

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA**

BRUNO LEONARDO DUARTE PEREIRA

**RELAÇÃO ENTRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR E A FUNÇÃO
AUTONÔMICA EM ADULTOS: ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO
(ELSA-BRASIL)**

BELO HORIZONTE

2018

BRUNO LEONARDO DUARTE PEREIRA

**RELAÇÃO ENTRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR E A FUNÇÃO
AUTONÔMICA EM ADULTOS: ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO
(ELSA-BRASIL)**

Projeto de Pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, com vistas à aprovação em exame de qualificação de Mestrado em Saúde Pública (Área de Concentração em Epidemiologia)

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Pinho Ribeiro

Coorientadora: Prof.^a Dra. Luisa Campos Caldeira Brant

BELO HORIZONTE

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

P436r Pereira, Bruno Leonardo Duarte.
Relação entre a função endotelial microvascular e a função autonômica em adultos [manuscrito]: estudo longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA-Brasil). / Bruno Leonardo Duarte Pereira. - - Belo Horizonte: 2018. 67f.: il.
Orientador (a): Antonio Luiz Pinho Ribeiro.
Coorientador (a): Luisa Campos Caldeira Brant.
Área de concentração: Epidemiologia.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Doenças Cardiovasculares/epidemiologia. 2. Sistema Cardiovascular/fisiopatologia. 3. Técnicas de Diagnóstico Cardiovascular. 4. Endotélio Vascular. 5. Sistema Nervoso Autônomo. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Ribeiro, Antonio Luiz Pinho. II. Brant, Luisa Campos Caldeira. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WG 120

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697

Reitora

Prof.^a Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor

Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Fabio Alves da Silva Junior

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Mário Fernando Montenegro Campos

FACULDADE DE MEDICINA**Diretor**

Prof. Humberto José Alves

Chefe do Departamento de Medicina Preventiva e Social

Prof. Antônio Thomaz Gonzaga da Matta Machado

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA**Coordenadora**

Prof.^a Eli Iola Gurgel Andrade

Sub-Coordenadora

Prof.^a Luana Giatti Gonçalves

Colegiado

Prof.^a Eli Iola Gurgel Andrade

Prof.^a Sandhi Maria Barreto

Prof.^a Waleska Teixeira Caiaffa

Prof.^a Luana Giatti Gonçalves

Prof.^a Mariângela Leal Cherchiglia



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

RELAÇÃO ENTRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR E A FUNÇÃO AUTONÔMICA EM ADULTOS: ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO (ELSA-BRASIL)

BRUNO LEONARDO DUARTE PEREIRA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE PÚBLICA, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE PÚBLICA, área de concentração EPIDEMIOLOGIA.

Aprovada em 25 de maio de 2018, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Antonio Luiz Pinho Ribeiro - Orientador
UFMG


Prof(a). Luisa Campos Caldeira Brant
UFMG


Prof(a). Roberto Marini Ladefra
FHEMIG


Prof(a). Fabio Morato de Castilho
UFMG

Belo Horizonte, 25 de maio de 2018.

*Para meus pais, Claudionor e Ivone,
que jamais mediram esforços para que eu
pudesse alçar voos maiores.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, Pai Misericordioso, e a Jesus Cristo, Verbo Divino, por nos iluminar a vida desde o princípio e sempre.

À minha família, esteio e porto seguro de minha existência, sem a qual nenhuma realização seria possível.

À Michelle, que com amor me estimula a seguir objetivos nobres, e com quem compartilho sonhos e alegrias em nossa jornada.

Ao Prof. Antonio Ribeiro, por me orientar de maneira segura e inteligente. A convivência com sua humildade e senso de praticidade me inspiram.

À Profa. Luisa Brant, por sua coorientação sempre tão presente e brilhante. Sua contribuição em minha formação acadêmica foi imprescindível e decisiva.

À Equipe ELSA-MG, pela competência e dedicação com as quais conduz estudo de fundamental importância para o conhecimento sobre a saúde dos nossa população.

Aos participantes ELSA-MG, por sua colaboração voluntária e gratuita em prol da Ciência, permitindo a realização deste trabalho.

RELAÇÃO ENTRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL MICROVASCULAR E A FUNÇÃO AUTÔNOMICA EM ADULTOS: ESTUDO LONGITUDINAL DA SAÚDE DO ADULTO (ELSA-BRASIL)

RESUMO

Introdução: As disfunções endotelial e autonômica estão associadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, e uma via fisiopatológica comum para ambas tem sido descrita. No entanto, ainda é pouco explorada a associação entre as funções autonômica e endotelial microvascular avaliadas por métodos não invasivos - variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e tonometria arterial periférica (TAP), respectivamente.

Participantes e métodos: Em 1.447 participantes do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) foi investigada a correlação entre variáveis das funções endotelial microvascular e autonômica utilizando o teste de correlação de Spearman. Análise de subgrupos foi realizada em indivíduos com diabetes mellitus, com sobrepeso / obesidade, com síndrome metabólica e em indivíduos sem fatores de risco cardiovascular. Realizou-se ainda análise de sensibilidade em indivíduos sem DCV prevalente e naqueles que não estavam em uso de bloqueadores beta-adrenérgicos, bloqueadores dos canais de cálcio e agonistas alfa-adrenérgicos.

Resultados: Encontrou-se correlações fracas entre amplitude de pulso basal (BPA) e intervalo RR médio (0,064), RMSSD (0,067) e HF (-0,093), e entre PAT-ratio e RMSSD (0,058) e HF (0,067). As correlações observadas permaneceram fracas após análises de subgrupo e de sensibilidade.

Conclusão: A associação entre a função endotelial avaliada na microvasculatura e a função autonômica avaliada pela análise da VFC não é clinicamente relevante, sugerindo que elas podem contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares por meio de diferentes mecanismos.

Descritores: variabilidade da frequência cardíaca, tonometria arterial periférica, fatores de risco cardiovascular.

RELATION OF MICROVASCULAR ENDOTHELIAL AND AUTONOMIC FUNCTIONS IN ADULTS: THE ELSA-BRASIL COHORT STUDY

ABSTRACT

Introduction: Endothelial and autonomic dysfunctions are thought to be associated with the development of cardiovascular diseases, and a common pathway for both dysfunctions has been described. However, the association between autonomic and microvascular endothelial functions assessed by non-invasive methods - heart rate variability (HRV) and peripheral arterial tonometry (PAT), respectively - has been little explored.

Participants and methods: In 1,447 participants of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil), we investigated the correlation between endothelial microvascular and autonomic functions variables using Spearman's rank correlation test. Subgroup analysis was pre-specified in individuals with diabetes, overweight/obesity, metabolic syndrome, and individuals free of cardiovascular risk factors. Sensitivity analysis was performed for individuals without prevalent CVD and for participants who were not using beta-adrenergic blockers, calcium-channel blockers and alpha-adrenergic agonists.

Results: We found weak correlations between basal pulse amplitude (BPA) and mean RR interval (0.064), RMSSD (0.067) and HF (-0.093), and between PAT-ratio and RMSSD (0.058) and HF (0.067). The observed correlations remained weak in subgroup and sensitivity analysis.

Conclusion: The association between endothelial function evaluated in the microvasculature and autonomic function assessed by HRV analysis is not relevant, suggesting that they may contribute in different pathways to the development of cardiovascular diseases.

Keywords: heart rate variability, peripheral arterial tonometry, cardiovascular risk factors.

SUMÁRIO

1- APRESENTAÇÃO	10
2- INTRODUÇÃO	11
2.1- O “Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto” (ELSA-Brasil).....	11
2.2- As doenças cardiovasculares e a função endotelial.....	12
2.3 – As doenças cardiovasculares e a função autonômica	16
2.4- Relação entre a função endotelial e a função autonômica.....	20
3- JUSTIFICATIVA	25
4- OBJETIVO GERAL	26
4.1- Objetivos específicos	26
5- METODOLOGIA	27
5.1- Tipo do estudo.....	27
5.2- População do estudo	27
5.2.1- Critérios de elegibilidade.....	27
5.2.2- Critérios de exclusão	29
5.3- Coleta de dados	29
5.3.1- Entrevista.....	29
5.3.2- Medidas	30
5.3.3- Coleta de sangue.....	31
5.3.4- Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca	31
5.3.5- Avaliação da função endotelial	32
5.4- Variáveis a serem avaliadas	34
5.4.1- Variáveis resposta (função endotelial microvascular).....	34
5.4.2- Variáveis explicativas (variabilidade da frequência cardíaca)	34

5.4.3- Covariáveis	34
5.5- Análise estatística dos dados	35
5.5.1- Análise descritiva	35
5.5.2- Análise univariada.....	36
5.5.3- Análise multivariada.....	36
5.5.4- Análises de subgrupo	36
5.5.5- Análises de sensibilidade.....	37
5.6- Aspectos éticos.....	37
6- RESULTADOS	38
6.1- Artigo de Resultados	38
6.2- Características da População do Estudo.....	51
6.3- Análise Univariada	51
6.4- Análise de subgrupos.....	51
6.4.1- Participantes sem fatores de risco cardiovascular ou DCV prevalente	52
6.4.2- Participantes com diabetes mellitus	52
6.4.3- Participantes com sobrepeso ou obesidade	52
6.4.4- Participantes com Síndrome Metabólica	52
6.5- Análise de sensibilidade.....	57
6.5.1- Participantes sem Doença Cardiovascular Prevalente.....	57
6.5.2- Participantes sem o uso de betabloqueadores, de bloqueadores do canal de cálcio ou de alfa-agonistas adrenérgicos	57
7- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
8- CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	63

ANEXO A - Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP/UFMG)	70
ANEXO B - Termo de consentimento Livre e Esclarecido.....	71

1- APRESENTAÇÃO

Este volume consiste na apresentação do projeto de pesquisa da dissertação de mestrado do aluno Bruno Leonardo Duarte Pereira, conforme previsto pela regulamentação do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Universidade Federal de Minas Gerais (PPGSP-UFMG), com vistas à obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.

Este projeto de pesquisa insere-se na linha de pesquisa *Epidemiologia das Doenças e Agravos Não Transmissíveis* e é parte integrante de um estudo maior, intitulado “Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto” (ELSA- Brasil). O ELSA-Brasil é um estudo prospectivo multicêntrico, desenvolvido em instituições de ensino superior e de pesquisa em seis estados brasileiros – Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Rio Grande do Sul. Os principais objetivos do ELSA-Brasil são: investigar a incidência e a progressão do diabetes e das doenças cardiovasculares; e examinar os fatores biológicos, comportamentais, ambientais, ocupacionais, psicológicos e sociais relacionados a essas doenças e a suas complicações, buscando compor um modelo causal que contemple suas interrelações (AQUINO e colab., 2012).

2- INTRODUÇÃO

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

As doenças crônicas não transmissíveis – dentre elas as cardiovasculares, as respiratórias, o câncer e o *diabetes mellitus* – são um problema de saúde global e uma ameaça ao desenvolvimento humano. Elas foram responsáveis por 71,3% das mortes (39,8 milhões) no mundo em 2015, sendo a doença arterial coronariana e o acidente vascular cerebral as principais causas de anos de vida perdidos (WANG e colab., 2016). O Brasil, país de média renda, vem apresentando uma rápida transição demográfica. Atualmente 85% da sua população reside em regiões urbanas e, portanto, enfrenta riscos típicos deste contexto, como a redução de atividade física e a mudança do perfil nutricional (RIBEIRO e colab., 2016). Aliado a esse fato, o envelhecimento populacional é fator determinante para aumento da mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis, dentre elas as cardiovasculares (RIBEIRO e colab., 2016). Como consequência da transição demográfica, as doenças cardiovasculares (DCV) tornaram-se a principal causa de óbito no Brasil e têm como substrato anatômico, na maioria dos casos, a obstrução vascular pela aterosclerose (RIBEIRO e colab., 2016; ROSS, 1999; SCHMIDT e colab., 2011; “SIAB - DATASUS”, [S.d.]), resultando nos principais eventos cardiovasculares fatais, a síndrome coronariana aguda e o acidente vascular cerebral.

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 (AQUINO e colab., 2012).

Com base no exposto acima, concebeu-se o ELSA-Brasil, do qual o presente estudo é um subprojeto. O ELSA-Brasil é uma coorte de âmbito nacional que pretende investigar os determinantes da incidência de DCV e *diabetes mellitus* em 15.105 adultos, entre 35 e 74 anos, residentes no Brasil. O estudo é a primeira coorte sobre a saúde do adulto no Brasil, é financiado pelo Ministério da Saúde e vem sendo conduzido por uma rede multicêntrica e

multidisciplinar composta por seis instituições públicas de ensino superior, os Centros de Investigação: UFMG (ELSA-MG), USP, FIOCRUZ, UFRGS, UFES e UFBA (AQUINO e colab., 2012; SCHMIDT e colab., 2014).

O objetivo do ELSA-Brasil é investigar os fatores de risco para o aparecimento e progressão de DCV e *diabetes mellitus* em adultos brasileiros e os associar a desfechos subclínicos e clínicos. Uma importante contribuição será validar, em população brasileira, equações de risco para as DCV derivadas de outras coortes e incluir, a partir da coorte brasileira, novos fatores de risco (SCHMIDT e colab., 2014).

Quanto aos seus critérios de inclusão, todos os funcionários da UFMG e do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG) não terceirizados ativos e aposentados, de ambos os sexos, com idade entre 35 e 74 anos foram elegíveis para o estudo. 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 (SCHMIDT e colab., 2014).

