

Luisa Campos Caldeira Brant

**AVALIAÇÃO NÃO INVASIVA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL E
SUA ASSOCIAÇÃO COM FATORES DE RISCO
CARDIOVASCULAR EM ADULTOS BRASILEIROS:
*ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO***

**Universidade Federal de Minas Gerais
Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto
Belo Horizonte - MG**

2014

Luisa Campos Caldeira Brant

**AVALIAÇÃO NÃO INVASIVA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL E
SUA ASSOCIAÇÃO COM FATORES DE RISCO
CARDIOVASCULAR EM ADULTOS BRASILEIROS:
*ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO***

Trabalho apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto (área de concentração em Ciências Clínicas).

Orientador: Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro
Coorientadora: Prof^a Sandhi Maria Barreto

Belo Horizonte

2014

B821a Brant, Luisa Campos Caldeira.
Avaliação não invasiva da função endotelial e sua associação com fatores de risco cardiovascular em adultos brasileiros [manuscrito]: Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto. / Luisa Campos Caldeira Brant. - - Belo Horizonte: 2014.
63f.: il.
Orientador: Antônio Luiz Pinho Ribeiro.
Co-Orientador: Sandhi Maria Barreto.
Área de concentração: Saúde do Adulto.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Endotélio Vascular. 2. Rigidez Vascular. 3. Epidemiologia. 4. Distribuição por Raça ou Etnia. 5. Fatores de Risco. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Ribeiro, Antônio Luiz Pinho. II. Barreto, Sandhi Maria. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.
NLM: WG 500

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitor

Prof^ª. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Renato de Lima dos Santos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor

Prof. Francisco José Penna

Chefe do Departamento de Clínica Médica

Prof. Ricardo de Menezes Macedo

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO:

Coordenadora

Prof^ª. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Sub-coordenador

Prof^ª. Paulo Caramelli

Colegiado

Prof. Marcus Vinícius Melo de Andrade

Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Prof. Francisco Eduardo Costa Cardoso

Prof^ª. Valéria Maria Azeredo Passos

Luisa Campos Caldeira Brant (representante discente)



ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA LUIZA CAMPOS CALDEIRA BRANT

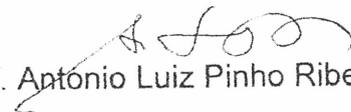
Realizou-se, no dia 31 de março de 2014, às 14:00 horas, sala 022, andar térreo da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada **AVALIAÇÃO NÃO INVASIVA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL E SUA ASSOCIAÇÃO COM FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM ADULTOS BRASILEIROS**, apresentada por **LUIZA CAMPOS CALDEIRA BRANT**, número de registro 2012656263, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Antonio Luiz Pinho Ribeiro - Orientador (UFMG), Prof^a. Sandhi Maria Barreto - Coorientadora (UFMG), Prof^a. Maria do Carmo Pereira Nunes (UFMG), Prof. Jose Geraldo Mill (UFES), Prof. Luiz Aparecido Bortolotto (USP), Prof. Bruce Bartholow Duncan (UFRGS).

A Comissão considerou a tese:

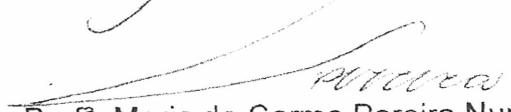
Aprovada

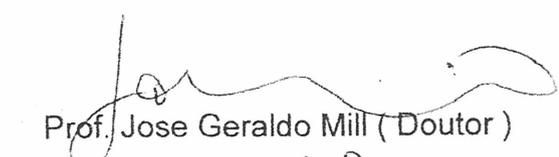
Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 31 de março de 2014.

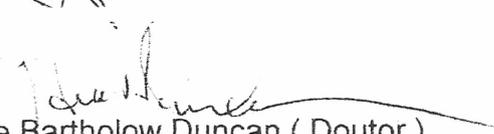

Prof. Antonio Luiz Pinho Ribeiro (Doutor)


Prof^a. Sandhi Maria Barreto (Doutora)


Prof^a. Maria do Carmo Pereira Nunes (Doutora)


Prof. Jose Geraldo Mill (Doutor)


Prof. Luiz Aparecido Bortolotto (Doutor)


Prof. Bruce Bartholow Duncan (Doutor)

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

Para os meus pais, Altino e Helena, que me deram raízes e asas

Para Carlos, pelos sonhos compartilhados

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família por me apoiar em cada passo e vibrar com cada conquista, tornando os desafios mais fáceis de serem superados. A presença de vocês - certa, alegre e carinhosa - me acalenta.

Ao Carlos, que, com amor, me estimula a seguir os meus objetivos e consegue me distrair, mesmo quando estou absorvida em pensamentos.

Aos meus queridos amigos, por compartilharem ideais e boas conversas - de longe ou de perto.

Ao orientador Prof. Antônio Ribeiro que, com inteligência, me conduziu de forma livre, porém segura; criou oportunidades, incentivando-me a abrir portas e me escutou com confiança.

À coorientadora Prof^ª. Sandhi Barreto por ter apoiado os meus planos e por, além de ter me aproximado da Epidemiologia, me fazer ter gosto por ela.

À Prof^ª. Valéria Passos por ter contribuído para minha formação com suas ponderações e por me incentivar a seguir o caminho científico.

Às Prof^ª. Emelia Benjamin e Prof^ª. Naomi Hamburg por terem sido magnânimas ao compartilharem conhecimento e experiência com o nosso grupo, dando exemplo de como a ciência deve estar ao alcance de todos que quiserem contribuir com seriedade.

À equipe de Cardiologia do Hospital das Clínicas da UFMG, em especial à Prof^ª. Graziela Chequer, por exercer a Cardiologia com o enfoque no benefício do paciente, o que torna o nosso trabalho mais prazeroso e recompensador.

À equipe ELSA-MG, pela dedicação e competência que conduzem o estudo, e aos participantes ELSA-MG, por terem se dedicado voluntariamente em prol da ciência e terem, assim, permitido a realização deste trabalho.

SUMÁRIO*

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	10
2. OBJETIVOS.....	24
3. ARTIGO: RELATIONS OF DIGITAL VASCULAR FUNCTION, CARDIOVASCULAR RISK FACTORS AND ARTERIAL STIFFNESS: THE ELSA- BRASIL COHORT STUDY	25
ABSTRACT	26
3.1. INTRODUCTION	27
3.2. METHODS	28
3.2.1 PARTICIPANTS.....	28
3.2.2 STUDY PROTOCOL.....	28
3.2.3 DIGITAL VASCULAR MEASURES.....	29
3.2.4 STATISTICAL ANALYSIS.....	30
3.3. RESULTS	31
3.4. DISCUSSION	33
3.5. PERSPECTIVES	38
3.6 ACNOWLEGDEMENTS, SOURCES OF FUNDING AND DISCLOSURES...	39
3.7 REFERENCE LIST	40
3.8 NOVELTY AND SIGNIFICANCE	43
3.9 FIGURE LEGENDS	44
TABLES	45
FIGURES	49
SUPPLEMENTAL MATERIAL	51
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
5. ANEXOS	
ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	59
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	60

* Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009.

RESUMO

A disfunção vascular é uma manifestação precoce da aterosclerose, está relacionada a fatores de risco e prediz eventos cardiovasculares. A tonometria arterial periférica (PAT) avalia, nos vasos digitais, a amplitude do pulso basal, a função endotelial (PAT *ratio*) e a reflexão da onda de pulso (PAT-AIx). Neste estudo, investigamos, em adultos brasileiros, a associação das respostas obtidas pela PAT com fatores de risco cardiovascular e com a velocidade da onda de pulso carótida-femoral (VOP), medida de rigidez arterial. Trata-se de um estudo transversal, onde 1535 participantes da coorte “Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto” foram submetidos à PAT (52 ± 9 anos; 35-74 anos; 44% mulheres). Os coeficientes de correlação parciais ajustados para sexo e idade foram calculados e modelos de regressão linear múltipla foram utilizados nas análises multivariadas, as quais evidenciaram que a amplitude do pulso basal maior e o PAT *ratio* menor, portanto compatíveis com função vascular mais prejudicada, correlacionaram-se com sexo masculino, além de IMC e colesterol total/HDL mais elevados. Adicionalmente, triglicérides elevados, PAS reduzida e a presença de doença CV prevalente correlacionaram-se com valores mais baixos do PAT *ratio*. O PAT-AIx associou-se diretamente a sexo feminino, idade, PAS, PAD e tabagismo e inversamente a frequência cardíaca, altura, IMC e doença CV prevalente. Indivíduos com raça/cor da pele preta apresentaram BPA mais baixos e PAT *ratio* e PAT-AIx mais elevados, quando comparados a indivíduos brancos e pardos. Quanto à relação entre as medidas de função vascular, não houve associação entre a amplitude do pulso basal ou o PAT *ratio* com rigidez arterial. O PAT-AIx correlacionou-se diretamente à VOP e à amplitude do pulso basal e inversamente ao PAT *ratio*, sugerindo que a reflexão da onda de pulso é influenciada por múltiplos componentes e fornece informações distintas em relação à rigidez arterial. Em adultos brasileiros, as medidas de função vascular digitais correlacionaram-se com fatores de risco cardiovascular metabólicos, assim como descrito em outras populações. Entretanto, a associação da raça/cor da pele preta com uma resposta vascular mais favorável para o BPA e PAT *ratio* é contrastante com o que foi descrito em estudos norte-americanos, levantando a hipótese que os padrões de função vascular podem diferir entre populações.

DESCRITORES: Endotélio Vascular. Rigidez Arterial. Fatores de Risco. Epidemiologia. Distribuição por Raça ou Etnia.

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A importância da função vascular no desenvolvimento e na expressão clínica das doenças cardiovasculares (CV) é bem estabelecida. A avaliação da função endotelial estuda um dos aspectos da função vascular e a presença de um endotélio disfuncionante está associada a fatores de risco e à predição de eventos CV. A tonometria arterial periférica (PAT) é um exame novo, não invasivo, para avaliação da função endotelial nos vasos digitais.

O presente trabalho é um subprojeto do “Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto” (ELSA-Brasil) que estudou a função endotelial através do PAT em 1659 indivíduos que participaram da linha de base deste estudo de coorte, com o objetivo de avaliar a distribuição das medidas em amostra da população brasileira e relacionar os achados deste exame a fatores clínicos e laboratoriais e a outras medidas de função vascular.

1.1. O “Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto” (ELSA-Brasil)

Sabe-se que o perfil das doenças e o estado de saúde de uma população relacionam-se ao seu grau de desenvolvimento e organização social.¹ Nos últimos 50 anos, houve uma melhoria da qualidade da saúde e aumento da expectativa de vida globalmente; entretanto estas mudanças ocorreram e vêm ocorrendo em diferentes regiões do mundo de forma distinta, de acordo com o estágio da transição epidemiológica que determinada região ou país se encontra.^{1,2} O termo “transição epidemiológica” é utilizado para se referir à mudança no perfil de morbimortalidade em determinada região ou país, que evolui do predomínio de doenças infecciosas e relacionadas a deficiências nutricionais para doenças crônicas não transmissíveis.¹

Os quatro grupos de doenças crônicas não transmissíveis mais prevalentes são as CV, o câncer, as respiratórias e o *diabetes mellitus*. Juntas, elas são responsáveis por 60% das mortes no mundo, sendo que, atualmente, cerca de 80% ocorrem em países de baixa ou média

¹ Yusuf S, Reddy S, Ôunpuu S, Anand S. Global Burden of Cardiovascular Diseases : Part I: General Considerations, the Epidemiologic Transition, Risk Factors, and Impact of Urbanization. *Circulation*. 2001;104:2746-2753.

² Wang H, Dwyer-Lindgren L, Lofgren KT, Rajaratnam JK, Marcus JR, Levin-Rector A, Levitz CE, Lopez AD, Murray CJL. Age-specific and sex-specific mortality in 187 countries, 1970–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380: 2071–94.

renda.^{1,3} Quando comparados aos países de alta renda, a mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis tende a ocorrer em idade mais precoce nos países de baixa e média renda, devido ao melhor conhecimento e controle dos fatores de risco nos primeiros.¹ Além disso, há tendência ao aumento do impacto dessas doenças nas próximas décadas nos países de baixa e média renda, devido ao envelhecimento da população e ao possível aumento da prevalência dos fatores de risco CV associado a mudanças nutricionais, comportamentais e geográficas, destacando-se a urbanização.¹

No Brasil, país de média renda, apesar de ter havido uma redução nas taxas de mortalidade ajustadas para idade para as doenças CV, o número absoluto de mortes por essas doenças vêm crescendo, resultado da rápida transição demográfica e geográfica – atualmente 85% da população brasileira reside em regiões urbanas e, portanto, enfrenta riscos típicos deste contexto, como a mudança do perfil nutricional.^{3,4} Como consequência, as doenças CV são atualmente a principal causa de óbito no Brasil, contribuindo com 29% desses, e têm como substrato anatômico, na maioria dos casos, a obstrução vascular pela aterosclerose.^{4,5}

Apesar disso, a maioria do nosso conhecimento acerca da epidemiologia das doenças crônicas é proveniente de grandes coortes norte-americanas e europeias. Poucos destes estudos foram conduzidos em países de baixa e média renda, onde a prevalência de efeitos modificadores pode diferir da dos países desenvolvidos e novos fatores de risco podem estar presentes.⁶ Essas diferenças podem ser decorrentes de alguns fatores e da interação entre eles, como: diferenças no perfil demográfico e expectativa de vida; estágio da transição epidemiológica; dupla carga de doenças devido à prevalência de algumas infecções ainda ser elevada; exposição a fatores ambientais relacionados ao grau de urbanização e à cultura local; influência das condições da infância precoce e também à susceptibilidade individual, fruto da expressão genética.¹

Com base no exposto acima, concebeu-se o projeto ELSA-Brasil, do qual a presente tese é um subprojeto. O ELSA-Brasil é um estudo multicêntrico de coorte que pretende investigar os determinantes da incidência das doenças CV e do diabetes. Foram incluídos 15.105

³ Schmidt MI, Duncan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, Chor D, Menezes PR. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet* 2011; 377: 1949-1961.

⁴ DATASUS. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br>>. Acesso em: 15 dez 2013.

⁵ Ross E. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115–126.

