RAFAEL DE OLIVEIRA ALVIM

Herdabilidade da velocidade de onda de pulso e associação do controle glicêmico e perfil lipídico com a rigidez arterial em uma população brasileira: "*Projeto Corações de Baependi*"

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Dr. Alexandre da Costa Pereira

São Paulo
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Alvim, Rafael de Oliveira
Herdabilidade da velocidade de onda de pulso e associação do controle glicêmico e perfil lipídico com a rigidez arterial em uma população brasileira: "*Projeto Corações de Baependi*" / Rafael de Oliveira Alvim. -- São Paulo, 2016.
Tese (doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Cardiologia.
Orientador: Alexandre da Costa Pereira.

Descritores: 1.Rigidez Vascular 2.Glicemia3.Lipídios 4.Hereditariedade 5. Análise de Onda de Pulso 6.Estudos de coortes

USP/FM/DBD-069/16

Dedicatória

Primeiramente à Deus, que é a razão de tudo.

Aos meus pais, Roberto e Edina, e aos padrinhos, Renato e Maria José, por me apoiarem de forma incondicional em todas as etapas da minha vida.

Ao meu irmão, Vinícius, pelo companheirismo de sempre.

Aos meus avós paternos, Aparecida e José Maria, e maternos, Célia e Antônio, por serem os alicerces da minha família.

A todos os meus familiares por sempre me receberem com um abraço fraterno nos momentos mais difíceis.

Agradecimentos

Ao meu orientador Dr. Alexandre Pereira, pela oportunidade de fazer parte desse grupo vitorioso, pelos ensinamentos, e acima de tudo, por acreditar em meu potencial e ser fundamental no meu crescimento profissional. Muito obrigado Ale!!!!

Ao Prof. José Eduardo Krieger, pelos ensinamentos, e principalmente, por ser um exemplo de sucesso no gerenciamento de projetos de pesquisa.

Ao amigo Paulo Caleb, pela fidelidade durante todo esse tempo em que trabalhamos juntos e pelas relevantes contribuições para o desenvolvimento deste trabalho. Ah!!!! não poderia esquecer dos nossos cachorros-quentes do meio de semana!!! Obrigado por tudo Calebinho!!!

Ao amigo Carlos Alberto Mourão Júnior, pelas colaborações, discussões, ensinamentos, e por estar sempre disponível!!! Foi um prazer trabalhar com você!!!

Às amigas Lílian, Tâmara e Camila Maciel, que trabalharam comigo no Projeto Corações de Baependi, por fazerem parte do meu ciclo de amizade e por me apoiarem nos momentos mais difíceis dessa caminhada. Muito obrigado amigas!!!

À Pricila Mara, pelo carinho e apoio nessa reta final do meu trabalho de doutorado. Agradeço também pelas inúmeras "críticas" deferidas durante as breves revisões dos meus manuscritos. Obrigado Pri!!!

Aos meus amigos de hoje e sempre, Bruno Miranda, Eder Baiano, Rafael Miranda, Natan, Juninho, Jone Loures, Marcel, Luizir, Davi, Roberta, Rafael Assombroso, Bárbara, Aninha, Marcelo Coelho, Daniel Martinez, Gaby etc., pela fidelidade e amizade dispensadas durante todo esse período.

Aos meus colegas da FAEFID, em especial, aos integrantes do "Cachorrão Bolado".

Aos Colegas de laboratório, Noely, Alessandro Betito, Arruda, Maúde, Silvana, Renata Carmona,"Diogos", Gaby, Júlia, "Andrés" etc., pelo apoio incondicional a mim e ao projeto Corações de Baependi.

Aos colegas do Departamento de Fisiologia da UFJF, em especial, Carla Lanna, Ruben, Laura, Anaeli, Ana Eliza, Almir, Andrei e Rodrigo, pela oportunidade de vivenciar a docência e, por fim, acreditarem no meu trabalho.

Aos amigos de Baependi, Marli Alves, Jacyara, Roberto Sidinei, Célia Maura, Eder Musso, Maurília, Camila, Mariane, Murilo, Fernando, Cléia, Camilinha etc., pela recepção, amizade, carinho, e sobretudo, por me fazerem sentir um Baependiano.

Aos colegas de trabalho do Projeto Corações de Baependi, Letícia, Rerisson, Andréia, Ana Cláudia, Érika, Thalita, Taciana, Carol, Ulissiana, "Rafaelas", Beriana, Géssica, Beatriz, Emanuelle e outros, pelo trabalho incessante na coleta dos dados e por sempre acreditarem que daria certo.

Muito obrigado amigos!!!! Sem vocês não seria possível realizar esse sonho!!!

À cidade de Baependi, em especial, a todos os participantes do projeto. Ao Helder Vilela (secretário de saúde), ao Alessandro (coordenador do PSF), ao Juliano (motorista da prefeitura) e aos prefeitos municipais, Efrain Lemos e Marcelo do Engenho, pelo apoio incondicional ao Projeto Corações de Baependi.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo n° 2013/01677-4), Hospital Samaritano, Ministério da Saúde e ao PROADI SUS, por financiarem o Projeto Corações de Baependi.

Normatização

Esta tese está de acordo as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *InternationalCommitteeof Medical JournalsEditors*(Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F.Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ªed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *ListofJournalsIndexed inIndexMedicus.*

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS
LISTA DE FIGURAS
LISTA DE TABELAS
RESUMO
ABSTRACT

1.0 INTRODUÇÃO 2

1.1 Impacto das Doenças Cardiovasculares 2

1.2 Aspectos Fisiopatológicos da Rigidez Arterial 3

1.3 Determinantes da Rigidez Arterial 6

1.4 Perfil Lipídico e Rigidez Arterial 10

1.5 Controle Glicêmico e Rigidez Arterial 11

1.6 Herdabilidade da Velocidade de Onda de Pulso 13

1.7Justificativa 14

2.0 OBJETIVOS 17

3.0 MÉTODOS 19

3.1 População Estudada 19

3.1.1 Desenho do Estudo: "Projeto Corações de Baependi" 20

3.1.2 Área do Estudo e Distribuição da População 21

3.1.3 Seleção, Recrutamento e Convocação dos Participantes 22

3.2 Avaliação Clínica 23

3.2.1 Medida da Pressão Arterial 24

3.2.2 Medidas Antropométricas.....24

3.3 Mensuração do Perfil Lipídico e da HbA1c 25

3.4 Determinação da Velocidade de Onda de Pulso 26

3.5 Heredogramas.....27

3.6 Estimativa da Herdabilidade da Velocidade de Onda de Pulso.....28

3.7 Análise Estatística 29

4.0 RESULTADOS.....32

4.1 Herdabilidade da Velocidade de Onda de Pulso 32

4.2 Associação do Controle Glicêmico com o Fenótipo de Rigidez Arterial.....34

4.3 Associação do Perfil Lipídico com o Fenótipo de Rigidez Arterial 40

5.0 DISCUSSÃO.....46

5.1 Herdabilidade da Velocidade de Onda de Pulso 46

5.2 Associação do Controle Glicêmico com o Fenótipo de Rigidez Arterial 49

5.3 Associação do Perfil Lipídico com o Fenótipo de Rigidez Arterial 52

6.0 CONCLUSÃO 57

7.0 REFERÊNCIAS.....59

8.0 ANEXOS 73

8.1 Anexo 1 - Carta de aprovação do Projeto na CAPPesq 73

8.2 Anexo 2 - Artigo Publicado no *Diabetology & Metabolic Syndrome..*.....74

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	*American Diabetes Association*
AGE´s	Produtos de Glicação Avançada
CMLV	Célula Muscular Lisa Vascular
CT	Colesterol Total
DCV	Doenças Cardiovasculares
h^2	Herdabilidade
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICAM	Moléculas de Adesão Intercelular
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL-c	Lipoproteína de Baixa Densidade
MMP	Metaloproteinase de Matriz
NaCl	Cloreto de Sódio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PP	Pressão de Pulso
TGF-β	Fator de Crescimento Transformador Beta
VOP	Velocidade de Onda de Pulso

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho esquemático referente aos principais efetores do processo de rigidez arterial.....4

Figura 2 - Fluxograma dos indivíduos elegíveis no estudo.....19

Figura 3 - Localização do município de Baependi - MG. 21

Figura 4 - Posto de atendimento - *Projeto Corações de Baependi*. 23

Figura 5 - Coleta de sangue para os exames bioquímicos.....26

Figura 6 - Protocolo para mensuração da velocidade de onda de pulso. 27

Figura 7 - Heredograma de uma família selecionada (Família 30). 27

Figura 8 - Teste de tendência linear estratificado pelo tercil da idade. 37

Figura 9 - Área sob a curva ROC (AUC-ROC) - 2a (grupo não-diabético) e 2b (grupo diabético).....39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características gerais da população.....33

Tabela 2 - Parâmetros estimados para a VOP em famílias brasileiras 34

Tabela 3 - Características gerais estratificadas para rigidez arterial aumentada.....35

Tabela 4 - Matriz de correlação entre idade, IMC, glicemia de jejum, PAM, HbA1c e VOP. 36

Tabela 5 - Associação entre HbA1c e rigidez arterial aumentada avaliada pela análise de regressão logística uni e multivariada 38

Tabela 6 - Características gerais da população estratifica por gênero. 40

Tabela 7 - Matriz de correlação entre CT, HDL, Não-HDL, LDL, TG e VOP.....41

Tabela 8 - Modelo de regressão linear para valores da VOP estratificados por gênero e ajustado para idade e PAM.....43

Tabela 9 - Modelo de regressão linear para valores da VOP estratificados pela mediana da idade e ajustado para idade e PAM.. 44

RESUMO

ALVIM RO. *Herdabilidade da velocidade de onda de pulso e associação do controle glicêmico e perfil lipídico com a rigidez arterial em uma população brasileira: "Projeto Corações de Baependi"* [TESE]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUÇÃO:A rigidez arterial aumentada é um importante determinante do risco cardiovascular e um forte preditor de morbimortalidade. Além disso, estudos demonstram que o enrijecimento vascular pode estar associado a fatores genéticos e metabólicos. Portanto,os objetivos do presente estudo são determinar a herdabilidade da velocidade de onda de pulso (VOP) e avaliar a associação do perfil lipídico e do controle glicêmico com o fenótipo de rigidez arterial em uma população brasileira.MÉTODOS:Foram selecionados 1675 indivíduos (ambos os gêneros com idade entre 18 e 102 anos) distribuídos em 109 famílias residentes no município de Baependi-MG. A VOP carótida-femoral foi avaliada de forma não invasiva através de um dispositivo automático.As variáveis lipídicas e a glicemia de jejum foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico. Os níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) foram determinados pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência. As estimativas da herdabilidade da VOP foram calculadas utilizando-se a metodologia de componentes de variância implementadas no *software* SOLAR. RESULTADOS: A herdabilidade estimada para a VOP foi de 26%, sendo ajustada para idade, gênero, HbA1c e pressão arterial média. Os níveis de HbA1c foram associados a rigidez arterial, onde a elevação de uma unidade percentual da HbA1c representou um incremento de 54% na chance de risco para rigidez arterial aumentada. As variáveis lipídicas (LDL-c, HDL-c, colesterol não-

HDL-c, colesterol total e triglicérides) apresentaram fraca correlação com a VOP. Além disso, uma análise de regressão linear estratificada para idade (ponto de corte ≥ 45 anos) demonstrou uma relação inversa entre LDL-c e VOP em mulheres com idade ≥ 45 anos. CONCLUSÃO: Os resultados indicam que a VOP apresenta herdabilidade intermediária (26%); a HbA1c esta fortemente associada a rigidez arterial aumentada; o LDL-c é inversamente relacionado com a VOP em mulheres com idade ≥ 45 anos, possivelmente devido às alterações metabólicas associadas à falência ovariana.

Descritores: rigidez vascular; glicemia; lipídeos; hereditariedade; análise de onda de pulso; estudos de coortes.

ABSTRACT

ALVIM RO. *Heritability of pulse wave velocity and association of glycemic control and lipid profile with arterial stiffness in a Brazilian population: "Baependi Heart Study"* [THESIS]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUCTION: Increased central arterial stiffness is an important determinant of cardiovascular risk and a strong predictor of morbimortality. Moreover, studies showed that vascular stiffening can be associated with genetic and metabolic factors. Thus, the aims of this study are to estimate the heritability of pulse wave velocity (PWV) and to assess the association of lipid profile and glycemic control with arterial stiffness in a sample from the Brazilian population. METHODS: For this study, 1675 individuals (both genders aged from 18 to 102 years) were selected and they were distributed within 109 families residents in the municipality of Baependi - MG. The PWV was measured with a non-invasive automatic device. Lipid profile parameters and fasting glucose were determined by enzymatic colorimetric method. HbA1c levels were determined by high-performance liquid chromatography. Variance component approaches implemented in the SOLAR software were applied to estimate the heritability of PWV. RESULTS: Heritability estimates for carotid-femoral PWV was 26%, after adjustment for age, gender, HbA1c, and mean blood pressure. HbA1c levels were associated with arterial stiffness and the elevation of a single unit percentage of HbA1c represented an increase of 54 % in the odds of increased arterial stiffness. The lipid variables (LDL-c, HDL-c, non-HDL-c, total cholesterol and triglycerides) presented weak correlation with PWV. In addition, a linear regression analysis stratified by age (cutoff ≥ 45 years) showed an inverse relation

between LDL-c and PWV in women aged 45 or older. CONCLUSION: Our findings indicate that PWV demonstrated an intermediate heritability (26%); HbA1c proved to be a good marker for risk stratification for increased arterial stiffness; LDL-c was inversely related with PWV in women aged 45 or older, possibly due to the metabolic alterations associated with ovarian failure.

Descriptors: vascular stiffness; blood glucose; lipids; heredity; pulse wave analysis; cohorts studies.

1 Introdução

1.0. INTRODUÇÃO

1.1. IMPACTO DAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de mortalidade e incapacidade no Brasil e no mundo (1, 2). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2012 aproximadamente 17,5 milhões de pessoas morreram vítimas de DCV, o que representou cerca de 31% da mortalidade total na população mundial. A previsão da OMS para o ano de 2020 é que esse número possa se elevar a valores entre 35 e 40 milhões (3). No Brasil, os dados referentes à morbimortalidade por DCV são semelhantes aos descritos em países desenvolvidos. Além disso, doenças provenientes do aparelho circulatório são responsáveis por cerca de 10% das internações hospitalares, ficando em 3º lugar, somente atrás de parto e doenças do aparelho respiratório (4).

Além do impacto social, as DCV vêm sendo responsabilizadas por grandes déficits econômicos nos sistemas de saúde em todo o mundo. Nos países da União Europeia, os custos diretos e indiretos das DCV foram da ordem de ∈104,5 bilhões/ano e ∈ 64,2 bilhões/ano, respectivamente (5). Nos Estados Unidos os custos médico e social decorrentes de doença arterial coronariana ultrapassam os 90 bilhões de dólares/ano (6). No Brasil, o total aproximado de gastos anuais com saúde fica em torno de R$ 142 bilhões, sendo grande parte deste valor investido direto ou indiretamente no tratamento das DCV e seus respectivos fatores de risco (4).

Levando em consideração os prejuízos socioeconômicos decorrentes das DCV, torna-se importante implementar novas estratégias com o intuito de minimizar os efeitos deletérios provocados por essas enfermidades. Para isso, é necessário combater enfaticamente os fatores de risco associados (hipertensão arterial, sedentarismo, diabetes *mellitus*, obesidade, dislipidemia etc.), investir em novas estratégias de triagem (marcadores genéticos, bioquímicos, inflamatórios etc.) e avaliar fenótipos cardiovasculares (rigidez arterial, espessamento médio-intimal, controle autonômico etc.) que possam trazer informações preditivas relacionadas às DCV.

1.2. Aspectos Fisiopatológicos da Rigidez Arterial

A rigidez arterial é um fenômeno complexo caracterizado pela diminuição da complacência (distensibilidade) dos grandes vasos em decorrência do envelhecimento (7), ou de doenças associadas ao sistema cardiovascular, como diabetes (8), aterosclerose (9) e doença renal crônica (10). Clinicamente a rigidez arterial aumentada pode se manifestar, principalmente, através da pressão de pulso (PP) elevada e hipertensão sistólica isolada (11-16). No sistema cardiovascular, o enrijecimento da aorta resulta em elevação da pressão arterial sistólica (PAS) e diminuição da pressão arterial diastólica (PAD), que, por conseguinte, aumenta a pós-carga ventricular e altera a perfusão das artérias coronárias (17). Essas mudanças podem resultar em hipertrofia do ventrículo esquerdo (18), agravamento da

isquemia coronária (19, 20) e aumento do estresse na parede do vaso (21), que por sua vez pode levar à ruptura de placas ateroscleróticas (22).

O enrijecimento da parede vascular se dá através de uma complexa interação entre adaptações dinâmicas e estáveis, envolvendo elementos celulares e estruturais da parede do vaso. Essas alterações vasculares são influenciadas por forças hemodinâmicas (23) e fatores extrínsecos, como hormônios, processo de regulação do sal e da glicose (24). A modulação fisiopatológica da rigidez arterial é mediada através do fino balanço entre a produção e a degradação de elastina e colágeno. Portanto, o desbalanço desse sistema causado por substâncias pró-inflamatórias, desequilíbrio entre a inibição e ativação de metaloproteinases e sobrecarga de pressão, leva a uma superprodução de colágeno e uma redução da elastina, contribuindo assim para a diminuição da distensibilidade vascular (25) (Figura 1).