A linha de base deste projeto, de onde se derivam os dados do presente estudo, 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 de 12 derivações, avaliação da variabilidade de frequência cardíaca (VFC), ecocardiograma, ultrassom abdominal, medida da espessura médio-intimal de carótidas e retinografia (FEDELI e colab., 2013; MILL e colab., 2013). Todas as medidas e avaliações foram realizadas por profissionais treinados e certificados conforme protocolos pré-estabelecidos (AQUINO e colab., 2012). A segunda avaliação dos participantes (onda 2) foi realizada entre 2012 e 2014. A terceira avaliação (onda 3) teve início em 2017 e encontra-se em andamento.

2.2- As doenças cardiovasculares e a função endotelial

O endotélio possui funções homeostáticas vitais, como o controle sobre a coagulação, a trombólise, o tônus vascular e a função das plaquetas e leucócitos.

Algumas doenças, tais como hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, hiperglicemia e doenças inflamatórias, podem provocar alterações no modo como o endotélio interage com os componentes celulares sanguíneos e da parede vascular. Estas alterações resultam em maior tendência à vasoconstrição, vasoespasma, trombogenicidade e proliferação celular anormal. A este conjunto de anormalidades chamamos disfunção endotelial (DE), que tem papel central no surgimento, progressão e apresentação clínica de DCV, como a hipertensão arterial e a aterosclerose (LIBBY e colab., 2002).

A DE é caracterizada pela redução da biodisponibilidade de fatores vasoativos com propriedades anti-inflamatória, vasodilatadora e anticoagulante, destacando-se o óxido nítrico (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980). A redução da produção do óxido nítrico (ON) pelas células endoteliais está relacionada a uma alteração na via da L-arginina-ON, podendo ser o elo biológico entre o dano endotelial e a aterosclerose e, portanto, a via comum dos fatores de risco citados acima (LIBBY e colab., 2002).

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 vasoespasma. Neste aspecto, a DE pode impedir a vasodilatação adequada e precipitar uma resposta vasoconstritora paradoxal em momentos de maior estresse físico ou mental, justamente quando a vasodilatação seria mais necessária, culminando em um evento isquêmico agudo. Ludmer *et al* (1986) foram os primeiros a demonstrar tal fenômeno nas artérias coronárias. Quando normais, estas artérias dilatam-se após a infusão intracoronária de acetilcolina, droga que estimula a produção de ON pelo endotélio, mas artérias com obstruções ateroscleróticas exibem uma resposta vasoconstritora. Apesar de o método descrito acima 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.

Celermajer *et al* (1992) descreveram a técnica de diagnóstico não invasivo da DE em artérias de condução, baseando-se no conceito da aterosclerose como doença difusa. Desde então, o teste de reatividade da artéria braquial (BART)

tornou-se a técnica mais usada como substituta da avaliação da função endotelial coronariana. A mudança no diâmetro arterial braquial é mensurada por meio do ultrassom vascular, antes e após a hiperemia reativa 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). A resposta da artéria braquial à hiperemia reativa relaciona-se à liberação de ON e à função endotelial coronariana (ANDERSON e colab., 1995; JOANNIDES e colab., 1995). Apesar de ser um exame não invasivo, alguns problemas dificultam sua execução na prática clínica: é um exame complexo, demorado e dependente do examinador, com uma curva de aprendizado longa (CORRETTI e colab., 2002).

Pelos motivos citados acima, buscou-se um método mais simples e Kuvín *et al* (2003) descreveram uma nova técnica para avaliação da função endotelial. Este método, conhecido como tonometria arterial periférica (PAT), consiste na avaliação da mudança dos volumes dos pulsos digitais após a hiperemia reativa, fenômeno dependente da liberação de ON (FLAMMER e colab., 2012; NOHRIA e colab., 2006). A validade deste método foi mostrada por Bonetti *et al* (BONETTI e colab., 2004) que estudaram a função endotelial em 94 pacientes submetidos à angiografia. Após a injeção de acetilcolina intracoronariana, o diâmetro arterial e a resposta do fluxo sanguíneo foram avaliados e comparados ao índice de hiperemia reativa (RHI) medido pelo PAT. Quanto menor o RHI, menor a capacidade do vaso em dilatar-se após a hiperemia reativa refletindo um maior comprometimento da função endotelial. 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.

Em dois estudos, o RHI correlacionou-se significativamente ($r = 0.55$, $P < 0.0001$ e $r=0.47$, $p<0.01$) à FMD medida pelo BART (DHINDSA e colab., 2008; NOHRIA e colab., 2006). Entretanto, em estudos mais recente esta relação não foi significativa e os fatores de risco cardiovasculares associados diferiram entre os dois métodos, sugerindo que a FMD e o RHI fornecem informações distintas sobre a função endotelial, que depende do tipo de vaso em que ela é avaliada: artérias de condução ou microvasculatura (FLAMMER e colab., 2012; HAMBURG e colab., 2011). Enquanto a FMD correlaciona-se mais fortemente

com idade e hipertensão, a DE medida pelo PAT correlaciona-se a fatores de risco metabólicos, como obesidade, *diabetes mellitus* e dislipidemia, de forma consistente e em populações distintas (HAMBURG e colab., 2008; MORRIS e colab., 2013; SCHNABEL e colab., 2011). Brant *et al* (2014), por exemplo, mostraram em adultos brasileiros (ELSA-Brasil) significativa correlação entre RHI baixo e fatores de risco metabólicos, tais como alto IMC, colesterol total/HDL e triglicérides. Tais achados foram corroborados por metanálise de dados agregados de três coortes de base populacional (ELSA-Brasil, Framingham Heart Study e Gutenberg Heart Study), totalizando 16830 participantes, que demonstrou associação entre DE, fatores de risco metabólicos e obesidade de maneira independente (BRANT e colab., 2017).

A DE, diagnosticada nos vasos coronarianos ou periféricos, é um evento precoce, potencialmente reversível e preditor independente de eventos cardiovasculares recorrentes e incidentes (LERMAN e ZEIHNER, 2005; YEBOAH e colab., 2009). A capacidade de predição independente do RHI para eventos CV tem sido recentemente descrita em diversos estudos. Rubinshtein *et al* (2010) avaliaram 270 pacientes ambulatoriais com dor torácica não explicada 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 (HR=1,68, 95% CI 1,02–2,78, p=0,04). Em 231 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 – idade, diabetes, classificação funcional da *New York Heart Association* (NYHA), história de hospitalização por insuficiência cardíaca e fração de ejeção do ventrículo esquerdo – com um índice de reclassificação de 19%, p=0,01 (AKIYAMA e colab., 2012). Matsuzawa *et al* (2013) avaliaram 528 pacientes diabéticos ou com mais de 2 fatores de risco CV 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 escore de risco de Framingham (p=0,02). Por fim, em metanálise do mesmo autor, incluindo 6 estudos com 1602 participantes (todos portadores de DCV),

valores reduzidos do logaritmo natural do RHI (lnRHI) confirmaram-se preditores independentes de eventos cardiovasculares futuros (RR ajustado por aumento de 0,1 no lnRHI: 0,79 [0,71-0,87], $i^2= 50\%$, $p < 0,001$), não se podendo, entretanto, excluir a possibilidade de viés de publicação (MATSUZAWA e colab., 2015).

Pelas características citadas acima, grande ênfase tem sido dada ao estudo da DE, já que ela pode ter implicação em avaliações prognósticas como fator de risco incremental e ser alvo de intervenções terapêuticas.

2.3 – As doenças cardiovasculares e a função autonômica

O sistema nervoso autônomo é o regulador primário da frequência cardíaca quando em ritmo sinusal. A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é a medida das variações cíclicas entre os intervalos de batimentos cardíacos normais (ou intervalos NN), mediadas por mecanismos de controle autonômicos (KINGWELL e colab., 1994; TASK FORCE, 1996). Ela reflete, portanto, uma complexa interação entre todas as vias de regulação do sistema nervoso autônomo (SNA), sendo influenciada por diversas condições fisiológicas e patológicas, incluindo hipertensão, *diabetes mellitus*, doença renal crônica, apneia obstrutiva do sono, alcoolismo, dentre outros (PAGANI e colab., 1986; POMERANZ e colab., 1985).

Em condições normais, a frequência cardíaca modifica-se em resposta a estímulos diversos, como exercício e estresse mental. Entretanto, mesmo em condições de repouso, ela apresenta flutuações em torno de uma média, relacionadas, em parte, às alterações contínuas do balanço entre os sistemas simpático e parassimpático, em resposta a mecanismos de controle cardiovascular. Diversos ritmos periódicos endógenos influenciam a VFC no período de 24 horas, entre eles (VAN RAVENSWAALIJ-ARTS e colab., 1993):

- Arritmia sinusal respiratória (ASR), mediada pela respiração e fortemente relacionada à atividade parassimpática. As variações da frequência cardíaca relacionadas à ASR ocorrem em intervalos de 2,5 a 6,6 segundos (0,15 a 0,40Hz), sendo geralmente muito rápidas para serem influenciadas significativamente pelo SNA nessa faixa.

- Ondas médias de variação da frequência cardíaca, com ciclo durando cerca de 10 segundos (0,10Hz) e variando entre 7 e 14 segundos (0,15 a 0,07Hz). São originárias de oscilações próprias da porção vasomotora do arco barorreflexo, sendo mediadas tanto por influências simpáticas como parassimpáticas. Essas oscilações intrínsecas resultam de retroalimentação negativa do barorreflexo e são acompanhadas de flutuações síncronas da pressão arterial (ondas de Mayer). A respiração em baixas frequências também contribui para as oscilações dessa faixa da frequência.
- Ondas lentas de variação da frequência cardíaca (duração do período de cerca de 20 segundos, com frequência em torno de 0,05Hz), relacionam-se a oscilações intrínsecas da resistência vascular periférica, associadas a ajustes termorregulatórios do fluxo sanguíneo periférico. As flutuações na resistência vascular periférica são acompanhadas por flutuações com a mesma frequência na pressão arterial e na frequência cardíaca, sendo mediadas principalmente pelo sistema simpático.
- Outras variações mais lentas da frequência cardíaca estão associadas a oscilações dos níveis de epinefrina/norepinefrina e angiotensina, aos movimentos oculares rápidos e ao ritmo circadiano.

Como o controle autonômico cardíaco é responsável por porção significativa das oscilações acima citadas, o estudo da VFC tem sido utilizado para o diagnóstico de alterações do controle autonômico cardíaco e suas implicações prognósticas em diversas condições clínicas.

A VFC é avaliada por meio da eletrocardiografia dinâmica e pode ser quantificada por diversos métodos, sendo os de maior aplicabilidade e disponibilidade na prática clínica os índices nos domínios de tempo e de frequência. Além disso, as medidas clínicas de VFC somente são interpretáveis nos indivíduos em ritmo sinusal predominante, nos quais a detecção da morfologia dos batimentos (picos de onda R) é acurada (TASK FORCE, 1996).

A avaliação no domínio do tempo é geralmente utilizada em registros prolongados de mensuração, geralmente superiores a 10 minutos, e permite a medida da VFC por meio de índices que são expressos em milissegundos. Os principais são: (1) **SDNN** (*Standard Deviation of all normal NN interval*), desvio

padrão de todos os intervalos RR normais gravados em um intervalo de tempo; (2) **SDANN** (*Standard Deviation of the Average NN Interval*), desvio padrão das médias dos intervalos RR normais, a cada 5 minutos, em um intervalo de tempo; (3) **SDNNi** (*The Mean of the 5 minutes Standard Deviation of NN Intervals*), média do desvio padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos; (4) **RMSSD** (*Root-Mean of square sucessive NN interval difference*), raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo; e (5) **pNN50** (*Percent of normal-normal NN intervals whose difference exceeds 50 ms*), porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferenças de duração maior que 50ms. SDNN, SDANN, SDNNi são índices obtidos através de intervalos RR individuais e representam as atividades simpática e parassimpática, enquanto que, RMSSD e pNN50 são obtidos através de intervalos RR adjacentes e refletem a atividade parassimpática (TASK FORCE, 1996).

Para a análise no domínio da frequência geralmente utiliza-se registro contínuo do eletrocardiograma durante períodos curtos (minutos) ou prolongados (por exemplo, 24 horas), representando-se graficamente os intervalos RR normais em relação ao tempo (tacograma). Métodos matemáticos complexos (transformação rápida de Fourier ou algoritmos autorregressivos) são utilizados para a realização da análise espectral, através da decomposição da variância total da frequência cardíaca (em determinado período de observação) em componentes atribuíveis a diferentes frequências, relacionadas a mecanismos com variadas periodicidades. A informação quantitativa obtida com esse tipo de análise pode fornecer a potência de cada componente, de modo que se obtém a contribuição parcial de cada faixa de frequência na potência total (medidas habitualmente em milissegundos ao quadrado). Em traçados eletrocardiográficos de curta duração, mais frequentemente utilizados, é consensual a existência de duas faixas de frequência relacionadas a duas oscilações rítmicas principais: (1) **HF** (*high frequency*), engloba o componente espectral de alta frequência, com variação entre 0,15 a 0,4Hz, que corresponde à modulação respiratória e é um indicador da atuação vagal sobre o coração; (2) **LF** (*low frequency*), engloba o componente de baixa frequência, com variação entre 0,04 e 0,15Hz, de significado biológico ainda incerto, podendo refletir

modulações simpáticas ou uma resultante complexa das atividade simpática e parassimpática. A análise da relação LF/HF é, portanto, objeto de controvérsias entre pesquisadores, sendo considerada por uns o reflexo das modulações simpáticas no sistema cardiovascular e por outros como um resultante do balanço simpático-vagal do SNA (TASK FORCE, 1996).