⁶ Aquino E, Barreto SM, Bensenor I, Carvalho M, Chor D, Duncan B, Lotufo P, Mill JG, Molina MC, Mota E, Passos VMA, Schmitdt MI, Szklo M. ELSA-Brasil (Brazilian Longitudinal Study of Adult Health): objectives and design. *Am J Epidemiol* 2012; 175:315-324.

adultos, entre 35 e 74 anos, residentes no Brasil. O estudo é a primeira grande coorte sobre a saúde do adulto no Brasil, é financiado pelo Ministério da Saúde e vem sendo conduzido por uma rede multidisciplinar composta por seis instituições públicas de ensino superior, os Centros de Investigação sediados nas: Universidade Federal de Minas Gerais (ELSA-MG), Universidade de São Paulo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, Universidade Federal da Bahia e FIOCRUZ-Rio de Janeiro.⁶

O objetivo do ELSA-Brasil é investigar os fatores de risco para o aparecimento e progressão de doenças CV e *diabetes mellitus* em adultos brasileiros e associá-los a desfechos subclínicos e clínicos. Uma importante contribuição será validar, em população brasileira, equações de risco para as doenças CV derivadas de outras coortes e incluir, a partir da coorte brasileira, novos fatores de risco. Com base nos resultados do ELSA-Brasil, pretende-se auxiliar no estabelecimento de políticas públicas de prevenção e controle para redução do impacto das doenças CV em nosso país.⁶

Foram elegíveis para o estudo todos os funcionários não terceirizados ativos e aposentados das instituições que sediam os Centros de Investigação, de ambos os sexos, com idade entre 35 e 74 anos. Não foram incluídos participantes grávidas ou com: diagnóstico de doença com prognóstico de sobrevida inferior a cinco anos; dificuldade cognitiva para a entrevista; afastamento prolongado por doença ou aqueles que mostraram interesse em mudança de emprego nos dois anos seguintes. O recrutamento a partir de 35 anos permitirá investigar processos e manifestações subclínicas e precoces das doenças, possivelmente eliminando o viés de sobrevivência observado em coortes com participantes mais velhos.⁶

A linha de base do ELSA foi cumprida entre 2008 e 2010, e incluiu a realização em todos os Centros de Investigação de entrevistas detalhadas, exame clínico e antropométrico, medida da pressão arterial e do índice tornozelo-braquial, coleta de sangue e urina, eletrocardiograma, avaliação da variabilidade da frequência cardíaca, ecocardiograma, ultrassom abdominal, medida da espessura médio-intimal de carótidas e retinografia. Todas as medidas e avaliações foram realizadas por profissionais treinados e certificados conforme protocolos pré-estabelecidos. A segunda avaliação dos participantes vem sendo realizada desde 2012 e tem término previsto para 2014. O acompanhamento telefônico anual ocorre desde 2010 e estão previstas novas avaliações da coorte em 2016-2017.⁶

1.2. As doenças cardiovasculares e a função endotelial

O endotélio possui funções homeostáticas vitais como o controle sobre a coagulação, o tônus vascular, a migração de células musculares lisas e a função das plaquetas e leucócitos. Alguns fatores, como hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, hiperglicemia e doenças inflamatórias podem provocar alterações no modo como o endotélio interage com os componentes celulares da corrente sanguínea e da parede vascular.^{7,8} Estas alterações resultam em maior tendência à vasoconstrição, trombogenicidade e proliferação celular anormal. A este estado fisiopatológico chamamos disfunção endotelial (DE), que tem papel central no surgimento, progressão e apresentação clínica de doenças CV, como a hipertensão arterial e a aterosclerose.⁸

A DE é caracterizada pela redução da biodisponibilidade de fatores vasoativos com propriedades anti-inflamatória, vasodilatadora e anticoagulante, destacando-se entre eles o óxido nítrico (ON).^{5,9} A redução da produção do ON pelas células endoteliais está relacionada a uma alteração na via da L-arginina-ON e pode ser o elo biológico entre o dano endotelial e a aterosclerose e, portanto, a via comum dos fatores de risco citados acima.⁷

A DE, diagnosticada nos vasos coronarianos ou periféricos, é um evento precoce, potencialmente reversível e preditor independente de eventos cardiovasculares recorrentes e incidentes.^{10,11} Por estas características, grande ênfase tem sido dada ao seu estudo, já que ela pode ter implicação em avaliações prognósticas como fator de risco incremental e ser alvo de intervenções terapêuticas, inclusive para prevenção primária de doenças CV.

Adicionalmente, a DE pode contribuir para o aparecimento de manifestações clínicas da aterosclerose, já que pode interagir com o componente fixo da placa aterosclerótica precipitando uma obstrução dinâmica através do estímulo para a trombose e vasoespasmo.^{8,10} Neste aspecto, a DE pode impedir a vasodilatação adequada e precipitar uma resposta

⁷ Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 115: 1135–1143.

⁸ Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:1149-1160.

⁹ Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 299: 373–376

¹⁰ Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation* 2005; 25:111(3):363-368.

¹¹ Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Jonhson C, Polak JF, Post W, Lima JA, Crouse JR, Herri DM. Predictive Value of Brachial Flow-Mediated Dilatation for Incident Cardiovascular Events in a Population-Based Study: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation* 2009; 120: 502-509.

vasoconstritora paradoxal em momentos de maior estresse físico ou mental, justamente quando a vasodilatação seria mais necessária, culminando em um evento isquêmico agudo.

Como detalhado acima, o endotélio exerce suas ações em vários estágios da doença CV: no início da aterosclerose, precedendo as alterações morfológicas; no desenvolvimento de um fenótipo vascular doente e finalmente contribuindo para desfechos clínicos relevantes, como o infarto agudo do miocárdico e o acidente vascular cerebral, principais causas de óbito em nosso país.⁴

1.3 Principais métodos de avaliação clínica da função endotelial

Enquanto a aterosclerose está associada a alterações da função endotelial em vários aspectos, como previamente citado, a avaliação clínica da função endotelial é baseada na regulação do tônus arterial pelo endotélio e pretende investigar a capacidade deste de produzir e liberar ON quando estimulado por fármacos ou alterações no fluxo sanguíneo.^{8,12} Ambos os estímulos mencionados, normalmente, causam vasodilatação dependente do endotélio e, portanto, dependente de ON.^{9,13} Sendo assim, o princípio básico dos métodos que avaliam clinicamente a função endotelial é semelhante: artérias saudáveis dilatam em resposta à hiperemia reativa ou a estímulos farmacológicos por drogas que induzem a vasodilatação dependente do endotélio como a acetilcolina ou a bradicinina. No entanto, as artérias doentes apresentam uma redução da vasodilatação ou até vasoconstrição, refletindo uma diminuição da biodisponibilidade do ON. Para diferenciar esta resposta de vasorreatividade daquela independente do endotélio e relacionada a alterações vasculares estruturais e das células musculares lisas, doadores de ON exógenos – como os nitratos – podem ser usados.^{12,14}

Ludmer *et al* foram os primeiros a mostrar este fenômeno em 1986 em artérias coronárias. Após a infusão intracoronariana de acetilcolina, a vasorreatividade dessas artérias foi determinada através da angiografia coronariana quantitativa. Quando normais, as artérias dilatam-se, porém as artérias com obstruções ateroscleróticas exibem uma resposta vasoconstritora pela ativação direta da acetilcolina em receptores muscarínicos das células

¹² Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, Hamburg NM, Luscher TF, Schechter M, Taddei S, Vita JA, Lerman A. The Assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation* 2012;126:753-767.

¹³ Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thüillez C, Lüscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995; 91: 1314-1321.

¹⁴ Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 257-265.

musculares lisas. Este estudo contribuiu para a mudança do paradigma que considerava a aterosclerose como uma doença puramente estrutural.¹⁵ Apesar do método descrito acima, conhecido como avaliação da vasorreatividade coronariana epicárdica, ser o “padrão-ouro” para avaliação da função endotelial, o caráter invasivo desta técnica inviabiliza seu uso como método de rastreamento e sua aplicação em sujeitos sem manifestação clínica de doença coronariana.^{8,12} Outro método que estuda a função endotelial nas artérias coronárias e, portanto, também possui caráter invasivo, é a avaliação da reserva de fluxo coronariano. Neste método, as mudanças do fluxo sanguíneo em resposta à hiperemia são utilizados para avaliar a função da microvasculatura nesse leito vascular: o fluxo coronariano basal e o encontrado após hiperemia máxima induzida pela infusão de vasodilatadores dependentes do endotélio são medidos através de um cateter e uma razão entre o fluxo após a hiperemia e o basal é calculada. Esta razão é considerada anormal quando menor que 2,0.¹²

Com o intuito de avaliar a função endotelial de forma não invasiva, Celermajer *et al* descreveram em 1992 a técnica de diagnóstico da disfunção endotelial em artérias de condução, baseando-se no conceito da aterosclerose como doença difusa.¹⁶ Desde então, o teste de reatividade da artéria braquial (BART) tornou-se a técnica mais usada como substituta da avaliação da função endotelial coronariana.¹⁴ A mudança no diâmetro arterial braquial é mensurada através do ultrassom vascular, antes e após a hiperemia reativa que é obtida através de isquemia provocada pela insuflação de um manguito de pressão no antebraço. A função endotelial é avaliada conforme a porcentagem de dilatação da artéria mediada pelo fluxo (FMD).¹⁴ A resposta da artéria braquial à hiperemia reativa relaciona-se à liberação de ON e à função endotelial coronariana.^{13,17} Além disso, ela está associada a fatores de risco CV tradicionais, melhora com tratamentos que sabidamente reduzem o risco e prediz eventos CV.^{8,11}

Recentemente, novos aspectos desta técnica vêm sendo estudados, como a medida do diâmetro basal da artéria braquial, que inclusive associou-se a desfechos clínicos, e a velocidade do fluxo gerado durante a hiperemia reativa, que mede a função microvascular nas artérias de resistência do braço e está relacionada a fatores de risco e à predição de eventos

¹⁵ Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046-1051.

¹⁶ Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-Invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-1115.

¹⁷ Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD et al. Close relationship of endothelium function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235-1241.

CV.^{11,18,19} Apesar do BART ser um exame não invasivo e que avalia aspectos distintos da função endotelial, alguns problemas dificultam sua execução na prática clínica: é um exame complexo, demorado e altamente dependente do examinador, com uma curva de aprendizado longa.¹⁴

Em busca de uma técnica mais simples, Kuvin *et al* descreveram em 2003 um novo método para avaliação da função endotelial, conhecido como PAT.²⁰ Este método consiste na avaliação da mudança dos volumes dos pulsos digitais após a hiperemia reativa – fenômeno parcialmente dependente da liberação de ON – por sensores pneumáticos colocados nos dedos indicadores (**Figura 1**).²¹ O sinal é, portanto, simultaneamente avaliado em ambas as mãos, o que permite o controle para mudanças sistêmicas no tônus vascular.²² Através deste sinal, o aparelho calcula o índice de hiperemia reativa (RHI) automaticamente. Este é a razão entre a amplitude média do sinal entre 90 e 150 segundos após o aparecimento das curvas que se seguem à desinsuflação do manguito, dividido pela amplitude média do sinal antes da insuflação. Este resultado é dividido pela razão correspondente do braço contralateral, e corrigido para fatores basais por uma fórmula de propriedade do fabricante ($[0,226 \times \ln(\text{baseline pulse amplitude}) - 0,2]$), na tentativa de ajustar o RHI para a influência do tônus vascular basal.²⁰

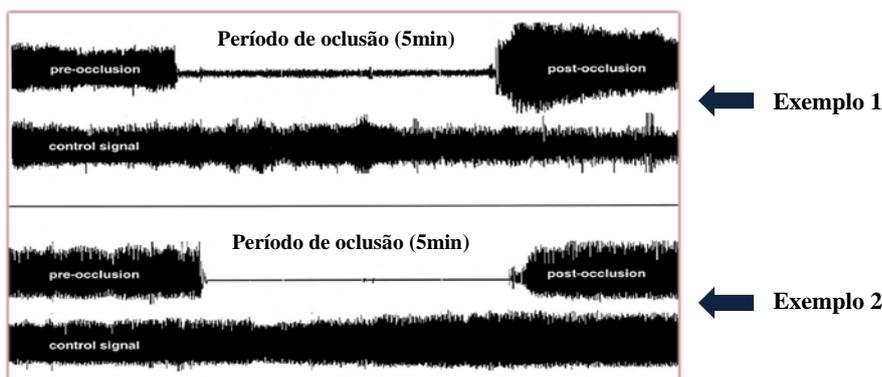


Figura 1. Curvas obtidas pela tonometria arterial periférica (PAT). O Exemplo 1 mostra que há uma resposta vasodilatadora evidenciada pelo aumento da amplitude das curvas após o período de oclusão, enquanto no Exemplo 2, não há aumento da amplitude das curvas após o período de oclusão. *Fonte:* Manual do usuário Endo-PAT2000, 2002, Itamar Medical Ltd.

¹⁸ Philpott AC, Lonn E, Title LM, Verma S, Buithieu J, Charbonneau F, Anderson TJ. Comparison of new measures of vascular function to flow mediated dilatation as a measure of cardiovascular risk factors. *Am J Cardiol* 2009;103:1610-1615.

¹⁹ Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, Buithieu J, Rose MS, Conradson H, Hildebrand K, Fung M, Verma S, Lonn EM. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation* 2011;123:163-169.

²⁰ Kuvin JT, Patel RP, Sliney KA, Pandian NG, Sheffy J, Schnall RP, Karas RH, Udelson JE. Assessment of Peripheral Vascular Endothelial Function with Finger Arterial Pulse Wave Amplitude. *Am Heart J* 2003; 146 (1): 168-174.

²¹ Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, Hurley S, Mitra D, Ganz P. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol* 2006; 101(2): 545-548.

²² Hamburg NM, Benjamin EJ. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. *Trends Cardiovasc Med* 2009; 19:6-11.

O RHI mede uma resposta complexa à hiperemia, resultado de mudanças no fluxo e no calibre dos vasos digitais.^{21,22} A validade desta medida foi mostrada em dois estudos.^{23,24} No primeiro, Bonetti *et al* estudaram a função endotelial microvascular de 94 pacientes submetidos à angiografia através da avaliação da reserva de fluxo coronariano. Após a injeção de acetilcolina intracoronariana, o diâmetro arterial e a resposta do fluxo sanguíneo foram determinados e comparados ao RHI. Detectou-se para o RHI=1,35, sensibilidade de 80% e especificidade de 85% para detecção de DE, quando comparado à resposta nas artérias coronárias.²³ No segundo, Matsuzawa *et al* avaliaram a capacidade do RHI em prever a presença de doença coronariana obstrutiva ou não (DAC) em 140 mulheres com dor torácica submetidas à angiografia. A doença coronariana não obstrutiva foi definida como a presença de espasmo das artérias epicárdicas ou da microvasculatura, ou ainda insuficiência microvascular. Em análise multivariada, o RHI associou-se significativamente à presença de DAC (*odds ratio*: 0,51; intervalo de confiança a 95%: 0,38 to 0,68; $p < 0,001$) e quando aplicado à curva ROC, o RHI foi capaz de prever essa doença com área sob a curva de 0,86 ($p < 0,001$).²⁴

Em relação à reprodutibilidade do método PAT, ela foi avaliada em uma amostra dos sujeitos submetidos a este exame no ELSA-Brasil (n=123), como parte deste subprojeto. Foi detectado que o PAT é um método factível e tem reprodutibilidade aceitável quando comparado a outros métodos não invasivos de pesquisa de DE. Neste estudo, o erro da medida foi 0,35, o coeficiente de variação foi 18% e o coeficiente de correlação intraclasse foi 0,61.²⁵

A correlação entre fatores de risco CV e a DE medida pelo PAT já foi avaliada em estudos epidemiológicos, entretanto a medida de função endotelial utilizada não foi o RHI, mas o PAT *ratio*.^{26,27} As diferenças entre eles são: para o cálculo do PAT *ratio*, o intervalo entre 90 e 120 segundos após a oclusão é utilizado; não há ajuste para o tônus vascular basal e o

²³ Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR, Kuvin JT, Lerman A. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 2137–2141.