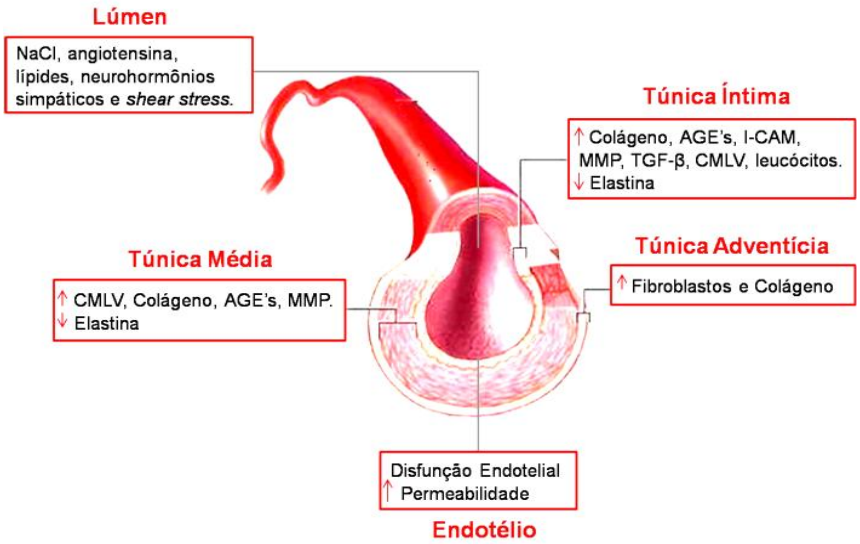

Figura 1- Desenho esquemático referente aos principais efetores do processo de rigidez arterial (Adaptado de Ziemanet al.(24)). NaCl, cloreto de sódio; CMLV, célula muscular lisa vascular; AGE's, produto final de glicação avançada; MMP, metaloproteinases da matriz; I-CAM, molécula de adesão intercelular; TGF-β, fator de crescimento transformador-beta.

A avaliação da rigidez arterial pode ser realizada por meio de métodos invasivos e não-invasivos. Estes são divididos em 3 grupos: avaliação da distensibilidade, análise do formato da onda de pulso arterial e mensuração da velocidade de onda de pulso (VOP), que, segundo consensos, é o método padrão ouro para avaliação da rigidez arterial (26).

Nos últimos anos, com a consolidação do método da VOP na avaliação da rigidez arterial, diversos estudos vêm demonstrando a associação positiva do presente fenótipo com diversas condições patológicas. Blacher et al. (27), estudando indivíduos portadores de aterosclerose, demonstraram que a VOP está associada à presença e extensão do processo aterosclerótico. Em outro estudo envolvendo pacientes com doença renal crônica em estágio terminal, London et al. (28) demonstraram que esses indivíduos apresentavam maiores valores da VOP quando comparados aos indivíduos controles saudáveis. Toto Moukouo et al. (29), avaliando propriedades das grandes artérias de indivíduos obesos e não obesos com hipertensão essencial, demonstraram que a VOP era significantemente maior em indivíduos obesos. Além disso, inúmeros estudos epidemiológicos vêm reportando o papel da rigidez arterial aumentada na predição de morbidade e mortalidade, independentemente de outros fatores de risco cardiovascular. Recentemente, Vlachopoulos et al. (30) demonstraram através de uma meta-análise envolvendo 17 estudos, que valores elevados da VOP (≥12m/s) prediziam um aumento de 102% no risco de mortalidade decorrentes de eventos cardiovasculares. O mesmo

estudo demonstrou ainda que o aumento de 1m/s na VOP correspondia ao incremento de 15% no risco.

Devido ao comprovado impacto da rigidez arterial aumentada no risco de morbidade e mortalidade cardiovascular e total, diversas formas de tratamento vêm sendo propostas com objetivo de diminuir os números supracitados. Levando em consideração que a degeneração estrutural de componentes elásticos das grandes artérias é pouco reversível frente a terapias farmacológicas (31), torna-se importante focar nas intervenções de cunho preventivo,tais como restrição de sódio na alimentação (32), realização de treinamento físico regular (33, 34), erradicação do tabagismo (35), redução do consumo excessivo de álcool (36), utilização de óleos derivados de peixe (37) e consumo de alimentos que contenham isoflavonóides (38). Contudo, apesar das controvérsias em relação à contribuição dos fármacos na redução da rigidez arterial, alguns estudos têm demonstrado resultados positivos mediante a utilização de drogas anti-hipertensivas (39-41) e anti-lipemiantes (42, 43). Sendo assim, pode-se considerar que o tratamento farmacológico associado a medidas preventivas pode ter um efeito adicional no controle da rigidez arterial.

1.3. Determinantes da Rigidez Arterial

Fatores de risco cardiovascular tradicionais como envelhecimento (7, 44), hipertensão (44), diabetes (8), dislipidemia (45) e obesidade (46) são apontados como potencias promotores do incremento da rigidez arterial.

Dentre todos os fatores supracitados, idade e pressão arterial elevada demonstram ser os mais relevantes (47).

É amplamente estabelecido que rigidez arterial aumenta acentuadamente com o avançar da idade. Dados do *Framingham Heart Study* apontam que até os 50 anos de idade apenas 5-10% dos indivíduos apresentaram rigidez arterial elevada (VOP≥12m/s), enquanto em indivíduos com idade superior a 70 anos a prevalência é superior a 60% (48). Nos últimos anos, estudos vêm demonstrando que o aumento da VOP relacionada ao envelhecimento não é uniforme ao longo da aorta (49-51). Hickson et al. (50) reportaram que grande parte do enrijecimento vascular ocorre na aorta abdominal e apresenta taxa de incremento de 0,9 m/s por década. Estudos recentes têm demonstrado que o aumento da rigidez arterial associado ao envelhecimento está intimamente relacionado à elevação da atividade nervosa simpática (52) e consequente exacerbação do processo inflamatório (53).

A associação entre hipertensão arterial sistêmica e o incremento da rigidez arterial vem sendo amplamente evidenciada nos últimos anos. Estudos demonstram que a elevação da pressão arterial gera um aumento do estresse pulsátil na parede vascular resultando em acelerada degradação das fibras de elastina (54, 55). Entretanto, a relação de causa / efeito entre hipertensão e rigidez arterial elevada tem sido muito discutida na última década. Estudos apontam que a rigidez arterial elevada, em indivíduos normotensos, está associada à acelerada progressão dos níveis de pressão arterial e aumento do risco de hipertensão (56, 57). Portanto, apesar da

recente discussão entre a relação de causa / efeito, é bem estabelecido na literatura a forte associação entre hipertensão arterial sistêmica e rigidez arterial aumentada (57, 58).

O aumento da rigidez arterial associado ao diabetes tem sido amplamente retratado nos últimos anos (59-61). Alvim et al. (8), estudando indivíduos de uma capital brasileira, demonstraram que os sujeitos diabéticos possuíam maiores valores da VOP quando comparados aos não-diabéticos. Nesse estudo, a presença do diabetes representou um risco 127% maior para rigidez arterial aumentada quando comparado ao grupo que não apresentava a doença. Além disso, estudos experimentais demonstram que níveis glicêmicos elevados podem intensificar o processo inflamatório, aumentar os produtos de glicação avançada (AGE's) e reduzir a biodisponibilidade de NO nos vasos (62-64). Apesar dos relevantes dados apresentados anteriormente, a associação entre diabetes e rigidez arterial aumentada parece ser um pouco contestável, visto que uma importante revisão sistemática publicada no periódico *Hypertension (54)* demonstrou que somente 52% dos estudos sugeriram tal associação positiva.

O perfil lipídico inadequado é conhecidamente um importante fator de risco cardiovascular (65). Nas últimas décadas, inúmeros estudos têm demonstrado a relação entre os níveis de LDL-c, HDL-c, triglicérides e colesterol total com a progressão das doenças cardiovasculares ateroscleróticas (66-69). Parte desses resultados pode ser explicada pela disfunção vascular gerada pelo incremento do processo inflamatório, aumento do estresse oxidativo e oxidação das partículas de LDL-c (70-72).

Contudo, apesar da forte correlação entre aterosclerose e disfunção vascular, os resultados dos estudos associando o perfil lipídico com fenótipos de rigidez arterial são conflitantes (73, 74). Parte dessas contradições pode ser justificada pelas diferenças entre as populações investigadas e os distintos métodos utilizados na avaliação da rigidez arterial.

A epidemia de obesidade está amplamente relacionada com o aumento da incidência de diabetes, síndrome metabólica e hipertensão arterial sistêmica (75). Além disso, sabe-se que a obesidade aumenta significativamente a mortalidade decorrente de doenças cardiovasculares (76). Recentemente, tem sido sugerido que a disfunção vascular, principalmente a rigidez arterial, pode ser o *link* entre a obesidade e as doenças cardiovasculares (77). A associação entre rigidez arterial e obesidade tem sido investigada nos últimos anos. Estudos demonstram que adultos (78-80) e crianças (81), ambos obesos, apresentam rigidez arterial aumentada quando comparados aos seus pares magros. Entretanto, existem estudos documentando associação inversa entre VOP e obesidade visceral (82).

Conclui-se que a pressão arterial e a idade são os principais determinantes da rigidez arterial e devem sempre ser considerados em estudos envolvendo a VOP. Entretanto, diabetes, dislipidemia e obesidade, apesar de associados à rigidez arterial aumentada em muitos estudos, devem ser vistos com cautela devido a presença de inúmeros resultados controversos na literatura.

1.4. PERFIL LIPÍDICO E RIGIDEZ ARTERIAL

A rigidez arterial aumentada é um importante determinante do risco cardiovascular (83) e alterações no perfil lipídico, em especial a hipercolesterolemia, estão relacionadas ao enrijecimento do vasos sanguíneos (84). Alguns estudos com indivíduos portadores de hipercolesterolemia familiar sugerem uma possível associação positiva entre níveis lipídicos e rigidez arterial aumentada. Riggio et al. (85) demonstraram que tanto a rigidez arterial sistêmica quanto a local, estavam aumentadas em crianças normotensas portadoras de hipercolesterolemia familiar (heterozigotas) e primária. Entretanto, Lehmann et al. (86), estudando crianças heterozigotas para hipercolesterolemia familiar, demonstraram que estas apresentam maior elasticidade aórtica quando comparadas aos controles. A hipótese para tais achados é que na fase inicial da aterosclerose há um aumento da formação de células espumosas, devido à infiltração e oxidação do LDL-C, associado ao baixo conteúdo de colágeno (87). Estes mecanismos poderiam justificar a maior complacência vascular em indivíduos jovens sem comorbidades associadas.

Recentemente, diversos estudos populacionais têm investigado a associação entre rigidez arterial e perfil lipídico (74, 88, 89). Holewijn et al. (88), estudando 1517 indivíduos com idades entre 50-70 anos, demonstraram que o não-HDL-c foi superior ao LDL-c na identificação de indivíduos com algum tipo de disfunção cardiovascular, incluindo rigidez arterial elevada. Diferentemente, Zhao et al. (89), estudando indivíduos idosos e de meia idade da população chinesa, demonstraram que a razão

não-HDL/HDL-c foi superior às tradicionais variáveis lipídicas na determinação do risco para rigidez arterial elevada. Finalmente, Wang et al. (74), estudando 2375 indivíduos com idade entre 40-96 anos, demonstraram que somente o LDL-c e o HDL-c foram independentemente associados ao fenótipo de rigidez arterial. Entretanto, como observado nos estudos supracitados, os resultados referentes a associação entre perfil lipídico e rigidez arterial apresentam certa discordância na literatura. Além disso, em uma importante revisão sistemática publicada no periódico *Hypertension*, Cecelja & Chowienczyk (54) demonstraram que somente 10% dos estudos sugeriram associação significante entre níveis lipídicos e rigidez arterial.

Conforme observado, os resultados referentes a associação do perfil lipídico com fenótipos de rigidez arterial são inconclusivos. Parte dessa disparidade pode ser explicada pelos diferentes métodos utilizados na mensuração da rigidez arterial, e também, pelos vários métodos estatísticos empregados para se determinar tais associações. Ademais, existe uma grande variabilidade étnica entre as populações estudadas.

1.5. CONTROLE GLICÊMICO E RIGIDEZ ARTERIAL

A hemoglobina glicada (HbA1c) é um marcador relacionado ao controle glicêmico, no qual reflete o nível médio da glicemia sanguínea durante um período de 2 a 3 meses. Por esse motivo, tem sido uma ferramenta amplamente utilizada na mensuração do controle glicêmico em pacientes diabéticos. Além disso, o *American Diabetes Association* (ADA),

por meio do seu posicionamento clínico, recomendou a utilização da HbA1c como teste diagnóstico para o diabetes (90).

A associação entre os níveis de HbA1c e o risco de doença arterial coronária e mortalidade cardiovascular tem sido previamente demonstrada (91, 92), e mais recentemente, alguns estudos têm evidenciado a associação entre os níveis de HbA1c e o fenótipo de rigidez arterial em indivíduos com e sem diabetes (59, 93). Matsumae et al. (94), estudando pacientes diabéticos e não-diabéticos, demonstraram que o nível de HbA1c foi um determinante independente para rigidez arterial aumentada em ambos os grupos. Corroborando tais resultados, Liang et al. (93), estudando 5,098 indivíduos chineses sem diabetes, demonstraram que os níveis de HbA1c foram significantemente associados à tendência crescente da VOP de forma dose dependente.

Fisiologicamente, a associação entre uma elevada exposição de glicose na corrente sanguínea, acessada pela HbA1c, e rigidez arterial aumentada poderia ser explicada pelo incremento na formação dos AGE's (95), que sabidamente, geram disfunção endotelial devido ao aumento do estresse oxidativo, redução da biodisponibilidade de óxido nítrico e indução de processos inflamatórios (95-97).

Portanto, apesar da HbA1c ser extensamente utilizada no controle glicêmico e na estratificação do risco cardiovascular em pacientes diabéticos, diversos estudos populacionais têm demonstrado a associação do controle glicêmico com diversos fenótipos cardiovasculares em indivíduos

não-diabéticos. Assim, pode-se vislumbrar a utilização da HbA1c na estratificação do risco cardiovascular em pessoas com diversas condições clínicas.

1.6. Herdabilidade da Velocidade de Onda de Pulso

Nos últimos anos, diversos estudos vêm mostrando a influência de fatores genéticos na modulação de fenótipos relacionados à rigidez arterial (98, 99). Concomitantemente, inúmeras investigações abordando núcleos familiares têm demonstrado uma herdabilidade moderada (21 - 66%) para traços associados à rigidez arterial (100, 101).

Em um importante estudo, Mitchell et al. (102), avaliando 1480 indivíduos pertencentes a 817 núcleos familiares do *Framingham Study offspring cohort,* demonstraram que a herdabilidade da VOP foi de 40%. Em outro estudo envolvendo pares de gêmeos dizigóticos e monozigóticos residentes na Hungria e nos Estados Unidos, Tarnoki et al. (103) demonstraram que a herdabilidade da VOP ajustada para idade, sexo e país de origem foi de 51%. Sayed-Tabatabaei et al. (104), estudando 930 indivíduos pertencentes a um único grupo familiar do *Erasmus Rucphen Family Study,* demonstraram que a herdabilidade da VOP ajustada para diversos fatores de risco (sexo, idade, pressão arterial média, LDL-c, frequência cardíaca e glicemia de jejum) foi de 26%.

Portanto, conforme observado nos estudos supracitados, existe uma significativa variação nos valores referentes à herdabilidade da VOP. Grande

parte dessa discrepância poderia ser explicada por diferenças relacionadas ao desenho do estudo (gêmeos ou núcleos familiares), populações avaliadas e tipos de ajustes utilizados nos distintos modelos estatísticos.

1.7. JUSTIFICATIVA

A rigidez arterial aumentada é um importante determinante do risco cardiovascular e um forte preditor de morbimortalidade, independentemente de outros fatores de risco cardiovascular (30, 83, 105). Estudos epidemiológicos têm reportado que a rigidez arterial aumentada, mensurada por meio da VOP, tem sido associada a diversas condições clínicas como: hipertensão, síndrome metabólica, hipercolesterolemia e diabetes (84, 106-108).

A hipercolesterolemia tem sido amplamente associada a um elevado número de eventos cardiovasculares. Grande parte desses, podem ser explicados pelo processo aterosclerótico. Além disso, o perfil lipídico inadequado resulta em disfunção endotelial e modificações estruturais no leito vascular. Portanto, sabendo-se que a rigidez arterial é um importante determinante do risco cardiovascular e que os resultados referentes a associação do perfil lipídico com fenótipos de rigidez arterial são conflitantes, torna-se evidente a necessidade de novos estudos em populações gerais e específicas, a fim de estabelecer o real papel do perfil lipídico inadequado nas alterações vasculares.

A HbA1c é amplamente utilizada como marcador de controle glicêmico em indivíduos diabéticos. Ademais, nos últimos anos diversos estudos têm demonstrado a associação dos níveis de HbA1c com o risco para doença arterial coronária e complicações associadas ao diabetes. Recentemente, alguns estudos têm demonstrado a associação da HbA1c com fenótipos relacionados à rigidez arterial em indivíduos diabéticos e não-diabéticos. Entretanto, estudos propondo tal associação em populações ocidentais são escassos. Assim, torna-se necessário investigar o papel da HbA1c na rigidez arterial elevada em populações gerais e com grande miscigenação étnica.