A utilização da análise da VFC no domínio da frequência é promissora devido à possibilidade de se dividir a variância em componentes relacionados a mecanismos fisiológicos específicos. Entretanto, além de limitações técnicas significativas, existem controvérsias quanto ao tipo de metodologia a ser empregada (transformação rápida de Fourier ou modelos autorregressivos), significado de cada faixa de frequência, forma como a potência relativa de cada uma delas deve ser mensurada (unidades absolutas – ms^2 – ou relativas, normalizadas) e período de observação mais adequado.

Como marcador de disfunção autonômica, a VFC tem se mostrado preditora de mortalidade e eventos cardiovasculares em diversos cenários clínicos, incluindo pacientes sem DCV conhecida, como exemplificado em alguns estudos de coorte (DEKKER e colab., 2000; SHAH e colab., 2013; STEIN e colab., 2008). Hillebrand e colab.(2013), em metanálise de oito estudos envolvendo 21.988 pacientes, demonstraram um risco significativamente maior de eventos cardiovasculares incidentes fatais e não fatais (RR 1,35; IC 95% 1,10-1,67) entre indivíduos previamente saudáveis com baixa VFC medida pelo SDNN.

Diversos estudos demonstram o valor prognóstico da VFC em pacientes com doença arterial coronariana (DAC). Pacientes com índices reduzidos de VFC medidos na fase precoce e tardia após o infarto agudo do miocárdio (IAM), por exemplo, apresentam maior risco de morte e eventos adversos, especialmente na era prévia à revascularização percutânea (BIGGER e colab., 1993; BUCCELLETTI e colab., 2009; ERDOGAN e colab., 2008; JANSZKY e colab., 2004; KLEIGER e colab., 1987; STEIN e colab., 2004; WHANG e BIGGER, 2003). Em consonância com tais dados, tem sido demonstrada associação entre uma reduzida VFC e DAC estável significativa (KOTECHA e colab., 2012).

Em pacientes com insuficiência cardíaca (IC), uma VFC reduzida se associa a diversos índices de gravidade da doença de base, tais como classe funcional (NYHA), fração de ejeção, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo e pico de consumo de O₂ (FAUCHIER e colab., 1997, 1999; LA ROVERE e colab., 2003; MÄKIKALLIO e colab., 2001; NOLAN e colab., 1998; PONIKOWSKI e colab., 1997; SZABÓ e colab., 1997; YI e colab., 1997). Além disso, a VFC tem se mostrado preditora independente de mortalidade geral, mortalidade por IC, morte súbita, arritmias ventriculares e necessidade de transplante cardíaco (FAUCHIER e colab., 1999; KAMATH e colab., 2012; NOLAN e colab., 1998).

Uma reduzida VFC é ainda consistentemente associada a diversos fatores de risco cardiovascular, incluindo hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo, sobrepeso, sedentarismo, transtornos mentais e estresse, sendo um potencial elo entre tais fatores e as doenças cardiovasculares (CARNEY e colab., 2001; LICHTMAN e colab., 2008; THAYER e colab., 2010). De maneira inesperada, entretanto, existem diferenças étnicas significativas no comportamento da VFC, em distintos cenários populacionais, demonstrando-se índices elevados de VFC em negros quando comparados com brancos, que por sua vez possuem caracteristicamente um menor perfil de risco e prevalência de DCV (HILL e colab., 2015; KEMP e colab., 2016). Uma potencial explicação para esse aparente paradoxo é uma resposta compensatória psicofisiológica a efeitos adversos da discriminação, como demonstrado em estudo da coorte ELSA-Brasil (KEMP e colab., 2016).

Dessa forma, é de grande importância o estudo da VFC na coorte ELSA-Brasil, tendo em vista suas potenciais implicações clínicas e prognósticas em nossa população.

2.4- Relação entre a função endotelial e a função autonômica

O sistema nervoso autonômico (SNA), simpático e parassimpático, inerva abundantemente o endotélio e lâminas musculares dos vasos sanguíneos, regulando a contração e tensão vascular (BEVAN e BRAYDEN, 1987; TODA e OKAMURA, 2003). Terminações nervosas adrenérgicas inervam as lâminas musculares, enquanto as colinérgicas são encontradas tanto nas camadas musculares, quanto no endotélio. Estudos demonstram a presença de

receptores colinérgicos no endotélio vascular de leitos arteriais e sua associação com a liberação de ON, dependendo-se papel significativo e complexo do SNA na fisiologia endotelial (AMIYA e colab., 2014). Desequilíbrios no SNA podem afetar de maneira deletéria a função e integridade do leito vascular, sendo este o potencial elo fisiopatológico entre as disfunções autonômica e endotelial (GRASSI, 2009).

A associação entre marcadores de atividade simpática e a função endotelial tem sido demonstrada em indivíduos sem doença cardiovascular prévia. Em estudo com 314 indivíduos, por exemplo, a função endotelial mensurada pelo BART foi inversamente relacionada aos níveis séricos de norepinefrina (KAPLON e colab., 2011). Sverrisdóttir *et al.* (2010), por outro lado, realizaram medidas simultâneas de descarga simpática (potenciais de ação no leito vascular) e função endotelial microvascular (RHI pelo PAT) em 10 indivíduos saudáveis, demonstrando uma correlação inversa significativa ($r = -0,8$, $p = 0,005$). Estes dados sugerem que o comprometimento da função endotelial, avaliada por métodos distintos, se relaciona a maiores níveis de atividade simpática, por sua vez associada a diversas doenças cardiovasculares.

De maneira semelhante, demonstra-se uma consistente associação entre disfunção endotelial e autonômica em cenários clínicos variados, tais como na hipertensão arterial sistêmica, *diabetes mellitus*, obesidade, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, doença de Chagas, dentre outros (BINKLEY e colab., 2005; CIEŚLIK-GUERRA e colab., 2014; GAMBOA e colab., 2012, 2016; TRUCCOLO e colab., 2013; WATANABE e colab., 2013), com poucos dados negativos publicados (TIFTIKCIOGLU e colab., 2016). Apesar da limitação de dados sobre o tema, as disfunções autonômica e endotelial frequentemente coexistem no desenvolvimento de diversas doenças, sugerindo a existência de uma complexa interação entre ambas (AMIYA e colab., 2014).

A interação entre o SNA e a função endotelial mensurada por métodos distintos, que, por sua vez, são realizados em diferentes leitos vasculares – vasos de condução no BART e leito microvascular de extremidades na PAT –, é objeto de debate entre pesquisadores. Questionam-se as possíveis diferenças entre a resposta ao tônus autonômico em vasos distintos, com provável maior influência no leito microvascular.

Além disso, mesmo utilizando-se a PAT, diferentes abordagens metodológicas existem ao se investigar a função endotelial microvascular e sua correlação com a função autonômica. Hamada *et al* (2016), por exemplo, com o objetivo de estabelecer um novo índice pelo método PAT para avaliar a disfunção autonômica vascular em 65 indivíduos (incluindo participantes saudáveis, em uso de bloqueadores adrenérgicos e diabéticos), desenvolveram o *sympathetic hypoemia index* (SHI), baseado na diferença de amplitude de pulso no braço não ocluído. Encontrou-se uma correlação moderada entre o SHI e a variação nos índices de VFC - Δ LF ($r = 0,63$, $p < 0,05$) e Δ LF/HF ($r = 0,78$, $p < 0,05$). De maneira interessante, não foi demonstrada neste estudo correlação entre o RHI, parâmetro tradicionalmente utilizado e validado pelo método PAT, e os índices de VFC, levantando-se a possibilidade de que esse não seja um parâmetro adequado para avaliação da atividade do SNA em nível microvascular.

Apesar do exposto, conforme observa-se na tabela 1 (abaixo), a associação entre as disfunções autonômica e endotelial microvascular é assunto ainda pouco explorado, até o momento carecendo de estudos de base populacional que investiguem o tema.

Tabela 1. Sumário de estudos que demonstram associação entre função endotelial e função autonômica.

Estudo	Objetivo	Amostra	População	Método de avaliação da função endotelial	Método de avaliação da função autonômica	Resultados
BINKLEY e colab., 2005	Testar a hipótese de que a homizigose para determinado polimorfismo do promotor do gene da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que confere menor atividade a esta enzima, está relacionada a disfunção autonômica.	29	Indivíduos com insuficiência cardíaca	-----	VFC	Indivíduos homizigotos para o polimorfismo do promotor eNOS (marcador de disfunção endotelial), quando comparados aos indivíduos sem esta alteração, apresentaram maior disfunção autonômica evidenciada pelo LF (p=0.04) e pela razão LF/HF (p=0.04).
CIEŚLIK-GUERRA e colab., 2014	Avaliar a correlação entre a função endotelial e a função autonômica em pacientes com SCA recente.	52	Indivíduos com passado de SCA nos últimos 3 a 6 meses	PAT	Resposta simpática da pele (Sympathetic Skin Response – SSR)	RHI correlacionado significativamente à latência da SSR nos membros superiores (r= 0.41, p= 0.004 à direita, e r= 0.42, p=0.004 à esquerda)
GAMBOA e colab., 2012	Determinar se a contenção tônica da pressão arterial pelo ON é reduzida em hipertensos.	66	Indivíduos saudáveis e hipertensos	Inibição da enzima ON sintetase com N-monomethyl-L-arginine (L-NMMA).	Bloqueio autonômico com trimetafan	A contenção tônica pelo ON foi semelhante em hipertensos e indivíduos saudáveis durante o bloqueio autonômico. Sugere-se que a deficiente vasodilatação mediada pelo ON (denotando disfunção endotelial) seria secundária à ativação simpática.
GAMBOA e colab., 2016	Testar a hipótese de que a vasodilatação mediada pelo ON é mediada pela ativação simpática em obesos.	14	Indivíduos obesos	Acetilcolina intrabraquial (vasodilatação mediada por ON)	Bloqueio autonômico com trimetafan	Observou-se menor aumento do fluxo braquial com acetilcolina, quando comparado ao aumento com nitroprussiato (vasodilatação não mediado pelo ON) em doses equipotentes (p <0.05). Não houve diferença, entretanto, após o bloqueio autonômico (p=0.58).
HAMADA e colab., 2017	Estabelecer novo índice para avaliar a função autonômica vascular usando o método PAT.	65	Indivíduos saudáveis, diabéticos e em uso de bloqueadores simpáticos	PAT	VFC	Desenvolvido o <i>sympathetic hypoemia index</i> (SHI), que apresentou correlação moderada variação nos índices de VFC - Δ LF (r = 0,63, p < 0,05) e Δ LF/HF (r = 0,78, p < 0,05). O SHI foi significativamente menor em diabéticos que nos controles (p=0.046).

Tabela 1. Continuação

KAPLON e colab., 2011	Testar a hipótese de que a disfunção vascular endotelial com a idade é relacionada a maior atividade simpática.	314	Indivíduos saudáveis	BART	Níveis séricos de norepinefrina	FMD foi inversamente correlacionada aos níveis séricos de norepinefrina ($r = -0.25$, $p < 0.001$).
SVERRISDÓTTIR e colab., 2010	Investigar se a medida direta de vasoconstricção simpática é correlacionada à função endotelial.	10	Indivíduos saudáveis	PAT	Medidas diretas de potenciais de ação simpáticos no leito muscular vascular (MSNA)	RHI foi inversamente correlacionado ao MSNA ($r = -0.8$, $p = 0.005$).
TIFTIKCIOGLU e colab., 2016	Estudo caso-controle com o objetivo de investigar a correlação entre marcadores plasmáticos de disfunção endotelial e neuropatia autonômica em pacientes com tolerância reduzida à glicose e com DM2.	80	Indivíduos com intolerância à glicose (25), com DM2 (25) e controles (30).	Marcadores séricos de disfunção endotelial: vWF e E-selectina solúvel.	VFC e SSR	Não houve correlação entre os marcadores séricos de disfunção endotelial e os parâmetros de disfunção autonômica.
TRUCCOLO e colab., 2013	Avaliar a associação entre parâmetros de modulação autonômica e função endotelial em indivíduos com Doença de Chagas.	13	Indivíduos com Doença de Chagas forma indeterminada	BART	VFC	FMD foi correlacionada com HF ($r=0.78$, $p=0.007$), com LF ($r = 0.68$, $p= 0.01$) e com a razão HF/LF ($r= -0.78$, $r= 0.004$).
WATANABE e colab., 2013	Avaliar a relação entre a função endotelial e a função autonômica em indivíduos com DAC.	47	Indivíduos com DAC	BART	VFC	FMD foi correlacionada com SDNN ($r=0.33$, $p= 0.022$) e com a razão HF/LF ($r= -0.38$, $p= 0.0087$).

BART: teste de reatividade da artéria braquial; **DAC:** doença arterial coronariana; **DM2:** diabetes mellitus tipo 2; **eNOS:** óxido nítrico sintase endotelial; **FMD:** dilatação arterial mediada pelo fluxo; **HF:** componente de alta frequência; **LF:** componente de baixa frequência; **ON:** óxido nítrico; **PAT:** tonometria arterial periférica; **RHI:** índice de hiperemia reativa; **SCA:** síndrome coronariana aguda; **SDNN:** desvio padrão dos intervalos NN; **SHI:** *sympathetic hypolemia index*; **SSR:** resposta simpática da pele; **VFC:** variabilidade da frequência cardíaca; **vWF:** fator de von Willebrand.

3- JUSTIFICATIVA

A investigação da relação entre a função endotelial e função autonômica, objeto do presente projeto, pode auxiliar no entendimento da influência do sistema nervoso autônomo na função endotelial microvascular, território altamente responsivo ao tônus simpático, contribuindo na elucidação de mecanismos fisiopatológicos e curso clínico das doenças cardiovasculares, além de gerar hipóteses para possíveis alvos terapêuticos (HAMBURG e BENJAMIN, 2009).