²⁴ Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Konishi M, Matsubara J, Sumida H, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Iwashita S, Matsui K, Jinnouchi H, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Digital assessment of endothelial function and ischemic heart disease in women. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1688-1696.

²⁵ Brant LC, Barreto SM, Passos VM, Ribeiro AL. Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. *J Hypertens* 2013; 31:1984–1990.

²⁶ Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, Mitchell GF, Sheffy J, Vita JA, Benjamin EJ. Cross-Sectional Relations of Digital Vascular Function to Cardiovascular Risk Factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008; 117(19): 2467-2474.

²⁷ Schnabel RB, Schulz A, Wild PS, Sinning CR, Wilde S, Eleftheriadis M, Herkenhoff S, Zeller T, Lubos E, Lackner KJ, Warnholtz A, Gori T, Blankenberg S, Munzel T. Noninvasive vascular function measurement in the community: Cross-sectional relations and comparison of methods. *Circ Cardiovasc Imaging* 2011;4:371-380.

resultado da razão é transformada para seu logaritmo natural devido a sua distribuição não normal.²² Esta medida foi utilizada, pois inclui o intervalo em que se demonstrou que o ON é liberado (60 a 120 seg) e houve uma correlação mais forte dos fatores de risco CV com a resposta à hiperemia 90 a 120 segundos após a oclusão.^{22,26} No *Framingham Heart Study*, 1957 participantes da 3ª geração da coorte foram submetidos ao exame, enquanto no *Gutenberg Heart Study*, 5000 participantes foram submetidos ao PAT. Os estudos detectaram uma relação significativa entre o PAT *ratio* e fatores de risco CV, principalmente os metabólicos, incluindo: sexo masculino, índice de massa corporal, colesterol total/HDL, diabetes e tabagismo.^{25,26} A idade e os níveis de pressão arterial não se correlacionaram ao PAT *ratio* no primeiro, enquanto no estudo do grupo de Gutenberg não houve correlação com a idade, porém houve uma relação positiva inesperada entre as pressões arteriais sistólica e diastólica e o PAT *ratio*.^{25,26} Ambos os estudos citados também avaliaram a relação da amplitude média do pulso basal – que reflete o tônus e o fluxo vascular basal – com fatores de risco CV e as correlações encontradas foram mais fortes, mas em direção opostas às aquelas obtidas com o PAT *ratio*.^{25,26} No estudo SCORE e no estudo publicado por Morris *et al*, a raça negra apresentou-se independentemente associada à DE, assim como a outros fatores de risco CV clássicos, como o índice de massa corporal e a razão entre colesterol total e HDL.^{28,29}

A capacidade de predição independente do RHI para eventos CV foi recentemente descrita em três estudos. No primeiro, Rubinshtein *et al* estudaram 270 pacientes ambulatoriais com dor torácica inexplicada por testes funcionais e/ou angiografia e detectaram o RHI como preditor independente de eventos CV adversos, mesmo ajustados para o escore de risco de Framingham (FRS) (HR=1,68, IC 95% 1,02–2,78; p=0,04). A diferença encontrada foi principalmente devido ao aumento de hospitalizações e morte cardiovascular, apesar de não ter sido encontrada diferença quanto às taxas de infarto, revascularização miocárdica ou acidente vascular cerebral.³⁰ No segundo estudo, em 321 pacientes portadores de insuficiência cardíaca com fração de ejeção do ventrículo esquerdo preservada, o RHI associou-se independentemente a eventos CV futuros, melhorando a estratificação de risco destes pacientes quando somado aos cinco fatores prognósticos sabidamente conhecidos –

²⁸ Mulukutla SR, Venkitachalam L, Bambs C, Kip KE, Aryan Aiyer I, Marroquin OC, Reis SE. Black race is associated with digital artery endothelial dysfunction: results from the Heart SCORE study. *Eur Heart J* 2010; 31: 2808–2815.

²⁹ Morris AA, Patel RS, Binongo JN, Poole J, Mheid IA, Ahmed Y, Stoyanova N, Vaccarino V, Din-Dzietham R, Gibbons GH, Quyyumi A. Racial differences in arterial stiffness and microcirculatory function between black and white americans. *J Am Heart Assoc* 2013; 2:e002154.

³⁰ Rubinshtein R, Kuvin J, Soffler M, Lennon RL, Lavi S, Nelson RE, Pumper GM, Lerman L, Lerman A. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J* 2010; 31: 1142–1148.

idade, diabetes, classificação funcional da *New York Heart Association*, história de hospitalização por insuficiência cardíaca e fração de ejeção do ventrículo esquerdo – com um índice de reclassificação de 19% ($p=0,01$).³¹ Por último, Matsuzawa *et al* avaliaram 528 pacientes diabéticos ou com mais de 2 fatores de risco CV, a maioria portadora de doença arterial coronariana documentada por angiografia, e identificaram o RHI como fator incremental na estratificação de risco destes pacientes, com índice de reclassificação de 48,9% ($p<0,0001$) e um aumento significativo da estatística-C quando adicionado ao FRS ($p=0,02$).³²

É importante salientar que, devido às diferenças das técnicas e dos vasos em que elas são realizadas, a avaliação clínica da função endotelial de forma isolada por um dos métodos citados acima não nos oferece uma avaliação completa da função endotelial de um indivíduo. Por exemplo, apesar de dois estudos pequenos ($n<90$) terem evidenciado uma associação significativa entre o RHI e a FMD medida pelo BART,^{20,33} em estudos epidemiológicos mais recentes esta relação não foi significativa e os fatores de risco CV associados diferiram entre os dois métodos.^{27,34} Isto sugere que a FMD e o RHI fornecem informações distintas sobre a função endotelial – macro ou microvascular – que depende do tipo de vaso em que ela é avaliada.^{27,34} Assim, preconiza-se que esses métodos sejam usados de forma complementar, pois podem estar relacionados a diferentes aspectos das doenças CV e seus fatores de risco.¹²

1.4 A relação entre as medidas de função vascular

Para um entendimento mais amplo da função vascular, além da avaliação da função endotelial, é necessário estudar outras características dos vasos, assim como a relação entre essas características. Sendo assim, outras medidas de função vascular foram avaliadas no presente estudo: a amplitude média do pulso basal (BPA); o índice de aumento derivado da onda de pulso obtida pelo PAT (PAT-AIx) e a velocidade da onda de pulso carótida-femoral (VOP-CF). A BPA reflete o tônus e o fluxo arterial basal e sua relação com os fatores de

³¹ Akiyama E, Sugiyama S, Matsuzawa Y, Konishi M, Suzuki H, Nozaki T, Ohba K, Matsubara J, Maeda H, Horibata Y, Sakamoto K, Sugamura K, Yamamuro M, Sumida H, Kaikita K, Iwashita S, Matsui K, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:1778-1786.

³² Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Matsubara J, Kurokawa H, Fujisue K, Konishi M, Akiyama E, Suzuki H, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Sakamoto K, Iwashita S, Jinnouchi H, Taguri M, Morita S, Matsui K, Kimura K, Umemura S and Ogawa H. Peripheral Endothelial Function and Cardiovascular Events in High-Risk Patients. *J Am Heart Assoc* 2013;2:e000426.

³³ Dhindsa M, Sommerlad SM, DeVan AE. Interrelationships among noninvasive measures of postischemic macro- and microvascular reactivity. *J Appl Physiol* 2008; 105: 427–432.

³⁴ Hamburg NM, Palmisano J, Larson MG, Sullivan LM, Lehman BT, Vasan RS, Levy D, Mitchell GF, Vita JA, Benjamin EJ. Relation of Brachial and Digital Measures of Vascular Function in the community: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 2011; 57:390-396.

risco CV já foi mencionado anteriormente.^{26,27} O PAT-AIx é uma medida da contribuição da onda de pulso refletida dos vasos periféricos para a pressão de pulso arterial e a VOP-CF é uma medida direta de rigidez da aorta.³⁵ A relação das medidas realizadas na microvasculatura digital pelo PAT – incluindo BPA, RHI ou PAT *ratio* e PAT-AIx – com a rigidez arterial ainda não foi explorada na literatura.

A rigidez arterial pode ser avaliada diretamente medindo-se a velocidade que a onda de pressão gerada pela ejeção ventricular é propagada no leito arterial. Para determinar a rigidez da aorta, considerada o “padrão-ouro” para medida de rigidez arterial, a velocidade da onda de pulso é avaliada entre as artérias carótida e femoral, sendo este um método simples, robusto e possível de ser implantado na prática clínica.³⁵ Estudos mostraram que a VOP-CF está positivamente correlacionada à idade e aos níveis de pressão arterial, além de outros fatores de risco CV, como obesidade, diabetes e dislipidemia.^{35,36} Em relação a sua capacidade preditora de eventos CV, a VOP-CF aumentada demonstrou ter papel incremental para estratificação de risco CV quando adicionado aos escores clínicos classicamente usados, como o FRS, sendo ainda capaz de reclassificar 14,3% dos indivíduos de risco CV intermediário em risco alto ou baixo.^{37,38,39} Ademais, em estudo recente, demonstrou-se que a VOP-CF é um fator preditor de hipertensão arterial incidente.⁴⁰

A rigidez arterial, ao influenciar a velocidade de propagação das ondas de pulso, também atua na contribuição que a onda refletida da periferia exerce na pressão de pulso arterial. Acredita-se que a reflexão da onda de pulso arterial tem dois possíveis efeitos benéficos no leito vascular. O primeiro é aumentar a perfusão coronariana e ocorre quando a onda refletida está normalmente sincronizada, atingindo a raiz da aorta na diástole. Entretanto, se ela atingir a raiz da aorta mais precocemente, ainda na sístole, a onda refletida irá contribuir para o aumento da pressão de pulso, esta preditora de eventos CV adversos.³⁵ O segundo efeito benéfico é dissipar uma parte da energia da onda pulsátil que trafega para frente no leito

³⁵ Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, Pannier B, Vlachopoulos C, Wilkinson I, Struijker-Boudier H. Expert consensus document on arterial stiffness: Methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J* 2006;27:2588-2605.

³⁶ Mitchell GF, Guo CY, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, Vasani RS, Levy D. Cross-Sectional Correlates of Increased Aortic Stiffness in the Community: The Framingham Heart Study. *Circulation* 2007;115:2628-2636.

³⁷ Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of Cardiovascular Events and All-Cause Mortality With Arterial Stiffness: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1318-27.

³⁸ Sehestedt T, Jeppesen J, Hansen TW, Wachtell K, Ibsen H, Torp-Petersen C, Hildebrandt P, Olsen MH. Risk prediction is improved by adding markers of subclinical organ damage to SCORE. *Eur Heart J* 2010; 31: 883-891.

³⁹ Mitchell GF, Hwang SJ, Vasani RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, Benjamin EJ. Arterial stiffness and cardiovascular events: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2010; 121(4): 505-511.

⁴⁰ Kaess BM, Rong J, Larson MG, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, Benjamin EJ, Vasani RS, Mitchell GF. Aortic Stiffness, Blood Pressure Progression, and Incident Hypertension. *JAMA* 2012; 308(9): 875-881.

arterial, limitando a transmissão desta para a microcirculação, onde poderia causar dano vascular.⁴¹

Para medir a contribuição da onda refletida, utilizamos o índice de aumento (*augmentation index* - AIX) que é expresso como uma porcentagem da pressão de pulso. Em sítios periféricos, o AIX é medido através da análise da onda de pulso obtida pela tonometria arterial radial, está associado a fatores de risco e prediz eventos CV em populações selecionadas.³⁵ Recentemente, as ondas de pulso derivadas do PAT vêm sendo utilizadas para calcular o AIX, que tem correlação com aquele obtido pela tonometria arterial radial e associa-se a fatores de risco CV, mas foi ainda pouco estudado na literatura.^{29,42}

Baseado na relação entre a rigidez arterial e o AIX citada acima, o último vem sendo utilizado em alguns estudos como substituto da primeira.³⁵ Contudo, essa utilização pode estar inadequada, na medida em que o AI depende também da distância trafegada pela onda pulsátil refletida (altura), da duração da ejeção ventricular (frequência cardíaca) e da amplitude da onda refletida – esta fruto da geometria, número e tônus vascular das pequenas artérias e arteríolas.^{36,43} É neste último fator que a função endotelial, exercendo ações sobre a vasorreatividade, pode regular a amplitude da onda refletida e interagir com o AI, como evidenciado por Weber *et al.*⁴³

No que se refere à interação entre função endotelial microvascular e rigidez arterial, esta também foi avaliada em estudo no qual a VOP-CF mostrou-se independentemente e positivamente associada à resistência vascular basal e após hiperemia, ambas obtidas nas artérias de condução do antebraço. Este achado sugere que há uma relação entre o aumento da rigidez aórtica e o dano na microcirculação além daquele explicado pelos fatores de risco CV tradicionais.⁴⁴ Do ponto de vista clínico, a associação de desfechos sabidamente correlacionados ao aumento da rigidez arterial – como o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular cerebral – com doenças que têm na sua patogênese a lesão da

⁴¹ Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, Vasan RS, Levy D. Changes in Arterial Stiffness and Wave Reflection With Advancing Age in Healthy Men and Women: The Framingham Heart Study. *Hypertension* 2004;43:1239-1245.

⁴² Haller MJ, Silverstein JH, Shuster JJ. Correlation between radial artery tonometry- and fingertip tonometry-derived augmentation index in children with type 1 diabetes. *Diab Vasc Dis Res.* 2007;4:66.