A herdabilidade é definida como a proporção da variabilidade fenotípica total atribuída ao efeito genético. Uma baixa herdabilidade nos indica que determinado fenótipo é maciçamente modulado por aspectos ambientais. Tendo acesso a essa informação, torna-se mais clara a linha de investigação a ser adotada para um determinado fenótipo. Em se tratando da VOP, alguns estudos com populações americanas e europeias mostraram uma herdabilidade moderada, o que justificaria a investigação genética. Entretanto, para populações brasileiras ainda não se tem essa informação.

Baseado no que foi descrito acima, fica evidente a importância de se avaliar, de forma mais específica, a associação do controle glicêmico e do perfil lipídico com o fenótipo de rigidez arterial em uma população geral brasileira. Adicionalmente, torna-se necessário determinar a herdabilidade da VOP, para que se possa traçar melhores condutas de investigação.

2 Objetivo

2.0. OBJETIVOS

- ✓ Estimar a herdabilidade da VOP em uma população brasileira.
- ✓ Avaliar a associação entre controle glicêmico e o fenótipo de rigidez arterial em uma população brasileira.
- ✓ Avaliar a associação entre o perfil lipídico e o fenótipo de rigidez arterial em uma população brasileira.

3 Métodos

3.0. MÉTODOS

3.1. POPULAÇÃO ESTUDADA

Foram cadastrados um total de 2495 indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 18 e 100 anos e distribuídos dentro de 109 núcleos familiares. Destes, 2072 compareceram ao posto de atendimento para responder o questionário inicial e somente 1675 indivíduos realizaram o exame da VOP (figura 3). O presente estudo é derivado do protocolo de pesquisa intitulado como *"Mapeamento Genético e Herdabilidade de Fenótipos Cardiovasculares em Núcleos Familiares da População Brasileira: Projeto Corações de Baependi"* e foi previamente aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

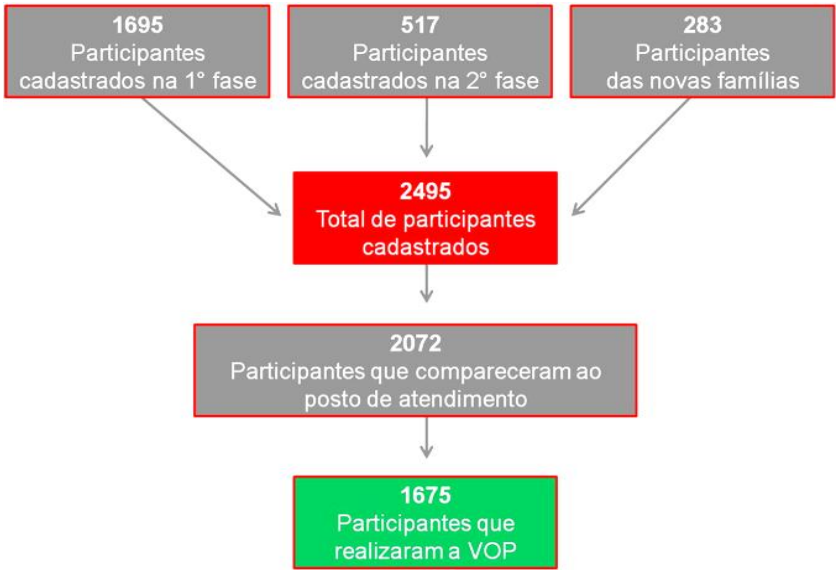

Figura 2 - Fluxograma dos indivíduos elegíveis no estudo.

3.1.1. DESENHO DO ESTUDO: "*PROJETO CORAÇÕES DE BAEPENDI*"

Corações de Baependi é um estudo genético, epidemiológico e longitudinal, que investiga os fatores de risco para doenças cardiovasculares. O protocolo teve início entre dezembro de 2005 e janeiro de 2006, quando 1.695 indivíduos, distribuídos em 95 famílias residentes no município de Baependi foram selecionados para participar do estudo. Grupos familiares foram identificados, em várias etapas, a partir da população geral. Onze distritos censitários (de um total de doze) foram selecionados para o estudo e os endereços residenciais dentro de cada distrito foram selecionados aleatoriamente (primeiro sorteio de uma rua e, em seguida, um agregado familiar). Apenas indivíduos a partir de 18 anos de idade, que viviam no domicílio sorteado, foram convidados a participar do estudo.

Quando um grupo familiar foi matriculado, todos os seus parentes de primeiro (pais, irmãos e filhos), segundo (meios irmãos, avós / netos, tios / tias, sobrinhos / sobrinhas, primos) e terceiro grau (primos de segundo grau, tios-avós, e sobrinhos de segundo grau) foram convidados a participar. Após o primeiro contato com o núcleo familiar, os parentes de primeiro grau foram convidados por telefone a participar. Logo após, todos os parentes residentes na cidade de Baependi (área urbana e rural) e cidades vizinhas foram incluídos no estudo.

Em dezembro de 2010 foi iniciada a segunda fase do projeto corações de Baependi. Esta tinha como objetivo avaliar os mesmos indivíduos que

participaram da primeira fase em 2005 e incluir novos indivíduos pertencentes aos núcleos familiares previamente selecionados. Entretanto, devido ao elevado apelo popular e a possibilidade iminente de ampliar o número amostral, optou-se por incluir 283 indivíduos pertencentes a 21 novas famílias.

O presente estudo analizou somente os dados referentes à segunda fase do projeto *Corações de Baependi.* Pois na primeira fase (2005) os protocolos da VOP e HbA1c não faziam parte do plano de estudo.

3.1.2. ÁREA DO ESTUDO E DISTRIBUIÇÃO DA POPULAÇÃO

O estudo foi realizado na cidade de Baependi, Minas Gerais, localizada em região de área de proteção ambiental da Mantiqueira (figura 4).

Figura 3 - Localização do município de Baependi-MG.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Baependi possui uma área de 750 Km^2, uma população estimada em 19.117 habitantes, sendo 9.050 habitantes do sexo masculino e 9.022 do feminino. Aproximadamente 68,4% da população reside na área urbana do município e 31,6% na área rural. A população idosa, considerando indivíduos acima de 60 anos, é de aproximadamente 1.490 habitantes. O número de domicílios no município se distribui da seguinte forma: zona rural: 1.448; periferia: 1.768; área urbana: 2.877. Em relação à distribuição étnica na região sudeste do Brasil (dados do Censo de 1991), há predomínio de indivíduos da raça branca (63%), seguida por parda (30%) e negra (6%). Nesta amostra da população de Baependi, tem-se um padrão de distribuição semelhante: 75% de brancos, 18% de mulatos e 5% de negros.

3.1.3. SELEÇÃO, RECRUTAMENTO E CONVOCAÇÃO DOS PARTICIPANTES

Foram selecionados os mesmos indivíduos que participaram da primeira fase do projeto Corações de Baependi com adição de indivíduos pertencentes aos mesmos núcleos familiares, mas que em 2005 ainda não haviam completado 18 anos. Além disso, ainda foram incluídos 283 indivíduos pertencentes a 21 novas famílias cadastradas na segunda fase.

Para recrutar os participantes, a pesquisa foi divulgada em igrejas, na televisão local, jornal, rádio e via telefone. Para a realização do protocolo, foi utilizado um posto de atendimentos (figura 5) em um setor de fácil acesso na cidade de Baependi. Os participantes que compareceram ao posto de

atendimento foram esclarecidos acerca dos objetivos do projeto. Mediante aceitação em participar da pesquisa, por meio do termo de consentimento livre e esclarecido.

Figura 4 - Posto de atendimento - *Projeto Corações de Baependi*.

3.2. AVALIAÇÃO CLÍNICA

Foram realizados os exames físicos (pressão arterial sistólica e diastólica, peso, altura, circunferência abdominal e de quadril) e aplicado um questionário geral referente a patologias pré-existentes no próprio indivíduo e seus familiares (pai, mãe, irmãos, tios, avós, sobrinhos e netos), condição socioeconômica e hábitos de vida como nutrição, tabagismo, consumo de álcool e atividade física.

3.2.1. MEDIDA DA PRESSÃO ARTERIAL

A pressão arterial (PA), tanto a sistólica quanto a diastólica, foi mensurada pelo método oscilométrico, com um manômetro digital marca OMRON, modelo HEM-741CINT, aprovado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia. O manguito foi colocado no braço esquerdo, após repouso de cinco minutos. Foram realizadas três mensurações de PA, com intervalos de 3 minutos (109). A pressão arterial média (PAM) foi calculada por meio da seguinte equação: PAM = PAD + (PAS - PAD)/3. Foram considerados hipertensos pacientes com PAS ≥ 140 e/ou PAD ≥ 90 mmHg ou em uso de medicamentos anti-hipertensivos (110).

3.2.2. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

A avaliação antropométrica foi baseada nas medidas de peso, altura, cálculo do IMC e circunferência abdominal e de quadril. Os critérios adotados para a aferição e avaliação dos índices antropométricos estão descritos abaixo:

- ***Peso***

O peso foi aferido em balança de plataforma da marca *Filizola*, com uma carga máxima de 180 Kg e precisão de 100g. Os indivíduos foram pesados em pé, descalços e com roupas leves.

- ***Estatura***

A estatura foi determinada por meio de um estadiômetro *Sanny standard* com escala em centímetros e precisão de 1 milímetro. Os indivíduos foram colocados de costas para o marcador, com os pés unidos, em posição ereta, olhando para frente, sendo que a leitura foi feita no milímetro mais próximo.

- ***Índice de massa corporal***

O índice de massa corporal (IMC) corresponde a relação entre o peso corporal e o quadrado da estatura. Para calcular o IMC, o peso corporal foi medido em quilogramas (Kg) e a estatura foi convertida em metros [IMC = Peso (Kg) / Estatura $(m)^2$].

3.3. MENSURAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO E DA HEMOGLOBINA GLICADA

Os participantes foram instruídos a fazer jejum de 12 horas e a comparecer ao laboratório da cidade para coleta das amostras de sangue e provas bioquímicas (figura 6). Triglicérides, HDL-c e colesterol total foram determinados pelo *método enzimático colorimétrico*. O LDL-c foi determinado via equação de *Friedewald.* O colesterol não-HDL foi calculado da seguinte forma: colesterol total - HDL-c. Os níveis de HbA1c foram determinados *pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)*.

Figura 5 - Coleta de sangue para os exames bioquímicos

3.4. DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE ONDA DE PULSO

A VOP carótida-femoral foi mensurada por um observador experiente por meio do *Complior SP*® (Artech Medical, Pantin, France). A mensuração da VOP foi iniciada após 10-15 minutos de repouso em posição supina. Foi realizada apenas uma mensuração com nível de tolerância inferior a 5%. As ondas de pulso das artérias carótida e femoral direitas foram gravadas simultaneamente conforme previamente descrito (111) (figura 7). Os valores da VOP foram determinados por meio da distância direta entre as artérias carótida e femoral direitas. Posteriormente, a distância direta foi multiplicada por 0,80 de acordo com as recentes recomendações (112). Assim, considerando o ajuste da distância, a rigidez arterial aumentada foi definida como VOP ≥ 10m/s (112).

Figura 6 - Protocolo para mensuração da velocidade de onda de pulso.

3.5. HEREDOGRAMAS

Os heredogramas de todas as famílias foram construídos com base nas informações coletadas e devidamente atualizados diariamente para permitir a expansão das famílias durante as novas convocações (figura 8).

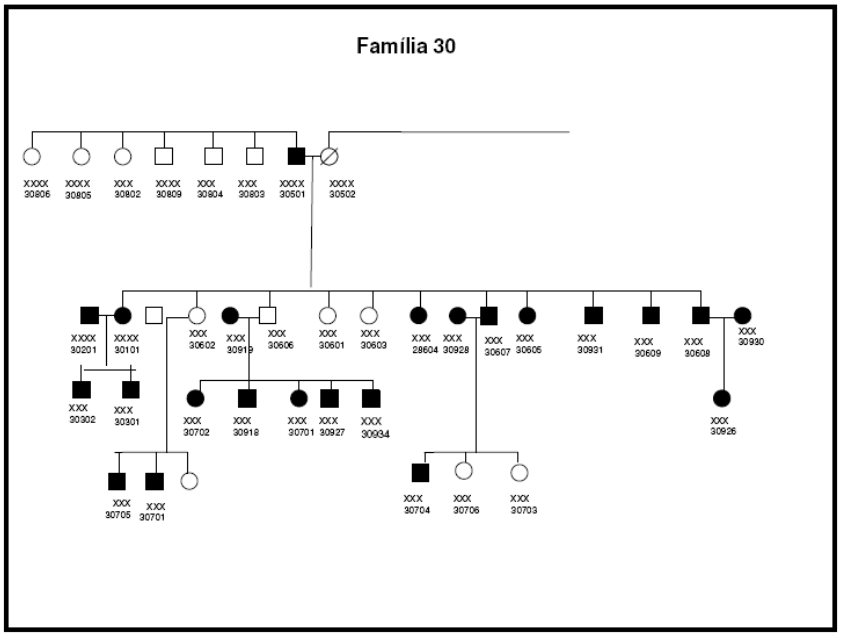

Figura 7-Heredograma de uma família selecionada (Família 30). Figuras preenchidas em negro: indivíduos recrutados; figuras sem preenchimento: indivíduos a serem convocados (selecionado, mas que ainda não realizaram o exame); quadrado: sexo masculino; círculo: sexo feminino; figura interceptada por linha: indivíduo falecido.

3.6. ESTIMATIVA DA HERDABILIDADE DA VELOCIDADE DE ONDA DE PULSO

As estimativas da herdabilidade (h^2) foram calculadas utilizando-se a metodologia de componentes de variância implementadas no *software SOLAR* (113). A herdabilidade representa a proporção da variância fenotípica total (σ^2_p) atribuída aos efeitos genéticos (σ^2_g):

$$h^2 = \sigma^2_g / \sigma^2_p$$

A variância fenotípica total dos traços quantitativos foi estimada a partir da distribuição dos valores dos fenótipos na amostra e particionada em componentes genético e ambiental utilizando a covariância observada entre membros de mesma família, através de $\Omega = 2\Phi\sigma^2_a + I\sigma^2_e$, onde Ω é uma matriz n x n dos n indivíduos do banco de dados; 2Φ é a matriz do coeficiente de parentesco; e I é uma matriz identidade que representa a matriz estruturante para a variância atribuída ao fator ambiental residual (σ^2_e). As covariáveis não foram consideradas componentes de variância, mas sim, modificadoras da média do traço. Portanto, as médias do traço covariável-específica foram utilizadas na estimação da covariância entre indivíduos relacionados. Uma extensão deste modelo básico foi utilizado para analisar traços discretos ou categóricos (114).

Nós aplicamos uma robusta abordagem estimativa, implementada no *software SOLAR* através do procedimento *tdist*, para corrigir possíveis vieses durante o cálculo da herdabilidade para o fenótipo da VOP.

Os dados foram ajustados a dois modelos: não considerando os efeitos de covariáveis (modelo 1); e considerando os efeitos simultâneos das

seguintes covariáveis: idade, sexo, PAM e HbA1c. A triagem das covariáveis determinou a significância estatística de cada efeito; covariáveis significantes ($p \leq 0.05$) eram mantidas no modelo e a variância atribuída ás covariáveis foi calculada.

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O número amostral foi calculado por meio do software *G Power 3.1.5*, utilizando as seguintes especificações: *Effect size* = 0,10, *α error*= 5%, *power* = 95% e seis variáveis independentes. Para esses padrões, seriam necessários 110 indivíduos para a realização do estudo, mas por se tratar de um protocolo epidemiológico, atingimos um número amostral muito superior (1675 indivíduos). O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para verificar a normalidade dos dados.

As variáveis descritivas foram apresentadas como média ± desvio padrão e as variáveis nominais como percentual. As associações da HbA1c com o fenótipo de rigidez arterial aumentada foram determinadas por meio de regressão logística uni e multivariada, onde a VOP entrou como variável dependente (dicotomizada para valores ≥ 10m/s) e idade, PAM, sexo, IMC e glicemia de jejum como variáveis preditoras. A tendência linear foi determinada por meio do teste de *Jonckheere-Terpstra,* onde foi atribuído o valor médio para cada tercil e tratados como variáveis contínuas. A curva ROC foi construída e a área sob a curva ROC foi utilizada para medir o poder discriminatório da HbA1c e da glicemia de jejum na avaliação de risco

para rigidez arterial aumentada. A comparação das áreas sob as curvas ROC foi realizada por meio de um método paramétrico utilizando o software *GraphROC*. Os coeficientes de *Pearson* foram utilizados para estimar as correlações entre VOP e suas variáveis de confusão.

As variáveis lipídicas foram avaliadas pelo teste não-paramétrico de *Mann-Whitney*. A frequência das variáveis nominais eram comparadas através do teste de qui-quadrado. Todas as variáveis lipídicas sofreram transformação logarítmica para assumirem condições de normalidade. Os coeficientes de correlação de *Spearman* foram usados para estimar a correlação entre a VOP e as variáveis lipídicas. Um modelo de regressão linear multivariada foi construído e a VOP foi incluída como variável dependente e as frações lipídicas (HDL-, LDL-c, TC, colesterol não-HDL-c e Triglicérides) foram incluídas como variáveis independentes. Além disso, idade e PAM foram incluídas em todos os modelos. Essa mesma análise foi realizada para homens e mulheres e estratificadas por idade usando ponto de corte ≥ 45 anos.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *SPSS* (Chicago, IL, EUA, versão 19) com o nível de significância de 5%.

4 Resultados

4.0. RESULTADOS

Os resultados estão apresentados de forma estratificada conforme os três objetivos propostos no presente projeto.