A associação entre a DE microvascular e a disfunção autonômica ainda não foi abordada em estudos de base populacional. A investigação desta associação na coorte ELSA-MG é, portanto, original, na medida em que abrange o estudo da função endotelial microvascular pelo método PAT – de fácil execução, não invasivo, reprodutível e com boa confiabilidade – em grande amostra de adultos, com ou sem doenças cardiovasculares (BRANT, 2011).

O Centro de Investigação ELSA-MG incluiu a avaliação da função endotelial pelo método PAT nos exames da linha de base de 1659 participantes. A VFC, por sua vez, foi mensurada em toda a coorte ELSA-Brasil, através de registro do eletrocardiograma (ECG) contínuo de 10 minutos em repouso e na posição supina.

Dessa forma, o presente estudo busca contribuir de maneira significativa para o entendimento da fisiopatologia e história natural das doenças cardiovasculares, com possíveis implicações terapêuticas, além de ser original e factível, utilizando dados da coorte de base populacional ELSA-Brasil.

4- OBJETIVO GERAL

Investigar a associação entre função endotelial microvascular medida pelo PAT, e os índices de variabilidade de frequência cardíaca (VFC) em adultos brasileiros participantes do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA-Brasil).

4.1- Objetivos específicos

- Investigar a correlação entre:
 - Índices de VFC (variáveis explicativas): intervalo RR médio, SDNN, RMSSD, LF e HF;
 - Índices de DE pelo PAT (variáveis resposta): PAT ratio e amplitude média do pulso basal.
- Ajustar a possível associação encontrada para covariáveis de interesse, a saber: idade, sexo, raça, escolaridade, renda, tabagismo, grau de atividade física, índice de massa corpórea (IMC), hipertensão arterial sistêmica (HAS), glicemia de jejum, *diabetes mellitus* (DM), razão colesterol total/HDL e DCV prevalente.
- Investigar a associação objeto do presente estudo em subgrupos específicos: pacientes sem fatores de risco cardiovascular clássicos (a saber, idade > 55 anos, dislipidemia, *diabetes mellitus*, hipertensão arterial e obesidade) ou DCV prevalente; pacientes portadores de *diabetes mellitus*; obesidade; e síndrome metabólica.
- Realizar análise de sensibilidade em indivíduos sem DCV prevalente e que não estão em uso de betabloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio e alfa-agonistas.

5- METODOLOGIA

5.1- Tipo do estudo

Observacional, transversal.

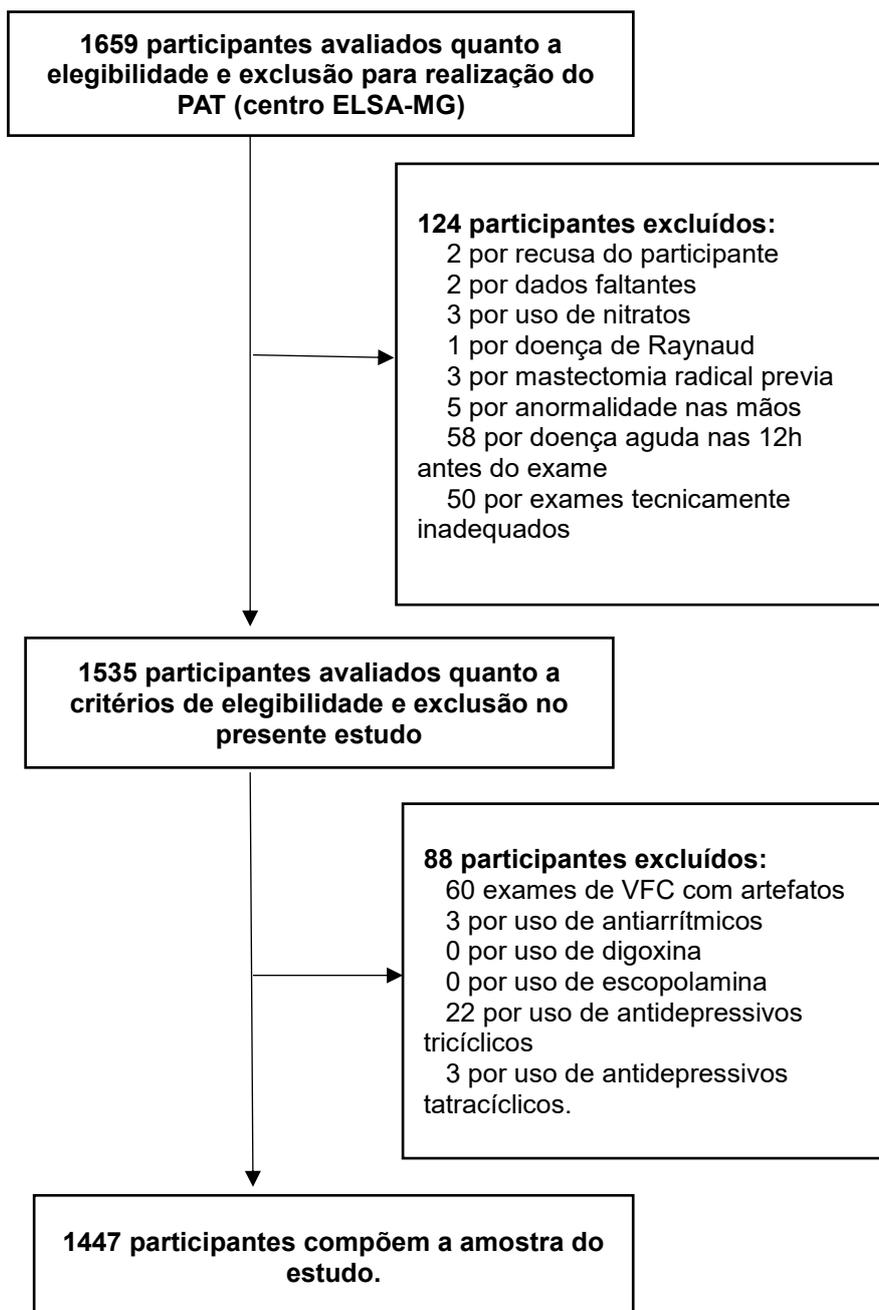
5.2- População do estudo

No Centro de Investigação ELSA-MG – responsável pela inclusão de 3115 participantes na coorte ELSA-Brasil, a avaliação da função endotelial foi realizada na linha de base do estudo pelo método PAT em 1659 participantes, tendo em vista que a inclusão do PAT ocorreu com a linha de base já em andamento.

A amostra deste estudo, após seleção de participantes por critérios apresentados abaixo, é composta por 1447 participantes consecutivos da linha de base do ELSA-MG com exames PAT e de VFC considerados válidos, conforme fluxograma (Fluxograma 1):

5.2.1- Critérios de elegibilidade

- Do ELSA-Brasil: Funcionários não terceirizados da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), de ambos os sexos, com idade entre 35 a 74 anos.
- Avaliação da função endotelial microvascular pelo PAT válida.
- Avaliação da função autonômica pela VFC válida: exames cujas séries R-R apresentaram menos de 20% de remoção por artefatos (maiores detalhes no item 5.3.4).



Fluxograma 1. Seleção de participantes quanto aos critérios de elegibilidade e exclusão para a amostra do presente estudo. PAT: tonometria arterial periférica; VFC: variabilidade da frequência cardíaca.

5.2.2- Critérios de exclusão

- Do ELSA-Brasil: Gravidez, doença com sobrevida inferior a 5 anos, dificuldade cognitiva para entrevista, afastamento prolongado por doença, interesse em mudança de emprego nos 2 anos seguintes.
- Para realização do PAT: Recusa em realizar exame após explicação padronizada, presença de deformidades nos dedos que impossibilitassem adequada aquisição do sinal do PAT, doença de Raynaud, mastectomia radical.
- Após realização do PAT: doença aguda nas 12h antes da avaliação, dados faltantes, uso oral de nitratos e estudos tecnicamente inadequados (oclusão insuficiente do fluxo, qualidade ruim do sinal do PAT, aquisição incompleta de dados pelo sistema e período de oclusão > 5:30 min).
- Uso de antiarrítmicos (amiodarona, propafenona, sotalol, quinidina), digoxina, escolaplamina, antidepressivos tricíclicos (amitriptilina, imipramina, nortriptilina, clomipramina) e antidepressivos tetracíclicos (mirtazapine, maprotilina).

5.3- Coleta de dados

Os dados do presente estudo foram coletados no Centro de Investigação ELSA-MG, de maneira padronizada (AQUINO e colab., 2012; FEDELI e colab., 2013; MILL e colab., 2013):

5.3.1- Entrevista

Foram realizadas entrevistas com utilização de questionário padronizado envolvendo os seguintes aspectos:

- Idade em anos;
- Sexo (feminino e masculino);
- Raça autodeclarada;

- Escolaridade atual: ensino superior completo (>15 anos), ensino médio completo (11-14 anos), ensino fundamental completo (8-10 anos) e ensino fundamental incompleto (0-7 anos);
- Tabagismo: foram considerados tabagistas os participantes que declararam terem fumado pelo menos 100 cigarros ao longo da vida e que continuavam tabagistas. Aqueles que relataram terem fumado ao longo da vida, mas não fumavam no momento da entrevista foram classificados como ex-fumantes;
- Atividade física: obtida através do Questionário Internacional de Atividade Física, versão curta – IPAQ (HALLAL e VICTORA, 2004) –, o grau de atividade física entre os participantes foi classificada em de baixa, moderada ou forte intensidade (<600, 600 a 3000 e \geq 3000 equivalentes metabólicos-min/semana, respectivamente);
- Doenças prévias e atuais autorreferidas e uso de medicamentos.

5.3.2- Medidas

- Índice de Massa Corporal (IMC): foram aferidos o peso em quilogramas e a altura em metros por meio de métodos padronizados e então calculado o IMC (Kg / m^2) utilizado como variável contínua.
- Circunferência abdominal, medida de maneira padronizada em linha horizontal acima ao nível da crista ilíaca direita ao final da expiração.
- Pressão arterial (PA): Aferida por meio do equipamento oscilométrico (Omron HEM 705CPINT) validado. As medidas da PA sistólicas e diastólicas foram feitas três vezes na posição sentada após 5 minutos de repouso. A média das segunda e terceira foi utilizada nas análises.

5.3.3- Coleta de sangue

A coleta foi realizada após jejum de 12 horas através de punção em veia do antebraço por pessoal treinado. Foi coletado sangue para os seguintes exames complementares utilizados neste estudo:

- Glicemia de jejum, mensurada através do método hexoquinase (*ADVIA Chemistry; Siemens, Deerfield, Illinois*).
- Teste de tolerância oral à glicose, mensurada glicemia 2h após carga 75g de glicose oral (*ADVIA Chemistry; Siemens, Deerfield, Illinois*).
- Hemoglobina glicada (HbA1c), mensurada por cromatografia líquida de alta pressão (*Bio-Rad Laboratories, Hercules, California*)
- Razão Colesterol total/HDL: frações totais e níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL) colesterol foram determinados por meio de ensaio enzimáticos colorimétrico (*ADVIA Chemistry; Siemens, Deerfield, Illinois*) e foi calculada a razão entre eles.

5.3.4- Avaliação da variabilidade da frequência cardíaca

A VFC foi mensurada em 13791 participantes da coorte ELSA-Brasil com idades entre 34 a 75 anos na linha de base (MILL e colab., 2013). Apesar de ter sido programado fazer em todos os participantes incluídos na coorte (n=15105), isto não ocorreu por questões logísticas. Para sua determinação, foi feito registro do eletrocardiograma (ECG) contínuo de 10 minutos em repouso e na posição supina. Tais registros foram submetidos a análise temporal e espectral da VFC, utilizando-se o modelo autorregressivo que identifica as bandas espectrais de frequência muito baixa (VLF, 0 a 0,04Hz), baixa (LF, 0.04 a 0.1Hz) e alta (HF, 0.1 a 0.4Hz). A amplitude da banda de HF correlaciona-se com a modulação vagal da FC, enquanto a banda LF depende simultaneamente da modulação vagal e simpática (TASK FORCE, 1996).

A VFC foi avaliada pela obtenção de traçado eletrocardiográfico digital contínuo (Micromed, Brasil) por período de 10 minutos sob as seguintes condições: posição supina, respiração espontânea, ambiente silencioso e com temperatura controlada entre 20 a 24°C. Foi avaliada amostra de 13791 participantes, dos quais, através de sistema especificamente desenvolvido para

este fim (Micromed Wincardio 4.4a, Brasil), foram geradas automaticamente séries de intervalos R-R obtidas de derivações com a maior amplitude de onda R (usualmente DII). Tais séries R-R foram submetidas a processamento com o objetivo de remover os batimentos ectópicos e artefatos. Cada intervalo R-R foi comparado com um intervalo R-R médio (média da soma dos últimos 10 intervalos R-R normais), sendo que batimentos com intervalos R-R menores que 80% ou maiores que 120% do R-R médio foram classificados como ectópicos e removidos da série através de interpolação linear. Séries R-R com mais de 20% de remoção foram excluídas da análise. De acordo com esse critério, eliminou-se 3,8% dos registros eletrocardiográficos (504 participantes), permanecendo 13287 participantes com exames válidos na coorte (DANTAS e colab., 2015; MILL e colab., 2013). A partir dos traçados válidos, calculou-se automaticamente os seguintes índices de VFC nos domínios do tempo e da frequência: intervalo RR médio, SDNN (desvio padrão dos intervalos RR normais), RMSSD (raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais), pNN50 (proporção de intervalos RR normais com diferenças sucessivas maiores que 50ms), índice triangular, componente de baixa frequência (LF), componente de alta frequência (HF), razão LF/HF e variância total.