⁴³ Weber T, Maas R, Auer J, Lamm G, Lassnig E, Rammer M, O'Rourke MF, Boger RH, Eber B. Arterial wave reflections and determinants of endothelial function a hypothesis based on peripheral mode of action. *Am J Hypertens* 2007;20:256-262

⁴⁴ Mitchell GF; Vita JA; Larson MG; Parise H; Keyes MJ; Warner E; Vasan RS; Levy D, Benjamin EJ. Cross-Sectional Relations of Peripheral Microvascular Function, Cardiovascular Disease Risk Factors, and Aortic Stiffness: The Framingham Heart Study. *Circulation* 2005;112:3722-3728.

microvasculatura – como a doença renal crônica e o déficit cognitivo – também reforça a hipótese de interação entre esses dois fenótipos disfuncionantes.^{45,46}

Pelo exposto acima, há justificativas para a existência de uma relação entre as medidas de função vascular. Entretanto, enquanto fatores dinâmicos como a liberação de ON tem um papel fundamental na função endotelial, a rigidez arterial é altamente dependente de alterações estruturais fixas da parede do vaso – incluindo o grau de fibrose e calcificação – e a associação da biodisponibilidade do ON com a rigidez arterial é controversa.^{8,43} Além disso, associações causais e os mecanismos biológicos precisos da interrelação dessas medidas ainda precisam ser esclarecidos.

1.5 Justificativa para a inclusão da avaliação da função endotelial pela tonometria arterial periférica no ELSA-MG

As pesquisas na área da aterosclerose dirigem-se às lacunas no conhecimento desta doença ao tentar identificar: marcadores de doença precoce; novos fatores que possibilitem uma melhor estratificação de risco em pacientes com e sem doença cardiovascular estabelecida e mecanismos desencadeadores do evento isquêmico agudo que sejam possíveis de ser evitados ou possam ser tratados precocemente.⁴⁷ Dentro deste contexto, as características da DE – evento precoce, potencialmente reversível, associado a fatores de risco para doenças CV e preditor de eventos CV – permitem a investigação destas lacunas e tornam a DE alvo de estudos que abordam este tema.

Logo, no Centro de Investigação ELSA-MG, responsável pela inclusão de 3115 participantes na coorte ELSA-Brasil, decidiu-se pela inclusão da avaliação da função endotelial nos exames da linha de base de 1685 participantes, corroborando os objetivos gerais do estudo. Além de servir como objeto de estudos transversais, pretende-se que estes dados sirvam como base para estudos prospectivos.

⁴⁵ Liao D, Cooper L, Cai J, Toole J, Bryan N, Burke G, Shahar E, Nieto J, Mosley T, Heiss G. The prevalence and severity of white matter lesions, their relationship with age, ethnicity, gender, and cardiovascular disease risk factors: the ARIC Study. *Neuroepidemiology* 1997;16:149–162..

⁴⁶ Safar ME, London GM, Plante GE. Arterial stiffness and kidney function. *Hypertension* 2004;43:163–168.

⁴⁷ Hlatky MA, Greenland P, Arnett D, Ballantyne CM, Criqui MH, Elkind MSV, Go AS, Harrell, Jr. FE, Hong Y, Howard BV, Howard VJ, Hsue PY, Kramer CM, McConnell J, Normand ST, O'Donnel CJ, Smith Jr SC, Wilson PWF. Criteria for Evaluation of Novel Markers of Cardiovascular Risk. *Circulation* 2009; 119: 2408–2416.

A escolha do método PAT para avaliação da função endotelial no presente estudo baseou-se em suas características. Além de possuir um mecanismo biológico relevante – dependente de ON –, é um exame não invasivo, rápido, seguro e de fácil execução, o que facilita o seu uso em pesquisas de larga escala. O fato de, com apenas um exame, três aspectos da função vascular poderem ser avaliados simultaneamente, através da BPA, do PAT *ratio* ou RHI e do PAT-AIx, também é mais um atrativo para a utilização desta técnica. Essas medidas refletem o tônus vascular basal, a função endotelial e o papel da reflexão da onda de pulso medida na microvasculatura digital, respectivamente.

Assim, no presente estudo, pretende-se avaliar a distribuição das medidas de função vascular digital pelo método PAT e sua associação com fatores de risco CV em adultos brasileiros, população distinta daquelas em que o método já foi estudado, por ser um país de média renda, com composição racial diversa e vivendo um estágio diferente da transição nutricional. Adicionalmente, pretende-se estudar a relação da raça/cor autorreferida com estas medidas e a influência de variáveis socioeconômicas sob elas. Para melhor entendimento do método, a relação entre as medidas de função vascular digital, assim como a dessas com a VOP-CF, medida considerada o padrão-ouro para avaliação de rigidez arterial, também serão avaliadas.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral:

- Avaliar a associação dos fatores de risco cardiovascular com a função endotelial avaliada pelo método PAT em adultos brasileiros.

Objetivos específicos:

Investigar, em adultos brasileiros:

- A distribuição das medidas de função vascular digital;
- A associação dos fatores de risco cardiovascular com a amplitude do pulso basal e o índice de aumento derivados do método PAT;
- A influência da raça/cor da pele autorreferida nas medidas de função vascular digital;
- A influência de fatores socioeconômicos nas medidas de função vascular digital;
- A influência do grau de atividade física nas medidas de função vascular digital;
- A relação entre as medidas de função vascular obtidas pelo método PAT e estas com a velocidade da onda de pulso carótida-femoral.

3. ARTIGO***Relations of Digital Vascular Function, Cardiovascular Risk Factors and Arterial Stiffness: The ELSA-Brasil Cohort Study****Luisa C. C. Brant, MD, ScM, Naomi M. Hamburg, MD, Sandhi M. Barreto, MD, PhD,****Emelia J. Benjamin, MD, ScM, Antonio L. P. Ribeiro, MD, PhD**

[Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) Hospital das Clínicas and School of Medicine; Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil (LCCB, SMB, ALPR). Whitaker Cardiovascular Institute, School of Medicine, Boston University, Boston, MA, US (NMH, EJB).]

Short Title: Digital vascular function in Brazilian adults**Word Count:** 5326**Abstract work count:** 249**Figures:** 2**Address for Correspondence:**

Antonio L P Ribeiro, MD, PhD
Full Professor of Internal Medicine
Universidade Federal de Minas Gerais
Av. Alfredo Balena, 110, 1º andar
Belo Horizonte, MG, Brazil
CEP: 30130-100
E-mail: tom@hc.ufmg.br
Fax: 55 (31) 32847298
Phone: 55 (31) 32879213

* Este artigo encontra-se formatado conforme as “Instruções para Autores” do periódico *Hypertension*

ABSTRACT

Vascular dysfunction is an early expression of atherosclerosis and predicts cardiovascular events. Peripheral arterial tonometry (PAT) evaluates basal pulse amplitude (BPA), endothelial function (PAT ratio) and wave reflection (PAT-AIx) in the digital microvessels. We investigated the cardiovascular risk factors correlated to PAT responses in Brazilian adults and their relation to carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), a measure of arterial stiffness. In a cross-sectional study, 1535 participants of ELSA-Brasil cohort underwent PAT testing (52 ± 9 years; 44% women). In multivariable analyses, greater impairment in BPA and PAT ratio were associated with male sex, higher body mass index and total cholesterol/HDL. Higher age and triglycerides were related to higher BPA, whereas lower systolic blood pressure, hypertension treatment and prevalent cardiovascular disease were associated with lower PAT ratio. PAT-AIx correlated positively with female sex, advancing age, systolic and diastolic blood pressures, and smoking and inversely to heart rate, height, body mass index and prevalent cardiovascular disease. Black race was associated with lower BPA, higher PAT ratio and PAT-AIx. Microvessel vasodilator function was not correlated to PWV. Higher PAT-AIx was modestly correlated to higher PWV and PAT ratio and inversely correlated to BPA, indicating that PAT-AIx has multiple components, relates to hypertension and provides distinct information from central arterial stiffness. Our results suggest that metabolic risk factors relate to impaired microvessel vasodilator function. However, in contrast to studies from the US, black race was associated with a more favorable microvessel vasodilator response, implying that vascular function may vary by race across populations.

Key Words: vascular function; endothelium; arterial stiffness; risk factors; epidemiology; race/ethnicity.

Endothelial dysfunction is an early expression of vascular disease, relates to cardiovascular risk factors and predicts cardiovascular events.¹ It is characterized by decreased nitric oxide (NO) bioavailability and results in vascular inflammation, constriction and thrombosis.¹ The response to increased flow in digital microcirculation, measured by peripheral arterial tonometry (PAT), depends on NO bioavailability and has been established as a measure of endothelial function.^{2,3} Previous studies have reported that PAT response is related to endothelial dysfunction in the coronary arteries,^{4,5} to cardiovascular risk factors^{6,7} and may predict cardiovascular events.^{8,9} PAT also measures basal tone, which associates with cardiovascular risk factors,^{6,7} but was not able to predict cardiovascular events in a high-risk population.⁹

Augmentation index (AIx) measures the contribution that wave reflection makes to arterial pressure and is expressed as a percentage of pulse pressure.¹⁰ AIx is traditionally measured by arterial tonometry, associates with cardiovascular risk factors and predicts cardiovascular events in selected populations.¹⁰ Recently, PAT derived waveforms have been used to calculate AIx (PAT-AIx), which correlates to the AIx obtained by radial tonometry.¹¹ However, the association of PAT-AIx to risk factors and other vascular function measures is not clearly elucidated.^{12,13}

Previous studies have shown the relation of PAT measures to cardiovascular risk factors in American and European cohorts.^{6,7} In US cohorts, black race was associated to impaired endothelial function.^{12,14} Therefore, we sought to evaluate the clinical correlates of PAT measures in a community-based study of a distinct ethnic background: a middle income country with intense racial admixture. We also studied the relations between digital vascular function and carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), the gold-standard measurement of arterial stiffness.¹⁰

METHODS

Participants

The study sample derived from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil), a multicenter cohort of 15,105 civil servants designed to investigate the determinants of cardiovascular diseases and diabetes. Eligibility criteria included active or retired employees of the six institutions, aged 35 to 74 years, who volunteered to participate. Greater details of concept and design were published elsewhere.¹⁵ Digital vascular function was assessed in participants at their baseline visit to Minas Gerais Investigation Center, which enrolled 3115 participants. As PAT data acquisition began partway through the baseline visit, 1659 participants were eligible for this exam. In addition, 124 were excluded due to: Raynaud's disease (n=1), radical mastectomy (n=3), patient refusal (n=2), hand abnormality (n=5), acute illness in the 12h before PAT exam (n=58), missing data file (n=2), use of nitrates (n=3) or technically inadequate studies (n=50). Technical inadequacy refers to insufficient flow occlusion (n=7), poor PAT signal quality (n=27), incomplete PAT data acquisition (n=4) and occlusion period >5:30 min (n=12). The Universidade Federal de Minas Gerais and the Brazilian National Ethics Committee approved the study and all participants provided written informed consent.

Study protocol

Participants were asked to refrain from eating, consuming alcohol or caffeine, and exercising 12 hours prior to the examinations. Medical history and socioeconomic factors were obtained by questionnaires. Race and current smoking were self-reported. For race, participants could choose from a fixed set of categories based on the Brazilian Census classification: black, mixed, white, native Brazilian or yellow. Yellow is used in Brazil for people of Asian origin. Physical activity was assessed by the short version of the International Physical Activity

Questionnaire and participants were classified as low (<600), moderate (600-3,000) or highly active ($\geq 3,000$ MET-minutes/week).¹⁶ Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared. Abdominal obesity was defined as waist circumference >88cm for women and >102cm for men. Blood pressure and heart rate were measured 3 times in seated position after 5 minutes rest. Blood pressure was measured automatically (Omron 765CP; Omron, Kyoto, Japan), in the left arm, 2 cm above the cubital fossa and the average of the second and third measurements was used. PWV was obtained using an automatic device (Complior SP, Artech Medical, Paris, France) by dividing the suprasternal notch-femoral distance by the difference in transit time between pulse waves measured at the carotid and femoral arteries. Blood samples were collected in the fasting state and after a 2-hour oral 75g of glucose load and blood analytes were measured according to previous publication.¹⁵ The following definitions were used for cardiovascular risk factors: diabetes (fasting glucose ≥ 126 mg/dL, glucose after a tolerance test ≥ 200 mg/dL, hemoglobin A_{1c} $\geq 6.5\%$, self-reported diabetes or treatment with insulin or a hypoglycemic agent); impaired fasting glucose (100-125mg/dL); hypertension (systolic blood pressure (SBP) ≥ 140 mmHg, diastolic blood pressure (DBP) ≥ 90 mmHg or use of hypertensive treatment) and prevalent cardiovascular disease (self-reported coronary artery disease, heart failure or stroke).

Digital vascular measures

Digital vascular measures were obtained with an automated device (EndoPAT2000, Itamar Medical, Caesarea, Israel). Briefly, the cuff was placed in the participant's non-dominant arm, 2 cm above the cubital fossa, and PAT probes on each index finger. Baseline pulse amplitude (BPA) was measured for 5 min. Arterial flow was interrupted on one side for 5 min by inflating the cuff at suprasystolic pressure. After 5 min, the cuff was deflated to

induce reactive hyperemia and PAT signal was recorded for another 5 min. The contralateral finger was used to control for systemic changes. PAT ratio is the ratio of post-deflation pulse amplitude 90 to 120 s after cuff release to the mean BPA. This result is divided by the corresponding ratio from the control finger and transformed to its natural logarithm. PAT ratio has been shown to best reflect the variability of reactive hyperemia that can be explained by cardiovascular risk factors and its interval includes the maximum vasodilation period, which is dependent on NO (**Supplemental Figure 1**).^{3,6} PAT-AIx is calculated by the device averaging the BPA data and using the formula: $\text{PAT-AIx} = (P2 - P1) \times 100 / P1(\%)$ (**Figure 1**).¹⁰ More detailed information and the reproducibility of PAT in ELSA-Brasil has been published elsewhere.¹⁷

Statistical Analyses

Dichotomous variables are expressed as frequencies and continuous variables as mean \pm standard deviation, unless stated otherwise. BPA, triglycerides and C-reactive protein were transformed to their natural logarithm because of skewed distributions. To determine the correlates of digital vascular measures, we calculated partial correlation coefficients accounting for age and sex for: SBP, DBP, heart rate, BMI, C-reactive protein, ratio of total to HDL cholesterol, triglycerides, fasting glucose, diabetes, abdominal obesity, smoking, hypertension, lipid-lowering and hypertension treatment, prevalent cardiovascular disease, physical activity status, level of education and annual family income. We then performed stepwise multivariable regression models, in which age and sex were forced in and the variables listed above, except the last three and hypertension, were allowed to enter the models ($p < 0.10$ to enter and $p < 0.05$ to stay). No collinearity between variables, assessed by VIF and tolerance test, was found. Height was included in PAT-AIx models. Secondly, we tested for age and sex interaction and stratified participants according to the presence of

normal or impaired fasting glucose or diabetes to relate these groups to the digital vascular measures.