4.1. Herdabilidade da Velocidade de Onda de Pulso

Os dados estratificados por sexo referentes à idade, IMC, glicemia de jejum, VOP, CT, HDL-c, LDL-c, triglicérides, PAS, PAD, PAM, HbA1c e os percentuais de indivíduos com hipertensão, diabetes e rigidez arterial aumentada estão resumidos na tabela 1.

Tabela 1- Características gerais da população.

Características	Total	Homens	Mulheres
Idade (anos)	45,0 ± 16,9	45,5 ± 17,4	44,8 ± 16,6
Hipertensão (%)	37,0	36,3	37,6
Diabetes (%)	7,6	6,0	10,2
Rigidez arterial aumentada (%)	9,0	10,9	7,7
IMC (kg/m^2)	26,1± 9,9	25,7 ± 14,2	26,4 ± 5,0
VOP (m/s)	7,8 ± 1,7	8,0 ± 1,7	7,6 ± 1,6
PAS (mmHg)	125,6 ± 16,4	130,2 ± 15,3	122,3 ± 16,4
PAD (mmHg)	75,7 ± 9,9	77,0 ± 10,1	74,9 ± 9,7
PAM (mmHg)	92,3 ± 10,9	94,7 ± 10,8	90,7 ± 10,8
CT (mg/dL)	198,1 ± 40,9	194,7 ± 41,2	200,4 ± 40,4
HDL-c (mg/dL)	47,2 ± 11,6	43,7 ± 10,6	49,7 ± 11,7
LDL-c (mg/dL)	124,3 ± 35,4	123,5 ± 35,5	124,8 ± 35,4
Triglicérides (mg/dL)	133,5 ± 78,3	139,6 ± 93,9	129,2 ± 64,8
Glicemia de jejum (mg/dL)	93,0 ± 21,1	92,9 ± 18,7	93,1 ± 22,6
HbA1c (%)	5,7 ± 0,87	5,7 ± 0,89	5,7 ± 0,86

IMC, índice de massa corporal; VOP, velocidade de onda de pulso; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PAM, pressão arterial média;CT, colesterol total; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade;HbA1c, hemoglobina glicada.

Hipertensão: pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão diastólica ≥ 90 mmHg ou uso de drogas anti-hipertensivas.

Diabetes: glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL e/ou uso de drogas hipoglicemiantes.

Rigidez arterial aumentada: velocidade da onda de pulso (VOP) ≥ 10m/s.

Variáveis contínuas estão expressas como média ± desvio padrão.

Variáveis categóricas estão expressas como porcentagem.

Dois modelos poligênicos, modelo I (sem efeitos de covariáveis) e modelo II (com efeito da idade, sexo, PAM e HbA1c) foram adaptados aos dados. A estimativa da herdabilidade para a VOP foi baixa (0,11) no modelo

I, e intermediária (0,26) para o modelo II. Todas as covariáveis (idade, sexo, MBP, HbA1c) mostraram efeitos significativos sobre o traço da VOP, e em conjunto, contribuíram com 60% da variância fenotípica (Tabela 2).

Tabela 2- Parâmetros estimados para a VOP em famílias brasileiras.

Fentótipo	Modelo	Sem heterogeneidade			Proporção da σ^2_p atribuída ás covariáveis
		h^2 (EP), *p* valor	σ^2_g	σ^2_e	
VOP	Sem covariável	0,11 (0,04), *p* = 5,0e-04	0,11	0,88	---
	PAM, idade, sexo, HbA1c	0,26 (0,05), *p* = 3,8e-10	0,22	0,63	0,60

PAM, pressão arterial média; HbA1c, hemoglobina glicada; VOP, velocidade de onda de pulso; h^2 (EP), estimativa da herdabilidade (erro padrão); σ^2_g, estimativa da variância poligênica; σ^2_e, estimativa da variância ambiental; σ^2_p, variância fenotípica total.

4.2. Associação do controle glicêmico com o fenótipo de rigidez arterial

Características Gerais

Foram avaliados 1675 indivíduos de ambos os sexos. Destes, 151 (9%) apresentavam rigidez arterial elevada. Não houve diferença estatística entre o percentual de homens e mulheres nos grupos normal e rigidez arterial aumentada (Tabela 3). O percentual de indivíduos hipertensos e diabéticos foi superior no grupo com rigidez arterial aumentada. Além disso,

idade, IMC, PAS, PAD, PAM, PP, VOP, glicemia de jejum e HbA1c também foram maiores nesse grupo (Tabela 3).

Tabela 3 - Características gerais estratificadas para rigidez arterial aumentada

Características	**VOP < 10m/s**	**VOP ≥ 10m/s**	***p*-valor**
n	1524	151	*****
Idade (anos)	42,4 ± 15,3	67,4 ± 10,0	<0,001
Gênero, homens (%)	40,1	49,7	0,06
Diabetes (%)	5,0	30,5	<0,001
Hipertensão (%)	32,9	84,1	<0,001
IMC (kg/m^2)	25,7 ± 4,8	29,2 ± 29,1	<0,001
PAS (mmHg)	123,7 ± 16,7	142,9 ± 17,2	<0,001
PAD (mmHg)	75,8 ± 10,1	78,3 ± 10,5	0,005
PP (mmHg)	47,9 ± 16,3	64,8 ± 14,6	<0,001
PAM (mmHg)	91,4 ± 10,3	101,7 ± 12,4	<0,001
VOP (m/s)	7,4 ± 1,1	11,7 ± 1,6	<0,001
Glicemia de jejum, (mg/dL)	91,1 ± 17,5	103,5 ± 26,1	<0,001
HbA1c, (%)	5,6 ± 0,7	6,3 ± 1,1	<0,001

IMC, índice de massa corporal; VOP, velocidade de onda de pulso; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PAM, pressão arterial média; PP, pressão de pulso; HbA1c, hemoglobina glicada.

Hipertensão: pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão diastólica ≥ 90 mmHg ou uso de drogas anti-hipertensivas.

Diabetes: glicemia de jejum ≥ 126mg/dL e/ou uso de drogas hipoglicemiantes.

Rigidez arterial aumentada: velocidade da onda de pulso (VOP) ≥ 10m/s.

Variáveis contínuas estão expressas como média ± desvio padrão.

Variáveis categóricas estão expressas como porcentagem.

Correlações entre a VOP e possíveis variáveis de confusão

Os coeficientes de correlação de *Pearson* encontram-se sumarizados na tabela 4. Idade e PAM foram as covariáveis que apresentaram maiores correlações com a VOP (r = 0,68 e r = 0,46, respectivamente). Entre as variáveis relacionadas com o controle glicêmico, a HbA1c apresentou maior correlação com a VOP quando comparada á glicemia de jejum (r = 0,34 *versus* r = 0,31, respectivamente).

Tabela 4 - Matriz de correlação entre idade, IMC, glicemia de jejum, PAM, HbA1c e VOP.

Variáveis	Idade	IMC	Glicemia de Jejum	PAM	HbA1c	VOP
Idade	1	0,19*	0,34*	0,33*	0,44*	0,68*
IMC	0,19*	1	0,24*	0,23*	0,17*	0,08*
Glicemia de Jejum	0,34*	0,24*	1	0,15*	0,69*	0,31*
PAM	0,33*	0,23*	0,15*	1	0,16*	0,46*
HbA1c	0,44*	0,17*	0,69*	0,16*	1	0,35*
VOP	0,68*	0,08*	0,31*	0,46*	0,35*	1

IMC, índice de massa corporal; VOP, velocidade de onda de pulso; PAM, pressão arterial média; HbA1c, hemoglobina glicada.

*Nível de significância de $p \leq 0,001$.

Teste de tendência linear e associação entre HbA1c e rigidez arterial aumentada

Os níveis de HbA1c foram associados a uma tendência crescente dos valores da VOP de forma dose dependente. Esse resultado só foi evidente no grupo de indivíduos com idade superior a 52 anos (*p for trend* = 0,02) (Figura 8).

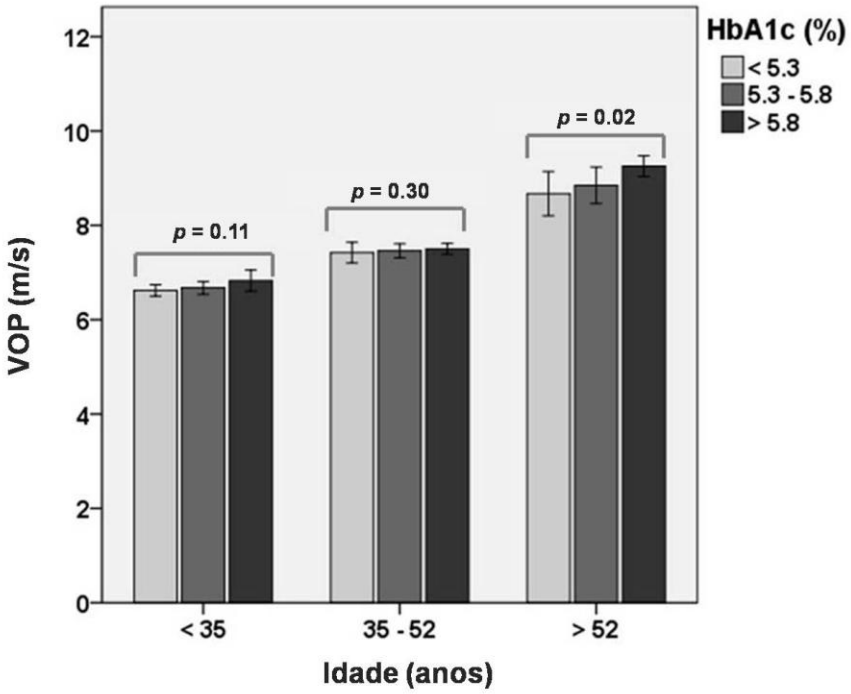

Figura 8: Teste de tendência linear estratificado pelo tercil da idade. Os níveis de HbA1c foram associados com uma tendência de aumento da VOP, de forma dose dependente, somente nos indivíduos com idade superior a 52 anos (p = 0,02).

A análise de regressão logística univariada demonstrou que a elevação de uma unidade percentual da HbA1c representou um incremento de 119% no *odds* para rigidez arterial aumentada (OR= 2,19 [95%IC: 1,81 - 2,65]). Entretanto, no modelo multivariado incluindo idade, sexo, IMC, PAM e glicemia de jejum, a elevação de uma unidade percentual da HbA1c representou um incremento de 54% no *odds* para rigidez arterial aumentada (OR= 1,54 [95%IC: 1,01 - 2,17]) (Tabela 5).

Tabela 5 - Associação entre HbA1c e rigidez arterial aumentada avaliada pela analise de regressão logística uni e multivariada.

	Rigidez Arterial Aumentada	
	OR (95%IC), *p*-valor	
Variável	**Univariada**	**Multivariada**
HbA1c	2,19 (1,81 - 2,65), <0,001	1.54 (1,01 - 2,17), 0,01
Idade	1,13 (1,11 - 1,15), <0,001	1,14 (1,11 - 1,16), <0,001
PAM	1,08 (1,07 - 1,10), <0,001	1,07 (1,05 - 1,09), <0,001
IMC	1,02 (1,01 - 1,04), 0,04	1,01 (0,99 - 1,04), 0,28
Glicemia de Jejum	1,02 (1,02 - 1,03), <0,001	0,99 (0,98 - 1,01), 0,54
Gênero (mulher)*	1,47 (1,05 - 2,05), 0,03	1,01 (0,63 - 1,63), 0,95

Rigidez arterial aumentada: velocidade de onda de pulso (PWV) ≥ 10m/s.

*Grupo de mulheres como referencia.

Modelo multivariado: Hba1c, idade, PAM, IMC, glicemia de jejum e gênero.

Área sob a curva ROC da HbA1c e glicemia de jejum em indivíduos diabéticos e não-diabéticos

Em ambos os grupos (diabéticos e não-diabéticos), o poder discriminatório da HbA1c e da glicemia de jejum na determinação do risco para rigidez arterial aumentada não foram distintos (AUC = 0,71 *versus* 0,66, *p*=0,29; AUC = 0,57 *versus* 0,45, p=0,13, respectivamente). Entretanto, a área sob a curva da HbA1c e da glicemia de jejum eram maiores nos indivíduos não-diabéticos quando comparado aos diabéticos (AUC of HbA1c = 0,71 vs 0,57, *p* = 0,02; AUC da glicemia de jejum = 0,66 vs 0,45, *p* = 0,0007, respectivamente) (Figura 9).

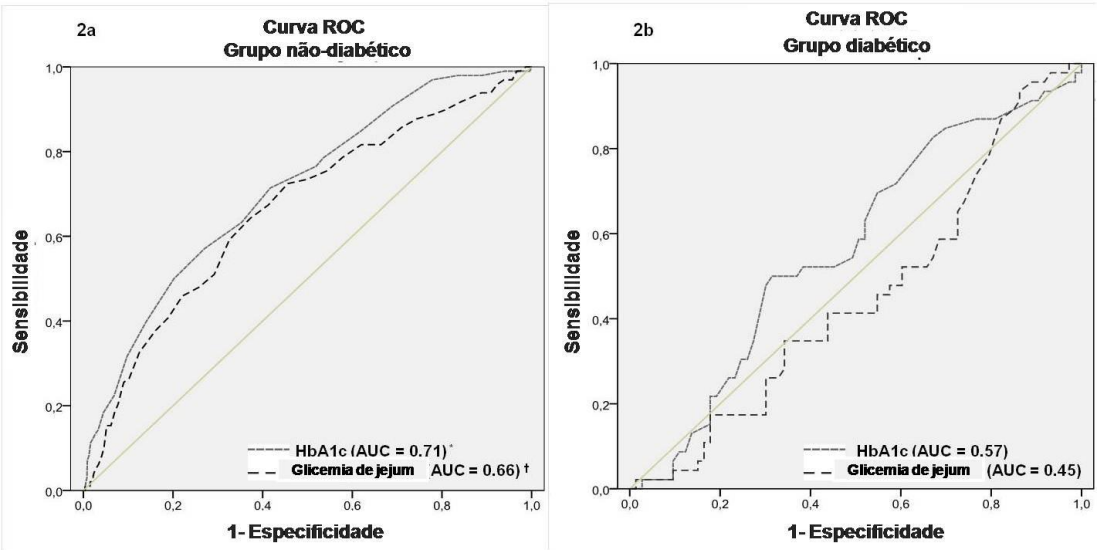

Figura 9: Área sob a curva ROC (AUC-ROC) - 2a (grupo não-diabético) e 2b (grupo diabético). Comparação do poder discriminatório da HbA1c e da glicemia de jejum na determinação do risco para rigidez arterial aumentada entre os grupos diabético e não-diabético. *AUC da HbA1c no grupo não-diabético versus grupo diabético (p = 0,02). †AUC da glicemia de jejum no grupo não-diabético versus grupo diabético (p = 0,0007).

4.3 Associação do perfil lipídico com o fenótipo de rigidez arterial

Os dados estratificados por sexo referentes à idade, IMC, glicemia de jejum, VOP, CT, HDL-c, LDL-c, não-HDL-c, triglicérides, PAS, PAD e os percentuais de indivíduos com hipertensão, diabetes e rigidez arterial aumentada estão sumarizados na tabela 6.

Tabela 6 - Características gerais da população estratifica por gênero.

Características	Homem	Mulher	*p*-valor
N (%)	715 (43%)	960 (57%)	
idade, anos	45,5 ± 17,4	44,8 ± 16,6	0,42
IMC, Kg/m^2	25,7 ± 14,2	26,4 ± 5,0	<0,001
Glicemia de jejum, mg/dL	92,9 ± 18,7	93,1 ± 22,6	0,80
Hipertensão (%)	36,3	37,6	0,14
Diabetes (%)	6,0	10,2	<0,001
Rigidez arterial aumentada (%)	10,9	7,7	0,04
PAS, mmHg	130,2 ± 15,3	122,3 ± 16,4	<0,001
PAD, mmHg	77,0 ± 10,1	74,9 ± 9,7	0,001
VOP, m/s	8,0 ± 1,7	7,6 ± 1,6	<0,001
CT, mg/dL	194,7 ± 41,2	200,4 ± 40,4	0,003
HDL-C, mg/dL	43,7 ± 10,6	49,7 ± 11,7	<0,001
LDL-C, mg/dL	123,5 ± 35,5	124,8 ± 35,4	0,42
Não-HDL-C, mg/dL	151,0 ± 41,3	150,7 ± 40,1	0,85
TG, mg/dL	139,6 ± 93,9	129,2 ± 64,8	0,004

IMC, índice de massa corporal; VOP, velocidade de onda de pulso; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; CT, colesterol total; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; TG, triglicérides.

Hipertensão: pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão diastólica ≥ 90 mmHg ou uso de drogas anti-hipertensivas.

Diabetes: glicemia de jejum ≥ 126mg/dL e/ou uso de drogas hipoglicemiantes.

Rigidez arterial aumentada: velocidade da onda de pulso (VOP) ≥ 10m/s.

Variáveis contínuas estão expressas como média ± desvio padrão.

Variáveis categóricas estão expressas como porcentagem.

Os coeficientes da correlação de *Spearman* estão sumarizados na tabela 7. Todas as variáveis lipídicas foram significativamente correlacionadas com a VOP no grupo das mulheres. Entretanto, no grupo dos homens, somente CT, não HDL-c e LDL-c foram significantemente correlacionados. Embora significantes, todos os coeficientes de correlação foram considerados fracos (r ≤ 0,27).