5.3.5- Avaliação da função endotelial

O PAT ratio, variável resposta definidora da hiperemia reativa no presente projeto (vide item 5.4.1), foi determinado através do aparelho Endo-PAT2000 (Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) por quatro examinadores treinados e certificados. O participante foi orientado a deitar-se em maca acolchoada com braços e pernas estendidos em ambiente calmo, e o manguito do aparelho de pressão foi posicionado no braço não dominante, dois centímetros acima da fossa cubital. Os sensores pneumáticos foram colocados nos dedos indicadores de cada mão, sem contato com qualquer objeto. Estes sensores aplicam uma pressão uniforme à superfície distal dos dedos, permitindo medir a mudança dos volumes do pulso. Durante o exame, os sensores digitais permanecem insuflados com pressão eletronicamente estabelecida 10 mmHg abaixo da pressão diastólica do participante (máximo de 70 mmHg). Após período de

estabilização do sinal por um minuto, inicia-se o exame que contém três períodos de registro contínuo: no primeiro, grava-se o sinal basal por cinco minutos, em seguida interrompe-se o fluxo arterial do braço não dominante através da insuflação do manguito com pressão 60 mmHg acima da PA sistólica (mínimo de 200 mmHg) por cinco minutos (± 30 segundos), e, por fim, registra-se por mais cinco minutos as mudanças nos volumes dos pulsos digitais secundários à hiperemia reativa, após a desinsuflação abrupta do manguito. Em caso de detecção de não oclusão do pulso arterial, o manguito foi insuflado mais 50 mmHg, até o máximo de 300 mmHg.

O PAT ratio é a razão entre a amplitude média do sinal entre 90 e 120 segundos após o aparecimento das curvas de volume que se segue à desinsuflação do manguito no braço teste, dividido pela amplitude média do sinal antes da insuflação (amplitude média basal – AMB), que, por sua vez, é calculada durante o período antes da oclusão do manguito (partindo-se do início do teste até 20 segundos antes do início da oclusão, divide-se o período em duas partes, sendo considerada a última delas). Este resultado é dividido pela razão correspondente do braço contralateral, que serve de controle para alterações sistêmicas fisiológicas e transformado para o seu logaritmo natural (HAMBURG e BENJAMIN, 2009). Razão semelhante à anterior é o RHI, que utiliza como fator de correção, entretanto, fórmula de propriedade do fabricante ($[0,2276 \times \ln(\text{mean occluded baseline amplitude}) - 0,2]$), com a intenção de ajustar frente a possíveis alterações sistêmicas do tônus vascular (BRUYNDONCKX e colab., 2013). Quando necessário, o ajuste de margens final foi realizado, conforme orientação do fabricante (Figura 1). Conforme demonstrado em 123 participantes do ELSA-MG, a avaliação da função endotelial pelo PAT na coorte ELSA-MG é reprodutível e com boa confiabilidade (BRANT, 2011).

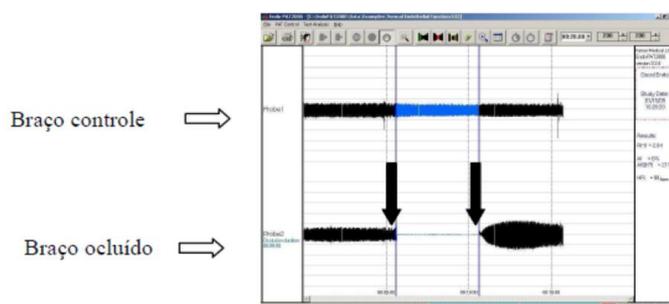


Figura 1. Exame PAT: Ondas de pulso mostrando aumento da amplitude após a oclusão do pulso arterial (resposta normal). As margens da oclusão são definidas automaticamente. No entanto, em caso de definição automática inadequada, o ajuste foi realizado manualmente pelo supervisor arrastando as linhas apontadas pelas setas pretas, na escala de tempo de 1 minuto. Após o ajuste, o RHI foi recalculado automaticamente. RHI: índice de hiperemia reativa.

Fonte: Manual do Usuário Endo-PAT2000, 2002-2009, Itamar Medical Ltd.

5.4- Variáveis a serem avaliadas

5.4.1- Variáveis resposta (função endotelial microvascular)

- PAT ratio, que reflete a resposta à hiperemia reativa, fenômeno dependente da liberação de ON
- Amplitude média do pulso basal (AMB), que reflete o tônus vascular basal

5.4.2- Variáveis explicativas (variabilidade da frequência cardíaca)

- Intervalo RR médio
- SDNN (desvio padrão dos intervalos RR normais)
- RMSSD (raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais)
- Componente de baixa frequência (LF, em valores absolutos)
- Componente de alta frequência (HF, em valores absolutos)

5.4.3- Covariáveis

- Idade (em anos)
- Raça autodeclarada (classificadas em branca, parda e preta - excluídos indígenas e asiáticos devido a pequeno número de indivíduos)

- Sexo (feminino e masculino)
- Escolaridade (estratificada em faixas: até fundamental incompleto, fundamental completo, médio completo e superior completo)
- Renda (renda líquida familiar *per capita* mensal em reais)
- Tabagismo atual
- Grau de atividade física (fraca, moderada e intensa)
- Índice de massa corpórea (peso em Kg dividido pelo quadrado da altura em metros)
- Hipertensão arterial sistêmica (pressão arterial sistólica \geq 140mmHg, pressão arterial diastólica \geq 90mmHg ou uso de tratamento anti-hipertensivo)
- *Diabetes mellitus* (glicemia de jejum \geq 126mg/dL, hemoglobina glicosilada \geq 6,5%, glicemia 2h após dextrosol \geq 200mg/dL, uso de insulina ou tratamento medicamentoso para DM)
- Razão Colesterol total/HDL
- Doença cardiovascular prevalente (alterações maiores ao eletrocardiograma ou passado de doença arterial coronariana, acidente vascular encefálico ou insuficiência cardíaca autorreferidos)
- Uso de betabloqueadores (atenolol, bisoprolol, nebivolol, metoprolol, propranolol, nadolol e pindolol)
- Uso de bloqueadores do canal de cálcio (anlodipino, felodipina, isradipino, lacidipino, lercanidipino, nifedipino, nimodipino, nitrendipino, manidipino, diltiazem e verapamil)
- Uso de alfa-agonistas (clonidina, tizanidina, ioimbina, moxonidina, tansulosina, doxazosina, alfuzosina)

5.5- Análise estatística dos dados

5.5.1- Análise descritiva

Serão reportados média e desvio padrão para variáveis contínuas normais, mediana e intervalo interquartil para variáveis contínuas não normais, e porcentagem para variáveis categóricas.

5.5.2- Análise univariada

A verificação de correlação entre as variáveis resposta (PAT ratio e AMB) e cada variável explicativa (intervalo RR médio, SDNN, RMSSD, HF e LF) será realizada inicialmente por meio do teste de correlação de Spearman (um valor- $p \leq 0,05$ será considerado estatisticamente significativo).

5.5.3- Análise multivariada

Na hipótese de se encontrarem correlações significativas clínica e estatisticamente na análise univariada, serão construídos modelos de regressão linear múltipla, para verificar a associação entre cada um dos índices de VFC, AMB e PAT ratio ajustando por idade, sexo e raça (Modelo 1). Em seguida, será verificado se as associações encontradas são independentes dos determinantes distais (escolaridade, renda), comportamentos e fatores de risco cardiovascular clássicos para DCV (grau de atividade física, tabagismo, IMC, colesterol total/HDL, *diabetes mellitus* e hipertensão arterial) ou de DCV prevalente (Modelo 2). Finalmente, esses modelos serão ajustados pelas demais covariáveis a saber: uso de betabloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio e alfa-agonistas (Modelo 3), sendo este o modelo final (considerando um valor- $p \leq 0,05$ e após realização de teste de adequação). Interações potenciais serão testadas e incluídas no modelo final se significativas.

A medida das associações encontradas será expressa através do coeficiente β , com intervalo de confiança de 95%.

5.5.4- Análises de subgrupo

Serão realizadas análises univariadas e, se necessário, multivariadas (conforme os itens 5.5.2 e 5.5.3) nos seguintes subgrupos de pacientes.

- Participantes sem qualquer dos fatores de risco cardiovascular clássicos ou DCV prevalente, que serão considerados “saudáveis”:
 - Idade > 55 anos,
 - Dislipidemia (colesterol total ≥ 240 mg/dL; LDL-colesterol ≥ 160 mg/dL; HDL-colesterol ≤ 40 mg/dL para homens; HDL-

- colesterol \leq 50mg/dL para mulheres; triglicérides \geq 150mg/dL; ou tratamento medicamentoso para dislipidemia)
- *Diabetes mellitus*, conforme definido em item 5.4.2.
 - Hipertensão arterial, conforme definido em item 5.4.2.
 - Obesidade, definida como IMC \geq 30 Kg / m².
- Participantes com *diabetes mellitus*.
 - Participantes com sobrepeso e obesidade
 - Participantes com Síndrome Metabólica, definida por critérios do ATP III (GRUNDY e colab., 2004):
 - Circunferência abdominal $>$ 102 cm para homens ou $>$ 88cm para mulheres).
 - Triglicérides $>$ 150mg/dL,
 - HDL-colesterol $<$ 40mg/dL para homens ou $<$ 50mg/dL para mulheres.
 - Pressão arterial \geq 130/85 mmHg
 - Glicemia de jejum \geq 100mg/dL

5.5.5- Análises de sensibilidade

Serão realizadas análises univariadas e, se necessário, multivariadas (conforme os itens 5.5.2 e 5.5.3) nos seguintes subgrupos de pacientes:

- Participantes sem DCV prevalente
- Participantes que não estejam em uso de betabloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio e alfa-agonistas

5.6- Aspectos éticos

O Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA) recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP – em 28/06/06 e foi registrado no SISNEP FR 93920 (ANEXO A). Os sujeitos da pesquisa foram recrutados voluntariamente para participação na pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e esclarecido (ANEXO B).

6- RESULTADOS

6.1- Artigo de Resultados

Foi produzido artigo científico com os resultados do presente projeto de pesquisa, sendo submetido à revista *International Journal of Cardiology* no formato *short communication*. O artigo foi redigido de acordo com as normas do periódico supracitado e encontra-se reproduzido abaixo:

**Relation of microvascular endothelial and autonomic functions in adults:
the ELSA-Brasil Cohort Study***

Bruno L.D. Pereira, MD^a; Luisa C.C. Brant, MD, PhD^a; Sandhi M. Barreto, MD,
PhD^b; José G. Mill, MD, PhD^c; Antonio L.P. Ribeiro, MD, PhD^a.

^a Hospital das Clínicas and School of Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

^b Department of Preventive and Social Medicine, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

^c Department of Physiological Sciences, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brazil

* Each author takes responsibility for all aspects of the reliability and freedom from bias of the data presented and their discussed interpretation

Conflict of Interest: all authors report no conflict of interest.

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

Word count: 1,407 Number of tables: 2

Keywords: heart rate variability, peripheral arterial tonometry, cardiovascular risk factors

Address for correspondence:

Luisa C. C. Brant, MD, PhD

Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto

Hospital Borges da Costa

Av. Alfredo Balena, 190, Santa Efigênia, Belo Horizonte, MG, Brazil

Telephone: + 55 31 3409-9140

E-mail: luisabrant@gmail.com

Abstract

Introduction: Endothelial and autonomic dysfunctions are thought to be associated with the development of cardiovascular diseases, and a common pathway for both dysfunctions has been described. However, the association between autonomic and microvascular endothelial functions assessed by non-invasive methods - heart rate variability (HRV) and peripheral arterial tonometry (PAT), respectively - has been little explored.

Participants and methods: In 1,447 participants of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil), we investigated the correlation between endothelial microvascular and autonomic functions variables using Spearman's rank correlation test. Subgroup analysis was pre-specified in individuals with diabetes, overweight/obesity, metabolic syndrome, and individuals free of cardiovascular risk factors. Sensitivity analysis was performed for individuals without prevalent CVD and for participants who were not using beta-adrenergic blockers, calcium-channel blockers and alpha-adrenergic agonists.

Results: We found weak correlations between basal pulse amplitude (BPA) and mean RR interval (0.064), RMSSD (0.067) and HF (-0.093), and between PAT-ratio and RMSSD (0.058) and HF (0.067). The observed correlations remained weak in subgroup and sensitivity analysis.

Conclusion: The association between endothelial function evaluated in the microvasculature and autonomic function assessed by HRV analysis is not relevant, suggesting that they may contribute in different pathways to the development of cardiovascular diseases.

Highlights

- Endothelial and autonomic dysfunctions are thought to be associated with the development of cardiovascular diseases.
- Endothelial function evaluated by peripheral arterial tonometry and autonomic function assessed by heart rate variability are not relevantly correlated in this large cohort of community-dwelling adults.
- The observed correlations remained weak even after performing a comprehensive subgroup and sensitivity analysis.