Univariate general linear models accounting for age, sex, cardiovascular risk factors and socioeconomic status variables were used to examine the relation of race and digital vascular function (Model 1: SBP, DBP, heart rate, BMI, smoking, total cholesterol/HDL, triglycerides, fasting glucose, hypertension, diabetes, hypertension and lipid-lowering treatment and prevalent cardiovascular disease; Model 2: Model 1 + annual family income and level of education). Bonferroni correction was used to assess differences between groups.

To evaluate the correlation between vascular measures, we estimated partial correlation coefficients for BPA, PAT ratio, PAT-AIx and PWV, adjusted for sex, age, heart rate and height (Model A) and then in a multivariable-adjusted model for cardiovascular risk factors (Model B=Model 1, including height).

All analyses were performed using SPSS 20 (Chicago, IL, USA). Two-sided $P < 0.05$ were considered statistically significant. All authors agree to the manuscript as written.

RESULTS

Participant Characteristics and Vascular Measures

Table 1 shows the characteristics of participants: the mean age was 52 ± 9 years, 44% were women and 50.8% were white, with a low proportion of Asians and Native Brazilians. The mean fasting glucose was high, contributing to an elevated prevalence of diabetes and impaired fasting glucose. A high proportion of sedentary and highly educated participants were observed; annual family income showed a balanced distribution. For the digital vascular function measures (**Table 2**), except for PAT-AIx, men had more impaired responses than women.

Clinical Correlates of Digital Vascular Measures

As shown in **Supplemental Table 1**, male sex was related to higher BPA and lower PAT ratio and advancing age was associated with higher BPA. BPA was positively and PAT ratio was inversely associated with most cardiovascular risk factors and these correlations were stronger for BPA. Prevalent cardiovascular disease was inversely correlated to PAT ratio. In multivariable models (**Table 3**), the factors positively correlated to BPA and inversely correlated to PAT ratio were: male sex, BMI and total cholesterol/HDL. Advancing age and higher triglycerides also related to higher BPA, whereas lower SBP, hypertension treatment and prevalent cardiovascular disease associated with lower PAT ratio.

Regarding PAT-AIx, it was inversely correlated to male sex, BMI, abdominal obesity, prevalent cardiovascular disease, physical activity status and socioeconomic variables. PAT-AIx directly correlated to age, smoking, SBP, DBP and hypertension. In multivariable models, higher PAT-AIx was associated with female sex, advancing age, SBP, DBP and smoking whereas increasing heart rate, height, BMI and prevalent cardiovascular disease were related to lower PAT-AIx.

The overall models explained 22%, 14% and 38% of the variability of BPA, PAT ratio and PAT-AIx, respectively, and most of this variability was due to sex.

Race-Related Differences in Digital Vascular Function

Figure 2 shows that individuals of black race had significantly lower BPA and higher PAT ratio in adjusted models than mixed and white individuals, consistent with better vasodilator function, but higher PAT-AIx. When individuals of mixed race were compared to whites, these differences were not significant. In models additionally adjusted for socioeconomic variables (**Supplemental Figure 2**), the same pattern was observed for PAT ratio. For BPA,

the difference between mixed and white individuals became significant and for PAT-AIx, only black and white individuals remained significantly different.

Correlation of Vascular Function Measures

Table 4 reveals that in model A, PAT-AIx was directly associated with PAT ratio and PWV, and inversely associated to BPA. Higher BPA was strongly associated with lower PAT ratio and both were not correlated to PWV. In the adjusted model for cardiovascular risk factors (model B), the correlations changed for PWV, which also was inversely associated with BPA.

Secondary Analyses

Glucose metabolism profile

Higher BPA and lower PAT ratio were detected in participants with diabetes or impaired fasting glucose when compared to participants with normal fasting glucose ($p < 0.001$).

However, the difference between participants with diabetes and impaired fasting glucose was not significant ($p = 0.55$ for BPA, $p = 1.00$ for PAT ratio).

Age and Sex Interactions

A significant interaction between age and sex was only observed for PAT-AIx: the age estimated effect size for women was 0.39 and for men 0.61, suggesting that the increase in PAT-AIx with advancing age is greater in men than women. In the latter, it tended to plateau at the age of 55 years (**Supplemental Figure 3**).

DISCUSSION

In the present study, we evaluated the distribution of digital vascular measures and their correlation to cardiovascular risk factors in a large Brazilian cohort representing a middle income country with a distinct racial background. We observed high prevalences of

metabolic disorders including obesity, hyperlipidemia and diabetes. As has been previously reported in cohorts from high income countries,^{6,7} we demonstrated associations of cardiovascular risk factors, particularly metabolic, with lower microvessel vasodilator function. We also observed that self-reported race was unexpectedly related to digital endothelial function. As we anticipated, black race was associated with higher peripheral wave reflection measured by PAT-AIx. However, black race was associated with lower BPA and greater PAT ratio, the latter indicating more favorable digital vessel hyperemic response, which persisted when accounting for concomitant cardiovascular risk factors and socioeconomic status. Taken together, our findings suggest that the association of race and vascular function may vary across countries and confirm the need for additional studies to determine the genetic contribution to racial variability in vascular function.

There is considerable interest in measuring arterial stiffness as a predictor of hypertension and cardiovascular risk. The PAT-AIx is a novel approach to determine AIx that would allow an assessment of vasodilator response and stiffness properties during the same test. In our cohort, we observed only modest associations between PAT-AIx and PWV consistent with the fact that pulse pressure augmentation has multiple components in addition to the contribution of central aortic stiffness.^{10, 18, 19} Indeed, higher PAT-AIx was associated with lower BPA, reflecting reduced peripheral compliance. Interestingly, higher PAT-AIx was associated with higher hyperemic response, which may indicate that greater wave reflection is protective of the microcirculation.¹⁸ Central aortic stiffness was not associated with the digital hyperemic response. Further studies will be needed to evaluate the longitudinal associations of arterial stiffness and endothelial function.

Prior studies have described the association of digital vascular function with cardiovascular risk factors in US and European studies.^{6,7,12} We now demonstrate similar associations with cardiovascular risk factors in individuals from Brazil, a middle income

country, where demographic and nutritional shifts are increasing the prevalence of metabolic risk factors that threaten to accelerate the incidence of cardiovascular diseases.^{20, 21}

Importantly, we observed that lower vasodilator function was independently associated with metabolic risk factors, including higher BMI, total cholesterol/HDL and triglycerides.

However, diabetes and fasting glucose were not associated with BPA and PAT ratio. We speculate that the lack of association may be due to the high prevalence of participants with impaired fasting glucose in our sample, which could have reduced the difference in the vasomotor tone influenced by these variables. Indeed, when participants were stratified according to normal, impaired fasting glucose or diabetes, the difference among the three groups were significant for BPA and PAT ratio, except between participants with impaired fasting glucose and diabetes. The associations of metabolic diseases with BPA and PAT ratio are consistent with the reported early damaging effects of oxidative stress and activation of pro-inflammatory mechanisms in the microvasculature caused by metabolic risk factors, resulting in less bioavailability of NO.^{22, 23} The lack of association between age and PAT ratio herein described is in agreement with others and could be related to the distinct physiology of digital vasculature.^{24, 25} The parallel findings in our study of vascular function in Brazil to previous investigations in high income countries may emphasize the importance of counteracting the trends toward increasing cardiovascular risk factors in the developing world.

As the multivariable models of cardiovascular risk factors only explained 22% of BPA variability and 14% of PAT ratio variability, we hypothesized that factors – such as socioeconomic status, physical activity and racial composition – could partly account for the variability of PAT measures. However, no significant correlation between level of education, family income or physical activity status and BPA or PAT ratio was found, similar to what was reported in American adults.¹⁴

Regarding racial composition, previous studies in American adults have shown that black race is associated to vascular dysfunction assessed by PAT.^{12, 14} The endothelial dysfunction in black subjects has been attributed to the reduction of NO bioavailability due to a redox state as a result of more production of superoxide (O_2^-).²⁶ However, we found that black race in Brazil was associated with a more favorable vascular response compared to white and mixed race, suggesting that patterns of vascular function may be distinct in Brazil.^{12, 14} The composition of the Brazilian population is an admixture of diverse ethnic backgrounds: Portuguese settlers and other European immigrants, African slaves, Native Brazilians and a small proportion of Asians.²⁷ This admixture may provide an explanation for the above cited findings since, irrespective of race self-identification, most Brazilians share European, African and Native ancestries, making self-reported race a poor surrogate for genetic ancestry in this country.^{27, 28} In fact, Brazilians use the term “skin color” instead of race, reflecting that “racial” categorization depends not on ancestry, but on the physical appearance of the individual.²⁷ Genetic studies are essential to further understand the influence of race on vascular function.

In the present study, we extend prior work by showing the relation of digital vascular measures to arterial stiffness and found that BPA and PAT ratio were not correlated to PWV. Although a relationship between aortic stiffness and forearm microvascular function has been shown, this association had not yet been studied with the digital circulation.²⁹ The lack of correlation between aortic stiffness and BPA and PAT ratio is consistent with the lack of association between BPA and PAT ratio with age or blood pressure and with the proposed initial damage of different vascular beds by specific risk factors.^{7, 24}

Regarding PAT-AIx, higher values correlated with factors known to make the reflected wave return earlier in the cardiac cycle: lower stature and heart rate.¹⁸ A higher PAT-AIx also associated with female sex, advancing age, higher SBP and DBP, smoking and

black race. Other unexpected correlations were observed: lower PAT-AIx related to prevalent cardiovascular disease and higher BMI. Our findings are consistent with smaller studies that used PAT-AIx and others that evaluated AIx obtained from radial tonometry, suggesting that PAT-AIx may be a valid measure of wave reflection.^{12, 13, 18} When evaluated by radial tonometry, a higher AIx has been associated with cardiovascular outcomes.¹⁰ Women had significantly higher PAT-AIx even when accounting for height, and this difference decreased with advancing age, inferring a role for hormonal effects. This counterintuitive association has been repeatedly described and attributed to different arterial biomechanical properties according to sex.³⁰ The multivariable model explained 38% of PAT-AIx variability; however, the risk factors associations with this measure were different from the correlates of BPA and PAT ratio, suggesting that they reflect different aspects of vascular impairment. Lower level of physical activity, education and annual family income, were also correlated to PAT-AIx, suggesting that lifetime exposure to adverse conditions may contribute to specific vascular dysfunction phenotypes.

Previous studies have stated that PAT-AIx is a surrogate measure of arterial stiffness.¹⁰ However, the positive correlation between PAT-AIx and PWV was modest. We observed that a higher PAT-AIx correlated moderately to a lower BPA and a higher PAT ratio, both reflecting better vasodilator function, corroborating the hypothesis that the reflected wave may protect the microvasculature from damage by limiting the amount of energy transmitted from the forward wave to the microvessels.¹⁸ In contrast with these findings, a relationship between decreased NO and higher central AIx has been demonstrated and attributed to changes in the amplitude of the reflected wave.³¹ Therefore, in light of our results, the mechanisms underlying PAT-AIx must be further elucidated and prospective data are needed to show if it will have clinical utility.

Limitations of the current study must be considered. Because of its observational design, we could not evaluate endothelium-independent vasodilation or preclude the use of medications. Since our study is a cross-sectional analysis, causal relations and the temporality of associations cannot be established. It also must be acknowledged that we only evaluated vascular function in the digits and the evaluation in different vascular beds may provide distinct information.^{7,24} Regarding the ELSA-Brasil cohort study, participants were not selected to be a representative sample of Brazilian adults, since its participants are employed civil servants, mainly living in urban areas, and for these data also only from one center.^{15,27} To counterbalance these limitations, the strengths of our study include: a large sample size; the community-based nature of the cohort and a comprehensive assessment of vascular function and cardiovascular risk factors.

PERSPECTIVES

Although Brazil is living a distinct epidemiologic moment when compared to US and European countries, PAT basal tone and hyperemic response are correlated to metabolic risk factors similar to those found in cohorts from these countries. This finding emphasizes the importance of the growing prevalence of cardiovascular risk factors in Brazil, especially diabetes and obesity, and corroborates with the impact of vascular health in the incremental burden of cardiovascular diseases in middle-income countries. The unexpected relations found between endothelial function and race imply the need for further exploration of this issue using genetic information and preclude the extrapolation of data from more homogeneous populations to countries with intense racial admixture. Regarding the vascular measures relations, this study suggests that endothelial function obtained in the digits provide distinct information from arterial stiffness and that PAT-AIx may be a valid measure of wave reflection, influenced by both aspects. While it is attractive to perform three vascular

measures with a single exam, before PAT can be applied in clinical grounds, the mechanisms underlying changes in each measure must be more clearly elucidated. Furthermore, prospective data are needed to evaluate if digital vascular function is able to predict clinical disease, if it can guide treatment or has incremental value for cardiovascular risk stratification beyond traditional risk factors, reflecting the impact of aspects not contemplated by them.

Acknowledgements

The authors thank the staff and participants of ELSA-Brasil for their important contributions.

Sources of Funding

The ELSA-Brasil baseline study was supported by the Brazilian Ministries of Health and of Science and Technology, grants 01060010.00RS, 01060212.00BA, 01060300.00ES, 01060278.00MG, 01060115.00SP, 01060071.00RJ. This ancillary study was supported by FAPEMIG (Minas Gerais, Brazil). Santander Bank supported the collaboration between Boston University and Universidade Federal de Minas Gerais.

Disclosures

All authors report no conflicts of interest.