Tabela 7 - Matriz de correlação entre CT, HDL, Não-HDL, LDL, TG e VOP

Variáveis	CT	HDL	Não - HDL	LDL	TG	VOP
Homens						
CT	1	0,14*	0,97*	0,94*	0,40*	**0,12***
HDL	0,14*	1	- 0,11*	0,01	- 0,30*	**0,03**
Não - HDL	0,97*	- 0,11*	1	0,95*	0,47*	**0,11***
LDL	0,94*	0,01	0,95*	1	0,18*	**0,10***
TG	0,40*	- 0,30*	0,47*	0,18*	1	**0,07**
VOP	0,12*	0,03	0,11*	0,10*	0,07	**1**
Mulheres						
CT	1	0,17*	0,96*	0,94*	0,41*	**0,19***
HDL	0,17*	1	- 0,12*	- 0,05	- 0,26*	**- 0,10***
Não - HDL	0.96*	- 0,12*	1	0,96*	0,49*	**0,23***
LDL	0,94*	- 0,05	0,96*	1	0,23*	**0,16***
TG	0,41*	- 0,26*	0,49*	0,23*	1	**0,27***
VOP	0,19*	- 0,10*	0,23*	0,16*	0,27*	**1**

velocidade de onda de pulso; CT, colesterol total; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; TG, triglicérides.

*Nível de significância de p ≤ 0,01.

Em um modelo de regressão linear utilizando a VOP como variável dependente e ajustado para idade e PAM foi demonstrado que CT, não-HDL-c, LDL-c e TG eram inversamente relacionados com a VOP no grupo dos homens. Entretanto, no grupo das mulheres somente o HDL-c se mostrou relacionado à VOP (Tabela 8). Essa mesma análise estratificada para idade (ponto de corte de 45 anos) demonstrou que o CT, não-HDL-c e o LDL-c foram diretamente relacionados com a VOP em mulheres com idade $<$ 45 anos. Todavia, no grupo das mulheres mais velhas (idade ≥ 45 anos) o HDL-c e o LDL-c foram inversamente relacionados com a VOP. Finalmente, no grupo dos homens, nenhuma das variáveis lipídicas avaliadas foram relacionadas com a VOP, independentemente da idade (Tabela 9).

Tabela 8 - Modelo de regressão linear para valores da VOP estratificados por gênero e ajustado para idade e PAM.

Variáveis	β	Intervalo de confiança 95% Limite inferior	Limite superior	*p-valor*
Homens				
CT_{log}	- 0,10	- 1,246	- 0,333	**0,001**
HDL_{log}	0,02	- 0,317	0,525	0,627
Não - HDL_{log}	- 0,10	- 0,959	- 0,269	**0,001**
LDL_{log}	- 0,09	- 0,831	- 0,175	**0,003**
TG_{log}	- 0,07	- 0,438	- 0,042	**0,018**
Mulheres				
CT_{log}	- 0,04	- 0,652	0,053	0,096
HDL_{log}	- 0,06	- 0,707	- 0,128	**0,005**
Não - HDL_{log}	- 0,02	- 0,359	0,163	0,462
LDL_{log}	- 0,04	- 0,429	0,036	0,097
TG_{log}	0,03	- 0,038	0,280	0,135

CT_{log}, colesterol total; HDL-c_{log}, lipoproteína de alta densidade; LDL-c_{log}, lipoproteína de baixa densidade; TG_{log}, triglicérides.

Tabela 9 - Modelo de regressão linear para valores da VOP estratificados pela mediana da idade e ajustado para idade e PAM.

Variáveis	Homens		Mulheres	
< 45 anos	**β**	***p valor***	**β**	***p-valor***
CT_{log}	-0,05	0,29	0,09	**0,02**
HDL_{log}	0,02	0,66	-0,04	0,92
Não - HDL_{log}	- 0,06	0,29	0,10	**0,009**
LDL_{log}	-0,04	0,43	0,10	**0,008**
TG_{log}	-0,06	0,23	0,05	0,22
≥ 45 anos				
CT_{log}	-0,06	0,17	-0,06	0,07
HDL_{log}	-0,001	0,98	-0,12	**0,001**
Não - HDL_{log}	-0,06	0,16	-0,03	0,47
LDL_{log}	-0,06	0,19	-0,07	**0,04**
TG_{log}	-0,03	0,49	0,07	**0,03**

CT_{log}, colesterol total; HDL-c_{log}, lipoproteína de alta densidade; LDL-c_{log}, lipoproteína de baixa densidade; TG_{log}, triglicérides.

5 Discussão

5.0. DISCUSSÃO

Considerando os resultados apresentados na sessão anterior, segue abaixo a discussão estratificada para os seguintes pontos: herdabilidade da velocidade de onda de pulso; associação do controle glicêmico com o fenótipo de rigidez arterial; associação do perfil lipídico com o fenótipo de rigidez arterial.

5.1. Herdabilidade da Velocidade de Onda de Pulso

Nosso estudo estimou a herdabilidade da rigidez arterial em famílias de uma população brasileira. A estimativa da herdabilidade para a VOP variou de 0,11 a 0,26 e a proporção da variância fenotípica total atribuída ás covariáveis foi significativa quando se utilizou o modelo estatístico ajustado para PAM, idade, sexo e HbA1c.

Diversos estudos têm reportado a contribuição genética na modulação de fenótipos associados à rigidez arterial (115, 116). Nos anos 80, o *Bogalusa Heart Study* (117) demonstrou que o enrijecimento da artéria carótida era associada á história familiar de infarto agudo do miocárdio. Desde então, estudos utilizando inúmeras abordagens (*scans* de genoma inteiro, genes candidatos e estudos de associação de base familiar) têm suportado o relevante papel dos fatores genéticos na modulação de traços cardiovasculares. Os fenótipos de rigidez arterial são, em parte, herdáveis e independentes da pressão arterial e de outros fatores de risco cardiovascular. Nos últimos anos, alguns estudos têm estimado a

herdabilidade de vários fenótipos associados á complacência vascular, tais como índice de rigidez vascular (118), VOP tornozelo-braquial (119), distensibilidade da artéria carótida (118) e a VOP carótida-femoral (104).

A herdabilidade é uma ferramenta útil para quantificar a contribuição de componentes genéticos na variabilidade fenotípica total de um determinado traço. Assim, baixos valores de herdabilidade indicam que o fenótipo investigado é fortemente modulado por fatores ambientais, e portanto, pode não ser interessante um investimento maciço em estudos de associação genética. Estudos envolvendo fenótipos de rigidez arterial têm demonstrado uma herdabilidade moderada (0,21 a 0,66). Medda et al. (120), estudando 348 gêmeos adultos do *Italian Twin Register,* demonstraram que a herdabilidade da VOP aórtica foi de 0,49. Corroborando tais resultados, Tarnoki et al. (121), estudando 228 pares de gêmeos monozigóticos e 150 pares de gêmeos dizigóticos provenientes da Itália, Hungria e Estados Unidos, demonstraram que a herdabilidade da VOP aórtica foi de 0,45. Em um outro estudo utilizando metodologia semelhante, Cecelja et al. (122), estudando 900 mulheres da *Twins UK cohort*, demonstraram que a herdabilidade da VOP aórtica foi de 0,38. Além disso, o efeito da raça e do gênero nos valores da herdabilidade também foram avaliados. Ge et al. (123), estudando 702 gêmeos do *Georgia Cardiovascular Twin Study,* demonstraram que a herdabilidade da VOP aórtica-pediosa e da VOP aórtica-radial foi de 0,53 e 0,43, respectivamente. Todos os estudos apresentados anteriormente foram conduzidos com uma população de gêmeos e a VOP, mensurada em diferentes seguimentos vasculares (aorta,

radial, pediosa), foi usada como método padrão na avaliação da rigidez arterial.

Em nosso estudo, a herdabilidade da VOP carótida-femoral, ajustada para idade, gênero, PAM e HbA1c foi de 0,26. Corroborando nossos resultados, Sayed-Tabatabaei et al. (104), estudando 930 indivíduos pertencentes a um único pedigree do *Erasmus Rucphen Family Study*, demonstraram que a herdabilidade da VOP carotida-femoral foi de 0,26. Em outro estudo de base familiar, Mitchell et al. (102), estudando 1480 participantes divididos em 817 pedigrees do *Framingham study offspring cohort,* demonstraram que a herdabilidade da VOP carótida-femoral era moderada (0,40). Semelhantemente ao nosso estudo, ambas as coortes (*Erasmus Rucphen Family Study* e *Framingham Study Offsping*) são estudos de base familiar e a VOP carótida-femoral foi utilizada como método padrão para avaliação da rigidez arterial.

Apesar de algumas semelhanças, existem algumas diferenças que podem explicar, em parte, os diferentes resultados. Nosso estudo estimou a herdabilidade da VOP carótida-femoral em 1675 indivíduos pertencentes a 109 famílias (média de 15 indivíduos / família) e o *Erasmus Rucphen Family Study* (104) avaliou 930 indivíduos pertencentes a uma única família. Em ambos os estudos existem famílias com mais de duas gerações e a VOP carótida-femoral foi mensurada pelo mesmo equipamento (Complior SP). Contudo, o *Framingham Study Offsping* (102) consiste de pequenos pedigrees formados por pais e filhos e a VOP carótida-femoral foi

mensurada por um equipamento distinto ao que foi usado em nosso protocolo.

Nosso estudo apresenta uma limitação. Devido ao grande número de protocolos e participantes, nós optamos por realizar somente uma mensuração da VOP carótida-femoral para cada indivíduo. Entretanto, nós usamos como controle de qualidade valores de tolerância inferior a 5%.

Em suma, nós concluímos que a herdabilidade da VOP carótida-femoral em um população brasileira foi intermediária (0,26) quando adequadamente ajustada para os efeitos de covariáveis. Portanto, estudos genéticos envolvendo fenótipos relacionados á rigidez arterial devem ser encorajados em populações brasileiras.

5.2. Associação do controle glicêmico com o fenótipo de rigidez arterial

O principal achado do nosso estudo foi a associação entre HbA1c e rigidez arterial aumentada em uma população brasileira, onde a elevação de uma unidade percentual da HbA1c representou um aumento de 54% no *odds* para rigidez arterial aumentada, mesmo após ajuste para variáveis de confusão tais como idade, PAM, IMC, sexo e glicemia de jejum. Além disso, a HbA1c apresentou um significativo poder discriminatório na determinação do risco para rigidez arterial aumentada nos indivíduos não-diabéticos.

Diversos estudos têm demonstrado que a HbA1c é um importante preditor de risco cardiovascular em indivíduos diabéticos (124) e não-

diabéticos (93). Em relação a associação da HbA1c com fenótipos de rigidez arterial, Teoh et al. (125), estudando 860 indivíduos do *Edinburgh Type 2 Diabetes study*, demonstraram que a VOP foi associada ao aumento da HbA1c somente no grupo cuja média da HbA1c foi igual ou superior a 7.6%. Matsumae et al. (94), estudando 242 pacientes diabéticos e não-diabéticos em hemodiálise, demonstraram que o nível de HbA1c foi um determinante independente para rigidez arterial aumentada em ambos os grupos. Corroborando tais resultados, Liang et al. (93), estudando 5.098 chineses não-diabéticos, demonstraram que os níveis de HbA1c eram significantemente associados com a tendência de aumento da VOP de forma dose dependente. Em nosso estudo, HbA1c também foi associada à VOP, onde a elevação de uma unidade percentual da HbA1c representou um aumento de 54% no *odds* para rigidez arterial aumentada, mesmo após ajuste para variáveis de confusão tais como idade, PAM, IMC, sexo e glicemia de jejum. Além disso, nosso trabalho também demonstrou que os níveis de HbA1c foram associados com a tendência de aumento da VOP de forma dose dependente, em indivíduos com idade superior a 52 anos (terceiro tercil). Entretanto, diferentemente dos estudos apresentados anteriormente, nossa amostra é composta de indivíduos pertencentes a uma população geral, onde os sujeitos apresentam diversas condições clínicas (saudáveis, diabéticos, hipertensos, obesos etc.)

O uso da HbA1c como marcador de controle glicêmico e de risco cardiovascular é amplamente aceito em pacientes diabéticos (124) e sua aplicação clinica em indivíduos não-diabéticos ainda não tem grande

relevância. Entretanto, diversos estudos têm demonstrado o papel da HbA1c no risco cardiovascular em indivíduos não-diabéticos (92, 93), nos quais ampliam a discussão sobre o uso do HbA1c como um marcador de risco cardiovascular em indivíduos de uma população geral. Em nosso estudo, a HbA1c demonstrou um significante poder discriminatório na determinação do risco para rigidez arterial aumentada nos indivíduos não-diabéticos quando comparados aos diabéticos. Esses dados demonstram que a HbA1c pode ser um importante determinante do risco para rigidez arterial aumentada em indivíduos não-diabéticos.

A associação entre a excessiva exposição à elevados níveis de glicose, determinada via HbA1c, e rigidez arterial elevada pode ser explicada por diversos mecanismos tais como: elevada formação de AGEs, disfunção endotelial associada ao estresse oxidativo, redução da biodisponibilidade de óxido nítrico e indução da inflamação (95-97). Todos esses mecanismos podem contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Numerosos estudos têm demonstrado a superioridade da HbA1c em relação à glicemia de jejum, como preditor de risco cardiovascular (93, 96). No presente estudo, a analise de regressão logística multivariada demonstrou que a HbA1c tem um maior *odds* para rigidez arterial aumentada quando comparada á glicemia de jejum em indivíduos da população geral. Entretanto, em relação ao poder discriminatório na determinação do risco para rigidez arterial aumentada, ambos os índices (HbA1c e glicemia de jejum) apresentaram resultados semelhantes, independentemente da presença ou ausência de diabetes.

Nosso estudo apresenta duas limitações que merecerem ser destacadas. Primeira, trata-se de um estudo transversal. Portanto a relação causal entre rigidez arterial aumentada e níveis de HbA1c não pode ser estabelecida. Segunda, em relação a mensuração da HbA1c, alguns fatores tais como insuficiência renal e uremia poderiam influenciar as análises (126). Entretanto, como nosso estudo é parte de uma amostra composta por indivíduos da população geral e com baixa média de idade, pensamos que estes fatores não sejam suficientes para modificarem nossos resultados, devido a baixa prevalência dessas duas condições em nossa coorte.

Sumarizando, nossos achados indicam que níveis elevados de HbA1c estão associados com rigidez arterial aumentada, e que ambos, HbA1c e glicemia de jejum, apresentam significante poder discriminatório na determinação do risco para rigidez arterial aumentada em indivíduos não-diabéticos. Dessa forma, nós sugerimos que um pobre controle glicêmico poderia desencadear disfunção vascular em indivíduos de uma população brasileira.

5.3. Associação do perfil lipídico com o fenótipo de rigidez arterial

O principal achado do nosso estudo foi a relação inversa entre os valores de LDL-c e VOP nas mulheres mais velhas (idade ≥ 45 anos) e a relação direta entre os valores de LDL-c e VOP nas mulheres mais jovens (idade < 45 anos).

A rigidez arterial aumentada é um importante determinante de risco cardiovascular(83) e prévios estudos têm demonstrado a associação entre hipercolesterolemia e aumento da rigidez vascular (84, 127). Embora exista associação entre perfil lipídico inadequado e rigidez arterial aumentada, alguns estudos na literatura apresentam resultados controversos. Lehmann et al. (86) demonstraram que crianças heterozigotas para hipercolesterolemia familiar apresentaram maior distensibilidade da artéria aorta. Em outro estudo, Namekata et al. (128), demonstraram que homens com hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia tinham menor rigidez arterial que o grupo de homens sem fatores de risco.

Embora controversos, os resultados apresentados acima podem ser explicados por alguns mecanismos relacionados ao processo aterosclerótico. Estudos post-mortem, avaliando aterosclerose e seus fatores de risco (129-131), demonstraram que pessoas com elevados níveis de CT e não-HDL-c apresentavam abundantes células espumosas, derivadas de macrófagos, com baixas concentrações de colágeno durante o estágio inicial da aterosclerose. Contudo, a presença de outros fatores de risco como diabetes, hipertensão e tabagismo promovem a proliferação de tecidos ricos em colágeno e com baixa concentração de células espumosas (129, 131, 132). Portanto, as mudanças estruturais dos vasos durante os estágios iniciais do processo aterosclerótico, engatilhado pela hipercolesterolemia, podem gerar um amolecimento da parede vascular resultando em menor rigidez arterial.

Em nosso estudo, o LDL-c se mostrou inversamente relacionado com os valores da VOP em homens (somente nas análises não estratificadas para idade) e nas mulheres mais velhas (idade ≥ 45 anos). Diferentemente, nas mulheres mais jovens (idade < 45 anos) o LDL-c foi diretamente relacionado com a VOP. Essa grande discrepância na associação do LDL-c com a VOP em mulheres de diferentes faixas etárias pode ser explicada pelas mudanças hormonais engatilhadas pela falência ovariana. Estima-se que 90% das mulheres entram na menopausa entre 45 e 55 anos de idade (133). Estudos experimentais têm demonstrado que o estrógeno é altamente efetivo em prevenir a oxidação de LDL-c e VLDL-c (134). Além disso, a produção endógena de estrógeno em mulheres na pré-menopausa está intimamente associada a baixos níveis de LDL-c e a altos níveis de HDL-c (135). Assim, nós poderíamos sugerir que o aumento dos níveis de LDL-c relacionados à baixa produção de estrógeno nas mulheres mais velhas (idade ≥ 45 anos) engatilharia alterações vasculares associadas aos estágios iniciais da aterosclerose, tais como a diminuição da rigidez arterial.

