 MÁRIO ANTONIO SAYEG
 Presidente da Comissão
 de Ética da FIOCRUZ