References

1. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, Hamburg NM, Luscher TF, Shechter M, Taddei S, Vita JA, Lerman A. The assessment of endothelial function: From research into clinical practice. *Circulation*. 2012;126:753-767
2. Hamburg NM, Benjamin EJ. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. *Trends Cardiovasc Med*. 2009;19:6-11
3. Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, Hurley S, Mitra D, Ganz P. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol*. 2006;101:545-548
4. Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR, Jr., Kuvin JT, Lerman A. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:2137-2141
5. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Konishi M, Matsubara J, Sumida H, Kaikita K, Kojima S, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Izumiya Y, Iwashita S, Matsui K, Jinnouchi H, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Digital assessment of endothelial function and ischemic heart disease in women. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1688-1696
6. Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, Mitchell GF, Sheffy J, Vita JA, Benjamin EJ. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117:2467-2474
7. Schnabel RB, Schulz A, Wild PS, Sinning CR, Wilde S, Eleftheriadis M, Herkenhoff S, Zeller T, Lubos E, Lackner KJ, Warnholtz A, Gori T, Blankenberg S, Munzel T. Noninvasive vascular function measurement in the community: Cross-sectional relations and comparison of methods. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2011;4:371-380
8. Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Lavi S, Nelson RE, Pumper GM, Lerman LO, Lerman A. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J*. 2010;31:1142-1148
9. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, Matsubara J, Kurokawa H, Fujisue K, Konishi M, Akiyama E, Suzuki H, Nagayoshi Y, Yamamuro M, Sakamoto K, Iwashita S, Jinnouchi H, Taguri M, Morita S, Matsui K, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Peripheral endothelial function and cardiovascular events in high-risk patients. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e000426
10. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, Pannier B, Vlachopoulos C, Wilkinson I, Struijker-Boudier H. Expert consensus document on arterial stiffness: Methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006;27:2588-2605
11. Haller MJ, Silverstein JH, Shuster JJ. Correlation between radial artery tonometry- and fingertip tonometry-derived augmentation index in children with type 1 diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2007;4:66
12. Morris AA, Patel RS, Binongo JN, Poole J, Mheid IA, Ahmed Y, Stoyanova N, Vaccarino V, Din-Dzietham R, Gibbons GH, Quyyumi A. Racial differences in arterial stiffness and microcirculatory function between black and white Americans. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e002154
13. Patvardhan E, Heffernan KS, Ruan J, Hession M, Warner P, Karas RH, Kuvin JT. Augmentation index derived from peripheral arterial tonometry correlates with cardiovascular risk factors. *Cardiol Res Pract*. 2011;2011:253758

14. Mulukutla SR, Venkitachalam L, Bambs C, Kip KE, Aiyer A, Marroquin OC, Reis SE. Black race is associated with digital artery endothelial dysfunction: Results from the Heart SCORE Study. *Eur Heart J*. 2010;31:2808-2815
15. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, Carvalho MS, Chor D, Duncan BB, Lotufo PA, Mill JG, Molina Mdel C, Mota EL, Passos VM, Schmidt MI, Szklo M. Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil): Objectives and design. *Am J Epidemiol*. 2012;175:315-324
16. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, Pratt M, Ekelund U, Yngve A, Sallis JF, Oja P. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35:1381-1395
17. Brant LC, Barreto SM, Passos VM, Ribeiro AL. Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. *J Hypertens*. 2013;31:1984-1990
18. Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, Vasani RS, Levy D. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: The Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004;43:1239-1245
19. Mitchell GF, Hwang SJ, Vasani RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, Benjamin EJ. Arterial stiffness and cardiovascular events: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2010;121:505-511
20. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: Part I: General considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*. 2001;104:2746-2753
21. Schmidt MI, Duncan BB, Azevedo e Silva G, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, Chor D, Menezes PR. Chronic non-communicable diseases in Brazil: Burden and current challenges. *Lancet*. 2011;377:1949-1961
22. Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction in obesity: A potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda)*. 2007;22:252-260
23. Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM, Vita JA. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: Molecular mechanisms and clinical implications. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010;11:61-74
24. Hamburg NM, Palmisano J, Larson MG, Sullivan LM, Lehman BT, Vasani RS, Levy D, Mitchell GF, Vita JA, Benjamin EJ. Relation of brachial and digital measures of vascular function in the community: The Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2011;57:390-396
25. Coffman JD. Effects of endothelium-derived nitric oxide on skin and digital blood flow in humans. *Am J Physiol*. 1994;267:H2087-2090
26. Kalinowski L, Dobrucki IT, Malinski T. Race-specific differences in endothelial function: Predisposition of African Americans to vascular diseases. *Circulation*. 2004;109:2511-2517
27. Pena SD, Di Pietro G, Fuchshuber-Moraes M, Genro JP, Hutz MH, Kehdy Fde S, Kohlrausch F, Magno LA, Montenegro RC, Moraes MO, de Moraes ME, de Moraes MR, Ojopi EB, Perini JA, Racciopi C, Ribeiro-Dos-Santos AK, Rios-Santos F, Romano-Silva MA, Sortica VA, Suarez-Kurtz G. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One*. 2011;6:e17063

28. Lins TC, Vieira RG, Abreu BS, Gentil P, Moreno-Lima R, Oliveira RJ, Pereira RW. Genetic heterogeneity of self-reported ancestry groups in an admixed Brazilian population. *J Epidemiol.* 2011;21:240-245
29. Mitchell GF, Vita JA, Larson MG, Parise H, Keyes MJ, Warner E, Vasan RS, Levy D, Benjamin EJ. Cross-sectional relations of peripheral microvascular function, cardiovascular disease risk factors, and aortic stiffness: The Framingham Heart Study. *Circulation.* 2005;112:3722-3728
30. Rossi P, Frances Y, Kingwell BA, Ahimastos AA. Gender differences in artery wall biomechanical properties throughout life. *J Hypertens.* 2011;29:1023-1033
31. Weber T, Maas R, Auer J, Lamm G, Lassnig E, Rammer M, O'Rourke MF, Boger RH, Eber B. Arterial wave reflections and determinants of endothelial function a hypothesis based on peripheral mode of action. *Am J Hypertens.* 2007;20:256-262

NOVELTY AND SIGNIFICANCE

What is new?

- Clinical correlations of digital vascular function in individuals with a distinct racial background from previous studies.
- Description of cardiovascular risk factors associations to PAT-AIx, a novel approach to determine AIx that had only been studied in smaller samples.
- Relation of digital vascular function measures, including PAT-AIx, to arterial stiffness.

What is relevant?

- Metabolic risk factors, but not hypertension, relate to impaired microvessel vasodilator function in Brazilian adults.
- PAT-AIx relates to hypertension and provides distinct information from central arterial stiffness.
- In contrast to studies in the US, black race in Brazil does not relate to a more impaired vasodilator function.

Summary

According to studies from high income countries, metabolic risk factors related to impaired microvessel vasodilator function in Brazil. However, black race was not associated with an impaired microvessel vasodilator response, implying that vascular function may vary by race across populations. PAT-AIx relates to hypertension, may be a valid measure of wave reflection and provides distinct information from central arterial stiffness.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. PAT derived pulse waveform. Augmentation index measures the contribution that wave reflection makes to the arterial pressure waveform and is expressed as a percentage of pulse pressure. It is calculated by the formula: $(P2 - P1) \times 100 / P1(\%)$.

Figure 2. Vascular function measures by self-reported race adjusted for age, sex and cardiovascular risk factors (Model 1). Values reported are estimated means and standard errors. P-value < 0.0001 for all models, with significance of differences between groups reported (* $p \leq 0.05$). Asian and Native Brazilian participants were excluded from the analysis due to low numbers.

TABLES

Table 1. Clinical and Socioeconomic Characteristics of Participants.

Characteristic	Overall (n=1535)	Men (n=863)	Women (n=672)
Sex, %	---	56	44
Age, y	52 ± 9	52 ± 9	53 ± 8
Race, %			
Black	11.8	12.4	11.1
Mixed	34.4	35.5	33.0
White	50.8	49.5	52.4
Asian	2.5	1.9	3.3
Native Brazilian	0.5	0.7	0.2
Systolic blood pressure, mmHg	122 ± 17	126 ± 17	116 ± 17
Diastolic blood pressure, mmHg	78 ± 11	81 ± 11	75 ± 10
Heart Rate, bpm	69 ± 10	68 ± 10	70 ± 9
Height, cm	167 ± 9	172 ± 7	160 ± 6
Body Mass Index, kg/m ²	26.8 ± 4.6	26.8 ± 4.3	26.7 ± 5.0
C-reactive protein, mg/dL	1.45 (0.74-3.17)	1.32 (0.68-2.73)	1.70 (0.87-3.45)
Total Cholesterol/HDL	4.09 ± 1.04	4.40 ± 1.00	3.68 ± 0.94
Triglycerides, mg/dL	115 (83-172)	130 (90-195)	103 (75-142)
Fasting Glucose, mg/dL	111 ± 31	114 ± 32	106 ± 28
Impaired fasting glucose, %	53	61	43
Diabetes mellitus, %	16	17	14
Smoking, %	12	13	10
Hypertension, %	37	40	32
Abdominal obesity, %	35	27	45
Hypertension treatment, %	28	28	29
Lipid lowering treatment, %	13	12	14
Prevalent cardiovascular disease, %	4	5	3
Physical Activity Status, %			
Low	61	59	64
Moderate	35	36	34
High	4	4	3
Level of Education, %			
<High school	9	12	5
High school	28	27	28
College	63	61	67
Annual family income, US\$			
<20,000	33	34	31
20,000-45,000	40	35	45
>45,000	27	31	24

HDL: high-density lipoprotein. C-reactive protein and triglycerides are presented as median (interquartile range).

Table 2. Digital Vascular Measures.

Characteristic	Overall	Men	Women
BPA	6.00 ± 0.83	6.28 ± 0.73	5.65±0.82
PAT ratio	0.49 ± 0.37	0.39 ± 0.33	0.61±0.38
PAT-AIx, %	11.39 ± 16.82	7.27±15.82	16.67±16.59
PWV, m/s	9.4 ± 1.7	9.7 ± 1.7	9.0 ± 1.7

BPA: baseline pulse amplitude; PAT: peripheral arterial tonometry; PAT-AIx: augmentation index derived from PAT; PWV: carotid-femoral pulse wave velocity.

Table 3. Stepwise Models of the Relation of Risk Factors to Digital Vascular Measures.

Characteristic	BPA			PAT ratio			PAT-AIx		
	β (SE)	Partial R ²	p	β (SE)	Partial R ²	p	β (SE)	Partial R ²	p
Sex (F=0, M=1)	0.56 (0.04)	0.149	<0.0001	-0.20 (0.02)	0.084	<0.0001	-9.31 (0.99)	0.202	<0.0001
Age	0.01 (0.01)		0.005	-0.01 (0.01)		0.35	0.53 (0.05)		<0.0001
Systolic BP	0.01(0.01)	0.004	0.003	0.15(0.04)	0.039	<0.0001
Diastolic BP	0.20 (0.06)	0.005	0.001
Heart rate	-0.50 (0.04)	0.069	<0.0001
Height	-0.24 (0.05)	0.008	<0.0001
BMI	0.04 (0.01)	0.061	<0.0001	-0.01 (0.01)	0.030	<0.0001	-0.58 (0.08)	0.019	<0.0001
Total cholesterol/HDL	0.05 (0.02)	0.002	0.04	-0.04 (0.01)	0.008	<0.0001
Triglycerides [§]	0.12 (0.05)	0.011	0.01
Smoking	10.39 (1.05)	0.041	<0.0001
Hypertensive treatment	-0.05 (0.02)	0.003	0.03
Prevalent CVD	-0.16 (0.05)	0.008	<0.0001	-3.55 (1.72)	0.002	0.01
Model R²		0.22			0.14			0.38	

BP: Blood Pressure. CVD: cardiovascular disease. Other abbreviations as in Table 1 and 2.

Table 4. Partial Correlations of Vascular Function Measures Adjusted for Age, Sex, Heart Rate and Height (Model A) and for Cardiovascular Risk Factors (Model B).

	PAT-AIx		BPA		PAT ratio	
	r	p	r	p	r	p
MODEL A:						
BPA	-0.277	<0.0001
PAT ratio	0.340	<0.0001	-0.625	<0.0001
PWV	0.134	<0.0001	0.002	0.928	0.036	0.158
MODEL B:						
BPA	-0.274	<0.0001
PAT ratio	0.326	<0.0001	-0.616	<0.0001
PWV	0.080	0.002	-0.059	0.02	0.043	0.09

Data are presented as partial correlation coefficients (r) and p-values. Abbreviations as in Table 2.

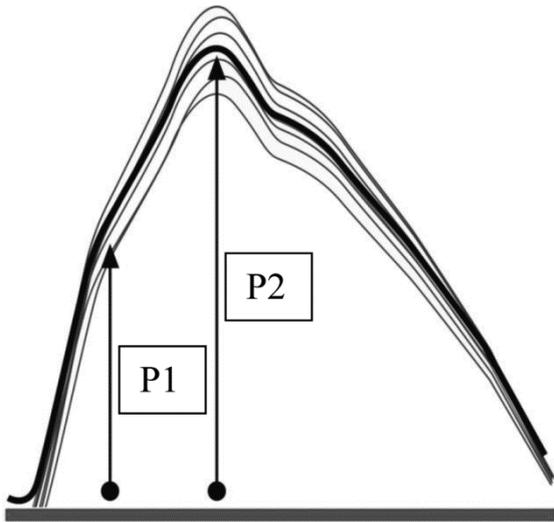
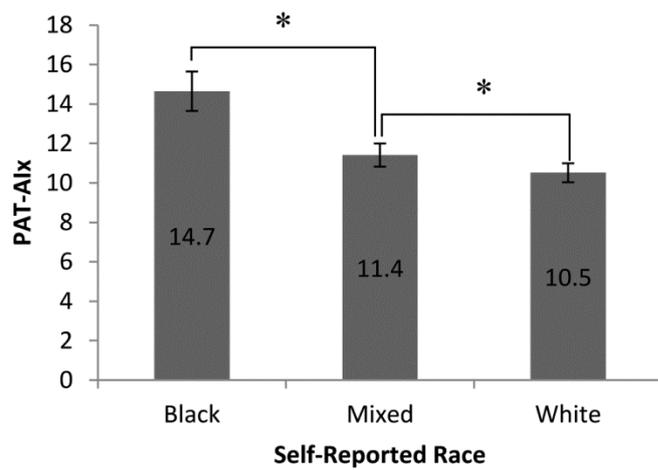
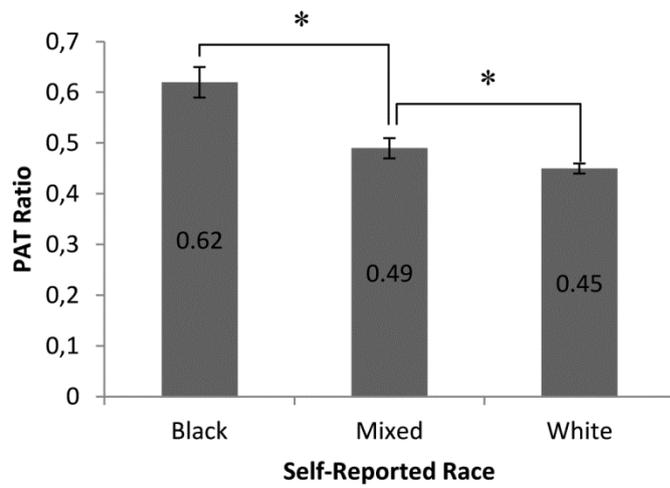
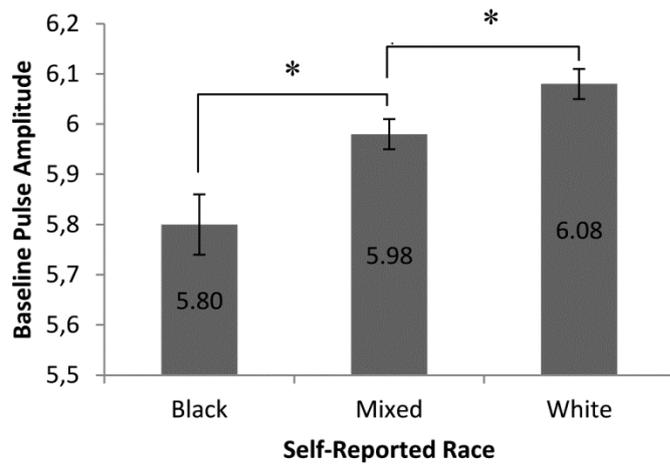
FIGURES**Figure 1.**

Figure 2.