A associação entre perfil lipídico e rigidez arterial é bastante controversa. Cecelja & Choweinczyk (54) reportaram por meio de uma revisão sistemática que somente 10% dos estudos apresentaram associação significativa entre níveis lipídicos e rigidez arterial, mensurada pela VOP carotida-femoral. Ademais, a comparação dos nossos resultados com os prévios estudos descritos na literatura apresenta algumas limitações devido a grande variedade de métodos utilizados na avaliação da rigidez arterial e os distintos métodos estatísticos empregados nas análises.

Nosso estudo apresenta algumas limitações. Primeira, nós não dosamos o hormônio folículo estimulante (FSH), portanto, nós não fizemos o diagnóstico laboratorial da falência ovariana. Segunda, nós não temos informações sobre o uso de técnicas de reposição hormonal por parte das mulheres mais velhas (idade ≥ 45 anos).

Sumarizando, as variáveis associadas ao perfil lipídico demonstraram uma fraca correlação com o fenótipo de rigidez arterial. Além disso, o LDL-c foi inversamente relacionado com os valores da VOP nas mulheres mais velhas. Finalmente, é possível sugerir que os níveis de LDL-c podem ser inversamente relacionados com rigidez arterial, principalmente em mulheres com algum grau de falência ovariana.

6 Conclusão

Os resultados do presente estudo referentes à herdabilidade da VOP e a associação do controle glicêmico e do perfil lipídico com o fenótipo de rigidez arterial em uma população brasileira nos permitem as seguintes conclusões:

1) A herdabilidade da VOP na população estudada foi classificada como intermediária (26%), mesmo ajustada adequadamente para os efeitos de covariáveis. Esse resultando foi semelhante ao descrito em outros estudos com desenhos metodológicos semelhantes ao nosso.

2) Elevados níveis de HbA1c foram associados com a rigidez arterial aumentada e tanto a HbA1c quanto a glicemia de jejum apresentaram maior poder discriminatório na avaliação de risco para rigidez arterial aumentada no grupo de indivíduos não-diabéticos. Portanto, podemos sugerir que a elevação dos níveis de HbA1c, mesmo dentro dos valores de normalidade, poderia desencadear disfunção vascular em indivíduos da população estudada.

3) As variáveis associadas ao perfil lipídico demonstraram fraca correlação com a VOP. Alem disso, o LDL-c foi inversamente relacionado com os valores da VOP em mulheres com idade igual ou superior a 45 anos. Portanto, é possível sugerir que a elevação dos níveis de LDL-c associados à falência ovariana, presente na grande maioria das mulheres entre 45 e 55 anos, poderia resultar em uma redução da rigidez arterial, principalmente nos estágios iniciais do processo aterosclerótico.

7 Referências

7.0. REFERÊNCIAS

1. Murray CJ, Lopez AD, Jamison DT. The global burden of disease in 1990: summary results, sensitivity analysis and future directions. *Bulletin of the World Health Organization*. 1994;72(3):495-509.

2. Lopez AD. Assessing the burden of mortality from cardiovascular diseases. *World Health Stat Q*. 1993;46(2):91-6.

3. WHO. Cardiovascular diseases. Switzerland: World health Organization; 2012 [cited 2015 2 Nov]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/.

4. Bocchi EA, Marcondes-Braga FG, Bacal F, Ferraz AS, Albuquerque D, Rodrigues Dde A, et al. [Updating of the Brazilian guideline for chronic heart failure - 2012]. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2012;98(1 Suppl 1):1-33.

5. Leal J, Luengo-Fernandez R, Gray A, Petersen S, Rayner M. Economic burden of cardiovascular diseases in the enlarged European Union. *Eur Heart J*. 2006;27(13):1610-9.

6. Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, et al. Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2006;113(6):e85-151.

7. Zhang Y, Agnoletti D, Xu Y, Wang JG, Blacher J, Safar ME. Carotid-femoral pulse wave velocity in the elderly. *J Hypertens*. 2014;32(8):1572-6; discussion 6.

8. de Oliveira Alvim R, Santos PC, Musso MM, de Sa Cunha R, Krieger JE, Mill JG, et al. Impact of diabetes mellitus on arterial stiffness in a representative sample of an urban Brazilian population. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2013;5(1):45.

9. van Popele NM, Grobbee DE, Bots ML, Asmar R, Topouchian J, Reneman RS, et al. Association between arterial stiffness and atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2001;32(2):454-60.

10. Chue CD, Townend JN, Steeds RP, Ferro CJ. Arterial stiffness in chronic kidney disease: causes and consequences. *Heart*. 2010;96(11):817-23.

11. *Update* AHA*HaSS*-. Dallas, TX: American Heart Association;2002.

12. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289(19):2560-72.

13. Scuteri A, Najjar SS, Muller DC, Andres R, Hougaku H, Metter EJ, et al. Metabolic syndrome amplifies the age-associated increases in vascular thickness and stiffness. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(8):1388-95.

14. Dart AM, Kingwell BA. Pulse pressure--a review of mechanisms and clinical relevance. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(4):975-84.

15. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation*. 2003;107(1):139-46.

16. Collins AJ, Li S, Gilbertson DT, Liu J, Chen SC, Herzog CA. Chronic kidney disease and cardiovascular disease in the Medicare population. *Kidney Int Suppl*. 2003(87):S24-31.

17. Nichols WWaOR, M. F. McDonald's Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental and Clinical Principles1998.

18. Girerd X, Laurent S, Pannier B, Asmar R, Safar M. Arterial distensibility and left ventricular hypertrophy in patients with sustained essential hypertension. *Am Heart J*. 1991;122(4 Pt 2):1210-4.

19. Fukuda D, Yoshiyama M, Shimada K, Yamashita H, Ehara S, Nakamura Y, et al. Relation between aortic stiffness and coronary flow reserve in patients with coronary artery disease. *Heart*. 2006;92(6):759-62.

20. Leung MC, Meredith IT, Cameron JD. Aortic stiffness affects the coronary blood flow response to percutaneous coronary intervention. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290(2):H624-30.

21. O'Rourke MF. Basic concepts for the understanding of large arteries in hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1985;7 Suppl 2:S14-21.

22. Van Bortel L. Focus on small artery stiffness. *J Hypertens*. 2002;20(9):1707-9.

23. Wolinsky H, Glagov S. Structural Basis for the Static Mechanical Properties of the Aortic Media. *Circ Res*. 1964;14:400-13.

24. Zieman SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(5):932-43.

25. Johnson CP, Baugh R, Wilson CA, Burns J. Age related changes in the tunica media of the vertebral artery: implications for the assessment of vessels injured by trauma. *J Clin Pathol*. 2001;54(2):139-45.

26. Oliver JJ, Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(4):554-66.

27. Blacher J, Asmar R, Djane S, London GM, Safar ME. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension*. 1999;33(5):1111-7.

28. London GM, Marchais SJ, Safar ME, Genest AF, Guerin AP, Metivier F, et al. Aortic and large artery compliance in end-stage renal failure. *Kidney Int*. 1990;37(1):137-42.

29. Toto-Moukouo JJ, Achimastos A, Asmar RG, Hugues CJ, Safar ME. Pulse wave velocity in patients with obesity and hypertension. *Am Heart J*. 1986;112(1):136-40.

30. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*.55(13):1318-27.

31. Sakuragi S, Abhayaratna WP. Arterial stiffness: methods of measurement, physiologic determinants and prediction of cardiovascular outcomes. *Int J Cardiol*.138(2):112-8.

32. Gates PE, Tanaka H, Hiatt WR, Seals DR. Dietary sodium restriction rapidly improves large elastic artery compliance in older adults with systolic hypertension. *Hypertension*. 2004;44(1):35-41.

33. Endes S, Schaffner E, Caviezel S, Dratva J, Autenrieth CS, Wanner M, et al. Physical activity is associated with lower arterial stiffness in older adults: results of the SAPALDIA 3 Cohort Study. *European journal of epidemiology*. 2015.

34. Tanaka H, Dinenno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation*. 2000;102(11):1270-5.

35. Jatoi NA, Jerrard-Dunne P, Feely J, Mahmud A. Impact of smoking and smoking cessation on arterial stiffness and aortic wave reflection in hypertension. *Hypertension*. 2007;49(5):981-5.

36. Sierksma A, Lebrun CE, van der Schouw YT, Grobbee DE, Lamberts SW, Hendriks HF, et al. Alcohol consumption in relation to aortic stiffness

and aortic wave reflections: a cross-sectional study in healthy postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(2):342-8.

37. Nestel P, Shige H, Pomeroy S, Cehun M, Abbey M, Raederstorff D. The n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliance in humans. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(2):326-30.

38. Teede HJ, McGrath BP, DeSilva L, Cehun M, Fassoulakis A, Nestel PJ. Isoflavones reduce arterial stiffness: a placebo-controlled study in men and postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(6):1066-71.

39. Kim JH, Oh SJ, Lee JM, Hong EG, Yu JM, Han KA, et al. The effect of an Angiotensin receptor blocker on arterial stiffness in type 2 diabetes mellitus patients with hypertension. *Diabetes Metab J*.35(3):236-42.

40. Mahmud A, Feely J. Antihypertensive drugs and arterial stiffness. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2003;1(1):65-78.

41. Morgan T, Lauri J, Bertram D, Anderson A. Effect of different antihypertensive drug classes on central aortic pressure. *Am J Hypertens*. 2004;17(2):118-23.

42. Davenport C, Ashley DT, O'Sullivan EP, McHenry CM, Agha A, Thompson CJ, et al. The Effects of Atorvastatin on Arterial Stiffness in Male Patients with Type 2 Diabetes. *Journal of diabetes research*. 2015;2015:846807.

43. Kanaki AI, Sarafidis PA, Georgianos PI, Kanavos K, Tziolas IM, Zebekakis PE, et al. Effects of low-dose atorvastatin on arterial stiffness and central aortic pressure augmentation in patients with hypertension and hypercholesterolemia. *Am J Hypertens*. 2013;26(5):608-16.

44. Benetos A, Laurent S, Hoeks AP, Boutouyrie PH, Safar ME. Arterial alterations with aging and high blood pressure. A noninvasive study of carotid and femoral arteries. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology / American Heart Association*. 1993;13(1):90-7.

45. Wilkinson IB, Prasad K, Hall IR, Thomas A, MacCallum H, Webb DJ, et al. Increased central pulse pressure and augmentation index in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(6):1005-11.

46. Strasser B, Arvandi M, Pasha EP, Haley AP, Stanforth P, Tanaka H. Abdominal obesity is associated with arterial stiffness in middle-aged adults. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2015;25(5):495-502.

47. Hae Guen S, Eung Ju K, Hong Seog S, Seong Hwan K, Chang Gyu P, Seong Woo H, et al. Relative contributions of different cardiovascular risk factors to significant arterial stiffness. *Int J Cardiol*. 2010;139(3):263-8.

48. Mitchell GF, Wang N, Palmisano JN, Larson MG, Hamburg NM, Vita JA, et al. Hemodynamic correlates of blood pressure across the adult age spectrum: noninvasive evaluation in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2010;122(14):1379-86.

49. Choi CU, Kim EJ, Kim SH, Shin SY, Choi UJ, Kim JW, et al. Differing effects of aging on central and peripheral blood pressures and pulse wave velocity: a direct intraarterial study. *J Hypertens*. 2010;28(6):1252-60.

50. Hickson SS, Butlin M, Graves M, Taviani V, Avolio AP, McEniery CM, et al. The relationship of age with regional aortic stiffness and diameter. *JACC Cardiovascular imaging*. 2010;3(12):1247-55.

51. Taviani V, Hickson SS, Hardy CJ, McEniery CM, Patterson AJ, Gillard JH, et al. Age-related changes of regional pulse wave velocity in the descending aorta using Fourier velocity encoded M-mode. *Magnetic resonance in medicine*. 2011;65(1):261-8.

52. Barnes JN, Hart EC, Curry TB, Nicholson WT, Eisenach JH, Wallin BG, et al. Aging enhances autonomic support of blood pressure in women. *Hypertension*. 2014;63(2):303-8.

53. Zubcevic J, Jun JY, Kim S, Perez PD, Afzal A, Shan Z, et al. Altered inflammatory response is associated with an impaired autonomic input to the bone marrow in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 2014;63(3):542-50.

54. Cecelja M, Chowienczyk P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: a systematic review. *Hypertension*. 2009;54(6):1328-36.

55. McEniery CM, Spratt M, Munnery M, Yarnell J, Lowe GD, Rumley A, et al. An analysis of prospective risk factors for aortic stiffness in men: 20-year follow-up from the Caerphilly prospective study. *Hypertension*. 2010;56(1):36-43.

56. Dernellis J, Panaretou M. Aortic stiffness is an independent predictor of progression to hypertension in nonhypertensive subjects. *Hypertension*. 2005;45(3):426-31.

57. Kaess BM, Rong J, Larson MG, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, et al. Aortic stiffness, blood pressure progression, and incident hypertension. *JAMA*. 2012;308(9):875-81.

58. O'Rourke MF, Staessen JA, Vlachopoulos C, Duprez D, Plante GE. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. *Am J Hypertens*. 2002;15(5):426-44.

59. Chen Y, Huang Y, Li X, Xu M, Bi Y, Zhang Y, et al. Association of arterial stiffness with HbA1c in 1,000 type 2 diabetic patients with or without hypertension. *Endocrine*. 2009;36(2):262-7.

60. Lukich E, Matas Z, Boaz M, Shargorodsky M. Increasing derangement of glucose homeostasis is associated with increased arterial stiffness in patients with diabetes, impaired fasting glucose and normal controls. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2010;26(5):365-70.

61. Vyssoulis G, Pietri P, Vlachopoulos C, Alexopoulos N, Kyvelou SM, Terentes-Printzios D, et al. Early adverse effect of abnormal glucose metabolism on arterial stiffness in drug naive hypertensive patients. *Diabetes & vascular disease research*. 2012;9(1):18-24.

62. Aronson D. Cross-linking of glycated collagen in the pathogenesis of arterial and myocardial stiffening of aging and diabetes. *J Hypertens*. 2003;21(1):3-12.

63. Mazzone T, Chait A, Plutzky J. Cardiovascular disease risk in type 2 diabetes mellitus: insights from mechanistic studies. *Lancet*. 2008;371(9626):1800-9.

64. McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, et al. Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1992;35(8):771-6.

65. Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285(19):2486-97.

66. Chan WB, Tong PC, Chow CC, So WY, Ng MC, Ma RC, et al. Triglyceride predicts cardiovascular mortality and its relationship with glycaemia and obesity in Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2005;21(2):183-8.

67. de Freitas EV, Brandao AA, Pozzan R, Magalhaes ME, Fonseca F, Pizzi O, et al. Importance of high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) levels to the incidence of cardiovascular disease (CVD) in the elderly. *Archives of gerontology and geriatrics*. 2011;52(2):217-22.

68. Hosseini-Esfahani F, Mousavi Nasl Khameneh A, Mirmiran P, Ghanbarian A, Azizi F. Trends in risk factors for cardiovascular disease among Iranian adolescents: the Tehran Lipid and Glucose Study, 1999-2008. *Journal of epidemiology / Japan Epidemiological Association*. 2011;21(5):319-28.

69. Milionis HJ, Elisaf MS, Mikhailidis DP. Lipid abnormalities and cardiovascular risk in the elderly. *Current medical research and opinion*. 2008;24(3):653-7.

70. Aviram M. Hyperlipidaemia and cardiovascular disease: inflammation and oxidative stress in diabetic patients. *Current opinion in lipidology*. 2009;20(3):258-9.

71. Maki-Petaja KM, Wilkinson IB. Anti-inflammatory drugs and statins for arterial stiffness reduction. *Current pharmaceutical design*. 2009;15(3):290-303.

72. Parthasarathy S, Raghavamenon A, Garelnabi MO, Santanam N. Oxidized low-density lipoprotein. *Methods in molecular biology*. 2010;610:403-17.

73. Homma S, Kato K, Hayashi J, Yamamoto M. Negative associations between arterial stiffness parameter evaluated by cardio-ankle vascular index and serum low-density lipoprotein cholesterol concentration in early-stage atherosclerosis. *Angiology*. 2015;66(2):143-9.

74. Wang F, Ye P, Luo L, Xiao W, Qi L, Bian S, et al. Association of serum lipids with arterial stiffness in a population-based study in Beijing. *European journal of clinical investigation*. 2011;41(9):929-36.

75. Leopold JA. Cellular and molecular mechanisms of arterial stiffness associated with obesity. *Hypertension*. 2013;62(6):1003-4.

76. Lewis CE, McTigue KM, Burke LE, Poirier P, Eckel RH, Howard BV, et al. Mortality, health outcomes, and body mass index in the overweight range: a science advisory from the American Heart Association. *Circulation*. 2009;119(25):3263-71.

77. Bastien M, Poirier P, Lemieux I, Despres JP. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Progress in cardiovascular diseases*. 2014;56(4):369-81.

78. Sutton-Tyrrell K, Newman A, Simonsick EM, Havlik R, Pahor M, Lakatta E, et al. Aortic stiffness is associated with visceral adiposity in older adults enrolled in the study of health, aging, and body composition. *Hypertension*. 2001;38(3):429-33.

79. van Popele NM, Westendorp IC, Bots ML, Reneman RS, Hoeks AP, Hofman A, et al. Variables of the insulin resistance syndrome are associated with reduced arterial distensibility in healthy non-diabetic middle-aged women. *Diabetologia*. 2000;43(5):665-72.

80. Wildman RP, Mackey RH, Bostom A, Thompson T, Sutton-Tyrrell K. Measures of obesity are associated with vascular stiffness in young and older adults. *Hypertension*. 2003;42(4):468-73.

81. Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, Varille V, Guy-Grand B, Sidi D, et al. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *Lancet*. 2001;358(9291):1400-4.