Introduction

Endothelial dysfunction reflects early vascular damage when the process of atherosclerosis is still potentially reversible¹, and is characterized by decreased nitric oxide bioavailability, resulting in a phenotype prone to inflammation, constriction and thrombosis.¹⁻³ Peripheral arterial tonometry (PAT) is an established method to assess endothelial function.¹ PAT measures the response to reactive hyperemia in the microvasculature of the digits, has good reproducibility and is easier to implement in clinical practice.^{2,4} An impaired PAT response correlates with a greater burden of cardiovascular risk factors, particularly metabolically,^{3,5,6} and predicts cardiovascular events.^{7,8}

The autonomic nervous system is the primary modulator of heart rate in response to a complex signaling system. Heart rate variability (HRV) is characterized by periodic and non-periodic oscillations of heart beats, which can be detected by changes in the length of R-R intervals in the electrocardiogram.⁹ HRV is thought to be the result of adaptive changes in heart rate caused by sympathetic and parasympathetic nervous system, with the purpose to buffer blood pressure. Therefore, HRV is a recognized tool to assess the autonomic nervous system influence on the cardiovascular system, traditionally through linear analyses carried out in the time and frequency domains. A decreased HRV can occur in the presence of elevated sympathetic modulation and is a predictor of morbidity and mortality in various clinical scenarios, such as known cardiovascular or coronary heart disease^{10,11}, heart failure, diabetes¹², arrhythmias and sudden death^{13,14}.

Endothelial and autonomic dysfunctions frequently coexist in the development of

cardiovascular diseases and its risk factors^{15,16}, suggesting the existence of complex interaction between them. However, the association between autonomic and microvascular endothelial function measured by peripheral arterial tonometry has been little explored. The aim of this study was to investigate the relationship between microvascular endothelial and autonomic functions in a large sample of community-dwelling individuals from the ELSA-Brasil Cohort Study.

Participants and Methods

This study is embedded within 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 (CVDs) and diabetes.¹⁷ Eligibility criteria included active or retired employees of 5 universities and one research center, aged 35 to 74 years, who volunteered to participate. Exclusion criteria were: pregnancy, intention to quit work at the institution in the near future, severe cognitive or communication impairment and, if retired, residence outside the center's corresponding metropolitan area. The current study sample is derived from the Minas Gerais Investigation Center, where PAT data acquisition began partway through the baseline visit (2008–2010), and 1,535 participants had valid data.³ All participants undertook HRV measures,¹⁸ and we excluded participants due to invalid HRV measures (n=60), use of antiarrhythmic drugs (n=3), and tricyclic and tetracyclic antidepressants (n=25). Our sample size consisted of 1,447 participants. The Universidade Federal de Minas Gerais Ethics Committee approved the study and all participants provided written informed consent.

Microvascular endothelial function was assessed using EndoPAT2000 (Itamar Medical, Israel) and the full protocol has been described elsewhere.^{3,4} Reproducibility of PAT is comparable to other non-invasive methods for endothelial function assessment.^{3,4} BPA reflects the basal vascular tone and PAT ratio measures the vascular response to reactive hyperemia.^{2,3} Higher BPA and lower PAT ratio are related to vascular disease phenotypes.^{3,5,8}

Participants also underwent autonomic function assessment through a continuous (10 min) digital electrocardiographic recording (Micromed, Brazil). Tracings were obtained with 250 Hz sampling rate and in physiologically stable

conditions, i.e. at supine position under spontaneous respiration in a quiet and temperature controlled room (22–24 °C).^{9,18} Dedicated software (Micromed Wincardio 4.4a, Brazil) generated the series of R–R intervals from the selected ECG lead with the highest R wave amplitude (usually lead II). The R–R series were automatically pre-processed aiming to remove ectopic beats and artefacts and linear interpolation was used to replace removed beats. HRV analyses were carried out in the time and frequency domains. Time domain analyses included the mean and variance of all normal-to-normal intervals (NN); the standard deviation of all NN intervals (SDNN); square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent NN intervals (RMSSD).⁹ Power spectral analysis included low frequency (LF, 0.04–0.15 Hz), and high frequency (HF, 0.15–0.40 Hz) bands and were estimated and expressed in absolute values.⁹

Data collection of covariates included questionnaires for medical history and socioeconomic factors. Race and current smoking were self-reported. Anthropometric and laboratory measurements were made as previously described.¹⁹ The following definitions were used: diabetes (fasting glucose ≥ 126 mg/dL, glucose after a tolerance test ≥ 200 mg/dL, hemoglobin A1c $\geq 6.5\%$, and self-reported diabetes or treatment with insulin or a hypoglycemic agent); hypertension (systolic blood pressure [SBP] ≥ 140 mmHg, diastolic blood pressure [DBP] ≥ 90 mm Hg, or use of hypertensive treatment); prevalent CVD (self-reported coronary artery disease, heart failure, or stroke); metabolic syndrome (NCEP-ATP III definition, present if three or more of the five criteria are met: abdominal obesity, blood pressure over 130/85 mmHg, fasting triglyceride level >150 mg/dl, fasting high-density lipoprotein cholesterol level <40 mg/dl in men or <50 mg/dl in women and fasting blood glucose >100 mg/dl). Otherwise healthy individuals were defined in the absence of prevalent cardiovascular disease or risk factor.

Statistical analyses

Characteristics of the study population are presented as unadjusted means with standard deviations or medians with interquartile ranges for continuous variables, and as absolute numbers and percentages for categorical variables. To investigate the association between endothelial microvascular (PAT ratio and

BPA) and autonomic functions (mean RR interval, SDNN, RMSSD, LF and HF), pairwise correlation was assessed using Spearman's rank correlation test. Subgroup analysis was planned in individuals with diabetes, overweight and obese, metabolic syndrome and individuals free of cardiovascular risk factors. Sensitivity analysis was performed for individuals without prevalent CVD and for participants who were not using beta-adrenergic blockers, calcium-channel blockers or alfa-adrenergic agonists medications. All analyses were performed using SPSS 20 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Two-sided $P < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

Table 1 demonstrates the characteristics of the study population (1447 participants). The mean age was 52 ± 9 years, 56% were men and 49.7% were white. There were high proportions of sedentary and highly educated participants, the latter reflecting the work-based origin of the sample. Overall, there was a high prevalence of diabetes and metabolic syndrome. **Table 2** shows the associations between endothelial microvascular function and HRV measurements. We found that, although statistically significant, there was a very weak correlation between BPA and mean RR interval (0.064), RMSSD (0.067) and HF (-0.093). Same results were observed between PAT-ratio and RMSSD (0.058) and HF (0.067). After performing subgroup and sensitivity analysis the correlations found were similar, with persistently weak correlations.

Discussion

In this large population-based sample of individuals, we found that BPA and PAT-ratio are weakly correlated with some HRV variables. Although statistically significant, these associations are probably not clinically relevant.

Endothelial and autonomic dysfunctions are traditionally thought to be associated with the development of cardiovascular diseases, and a common pathway for both dysfunctions has been described.¹⁵ Microvascular bed is richly supplied by sympathetic and parasympathetic nervous fibers. Adrenergic fibers innervate muscular layers, while cholinergic fibers are found in both muscular layers and endothelium, playing a critical role in regulating the vascular tone. Autonomic

nervous system imbalances could, therefore, affect the vascular bed function and integrity, and, as such, be the potential link between the autonomic and endothelial dysfunctions. Preliminary studies support this hypothesis by showing an inverse correlation of sympathetic activity markers and endothelial function measures, including studies using PAT.^{15,16} However, there are important limitations in interpreting the results mentioned, such as diverse and not standardized protocols for endothelial and autonomic function assessments and small sample sizes.

The findings of this study contradict the hypothesis that there is an association between microvascular endothelial function and autonomic function. Limitations should also be recognized: although PAT and HRV are considered established methods for endothelial and autonomic functions evaluation, other methods may provide different insights for the complex functions of these systems. On the other hand, the strengths of our study include a large sample size community-based cohort (ELSA-Brasil), the use of widely standardized methods and a comprehensive analysis of covariates.

Conclusion

There is no relevant association between endothelial function evaluated in the microvasculature and autonomic function assessed by heart rate variability in this cohort of community-dwelling adults. The findings suggest that these mechanisms are involved in different pathways in the development of cardiovascular diseases.

References

1. Flammer, A. J. *et al.* The assessment of endothelial function. *Circulation* **126**, 753–767 (2012).
2. Hamburg, N. M. & Benjamin, E. J. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. *Trends Cardiovasc. Med.* **19**, 6–11 (2009).
3. Brant, L. C., Hamburg, N. M., Barreto, S. M., Benjamin, E. J. & Ribeiro, A. L. Relations of Digital Vascular Function, Cardiovascular Risk Factors, and Arterial Stiffness: The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) Cohort Study. *J. Am. Heart Assoc.* **3**, e001279 (2014).
4. Brant, L. C., Barreto, S. M., Passos, V. M. & Ribeiro, A. L. Reproducibility of peripheral arterial tonometry for the assessment of endothelial function in adults. *J. Hypertens.* **31**, 1984–1990 (2013).
5. Hamburg, N. M. *et al.* Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* **117**, 2467–2474 (2008).
6. Brant, L. C. *et al.* Relations of Metabolically Healthy and Unhealthy Obesity to Digital Vascular Function in Three Community-Based Cohorts: A Meta-Analysis. *J. Am. Heart Assoc.* **6**, e004199 (2017).
7. Rubinshtein, R. *et al.* Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur. Heart J.* **31**, 1142–1148 (2010).
8. Matsuzawa, Y. *et al.* Peripheral endothelial function and cardiovascular events in high-risk patients. *J. Am. Heart Assoc.* **2**, e000426 (2013).
9. Task Force. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* **93**, 1043–1065 (1996).
10. Hillebrand, S. *et al.* Heart rate variability and first cardiovascular event in

populations without known cardiovascular disease: meta-analysis and dose-response meta-regression. *Europace* **15**, 742–749 (2013).

11. Buccelletti, E. *et al.* Heart rate variability and myocardial infarction: systematic literature review and metanalysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **13**, 299–307 (2009).

12. May, O. & Arildsen, H. Long-term predictive power of heart rate variability on all-cause mortality in the diabetic population. *Acta Diabetol.* **48**, 55–59 (2011).

13. Fauchier, L., Babuty, D., Cosnay, P. & Fauchier, J. P. Prognostic value of heart rate variability for sudden death and major arrhythmic events in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.* **33**, 1203–1207 (1999).

14. La Rovere, M. T. *et al.* Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. *Circulation* **107**, 565–570 (2003).

15. Amiya, E., Watanabe, M. & Komuro, I. The relationship between vascular function and the autonomic nervous system. *Ann. Vasc. Dis.* **7**, 109 (2014).

16. Hamada, S. *et al.* Assessment of vascular autonomic function using peripheral arterial tonometry. *Heart Vessels* **32**, 260–268 (2017).

17. Schmidt, M. I. *et al.* Cohort profile: longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil). *Int. J. Epidemiol.* dyu027 (2014).

18. Mill, J. G. *et al.* Medical assessments and measurements in ELSA-Brasil. *Rev. Saúde Pública* **47**, 54–62 (2013).

19. Aquino, E. M. *et al.* Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil): objectives and design. *Am. J. Epidemiol.* **175**, 315–324 (2012).

Table 1. Characteristics of participants (n=1447).

Characteristic	
Men	809 (55.9)
Age (years)	51.9 (8.5)
Education level	
Undergraduate school or higher	921 (63.6)
High school	404 (27.9)
Elementary school	68 (4.7)
Incomplete elementary school	54 (3.7)
Race	
Black	175 (12.3)
Brown	490 (33.9)
White	719 (49.7)
Yellow	35 (2.4)
Native Brazilians	7 (0.5)
Net family per capita income (US\$)*	442.07 (265.23 – 746.64)
Smoking	
Never	846 (58.5)
Former	430 (29.7)
Current	171 (11.8)
Physical activity	
Weak	1059 (73.2)
Moderate	271 (18.7)
Intense	117 (8.1)
Body Mass Index (kg/m ²)	27.0 (4.6)
Arterial hypertension	550 (38.0)
Diabetes mellitus	229 (15.8)
Total/HDL-Cholesterol	4.1 (1.0)
Metabolic Syndrome	499 (34.5)
Prevalent Cardiovascular Disease	133 (9.2)
Use of beta-adrenergic blockers	124 (8.6)

Use of calcium-channel blockers	
Dihydropyridine	62 (4.3)
Non-dihydropyridine	8 (0.6)
Use of alpha-adrenergic agonists	16 (1.1)
<i>Endothelial function measurements</i>	
Mean baseline pulse amplitude	6.01 (0.83)
PAT-ratio	0.49 (0.37)
<i>Heart rate variability measurements</i>	
Mean RR interval	907.20 (122.08)
SDNN (ms)	39.17 (16.19)
RMSSD (ms)*	28.10 (17.08- 35.54)
LF (ms ²)*	233.75 (103.27- 486.51)
HF (ms ²)*	203.72 (91.88- 448.42)

Values are means (standard deviation) for continuous variables and number (percentages) for dichotomous variables. *Median (interquartile range). HF: power in high frequency range, LF: power in low frequency range, RMSSD: square root of the mean squared differences of successive NN intervals, SDNN: standard deviation of the NN interval, US\$: United States dollar.

Table 2. Association between endothelial function and autonomic function.

	Mean RR Interval	SDNN	RMSSD	LF	HF
Spearman's Correlation Coefficients					
BPA	0.064	-0.027	-0.067	0.017	-0.093
PAT-ratio	0.007	0.021	0.058	0.008	0.067

BPA: mean baseline pulse amplitude, HF: power in high frequency range, LF: power in low frequency range, PAT: peripheral arterial tonometry, RMSSD: square root of the mean squared differences of successive NN intervals, SDNN: standard deviation of the NN interval. **Bold** numbers: P<0.05

6.2- Características da População do Estudo

A população do estudo é composta por 1447 participantes da coorte ELSA-Brasil, selecionada conforme critérios de elegibilidade e exclusão explicitados no item 5.2. Suas características estão sumariadas na tabela 1 do artigo de resultados (**Table 1**). A idade média foi de 52 ± 9 anos, com 55,9% dos participantes do sexo masculino e com 49,7% de raça branca. Há uma alta proporção de indivíduos com ensino superior completo ou pós-graduação (63,6%), refletindo o tipo de trabalho da amostra (servidores de universidades públicas). Há ainda uma alta prevalência de sedentarismo (73,2%), sobrepeso (IMC médio de 27Kg/m^2), diabetes mellitus (15,8%) e síndrome metabólica (34,5%). Os tabagistas ativos representam 11,8%, os hipertensos 38%, e aqueles com prevalência de doença cardiovascular, 9,2% da amostra.