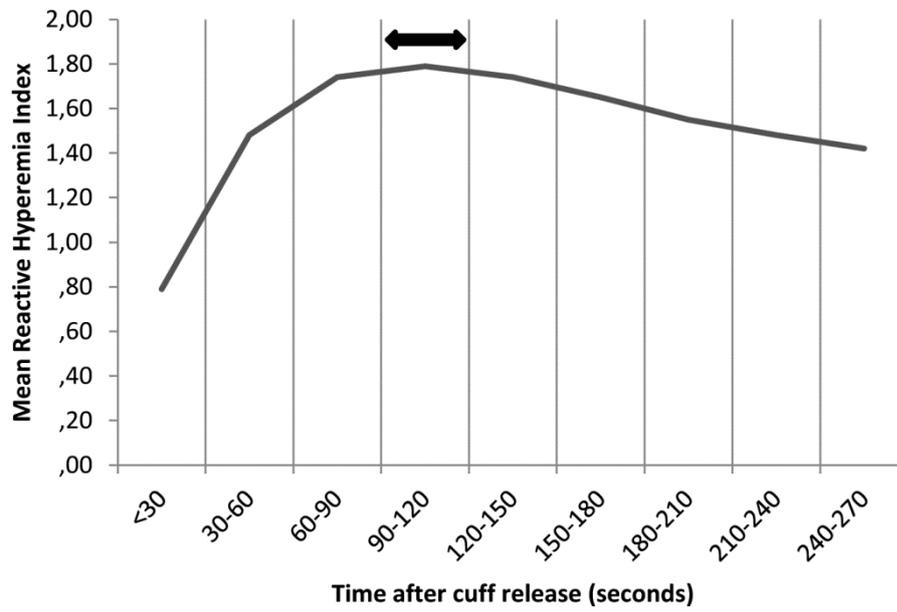
ONLINE SUPPLEMENT

Supplemental Table 1. Partial Correlations for Cardiovascular Risk Factors Adjusted for Age and Sex and Digital Vascular Measures.

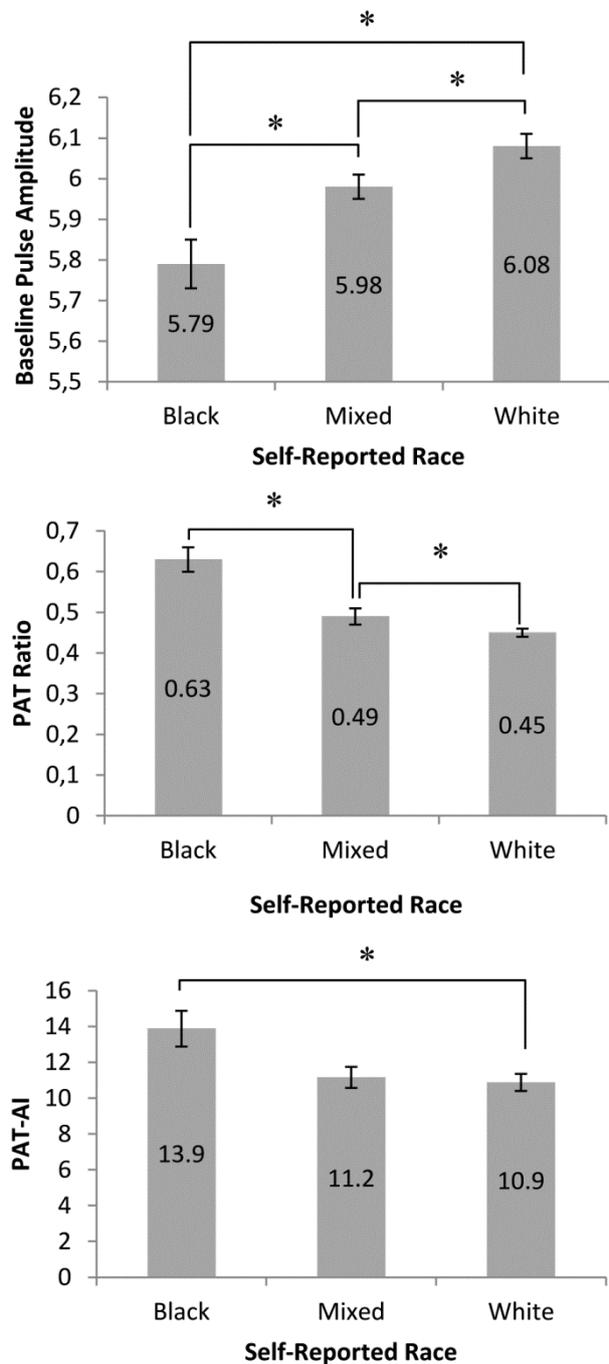
Characteristic	BPA		PAT ratio		PAT-AIx [‡]	
	r	p	r	p	r	p
Sex (F=0, M=1)	0.381	<0.0001	-0.289	<0.0001	-0.153	<0.0001
Age	0.102	<0.0001	-0.048	0.06	0.331	<0.0001
Systolic blood pressure	0.062	0.02	0.029	0.27	0.225	<0.0001
Diastolic blood pressure	0.055	0.03	-0.036	0.16	0.199	<0.0001
Heart rate	-0.007	0.80	-0.049	0.06
Body mass index	0.267	<0.0001	-0.181	<0.0001	-0.125	<0.0001
C-Reactive protein	0.089	0.001	-0.057	0.02	0.019	0.47
Total cholesterol/HDL	0.160	<0.0001	-0.130	<0.0001	-0.032	0.21
Triglycerides	0.179	<0.0001	-0.131	0.001	-0.015	0.57
Fasting glucose	0.106	<0.0001	-0.065	0.01	-0.009	0.73
Diabetes mellitus	0.091	<0.0001	-0.040	0.12	0.004	0.87
Abdominal obesity	0.182	<0.0001	-0.131	<0.0001	-0.072	<0.005
Smoking	0.010	0.68	0.012	0.63	0.223	<0.0001
Hypertension	0.081	0.001	-0.037	0.15	0.118	<0.0001
Hypertension treatment	0.085	0.001	-0.102	<0.0001	0.024	0.36
Lipid lowering agents	0.034	0.187	-0.030	0.24	-0.043	0.09
Prevalent Cardiovascular Disease	0.020	0.43	-0.103	<0.0001	-0.053	0.04
Physical Activity Status	-0.019	0.46	-0.002	0.46	-0.069	0.007
Level of Education	-0.020	0.43	-0.011	0.67	-0.165	<0.0001
Annual Family Income	0.004	0.89	-0.011	0.66	-0.122	<0.0001

Data are presented as partial correlation coefficient and p-values. Abbreviations as in Table 1 and 2. Sex was adjusted for age and age was adjusted for sex. [‡]PAT-AIx was also adjusted for heart rate and height.

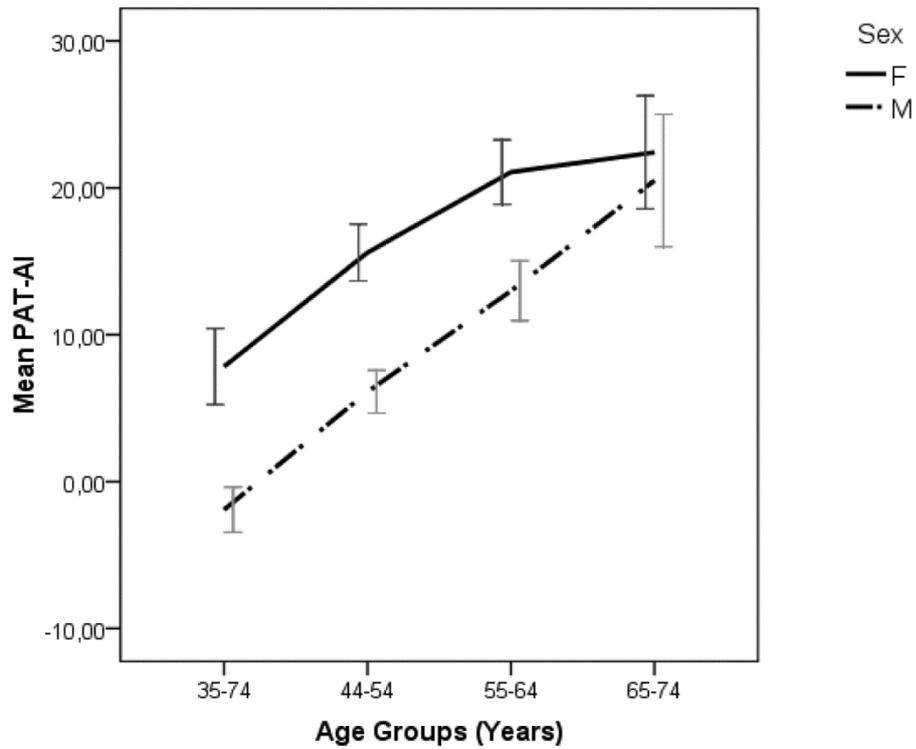
Supplemental Figure 1. Pulse amplitude response in the hyperemic finger. Values plotted for PAT hyperemic response are the mean value for the ratio of post-deflation pulse amplitude to baseline of the full sample according to time in seconds after cuff release. The region of interest used to calculate PAT ratio is shown by the black arrow.



Supplemental Figure 2. Vascular function measures by self-reported race adjusted for age, sex, cardiovascular risk factors and socioeconomic variables (Model 2). Values reported are estimated means and standard errors. P-value < 0.0001 for all models, with significance of differences between groups reported (* $p \leq 0.05$). Asian and Native Brazilian participants were excluded from the analysis due to low numbers.



Supplemental Figure 3. Sex and age interaction for PAT derived Augmentation Index (PAT-AIx). Values plotted are mean PAT-AIx for each age group and 95% confidence intervals. As displayed, the increase in PAT-AIx with advancing age is greater in men than women, in whom it tended to plateau at the age of 55 years. F: Female, M: Male.



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, descrevemos a distribuição das medidas de função vascular digital pelo método PAT e sua associação com fatores de risco CV em adultos brasileiros, população distinta daquelas em que o método já foi estudado, por ser um país de média renda, com composição racial diversa e vivendo um estágio diferente da transição nutricional. As medidas avaliadas refletem o tônus vascular basal (BPA), a função endotelial (PAT ratio) e a influência da onda refletida dos vasos periféricos na pressão de pulso (PAT-AI). Adicionalmente, avaliamos a relação da raça/cor autorreferida com essas medidas e a influência de variáveis socioeconômicas sobre elas. Na tentativa de compreender a relação entre as medidas de função vascular, foram estudadas as correlações entre as três medidas realizadas na microvasculatura digital citadas acima e a VOP-CF, que avalia rigidez arterial.

Os resultados encontrados nos permitem concluir que a função vasodilatadora digital relaciona-se a fatores de risco CV metabólicos, semelhantes aos descritos em estudos de coortes norte-americanas e europeias.^{1,2} Apesar das magnitudes das associações encontradas terem sido pequenas, a consistência das informações de diferentes estudos nos sugerem que há uma relação entre os fatores de risco CV metabólicos e a função vascular digital. Esse achado, em paralelo com o aumento da prevalência da obesidade e do *diabetes mellitus* no Brasil,³ corrobora o impacto crescente das doenças CV em nossa população. Numa perspectiva mais ampla, os dados descritos acima nos alertam para a importância da implantação de medidas que possam prevenir ou reverter o dano vascular e suas consequências clínicas adversas.

Ademais, observamos que fatores de risco CV clássicos explicam pequena variabilidade das medidas da função vasodilatadora digital. Quando interpretado em conjunto com outros estudos que mostram que a resposta à hiperemia medida pelo PAT tem capacidade preditora para eventos CV incremental aos escores de risco tradicionalmente utilizados, este dado sugere que a resposta vasodilatadora digital pode refletir o efeito de fatores que causam injúria vascular não contemplados por esses escores de risco.

¹ Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, Mitchell GF, Sheffy J, Vita JA, Benjamin EJ. Cross-Sectional Relations of Digital Vascular Function to Cardiovascular Risk Factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008; 117(19): 2467-2474.

² Schnabel RB, Schulz A, Wild PS, Sinning CR, Wilde S, Eleftheriadis M, Herkenhoff S, Zeller T, Lubos E, Lackner KJ, Warnholtz A, Gori T, Blankenberg S, Munzel T. Noninvasive vascular function measurement in the community: Cross-sectional relations and comparison of methods. *Circ Cardiovasc Imaging* 2011;4:371-380.

³ Schmidt MI, Duncan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, Chor D, Menezes PR. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet* 2011; 377: 1949-1961.

A relação inesperada da raça/cor autorreferida com a função vasodilatadora digital nos adverte sobre a extrapolação para a nossa população de dados obtidos em países com populações com composição racial mais homogênea. Além disso, é importante mencionar que ao estudar raça/cor autorreferida, englobamos a influência de aspectos genéticos, sociais e culturais.⁴ Apesar das análises estatísticas realizadas terem sido ajustadas para fatores socioeconômicos, pode ser que aspectos não avaliados pelas variáveis utilizadas – nível de educação e ganho anual familiar – sejam intermediários da relação entre raça/cor autorreferida e a função vascular digital, o que torna essencial a exploração deste assunto usando informações genéticas.