82. Ferreira I, Snijder MB, Twisk JW, van Mechelen W, Kemper HC, Seidell JC, et al. Central fat mass versus peripheral fat and lean mass: opposite (adverse versus favorable) associations with arterial stiffness? The Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(6):2632-9.

83. Arnett DK, Evans GW, Riley WA. Arterial stiffness: a new cardiovascular risk factor? *American journal of epidemiology*. 1994;140(8):669-82.

84. Wilkinson I, Cockcroft JR. Cholesterol, lipids and arterial stiffness. *Advances in cardiology*. 2007;44:261-77.

85. Riggio S, Mandraffino G, Sardo MA, Iudicello R, Camarda N, Imbalzano E, et al. Pulse wave velocity and augmentation index, but not intima-media thickness, are early indicators of vascular damage in hypercholesterolemic children. *European journal of clinical investigation*. 2010;40(3):250-7.

86. Lehmann ED, Watts GF, Fatemi-Langroudi B, Gosling RG. Aortic compliance in young patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Clinical science*. 1992;83(6):717-21.

87. Blankenhorn DH, Kramsch DM. Reversal of atherosis and sclerosis. The two components of atherosclerosis. *Circulation*. 1989;79(1):1-7.

88. Holewijn S, den Heijer M, Swinkels DW, Stalenhoef AF, de Graaf J. Apolipoprotein B, non-HDL cholesterol and LDL cholesterol for identifying individuals at increased cardiovascular risk. *Journal of internal medicine*. 2010;268(6):567-77.

89. Zhao W, Gong W, Wu N, Li Y, Ye K, Lu B, et al. Association of lipid profiles and the ratios with arterial stiffness in middle-aged and elderly Chinese. *Lipids in health and disease*. 2014;13:37.

90. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2014;37 Suppl 1:S81-90.

91. Sakurai M, Saitoh S, Miura K, Nakagawa H, Ohnishi H, Akasaka H, et al. HbA1c and the risks for all-cause and cardiovascular mortality in the general Japanese population: NIPPON DATA90. *Diabetes care*. 2013;36(11):3759-65.

92. Selvin E, Coresh J, Golden SH, Brancati FL, Folsom AR, Steffes MW. Glycemic control and coronary heart disease risk in persons with and without diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Archives of internal medicine*. 2005;165(16):1910-6.

93. Liang J, Zhou N, Teng F, Zou C, Xue Y, Yang M, et al. Hemoglobin A1c levels and aortic arterial stiffness: the Cardiometabolic Risk in Chinese (CRC) study. *PloS one*. 2012;7(8):e38485.

94. Matsumae T, Abe Y, Murakami G, Ueda K, Saito T. Effects of glucose metabolism on aortic pulse wave velocity in hemodialysis patients with and without diabetes. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2008;31(7):1365-72.

95. Shirwany NA, Zou MH. Arterial stiffness: a brief review. *Acta pharmacologica Sinica*. 2010;31(10):1267-76.

96. Selvin E, Steffes MW, Zhu H, Matsushita K, Wagenknecht L, Pankow J, et al. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. *The New England journal of medicine*. 2010;362(9):800-11.

97. Wendt T, Bucciarelli L, Qu W, Lu Y, Yan SF, Stern DM, et al. Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) and vascular inflammation: insights into the pathogenesis of macrovascular complications in diabetes. *Current atherosclerosis reports*. 2002;4(3):228-37.

98. Camp NJ, Hopkins PN, Hasstedt SJ, Coon H, Malhotra A, Cawthon RM, et al. Genome-wide multipoint parametric linkage analysis of pulse pressure in large, extended utah pedigrees. *Hypertension*. 2003;42(3):322-8.

99. DeStefano AL, Larson MG, Mitchell GF, Benjamin EJ, Vasan RS, Li J, et al. Genome-wide scan for pulse pressure in the National Heart, Lung and Blood Institute's Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004;44(2):152-5.

100. Atwood LD, Samollow PB, Hixson JE, Stern MP, MacCluer JW. Genome-wide linkage analysis of pulse pressure in Mexican Americans. *Hypertension*. 2001;37(2 Pt 2):425-8.

101. Levy D, Larson MG, Benjamin EJ, Newton-Cheh C, Wang TJ, Hwang SJ, et al. Framingham Heart Study 100K Project: genome-wide associations for blood pressure and arterial stiffness. *BMC medical genetics*. 2007;8 Suppl 1:S3.

102. Mitchell GF, DeStefano AL, Larson MG, Benjamin EJ, Chen MH, Vasan RS, et al. Heritability and a genome-wide linkage scan for arterial stiffness, wave reflection, and mean arterial pressure: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2005;112(2):194-9.

103. Tarnoki AD, Tarnoki DL, Stazi MA, Medda E, Cotichini R, Nistico L, et al. Heritability of central blood pressure and arterial stiffness: a twin study. *J Hypertens*. 2012;30(8):1564-71.

104. Sayed-Tabatabaei FA, van Rijn MJ, Schut AF, Aulchenko YS, Croes EA, Zillikens MC, et al. Heritability of the function and structure of the arterial wall: findings of the Erasmus Rucphen Family (ERF) study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2005;36(11):2351-6.

105. Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekamp MA, et al. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*. 2006;113(5):657-63.

106. De Angelis L, Millasseau SC, Smith A, Viberti G, Jones RH, Ritter JM, et al. Sex differences in age-related stiffening of the aorta in subjects with type 2 diabetes. *Hypertension*. 2004;44(1):67-71.

107. Guerin AP, Blacher J, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness attenuation on survival of patients in end-stage renal failure. *Circulation*. 2001;103(7):987-92.

108. Whincup PH, Gilg JA, Donald AE, Katterhorn M, Oliver C, Cook DG, et al. Arterial distensibility in adolescents: the influence of adiposity, the metabolic syndrome, and classic risk factors. *Circulation*. 2005;112(12):1789-97.

109. de Oliveira CM, Pereira AC, de Andrade M, Soler JM, Krieger JE. Heritability of cardiovascular risk factors in a Brazilian population: Baependi Heart Study. *BMC medical genetics*. 2008;9:32.

110. Cardiologia SBd. VI Diretriz Brasileira de Hipertensão. Rev Bras Hipertens2010.

111. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. *Hypertension*. 1995;26(3):485-90.

112. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens*. 2012;30(3):445-8.

113. Almasy L, Blangero J. Multipoint quantitative-trait linkage analysis in general pedigrees. *American journal of human genetics*. 1998;62(5):1198-211.

114. Almasy L, Blangero J. Variance component methods for analysis of complex phenotypes. *Cold Spring Harbor protocols*. 2010;2010(5):pdb top77.

115. Chen W, Srinivasan SR, Boerwinkle E, Berenson GS. Beta-adrenergic receptor genes are associated with arterial stiffness in black and white adults: the Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens*. 2007;20(12):1251-7.

116. Yasmin, McEniery CM, O'Shaughnessy KM, Harnett P, Arshad A, Wallace S, et al. Variation in the human matrix metalloproteinase-9 gene is associated with arterial stiffness in healthy individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(8):1799-805.

117. Riley WA, Freedman DS, Higgs NA, Barnes RW, Zinkgraf SA, Berenson GS. Decreased arterial elasticity associated with cardiovascular disease risk factors in the young. Bogalusa Heart Study. *Arteriosclerosis*. 1986;6(4):378-86.

118. Horvath T, Osztovits J, Pinter A, Littvay L, Cseh D, Tarnoki AD, et al. Genetic impact dominates over environmental effects in development of carotid artery stiffness: a twin study. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2014;37(1):88-93.

119. Lin CC, Peyser PA, Kardia SL, Li CI, Liu CS, Chu JS, et al. Heritability of cardiovascular risk factors in a Chinese population--Taichung Community Health Study and Family Cohort. *Atherosclerosis*. 2014;235(2):488-95.

120. Medda E, Fagnani C, Schillaci G, Tarnoki AD, Tarnoki DL, Baracchini C, et al. Heritability of arterial stiffness and carotid intima-media thickness: an Italian twin study. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2014;24(5):511-7.

121. Tarnoki AD, Tarnoki DL, Bogl LH, Medda E, Fagnani C, Nistico L, et al. Association of body mass index with arterial stiffness and blood pressure components: a twin study. *Atherosclerosis*. 2013;229(2):388-95.

122. Cecelja M, Jiang B, Bevan L, Frost ML, Spector TD, Chowienczyk PJ. Arterial stiffening relates to arterial calcification but not to noncalcified atheroma in women. A twin study. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(13):1480-6.

123. Ge D, Young TW, Wang X, Kapuku GK, Treiber FA, Snieder H. Heritability of arterial stiffness in black and white American youth and young adults. *Am J Hypertens*. 2007;20(10):1065-72.

124. Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Annals of internal medicine*. 2004;141(6):421-31.

125. Teoh WL, Price JF, Williamson RM, Payne RA, Van Look LA, Reynolds RM, et al. Metabolic parameters associated with arterial stiffness in older adults with Type 2 diabetes: the Edinburgh Type 2 diabetes study. *J Hypertens*. 2013;31(5):1010-7.

126. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clinical chemistry*. 2002;48(3):436-72.

127. Hopkins KD, Lehmann ED, Gosling RG, Parker JR, Sonksen PH. Biochemical correlates of aortic distensibility in vivo in normal subjects. *Clinical science*. 1993;84(6):593-7.

128. Namekata T, Suzuki K, Ishizuka N, Shirai K. Establishing baseline criteria of cardio-ankle vascular index as a new indicator of arteriosclerosis: a cross-sectional study. *BMC cardiovascular disorders*. 2011;11:51.

129. Homma S, Ishii T, Malcom GT, Zieske AW, Strong JP, Tsugane S, et al. Histopathological modifications of early atherosclerotic lesions by risk factors--findings in PDAY subjects. *Atherosclerosis*. 2001;156(2):389-99.

130. Homma S, Ishii T, Tsugane S, Hirose N. Different effects of hypertension and hypercholesterolemia on the natural history of aortic atherosclerosis by the stage of intimal lesions. *Atherosclerosis*. 1997;128(1):85-95.

131. Homma S, Troxclair DA, Zieske AW, Malcom GT, Strong JP, Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Research G. Histological changes and risk factor associations in type 2 atherosclerotic lesions (fatty streaks) in young adults. *Atherosclerosis*. 2011;219(1):184-90.

132. Zieske AW, McMahan CA, McGill HC, Jr., Homma S, Takei H, Malcom GT, et al. Smoking is associated with advanced coronary atherosclerosis in youth. *Atherosclerosis*. 2005;180(1):87-92.

133. Miro F, Parker SW, Aspinall LJ, Coley J, Perry PW, Ellis JE. Sequential classification of endocrine stages during reproductive aging in women: the FREEDOM study. *Menopause*. 2005;12(3):281-90.

134. Sugioka K, Shimosegawa Y, Nakano M. Estrogens as natural antioxidants of membrane phospholipid peroxidation. *FEBS letters*. 1987;210(1):37-9.

135. Knopp RH, Paramsothy P, Retzlaff BM, Fish B, Walden C, Dowdy A, et al. Sex differences in lipoprotein metabolism and dietary response: basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Current cardiology reports*. 2006;8(6):452-9.

8 Anexos

8.0. ANEXOS

8.1. ANEXO 1- CARTA APROVAÇÃO DO PROJETO NA CAPPESQ

HC FMUSP

Hospital das Clínicas da FMUSP SDC: 3485/10/024
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

A

Comissão Científica do Incor

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa-CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU** na sessão de 20.05.15 a execução do subprojeto intitulado **"Herdabilidade da velocidade de onda de pulso e associação do controle glicêmico e perfil lipídico com a rigidez arterial em uma população rural brasileira: Projeto Corações de Baependi "**, que será **tese de doutorado** do aluno **Rafael de Oliveira Alvim** tendo como orientador o **Prof. Dr. Alexandre Costa Pereira.**

O referido projeto faz parte do **Protocolo de Pesquisa nº 0494/10**, intitulado **"Mapeamento Genético e Herdabilidade de Fenótipos Cardiovasculares em Núcleos Familiares da População Brasileira: Projeto Corações de Baependi"**, aprovado por esta CAPPesq em 27/10/2010.

Pesquisador Responsável: José Eduardo Krieger

COMISSÃO CIENTÍFICA RECEBIDO 21 / 05 / 2015

CAPPesq, 20 de Maio de 2015

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
Fone: 55 11 3069-6442 ramais 16, 17, 18 e 20 - e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8.2. ANEXO 2 - ARTIGO PUBLICADO NO *DIABETOLOGY & METABOLI C SYNDROME.*

de Oliveira Alvim *et al. Diabetol Metab Syndr (2015) 7:86*
DOI 10.1186/s13098-015-0082-8

DIABETOLOGY & METABOLIC SYNDROME

RESEARCH Open Access

Glycemic control and arterial stiffness in a Brazilian rural population: Baependi Heart Study

Rafael de Oliveira Alvim[1*], Carlos Alberto Mourao-Junior[2], Camila Maciel de Oliveira[2], Rerisson de Faria Lima[1], Andréa Roseli Vançan Russo Horimoto[1], Valéria Aparecida Costa Hong[3], Luiz Aparecido Bortolotto[3], José Eduardo Krieger[1] and Alexandre Costa Pereira[1]

Abstract

Background: Increased arterial stiffness predicts morbidity and mortality, independently of other cardiovascular risk factors, and glycemic control impairments are related to higher vascular stiffness. The aim of this study was to evaluate the association between HbA1c levels and increased arterial stiffness in a Brazilian rural population.

Methods: For this study were selected 1675 individuals (both genders and aged over 18 years) resident in the municipality of Baependi, a city located in the Southeast of Brazil. HbA1c levels were determined by HPLC. Pulse wave velocity (PWV) was measured with a non-invasive automatic device (Complior).

Results: HbA1c levels were associated with an increased PWV. This was more relevant for the third tertile of age. In addition, logistic regression multivariate model including age, blood pressure, gender, BMI and fasting glucose showed that the elevation of a single unit percentage of HbA1c represented an increase of 54 % in the odds of increased arterial stiffness [OR 1.54 (95 % CI 1.01–2.17)]. Both, HbA1c and fasting glucose showed higher discriminatory power in the risk assessment for increased arterial stiffness in the non-diabetic when compared to the diabetic group (AUC of HbA1c = 0.71 vs 0.57, $p = 0.02$; AUC of fasting glucose = 0.66 vs 0.45, $p = 0.0007$, respectively).

Conclusion: Our findings indicate that a increase in HbA1c levels is associated with increased arterial stiffness and that both, HbA1c and fasting glucose, presented higher discriminatory power in the risk assessment for increased arterial stiffness in the non-diabetic group as compared to diabetic individuals.

Keywords: HbA1c, Arterial stiffness, Glycemic control

Background

Increased central arterial stiffness is an important determinant of cardiovascular disease (CVD) risk [1]. Epidemiological studies reported that increased arterial stiffness predicts morbidity and mortality, independently of other cardiovascular risk factors [1, 2]. Arterial stiffness measured through carotid-femoral pulse wave velocity (PWV)—a gold standard method—has been associated with measures of subclinical CVD [3]. Moreover, several clinical studies have shown that the arterial stiffness is strongly associated with age, blood pressure [4] and various pathological processes such as hypertension, metabolic syndrome, chronic renal disease, and diabetes [5–8].

Glycated hemoglobin (HbA1c) is a marker of glycemic control that reflects the average blood glucose level over a period of 2–3 months. In addition, the American Diabetes Association published clinical guidelines in which HbA1c level was recommended as a diagnostic test for diabetes [9]. The association between HbA1c levels and coronary heart disease risk has been demonstrated previously [10] and more recently, some studies have shown the association between HbA1c levels and arterial stiffness, measured

*Correspondence: alvimfaefid@ig.com.br
[1] Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 Cerqueira César, São Paulo, SP CEP 05403-000, Brazil
Full list of author information is available at the end of the article

BioMed Central

© 2015 de Oliveira Alvim et al. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

by PWV, in individuals with and without diabetes [11, 12] and in hemodialysis [13]. However, studies demonstrating the impact of HbA1c levels in the risk of increased arterial stiffness in the general population are sparse.

Based on this scenario and on the clinical applicability of measurements of HbA1c and arterial stiffness, the aim of this study was to evaluate the association between HbA1c levels and increased arterial stiffness in a Brazilian rural population.

Methods

Study population

The Baependi Heart Study is a genetic epidemiological study of cardiovascular disease risk factors, with a longitudinal design whose methodology has been previously described [14]. For this study we carried out a cross-sectional analysis of data collected in the second visit of the protocol (between 2010 and 2013). In this study we selected 1675 individuals (both genders and aged 18–102 years) distributed in 109 families resident in the municipality of Baependi, a city located in the Southeast of Brazil. The study protocol was approved by the ethics committee of the Hospital das Clínicas, University of São Paulo, Brazil, and each subject provided informed written consent before participation.

Anthropometrical Investigations

Anthropometric parameters were measured according to a standard protocol [14]. Height was measured in centimeters and weight in kilograms using a calibrated digital balance. Body mass index (BMI) was calculated as body weight (kg) divided by height squared (m^2).

Blood pressure measurements

Blood pressure was measured using a standard digital sphygmomanometer (OMRON, Brazil) on the left arm after 5 min rest, in the sitting position. Systolic (SBP) and diastolic blood pressures (DBP) were calculated from three readings (mean value of all measurements), with a minimal interval of 3 min [14]. Pulse pressure (PP) was calculated as difference between SBP and DBP. The mean blood pressure (MBP) was calculated as DBP plus one-third PP. Hypertension was defined as mean SBP ≥140 mmHg and/or DBP ≥90 mmHg and/or antihypertensive drug use [15].