6.3- Análise Univariada

A tabela 2 do artigo de resultados (**Table 2**) evidencia a correlação entre as variáveis de função endotelial microvascular e variabilidade da frequência cardíaca. Embora estatisticamente significativa, foi encontrada uma correlação muito fraca entre a AMB e intervalo RR médio (0,064), RMSSD (0,067) e HF (-0,093). Resultados semelhantes foram observados entre PAT-ratio, RMSSD (0,058) e HF (0,067).

Devido aos resultados negativos obtidos durante a análise univariada, optou-se por não realizar análise multivariadas subsequentes.

6.4- Análise de subgrupos

As **Tabelas 3, 4, 5 e 6** demonstram as correlações observadas entre as funções endotelial e autonômica nos subgrupos previamente especificados no item 5.5.4. De maneira geral, quando encontradas e estatisticamente significativas, as correlações entre as variáveis de PAT e de VFC permaneceram muito fracas.

6.4.1- Participantes sem fatores de risco cardiovascular ou DCV prevalente

Participantes sem nenhum fator de risco cardiovascular clássico ou doença cardiovascular prevalente, sendo considerados “saudáveis”, contabilizavam 1191 indivíduos (82,3%). Foi encontrada uma correlação muito fraca entre a AMB, RMSSD (-0,061) e HF (-0,080).

6.4.2- Participantes com diabetes mellitus

Os diabéticos contabilizavam 229 participantes (15,8%). Foi encontrada uma correlação muito fraca entre a PAT-ratio, intervalo RR médio (0,142) e RMSSD (0,133).

6.4.3- Participantes com sobrepeso ou obesidade

Os participantes com sobrepeso ou obesidade contabilizavam 907 participantes (62,7%). Observaram-se correlações muito fracas entre a AMB e Intervalo RR médio (0,097), além de PAT ratio e HF (0,073).

6.4.4- Participantes com Síndrome Metabólica

Os portadores de síndrome metabólica contabilizaram 499 participantes (34,5%). Não foram encontradas correlações entre as variáveis PAT e de VFC.

Tabela 3. Correlação entre função endotelial e função autonômica em indivíduos sem fatores de risco cardiovascular clássicos ou DVC prevalente (n=1191).

	Intervalo RR médio	SDNN	RMSSD	LF	HF
Coeficientes de Correlação de Spearman					
AMB	0.044	-0.017	-0.061	0.035	-0.080
PAT-ratio	0.008	0.014	0.041	-0.002	0.048

AMB: amplitude média do pulso basal, PAT: tonometria arterial periférica, SDNN: desvio padrão dos intervalos NN, RMSSD: raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais, LF: componente de baixa frequência, HF: componente de alta frequência. Números em **negrito**: $p \leq 0,05$.

Tabela 4. Correlação entre função endotelial e função autonômica em participantes com diabetes mellitus (n=229).

	Intervalo	SDNN	RMSSD	LF	HF
	RR médio				
	Coeficientes de Correlação de Spearman				
AMB	-0.035	0.019	0.012	0.089	0.003
PAT-ratio	0.142	0.125	0.133	0.038	0.116

AMB: amplitude média do pulso basal, PAT: tonometria arterial periférica, SDNN: desvio padrão dos intervalos NN, RMSSD: raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais, LF: componente de baixa frequência, HF: componente de alta frequência. Números em **negrito**: $p \leq 0,05$.

Tabela 5. Correlação entre função endotelial e função autonômica em participantes com sobrepeso ou obesidade (n=907).

	Intervalo	SDNN	RMSSD	LF	HF
	RR médio				
	Coeficientes de Correlação de Spearman				
AMB	0.097	0.004	-0.025	0.044	-0.054
PAT-ratio	-0.010	0.022	0.056	0.019	0.073

AMB: amplitude média do pulso basal, PAT: tonometria arterial periférica, SDNN: desvio padrão dos intervalos NN, RMSSD: raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais, LF: componente de baixa frequência, HF: componente de alta frequência. Números em **negrito**: $p \leq 0,05$.

Tabela 6. Correlação entre função endotelial e função autonômica em participantes com síndrome metabólica (n=499).

	Intervalo	SDNN	RMSSD	LF	HF
	RR médio				
	Coeficientes de Correlação de Spearman				
AMB	0.060	0.013	-0.023	0.083	-0.038
PAT-ratio	0.012	0.008	0.039	-0.012	0.038

AMB: amplitude média do pulso basal, PAT: tonometria arterial periférica, SDNN: desvio padrão dos intervalos NN, RMSSD: raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais, LF: componente de baixa frequência, HF: componente de alta frequência. Números em **negrito**: $p \leq 0,05$.

6.5- Análise de sensibilidade

As **Tabela 7 e 8** demonstram as correlações observadas entre as funções endotelial e autonômica nos subgrupos previamente especificados no item 5.5.5. Quando presentes as correlações entre as variáveis de PAT e de VFC permaneceram fracas, demonstrando que o resultado final do estudo sofreu pouca influência pelas covariáveis analisadas.

6.5.1- Participantes sem Doença Cardiovascular Prevalente

Os participantes com dados referentes à presença de DCV prevalente totalizaram 1431 indivíduos (dados ausentes em 16).

Após exclusão dos indivíduos com DCV prevalente, permaneceram 1298 (90,7%). Foram encontradas correlações muito fracas entre a AMB, Intervalo RR médio (0,063), RMSSD (-0,076) e HF (-0,106). Resultados semelhantes foram observados entre PAT-ratio, RMSSD (0,064) e HF (0,072).

Nos 133 indivíduos com DCV prevalente (9,3%), por outro lado, não foram observadas correlações significativas.

6.5.2- Participantes sem o uso de betabloqueadores, de bloqueadores do canal de cálcio ou de alfa-agonistas adrenérgicos

Os indivíduos que não estavam em uso de betabloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio ou alfa-agonistas adrenérgicos contabilizaram 1257 participantes (86,9%). Foram encontradas correlações muito fracas entre a AMB, RMSSD (-0,078) e HF (-0,106). Resultado semelhante foi observado entre PAT-ratio e HF (0,063).

Nos 190 indivíduos em uso de betabloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio ou alfa-agonistas adrenérgicos (13,1%), por outro lado, foi encontrada correlação muito fraca entre AMB e o intervalo RR médio (0,158).

Tabela 7. Correlação entre função endotelial e função autonômica conforme a presença de DCV prevalente (n=1431).

	Intervalo	SDNN	RMSSD	LF	HF
RR médio					
Coeficientes de Correlação de Spearman					
Pacientes sem DCV prevalente (n=1298)					
AMB	0.063	-0.025	-0.076	0.014	-0.106
PAT-ratio	0.010	0.015	0.064	0.004	0.072
Pacientes com DCV prevalente (n= 133)					
AMB	0.014	-0.060	-0.024	0.049	0.002
PAT-ratio	0.077	0.052	0.023	-0.011	0.035

AMB: amplitude media do pulso basal, PAT: tonometria arterial periférica, SDNN: desvio padrão dos intervalos NN, RMSSD: raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais, LF: componente de baixa frequência, HF: componente de alta frequência. Números em **negrito**: $p \leq 0,05$.

Tabela 8. Correlação entre função endotelial e função autonômica conforme o uso de betabloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio ou alfa-agonistas adrenérgicos (n=1447).

	Intervalo	SDNN	RMSSD	LF	HF
RR médio					
Coeficientes de Correlação de Spearman					
Não uso (n= 1257)					
AMB	0.039	-0.025	-0.078	0.023	-0.106
PAT-ratio	0.017	0.015	0.054	-0.002	0.063
Uso (n=190)					
AMB	0.158	0.011	0.018	0.060	0.015
PAT-ratio	0.025	0.030	0.079	-0.014	0.095

AMB: amplitude média do pulso basal, PAT: tonometria arterial periférica, SDNN: desvio padrão dos intervalos NN, RMSSD: raiz quadrada do quadrado médio das diferenças sucessivas dos intervalos RR normais, LF: componente de baixa frequência, HF: componente de alta frequência. Números em **negrito**: $p \leq 0,05$.

7- CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, realizado em grande amostra de indivíduos da coorte multicêntrica ELSA-Brasil, identificou-se uma fraca correlação entre a função endotelial microvascular, medida pela tonometria arterial periférica (PAT), e a função autonômica, mensurada pelos índices de variabilidade da frequência cardíaca (VFC). Embora estatisticamente significativa, tal associação é provavelmente isenta de significância biológica.

As disfunções endotelial e autonômica são tradicionalmente descritas como associadas no desenvolvimento das doenças cardiovasculares, e muitos atribuem a ambas uma via fisiopatológica comum (AMIYA e colab., 2014). Essa hipótese encontra apoio no fato de que o leito microvascular é ricamente suprido por terminações nervosas simpáticas e parassimpáticas. Fibras adrenérgicas inervam as camadas musculares, enquanto as colinérgicas são encontradas tanto nas camadas musculares, quanto no endotélio, cumprindo o sistema nervoso autônomo um papel crítico no controle do tônus microvascular. A disfunção autonômica poderia, portanto, afetar a função do leito microvascular e sua integridade, sendo esse o potencial elo entre os dois sistemas.

Estudos preliminares suportam a hipótese de associação entre os dois sistemas no desenvolvimento das doenças cardiovasculares, investigados através de inúmeros métodos, incluindo a tonometria arterial periférica (AMIYA e colab., 2014; HAMADA e colab., 2017). Entretanto, conforme abordado no item 2.4, há importantes limitações na interpretação de seus resultados, como a utilização de diferentes metodologias de avaliação das funções endotelial e autonômica, além da ausência de estudos de base populacional, com ajustes abrangentes de covariáveis e análise de sensibilidade e subgrupo.

Através de estudo pioneiro, por exemplo, Hamada *et al.* (2017), em 65 indivíduos (incluindo participantes saudáveis, em uso de bloqueadores adrenérgicos e diabéticos), desenvolveram um índice derivado do método PAT, denominado *sympathetic hypoemia index* (SHI), correlacionado moderadamente com variações nos parâmetros de VFC e com a presença de diabetes mellitus. No entanto, o foco do presente estudo difere do anterior, na medida em que se busca investigar a associação entre a disfunção endotelial microvascular,

através dos amplamente estudados e utilizados índices de função endotelial derivados da PAT (AMB e PAT-ratio), e a disfunção autonômica, avaliada pelo estudo da VFC.

Os achados deste estudo contradizem, portanto, a hipótese de associação entre a função endotelial microvascular e a autonômica, avaliadas pela PAT e pela VFC, em grande amostra de indivíduos saudáveis, com fatores de risco cardiovascular e portadores de doenças cardiovasculares. Limitações devem ser consideradas: embora PAT e VFC sejam considerados métodos estabelecidos para avaliação das funções endotelial microvascular e autonômica, outros métodos podem prover informações adicionais sobre a interação entre estes complexos sistemas. Por outro lado, o presente estudo apresenta como pontos fortes a utilização de métodos amplamente padronizados em estudos epidemiológicos, além de utilizar dados de uma grande amostra proveniente da coorte ELSA-Brasil.

8- CONCLUSÃO

A associação entre a função endotelial avaliada no leito microvascular e a função autonômica analisada por intermédio da variabilidade da frequência cardíaca não é biologicamente relevante, sugerindo que possam existir vias fisiopatológicas diferentes e independentes no desenvolvimento das doenças cardiovasculares. Entretanto novos estudos são necessários para elucidar definitivamente esta questão, em particular ao utilizar diferentes métodos de avaliação de sistemas tão complexos e intrincados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIYAMA, Eiichi e colab. Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 60, n. 18, p. 1778–1786, 2012.

AMIYA, Eisuke e WATANABE, Masafumi e KOMURO, Issei. The relationship between vascular function and the autonomic nervous system. *Annals of Vascular Diseases*, v. 7, n. 2, p. 109, 2014.

ANDERSON, Todd J. e colab. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 26, n. 5, p. 1235–1241, 1995.

AQUINO, Estela ML e colab. Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil): objectives and design. *American Journal of Epidemiology*, v. 175, n. 4, p. 315–324, 2012.

BEVAN, John A. e BRAYDEN, Joseph E. Nonadrenergic neural vasodilator mechanisms. *Circulation Research*, v. 60, n. 3, p. 309–326, 1987.

BIGGER, J. Thomas e colab. Frequency domain measures of heart period variability to assess risk late after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 21, n. 3, p. 729–736, 1993.

BINKLEY, Philip F. e colab. A polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase promoter is associated with an increase in autonomic imbalance in patients with congestive heart failure. *American heart journal*, v. 149, n. 2, p. 342–348, 2005.

BONETTI, Piero O. e colab. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 44, n. 11, p. 2137–2141, 2004.

BRANT, Luisa Campos Caldeira. Reprodutibilidade da tonometria arterial periférica para avaliação da função endotelial em adultos. 2011. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUOS-8RGH8Z>>. Acesso em: 7 nov 2016.

BRANT, Luisa CC e colab. Relations of Digital Vascular Function, Cardiovascular Risk Factors, and Arterial Stiffness: The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) Cohort Study. *Journal of the American Heart Association*, v. 3, n. 6, p. e001279, 2014.