No que diz respeito à relação entre as medidas de função vascular avaliadas, pudemos observar que, à exceção do BPA e PAT ratio, elas parecem avaliar aspectos distintos da função vascular e se associam a fatores de risco CV diferentes. Estas informações sugerem que, enquanto os mecanismos biológicos responsáveis pela variação das medidas obtidas na microvasculatura digital e a importância prognóstica das mesmas não estão completamente elucidados, as pesquisas sobre função vascular devem abranger formas diversas de avaliar o dano vascular. Neste trabalho, estendemos dados publicados previamente, caracterizando os correlatos clínicos do PAT-AIx na maior amostra já publicada na literatura^{5,6} e a relação deste com a VOP-CF, medida de rigidez arterial central. Apesar da correlação com fatores de risco CV ter sido consistente com outros estudos nos quais o “índice de aumento” ou “*augmentation index*” foi avaliado por meio do PAT-AIx ou da tonometria radial, algumas correlações espúrias com fatores de risco CV enfatizam a necessidade de esclarecermos a utilidade clínica desta medida.^{5,6,7} Além disso, a correlação fraca entre PAT-AI e VOP-CF deixa claro que a primeira não é uma medida de rigidez arterial e que o seu uso para investigar essa característica deve ser evitado.

A utilização do método PAT no ELSA permitiu a realização das três medidas de função vascular já citadas – BPA, PAT ratio e PAT-AI –, um atrativo para o uso deste teste. Além

⁴ Yusuf S, Reddy S, Ôunpuu S, Anand S. Global Burden of Cardiovascular Diseases : Part I: General Considerations, the Epidemiologic Transition, Risk Factors, and Impact of Urbanization. *Circulation*. 2001;104:2746-2753

⁵ Morris AA, Patel RS, Binongo JN, Poole J, Mheid IA, Ahmed Y, Stoyanova N, Vaccarino V, Din-Dzietham R, Gibbons GH, Quyyumi A. Racial differences in arterial stiffness and microcirculatory function between black and white americans. *J Am Heart Assoc* 2013; 2:e002154

⁶ Patvardhan E, Heffernan KS, Ruan J, Hession M, Warner P, Karas RH, Kuvin JT. Augmentation index derived from peripheral arterial tonometry correlates with cardiovascular risk factors. *Cardiol Res Pract*. 2011;2011:253758

⁷ Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, Vasani RS, Levy D. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: The Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004;43:1239-1245

disso, a escolha do PAT para avaliação da função endotelial baseou-se na sua praticidade para ser aplicado em larga escala por requerer menos treinamento e por analisar os resultados automaticamente. No entanto, o exame PAT apresenta limitações: poucos estudos que o utilizaram compararam a resposta vascular à hiperemia reativa com aquela secundária à ação de um vasodilatador direto, independente do endotélio, como a nitroglicerina; a resposta à hiperemia reativa é parcialmente dependente de ON, portanto os mecanismos biológicos envolvidos precisam ser mais bem elucidados; e o custo dos sensores, que são de utilização única. Além disso, o exame PAT avalia a resposta vasodilatadora microvascular, enquanto o BART, método mais utilizado até o momento em estudos clínicos e epidemiológicos, avalia a resposta à hiperemia em vasos de condução. Estudos recentes sugerem que os dois métodos fornecem informações distintas sobre a função endotelial e, portanto, a recomendação mais atual é que eles sejam usados como métodos complementares.^{2,8}

Com relação à avaliação da função endotelial, é importante mencionar que, apesar de ser alvo de muitos estudos recentes, ela ainda não apresenta aplicação na prática clínica e a sua incorporação no âmbito da assistência médica, assim como de outras novas tecnologias, requer cautela. É preciso que novos estudos confirmem os resultados encontrados em relação à capacidade prognóstica da disfunção endotelial, assim como mostrem que a sua adição aos escores de risco CV vigentes pode melhorar a estratificação de risco dos indivíduos, permitindo a ação de medidas preventivas. A respeito da disfunção endotelial como alvo para intervenções terapêuticas, precisa-se provar que ela melhora com a intervenção proposta e que isto diminui o risco de eventos CV, para então concluirmos que a detecção da disfunção endotelial tem impacto na decisão clínica, resultando em melhores desfechos.

Enquanto isso, no campo da pesquisa, o estudo da função vascular pode contribuir para um maior conhecimento acerca das doenças CV em diversos aspectos. Acredita-se que a função vascular pode refletir o efeito integrado dos fatores de risco CV sob a saúde dos vasos e ainda captar as ações biológicas de fatores não conhecidos, gerando assim uma oportunidade para identificação de novos fatores de risco. No que se refere ao seu uso como componente incremental na predição de eventos CV, novos estudos prospectivos são necessários tanto em indivíduos saudáveis quanto naqueles que já apresentaram evento cardiovascular. Na

⁸ Hamburg NM, Palmisano J, Larson MG, Sullivan LM, Lehman BT, Vasan RS, Levy D, Mitchell GF, Vita JA, Benjamin EJ. Relation of Brachial and Digital Measures of Vascular Function in the community: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 2011; 57:390-396

prevenção primária, tem-se grande interesse em reclassificar em baixo ou alto risco CV, os indivíduos considerados de risco intermediário pelos escores tradicionais. Já na prevenção secundária, um aspecto interessante seria explorar a capacidade da função vascular em determinar a eficácia do tratamento instituído para o paciente, na tentativa de identificar aqueles indivíduos que se beneficiariam da intensificação do tratamento para evitar novo evento CV.

No ELSA-Brasil, algumas perspectivas de pesquisas com a função vascular digital são: avaliar sua capacidade preditora incremental para eventos cardiovasculares; estudar sua relação com a prevalência e incidência de doenças que sabidamente acometem a microvasculatura, como retinopatia e demência vascular; e analisar sua contribuição para a incidência de obesidade, resistência insulínica e *diabetes mellitus*. Ademais, para um melhor entendimento do método, pretende-se avaliar a influência do sistema nervoso autônomo na função endotelial microvascular, através do estudo da relação da última com os índices de variabilidade da frequência cardíaca.

Acreditamos que a avaliação da função endotelial no ELSA-Brasil poderá contribuir para o estudo da história natural e do curso clínico das doenças cardiovasculares em nossa população. Entretanto, enquanto a busca por maior conhecimento a respeito das doenças CV é útil, temos que almejar, em paralelo, a efetiva implantação de estratégias simples de prevenção e tratamento para as quais já existem evidências robustas na literatura vigente, com o intuito de reduzir o impacto das doenças cardiovasculares em nosso país.

ANEXO A**FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

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

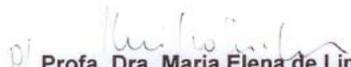
Parecer nº. ETIC 186/06

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

DECISÃO

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

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


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

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Apresentação do estudo: O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – Elsa – é uma pesquisa sobre doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças crônicas. É um estudo pioneiro no Brasil por ser realizado em várias cidades e por acompanhar as pessoas estudadas por um longo período de tempo. Graças a pesquisas semelhantes desenvolvidas em outros países, hoje se sabe, por exemplo, da importância de cuidados à pressão arterial e à dieta na prevenção dessas doenças.

Objetivos do estudo:

O Elsa investigará fatores que podem levar ao desenvolvimento dessas doenças ou ao seu agravamento, visando sugerir medidas mais eficazes de prevenção ou tratamento. Os fatores de interesse incluem aspectos de sua vida, família, trabalho, lazer e saúde em geral, inclusive fatores genéticos.

Instituições envolvidas no estudo:

O Elsa será realizado em instituições públicas de ensino e pesquisa localizadas em seis estados brasileiros (BA, ES, MG, RJ, RS e SP)⁹ e envolverá 15.000 funcionários dessas instituições. É coordenado por representantes de cada Centro de Investigação, do Ministério da Saúde e do Ministério da Ciência e Tecnologia tendo sido aprovado pelas Comissões de Ética em Pesquisa dos seis centros. Em Minas Gerais, o estudo está sob a responsabilidade da Universidade Federal de Minas Gerais.

Participação no estudo:

O(a) Sr./Sra. é convidado(a) a participar da pesquisa Elsa, a qual envolve o acompanhamento dos participantes por pelo menos sete anos, com a realização de entrevistas, de exames e medidas que ocorrerão no Centro de Investigação Elsa-MG, situado no Campus Saúde da UFMG, Av. Alfredo Balena, 190.

Na primeira visita, sua permanência no Centro deverá ser de cerca de quatro horas, e caso necessário, será solicitada sua liberação para participar da pesquisa em horário de trabalho. Nessa oportunidade, o(a) Sr./Sra. será entrevistado sobre questões do seu dia a dia e condições de saúde, realizará algumas medidas (peso, altura e pressão arterial), exame de urina, ultrassom do abdome e do coração, eletrocardiograma, e fotografia do fundo de olho. Realizará também exames de sangue¹⁰, para os quais serão feitas duas coletas: a primeira quando chegar, em jejum de 12 horas, e a segunda, após duas horas da ingestão de uma bebida doce padrão. O total de sangue coletado será de 80 ml (cerca de 5 colheres de sopa), uma quantidade muito menor do que uma doação de sangue, e que para uma pessoa adulta, não traz inconveniências. O procedimento para a coleta de sangue segue rotinas hospitalares e espera-se apenas um leve desconforto associado à picada da agulha. Algumas vezes pode haver sensação momentânea de desmaio ou pequena reação local, mas esses efeitos são

⁹ Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Universidade de São Paulo (USP), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

¹⁰ Hemograma, exames diagnósticos para diabetes (p. ex. glicose em jejum e teste de tolerância à glicose), creatinina, dosagem de lipídios, hormônios associados ao diabetes ou à doença cardiovascular e provas de atividade inflamatória.

passageiros e não oferecem riscos. A maioria dos exames que será realizada faz parte da rotina médica e nenhum deles emite radiação ou representa risco para gestantes.

A coleta de sangue e os demais procedimentos serão realizados por pessoal capacitado e treinado para este fim, sendo supervisionados por profissional qualificado que poderá orientá-lo no caso de dúvida, ou alguma outra eventualidade.

Após esta primeira visita, faremos contatos breves durante os próximos anos para acompanhar as modificações no seu estado de saúde. O(a) Sr./Sra. será contatado por telefone, correspondência ou e-mail, para obtenção de informações adicionais e também será convidado para novas visitas ao Centro de Investigação Elsa-MG, que ocorrerão a cada três anos. Por isso, é muito importante informar seu novo endereço e telefone em caso de mudança.

Para poder acompanhar melhor sua situação de saúde, solicitaremos informações à UFMG e a outras instituições do sistema de saúde, sobre a ocorrência de hospitalizações, licenças médicas, eventos de saúde, aposentadoria, ou afastamento de qualquer natureza. Para isso solicitamos sua concordância e assinatura de uma autorização expressa em anexo.

Armazenamento de material biológico:

Considerando os avanços da ciência, serão armazenadas amostras de sangue, de forma padronizada e sigilosa, para futuras análises sobre as doenças em estudo. Uma parte do sangue coletado ficará estocada localmente, uma parte no laboratório central do Hospital Universitário da USP (Avenida Lineu Prestes, 2565, São Paulo SP) e outra na Fundação Oswaldo Cruz (Avenida Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, 21040-360), para estudos científicos nos próximos anos.

O Comitê Diretivo da pesquisa Elsa é responsável pelas amostras juntamente com os coordenadores em cada local de estoque. As amostras serão utilizadas apenas quando estiverem de acordo com os procedimentos descritos no projeto originalmente aprovado pelos Comitês de Ética e Pesquisa dos Centros de Investigação. Caso torne-se relevante estudar novos marcadores genéticos não contemplados nos objetivos do projeto original, seu material biológico somente será utilizado mediante encaminhamento de adendo a esse termo, encaminhado às Comissões de Ética e Pesquisa dos Centros de Investigação (CEPs) e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Seus direitos como participante:

Sua participação é inteiramente voluntária, sendo fundamental que ocorra em todas as etapas do estudo. Entretanto, se quiser, poderá deixar de responder a qualquer pergunta durante a entrevista, recusar-se a fazer qualquer exame, solicitar a substituição do entrevistador ou deixar de participar da pesquisa a qualquer momento.

Não será feito nenhum pagamento pela sua participação, porém os resultados das medidas e exames realizados que sejam relevantes para sua avaliação clínica lhe serão entregues. O Sr./Sra. também poderá obter esclarecimentos sobre todas as informações que foram coletadas, mediante solicitação, a qualquer momento. Caso sejam detectadas alterações, se necessário, o(a) Sr./Sra. será encaminhado(a) com orientação para acompanhamento em unidades da rede SUS ou outro serviço de saúde de sua preferência. O Centro de Investigação Elsa-MG estará à disposição para prestar esclarecimentos sobre os exames e seus resultados aos profissionais médicos envolvidos. Se durante a sua permanência no Centro de

Investigação forem identificados problemas que requeiram atenção de urgência/emergência, o(a) Sr./Sra. será atendido no Hospital das Clínicas da UFMG.

Todas as informações obtidas das entrevistas e nos exames serão confidenciais, identificadas por um número e sem menção ao seu nome. Elas serão utilizadas exclusivamente para fins de análise estatística, e serão guardadas com segurança - somente terão acesso a elas os pesquisadores envolvidos no projeto, ou profissionais de saúde que porventura venham a lhe prestar atendimento ou cuidados como paciente. Isso significa que a informação coletada é sigilosa, mas não anônima, podendo ser identificada quando necessário, pelo nome do participante, a partir de um código identificador do projeto. Contudo, em nenhuma hipótese será permitido aos seus empregadores ou superiores hierárquicos o acesso às informações coletadas.

Uma cópia deste Termo de Consentimento lhe será entregue. Se houver perguntas ou necessidade de mais informações sobre o estudo ou qualquer intercorrência o Sr poderá contatar a Professora Dra. Sandhi Maria Barreto, Av. Alfredo Balena 190, sala 813, telefone (31) 32489938, coordenadora do projeto no Centro de Investigação Elsa-MG. O Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais pode ser contatado pelo seguinte telefone: (31) 2409 4592 . Sua assinatura abaixo significa que o(a) Sr./Sra. leu e compreendeu todas as informações e concorda em participar da pesquisa ELSA.

ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO – ELSA**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Nome do participante:

Documento de Identidade:

Data de nascimento:

Endereço:

Telefone para contato:

(código de barras poderá substituir detalhamento da identificação feito em outro formulário na mesma ocasião)

Declaro que compreendi as informações apresentadas neste documento e dei meu consentimento para participação no estudo.

Assinatura _____

Declaro concordar que amostras de sangue sejam armazenadas para análises futuras sobre as doenças em estudo.

 Sim **Não**

Declaro autorizar os pesquisadores do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – Elsa, a obter informações sobre meu histórico de saúde junto à UFMG e a outras instituições de saúde, a partir de prontuários médicos ambulatoriais, de emergência e/ou internação, conforme situação específica.

 Sim **Não****Assinatura** _____

Local _____ Data ____/____/____

Nome do entrevistador/a:

Código do entrevistador no Centro de Investigação Elsa-MG:

Assinatura: _____**Testemunha:** _____