BRANT, Luisa CC e colab. Relations of Metabolically Healthy and Unhealthy Obesity to Digital Vascular Function in Three Community-Based Cohorts: A Meta-Analysis. *Journal of the American Heart Association*, v. 6, n. 3, p. e004199, 2017.

BRUYNDONCKX, Luc e colab. Methodological considerations and practical

recommendations for the application of peripheral arterial tonometry in children and adolescents. *International journal of cardiology*, v. 168, n. 4, p. 3183–3190, 2013.

BUCCELLETTI, E. e colab. Heart rate variability and myocardial infarction: systematic literature review and metanalysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, v. 13, n. 4, p. 299–307, 2009.

CARNEY, Robert M. e colab. Depression, heart rate variability, and acute myocardial infarction. *Circulation*, v. 104, n. 17, p. 2024–2028, 2001.

CELERMAJER, David S. e colab. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *The Lancet*, v. 340, n. 8828, p. 1111–1115, 1992.

CIEŚLIK-GUERRA, Urszula I. e colab. Correlation between the activity of the autonomic nervous system and endothelial function in patients with acute coronary syndrome. *Pol Arch Med Wewn*, v. 124, p. 509–515, 2014.

CORRETTI, Mary C. e colab. 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. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 39, n. 2, p. 257–265, 2002.

DANTAS, Eduardo Miranda e colab. Comparison between symbolic and spectral analyses of short-term heart rate variability in a subsample of the ELSA-Brasil study. *Physiological measurement*, v. 36, n. 10, p. 2119, 2015.

DEKKER, Jacqueline M. e colab. Low heart rate variability in a 2-minute rhythm strip predicts risk of coronary heart disease and mortality from several causes The ARIC Study. *Circulation*, v. 102, n. 11, p. 1239–1244, 2000.

DHINDSA, Mandeep e colab. Interrelationships among noninvasive measures of postischemic macro-and microvascular reactivity. *Journal of Applied Physiology*, v. 105, n. 2, p. 427–432, 2008.

ERDOGAN, Ali e colab. Prognostic value of heart rate variability after acute myocardial infarction in the era of immediate reperfusion. *Herzschrittmachertherapie & Elektrophysiologie*, v. 19, n. 4, p. 161–168, 2008.

FAUCHIER, Laurent e colab. Heart rate variability in idiopathic dilated cardiomyopathy: characteristics and prognostic value. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 30, n. 4, p. 1009–1014, 1997.

FAUCHIER, Laurent e colab. Prognostic value of heart rate variability for sudden death and major arrhythmic events in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 33, n. 5, p. 1203–1207, 1999.

FEDELI, Ligia G. e colab. Logística de coleta e transporte de material biológico e organização do laboratório central no ELSA-Brasil. *Revista de Saúde Pública*,

v. 47, p. 63–71, 2013.

FLAMMER, Andreas J. e colab. The assessment of endothelial function. *Circulation*, v. 126, n. 6, p. 753–767, 2012.

FURCHGOTT, Robert F. e ZAWADZKI, John V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, v. 288, n. 5789, p. 373–376, 1980.

GAMBOA, Alfredo e colab. Autonomic Blockade Reverses Endothelial Dysfunction in Obesity-Associated Hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, v. 68, n. 4, p. 1004–1010, Out 2016.

GAMBOA, Alfredo e colab. Sympathetic activation and nitric oxide function in early hypertension. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v. 302, n. 7, p. H1438–H1443, 2012.

GRASSI, Guido. Assessment of sympathetic cardiovascular drive in human hypertension achievements and perspectives. *Hypertension*, v. 54, n. 4, p. 690–697, 2009.

GRUNDY, Scott M. e colab. Definition of metabolic syndrome. *Circulation*, v. 109, n. 3, p. 433–438, 2004.

HALLAL, Pedro Curi e VICTORA, Cesar Gomes. Reliability and validity of the international physical activity questionnaire (IPAQ). *Medicine and science in sports and exercise*, v. 36, n. 3, p. 556–556, 2004.

HAMADA, Satomi e colab. Assessment of vascular autonomic function using peripheral arterial tonometry. *Heart and vessels*, v. 32, n. 3, p. 260–268, 2017.

HAMBURG, Naomi M. e colab. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*, v. 117, n. 19, p. 2467–2474, 2008.

HAMBURG, Naomi M. e colab. Relation of brachial and digital measures of vascular function in the community the Framingham Heart Study. *Hypertension*, v. 57, n. 3, p. 390–396, 2011.

HAMBURG, Naomi M. e BENJAMIN, Emelia J. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. *Trends in cardiovascular medicine*, v. 19, n. 1, p. 6–11, 2009.

HILL, LaBarron K. e colab. Ethnic differences in resting heart rate variability: a systematic review and meta-analysis. *Psychosomatic medicine*, v. 77, n. 1, p. 16, 2015.

HILLEBRAND, Stefanie e colab. Heart rate variability and first cardiovascular event in populations without known cardiovascular disease: meta-analysis and dose–response meta-regression. *Europace*, v. 15, n. 5, p. 742–749, 2013.

JANSZKY, I. e colab. Heart rate variability in long-term risk assessment in middle-aged women with coronary heart disease: The Stockholm Female Coronary Risk Study. *Journal of Internal Medicine*, v. 255, n. 1, p. 13–21, 2004.

JOANNIDES, Robinson e colab. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*, v. 91, n. 5, p. 1314–1319, 1995.

KAMATH, Markad V. e WATANABE, Mari e UPTON, Adrian. Heart rate variability (HRV) signal analysis: clinical applications. [S.l.]: CRC Press, 2012.

KAPLON, Rachele E. e WALKER, Ashley E. e SEALS, Douglas R. Plasma norepinephrine is an independent predictor of vascular endothelial function with aging in healthy women. *Journal of Applied Physiology*, v. 111, n. 5, p. 1416–1421, 2011.

KEMP, Andrew H. e colab. Race and resting-state heart rate variability in Brazilian civil servants and the mediating effects of discrimination: an ELSA-Brasil cohort study. *Psychosomatic medicine*, v. 78, n. 8, p. 950–958, 2016.

KINGWELL, Bronwyn A. e colab. Heart rate spectral analysis, cardiac norepinephrine spillover, and muscle sympathetic nerve activity during human sympathetic nervous activation and failure. *Circulation*, v. 90, n. 1, p. 234–240, 1994.

KLEIGER, Robert E. e colab. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. *The American Journal of Cardiology*, v. 59, n. 4, p. 256–262, 1987.

KOTECHA, Dipak e colab. Five-minute heart rate variability can predict obstructive angiographic coronary disease. *Heart*, v. 98, n. 5, p. 395–401, 2012.

KUVIN, Jeffrey T. e colab. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *American Heart Journal*, v. 146, n. 1, p. 168–174, 2003.

LA ROVERE, Maria Teresa e colab. Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. *Circulation*, v. 107, n. 4, p. 565–570, 2003.

LERMAN, Amir e ZEHER, Andreas M. Endothelial function cardiac events. *Circulation*, v. 111, n. 3, p. 363–368, 2005.

LIBBY, Peter e RIDKER, Paul M. e MASERI, Attilio. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, v. 105, n. 9, p. 1135–1143, 2002.

LICHTMAN, Judith H. e colab. Depression and coronary heart disease: recommendations for screening, referral, and treatment: a science advisory from the American Heart Association Prevention Committee of the Council on Cardiovascular Nursing, Council on Clinical Cardiology, Council on Epidemiology and Prevention, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes

Research: endorsed by the American Psychiatric Association. *Circulation*, v. 118, n. 17, p. 1768–1775, 2008.

LUDMER, Paul L. e colab. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *New England Journal of Medicine*, v. 315, n. 17, p. 1046–1051, 1986.

MÄKIKALLIO, Timo H. e colab. Fractal analysis and time-and frequency-domain measures of heart rate variability as predictors of mortality in patients with heart failure. *The American Journal of Cardiology*, v. 87, n. 2, p. 178–182, 2001.

MATSUZAWA, Yasushi e colab. Peripheral endothelial function and cardiovascular events in high-risk patients. *Journal of the American Heart Association*, v. 2, n. 6, p. e000426, 2013.

MATSUZAWA, Yasushi e colab. Prognostic value of flow-mediated vasodilation in brachial artery and fingertip artery for cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Heart Association*, v. 4, n. 11, p. e002270, 2015.

MILL, Jose Geraldo e colab. Medical assessments and measurements in ELSA-Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 47, p. 54–62, 2013.

MORRIS, Alanna A. e colab. Racial differences in arterial stiffness and microcirculatory function between Black and White Americans. *Journal of the American Heart Association*, v. 2, n. 2, p. e002154, 2013.

NOHRIA, Anju e colab. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *Journal of Applied Physiology*, v. 101, n. 2, p. 545–548, 2006.

NOLAN, James e colab. Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure results of the United Kingdom heart failure evaluation and assessment of risk trial (UK-Heart). *Circulation*, v. 98, n. 15, p. 1510–1516, 1998.

PAGANI, Massimo e colab. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circulation Research*, v. 59, n. 2, p. 178–193, 1986.

POMERANZ, Bruce e colab. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, v. 248, n. 1, p. H151–H153, 1985.

PONIKOWSKI, Piotr e colab. Depressed heart rate variability as an independent predictor of death in chronic congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *The American Journal of Cardiology*, v. 79, n. 12, p. 1645–1650, 1997.

RIBEIRO, Antonio Luiz P. e colab. Cardiovascular Health in Brazil. *Circulation*, v. 133, n. 4, p. 422–433, 2016.

ROSS, Russell. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England Journal of Medicine*, v. 340, n. 2, p. 115–126, 1999.

RUBINSHTEIN, Ronen e colab. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *European Heart Journal*, v. 31, n. 9, p. 1142–1148, 2010.

SCHMIDT, Maria Inês e colab. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *The Lancet*, v. 377, n. 9781, p. 1949–1961, 2011.

SCHMIDT, Maria Inês e colab. Cohort profile: longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil). *International journal of epidemiology*, p. dyu027, 2014.

SCHNABEL, Renate B. e colab. Non-invasive vascular function measurement in the community: cross-sectional relations and comparison of methods. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, p. CIRCIMAGING–110, 2011.

SHAH, Sidharth A. e colab. Relation of short-term heart rate variability to incident heart failure (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *The American Journal of Cardiology*, v. 112, n. 4, p. 533–540, 2013.

SIAB - DATASUS. Disponível em: <<http://datasus.saude.gov.br/sistemas-e-aplicativos/epidemiologicos/siab>>. Acesso em: 31 out 2016.

STEIN, Phyllis K. e colab. Including patients with diabetes mellitus or coronary artery bypass grafting decreases the association between heart rate variability and mortality after myocardial infarction. *American Heart Journal*, v. 147, n. 2, p. 309–316, 2004.

STEIN, Phyllis K. e colab. Novel measures of heart rate variability predict cardiovascular mortality in older adults independent of traditional cardiovascular risk factors: the Cardiovascular Health Study (CHS). *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, v. 19, n. 11, p. 1169–1174, 2008.

SVERRISDÓTTIR, Yrsa Bergmann e colab. Muscle sympathetic nerve activity is related to a surrogate marker of endothelial function in healthy individuals. *PLoS One*, v. 5, n. 2, p. e9257, 2010.

SZABÓ, Balázs M. e colab. Prognostic value of heart rate variability in chronic congestive heart failure secondary to idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy. *The American Journal of Cardiology*, v. 79, n. 7, p. 978–980, 1997.

TASK FORCE. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, v. 93, n. 5, p. 1043–1065, 1996.

THAYER, Julian F. e YAMAMOTO, Shelby S. e BROSSCHOT, Jos F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *International journal of cardiology*, v. 141, n. 2, p. 122–131,

2010.

TIFTIKCIOGLU, Bedile Irem e colab. Autonomic neuropathy and endothelial dysfunction in patients with impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus. *Medicine*, v. 95, n. 14, 2016.

TODA, Noboru e OKAMURA, Tomio. The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels. *Pharmacological Reviews*, v. 55, n. 2, p. 271–324, 2003.

TRUCCOLO, Adriana Barni e colab. Association between endothelial function and autonomic modulation in patients with Chagas disease. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 100, n. 2, p. 135–140, 2013.

VAN RAVENSWAAIJ-ARTS, Conny MA e colab. Heart rate variability. *Annals of internal medicine*, v. 118, n. 6, p. 436–447, 1993.

WANG, Haidong e colab. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, v. 388, n. 10053, p. 1459–1544, 2016.

WATANABE, Shogo e colab. Simultaneous heart rate variability monitoring enhances the predictive value of flow-mediated dilation in ischemic heart disease. *Circulation Journal*, v. 77, n. 4, p. 1018–1025, 2013.

WHANG, William e BIGGER, J. Thomas. Comparison of the prognostic value of RR-interval variability after acute myocardial infarction in patients with versus those without diabetes mellitus. *The American Journal of Cardiology*, v. 92, n. 3, p. 247–251, 2003.

YEBOAH, Joseph e colab. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*, v. 120, n. 6, p. 502–509, 2009.

YI, Gang e colab. Heart rate variability in idiopathic dilated cardiomyopathy: relation to disease severity and prognosis. *Heart*, v. 77, n. 2, p. 108–114, 1997.

**ANEXO A - Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG
(COEP/UFMG)**

FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

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

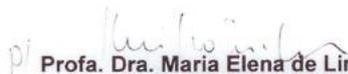
Parecer nº. ETIC 186/06

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.


Profa. 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)¹ 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

¹ 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).

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 sangue², 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 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

² 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.

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: _____