Glucose and HbA1c measurements

Fasting glucose were evaluated by standard techniques in 12-h fasting blood samples [16]. HbA1c levels were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) (National Glycohemoglobin Standardization Program, USA). Diabetes mellitus was diagnosed by the presence of fasting glucose ≥126 mg/dL, HbA1c ≥6.5 %, or antidiabetic drug use.

PWV determination

Carotid–femoral PWV was measured noninvasively by an experienced observer using the *Complior SP*® (Artech Medical, Pantin, France). PWV was measurement after each participant had rested for 10–15 min in a supine position. One measurement was made for each participant using as quality control values of tolerance inferior to 5 %. The carotid artery and femoral artery pressure waveforms were recorded by simultaneous assessment of the pulse waves in the right common carotid and femoral arteries as described [17]. The PWV values were obtained based on the direct carotid–femoral distance, the values were then standardized to the 'real' carotid–femoral distance by multiplying by 0.8 according to recent recommendations [18]. Because this correction, increased arterial stiffness was defined as PWV ≥10 m/s [18].

Statistical analysis

Categorical variables were presented as percentage, while continuous variables were presented as mean ± SD. Since there is a well established cutoff for PWV in the literature, we carried out univariate and multivariate logistic regression analysis to determinate the association between HbA1c and increased arterial stiffness, setting PWV >10 m/s as dependent variable, and age, MBP, gender, BMI and glucose fasting as predictor variables. Test for linear trend (*Jonckheere–Terpstra test)* was performed by assigning median value for each tertile and treated as continuous variables. The receiver operating characteristic (ROC) curve was built and the area under ROC curve (AUC) was used to measure the discriminatory power in the risk assessment for increased arterial stiffness. Areas under the ROC curves between the markers were compared using a parametric method, with GraphROC for Windows software [19]. *Pearson* correlation coefficients were used to estimate associations between PWV and their confusion variables. Statistical analyses were carried out using SPSS (version 20) software (Chicago, IL, USA), with the level of significance set at 5 %.

Results

Demographic data of the study sample

Of the 1675 individuals, 151 (9.0 %) had increased arterial stiffness. The distribution of gender between normal (PWV <10 m/s) and increased (PWV ≥10 m/s) arterial stiffness groups was similar. Hypertension and diabetes frequencies were higher in increased arterial stiffness individuals (Table 1). In addition, demographic and clinical data such as age, BMI, SBP, DBP, MBP, PP, PWV, glucose and HbA1c also were higher in increased arterial stiffness individuals (Table 1).

Table 1 Characteristics of subjects stratified by increased arterial stiffness

Characteristics	PWV <10 m/s	PWV ≥10 m/s	*p* value
n	1524	151	*****
Age (years)	42.4 ± 15.3	67.4 ± 10.0	<0.001
Gender, male (%)	40.1	49.7	0.06
Diabetes (%)	5.0	30.5	<0.001
Hypertension (%)	32.9	84.1	<0.001
BMI (kg/m^2)	25.7 ± 4.8	29.2 ± 29.1	<0.001
SBP (mmHg)	123.7 ± 16.7	142.9 ± 17.2	<0.001
DBP (mmHg)	75.8 ± 10.1	78.3 ± 10.5	0.005
PP (mmHg)	47.9 ± 16.3	64.8 ± 14.6	<0.001
MBP (mmHg)	91.4 ± 10.3	101.7 ± 12.4	<0.001
PWV (m/s)	7.4 ± 1.1	11.7 ± 1.6	<0.001
Fasting glucose (mg/dL)	91.1 ± 17.5	103.5 ± 26.1	<0.001
HbA1c (%)	5.6 ± 0.7	6.3 ± 1.1	<0.001

Hypertension: systolic blood pressure ≥140 mmHg and/or diastolic blood pressure ≥90 mmHg or use of anti-hypertension drugs

Diabetes: fasting glucose ≥126 mg/dL and/or use of hypoglycemic drugs

Increased arterial stiffness: pulse wave velocity (PWV) ≥10 m/s

Continuous data are expressed as mean ± standard deviation

Categorical data are expressed as percentage

BMI body mass index, *PWV* pulse wave velocity, *SBP* systolic blood pressure, *DBP* diastolic blood pressure, *MBP* mean blood pressure, *PP* pulse pressure, *HbA1c* glycated hemoglobin

Correlations between PWV and covariables

Pearson correlation coefficients are summarized in Table 2. Age and MBP were the variables that showed the highest correlations with PWV (r = 0.68 and r = 0.46, respectively). In addition, among the variables associated with glycemic control, HbA1c showed a higher correlation with PWV when compared to fasting glucose (r = 0.34 vs r = 0.31, respectively).

Test for linear trend and association between HbA1c and increased arterial stiffness

HbA1c levels were associated with an increasing trend of PWV in a dose-dependent fashion. This was more pronounced in the third tertile of age (*p* for trend = 0.02) (Fig. 1). In this analysis, the difference in mean PWV values between the highest and the lowest tertiles of age was 2.44 m/s.

The univariate logistic regression analysis showed that the elevation of a single unit percentage of HbA1c represented an increase of 119 % in the odds of increased arterial stiffness [OR 2.19 (95 % CI 1.81–2.65)]. In the multivariate model including age, MBP, gender, BMI and fasting glucose, the elevation of a single unit percentage of HbA1c represented an increase of 54 % in the odds of increased arterial stiffness [OR 1.54 (95 % CI 1.01–2.17)] (Table 3).

Area under ROC curve of HbA1c and fasting glucose in the diabetic and non-diabetic group

In both, diabetic and non-diabetic groups, the discriminatory powers of HbA1c and fasting glucose in the risk assessment for increased arterial stiffness were not different (AUC = 0.71 vs 0.66, $p = 0.29$; AUC = 0.57 vs 0.45, p = 0.13, respectively). However, the AUC of HbA1c and AUC of fasting glucose were higher in the non-diabetic when compared to the diabetic group (AUC of HbA1c = 0.71 vs 0.57, $p = 0.02$; AUC of fasting glucose = 0.66 vs 0.45, p = 0.0007, respectively) (Fig. 2).

Discussion

The main finding of our study was the association between HbA1c with arterial stiffness in a Brazilian rural population in which the elevation of a single unit percentage of HbA1c represented an increase of 54 % in the odds of increased arterial stiffness even after adjusting for confounding variables such as age, MBP, BMI, gender and fasting glucose. In addition, the HbA1c presented higher discriminatory power in the risk assessment for increased arterial stiffness in the non-diabetic group.

Several studies have shown that HbA1c predicts cardiovascular risk in people with [20] and without diabetes [12]. Regarding the association of HbA1c with arterial stiffness, Teoh et al. [21], studying 860 individuals from the Edinburgh Type 2 Diabetes Study, showed that PWV was associated with increasing HbA1c, only in the group

Table 2 Correlation matrix between age, BMI, fasting glucose, MBP, HbA1c and PWV

Variables	Age	BMI	Fasting glucose	MBP	HbA1c	PWV
Age	1	0.19*	0.34*	0.33*	0.44*	0.68*
BMI	0.19*	1	0.24*	0.23*	0.17*	0.08*
Fasting glucose	0.34*	0.24*	1	0.15*	0.69*	0.31*
MBP	0.33*	0.23*	0.15*	1	0.16*	0.46*
HbA1c	0.44*	0.17*	0.69*	0.16*	1	0.35*
PWV	0.68*	0.08*	0.31*	0.46*	0.35*	1

The level of significance was * p ≤ 0.001

PWV pulse wave velocity, *BMI* body mass index, *MBP* mean blood pressure, *HbA1c* glycated hemoglobin

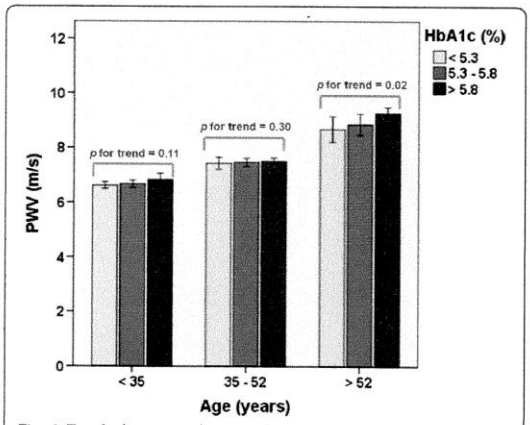

Fig. 1 Test for linear trend stratified by age tertile—HbA1c levels were associated with an increasing trend of PWV in a dose-dependent fashion (*p* for trend <0.05)

Table 3 Association between HbA1c and increased arterial stiffness by logistic regression univariate and multivariate analysis in a Brazilian rural population

Variable	Increased arterial stiffness	
	OR (95 % CI), *p* value	
	Univariate	Multivariate
HbA1c	2.19 (1.81–2.65), <0.001	1.54 (1.01–2.17), 0.01
Age	1.13 (1.11–1.15), <0.001	1.14 (1.11–1.16), <0.001
MBP	1.08 (1.07–1.10), <0.001	1.07 (1.05–1.09), <0.001
BMI	1.02 (1.01–11.04), 0.04	1.01 (0.99–1.04), 0.28
Fasting glucose	1.02 (1.02–1.03), <0.001	0.99 (0.98–1.01), 0.54
Gender (female)[a]	1.47 (1.05–2.05), 0.03	1.01 (0.63–1.63), 0.95

Increased arterial stiffness: pulse wave velocity (PWV) ≥10 m/s

Multivariate model: HbA1c, age, MBP, BMI, fasting glucose and gender

[a] Female group as reference

with mean HbA1c at least 7.6 %. Matsumae et al. [13], studying 242 hemodialysis patients with and without diabetes, showed that HbA1c level was an independent determinant of arterial stiffness, measured by carotid-femoral PWV, in both group. Corroborating such results, Liang et al. [12], studying 5098 Chinese individuals without diabetes, showed that HbA1c levels were significantly associated with an increasing trend of carotid-femoral PWV in a dose-dependent fashion. In our study, HbA1c also was associated to carotid-femoral PWV in which the elevation of a single unit percentage of HbA1c represented an increase 54 % in the odds of increased arterial stiffness even after adjusting for confounding variables such as age, MBP, BMI, gender and fasting glucose. In addition, our study also showed that HbA1c levels were associated with an increasing trend of PWV in a dose-dependent manner in individuals over 52 years (third tertile of age). However, unlike the studies presented above, our sample is composed of individuals from the general population with a more heterogeneous composition of clinical conditions (healthy, diabetic, hypertensive, obese, etc.).

The use of HbA1c as glycemic control and cardiovascular risk marker is widely accepted in diabetic patients [20] and its clinical application in individuals without diabetes has never had great relevance. However, several studies have demonstrated the role of HbA1c in the cardiovascular risk assessment of non-diabetic individuals [10, 12], which extends discussion about the use of HbA1c as a cardiovascular risk marker in individuals from the general population. In our study, HbA1c showed higher nominally discriminatory power in the risk assessment for increased arterial stiffness in the non-diabetic when compared to the diabetic group (AUC of HbA1c in the non-diabetic higher than diabetic group). These data demonstrated that HbA1c can be an important determinant in the risk assessment for increased arterial stiffness in non-diabetics individuals.

The association between excessive glucose exposure, assessed by HbA1c, and arterial stiffness may be explained by several mechanisms such as elevated formation of advanced glycation end products (AGEs) [22], which result in endothelial dysfunction due to the increased generation of reactive oxygen species (ROS), reduced bioavailability of nitric oxide (NO) and induction of inflammation [22–24]. All these mechanisms may contribute to development of cardiovascular disease.

Numerous studies have shown the superiority the HbA1c in relation to fasting glucose as a cardiovascular risk predictor variable [12, 24]. In our study, multivariate logistic regression analysis showed that HbA1c was associated to an increased arterial stiffness odds even after adjustment for fasting glucose in the general population. In addition, despite the discriminatory power in the risk assessment for increased arterial stiffness of either indices (HbA1c and fasting glucose) being similar in both groups (diabetics and non-diabetics), the behavior of glucose is different when dealing with non-diabetic as compared to diabetic individuals (Fig. 2).

Our study has two drawbacks. First, it is a cross-sectional analysis. Therefore, a causal relationship between arterial stiffness and HbA1c could not be established. Second, regarding measurement of HbA1c level, some factors such as kidney failure and uremia could influence the analysis [25]. However, as our study is based in a sample from the general population with low mean age, we think that these factors are not enough to modify our

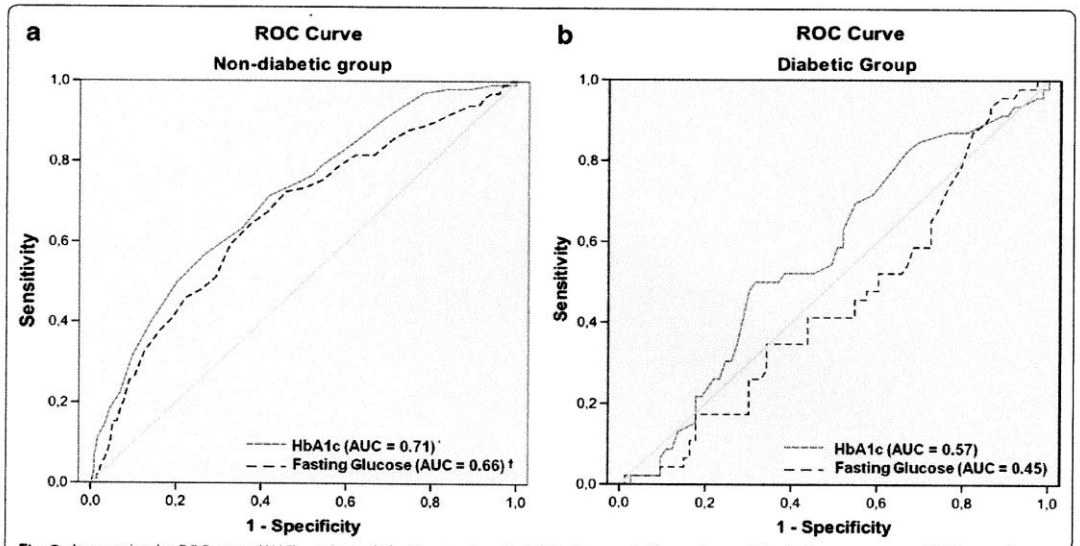

Fig. 2 Area under the ROC curve (AUC)—**a** (non-diabetic group) and **b** (diabetic group). Comparison of discriminatory powers of HbA1c and fasting glucose in the risk assessment for increased between diabetic and non-diabetic group. *AUC of HbA1c in the non-diabetic vs the diabetic group ($p = 0.02$). †AUC of fasting glucose in the non- diabetic vs the diabetic group ($p = 0.0007$)

results due to the low prevalence of these two conditions in our cohort.

In summary, our findings indicate that the increase of HbA1c levels are associated with increased arterial stiffness and that both, HbA1c and fasting glucose, presented higher discriminatory power in the risk assessment for increased arterial stiffness in the non-diabetic group. Therefore, we suggest that elevation of HbA1c levels, even within the normal range, could trigger vascular dysfunction in individuals of Brazilian rural population.

Abbreviations

PWV: pulse wave velocity; AUC: area under ROC curve; CVD: cardiovascular disease; HbA1c: glycated hemoglobin; BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; MBP: mean blood pressure; HPLC: high-performance liquid chromatography; ROC: receiver operating characteristic; AGEs: advanced glycation end products; ROS: reactive oxygen species; NO: nitric oxide; PP: pulse pressure.

Authors' contributions

ROA and CAMJ participated in the design of the study, performed the statistical analysis and drafted the manuscript. RFI , GMO, ARVRH and VACH contributed to acquisition of data and its interpretation. LAB and JEK contributed to conception and design of the study. ACP conceived of the study, participated in its design, coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

[1] Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 Cerqueira César, São Paulo, SP CEP 05403-000, Brazil. [2] Department of Physiology, Federal University of Juiz de Fora, Campus Universitário – Bairro Martelos, Juiz de Fora, Minas Gerais - MG CEP 36036-900, Brazil. [3] Hypertension Unit, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, Cerqueira César, São Paulo, SP CEP 05403-000, Brazil.

Acknowledgements

This research was supported by Grants from São Paulo Research Foundation (FAPESP). This is work was supported by Hospital Samaritano Society (Grant 25000.180.664/2011-35), through Ministry of Health to Support Program Institutional Development of the Unified Health System (SUS-PROADI).

Compliance with ethical guidelines

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 11 June 2015 Accepted: 28 September 2015
Published online: 06 October 2015

References

1. Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekamp MA, et al. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. Circulation. 2006;113(5):657–63.
2. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. J Am Coll Cardiol. 2010;55(13):1318–27.
3. Zoungas S, Asmar RP. Arterial stiffness and cardiovascular outcome. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2007;34(7):647–51.
4. Benetos A, Waeber B, Izzo J, Mitchell G, Resnick L, Asmar R, et al. Influence of age, risk factors, and cardiovascular and renal disease on arterial stiffness: clinical applications. Am J Hypertens. 2002;15(12):1101–8.
5. De Angelis L, Millasseau SC, Smith A, Viberti G, Jones RH, Ritter JM, et al. Sex differences in age-related stiffening of the aorta in subjects with type 2 diabetes. Hypertension. 2004;44(1):67–71.

6. Guerin AP, Blacher J, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness attenuation on survival of patients in end-stage renal failure. Circulation. 2001;103(7):987–92.
7. Stewart AD, Jiang B, Millasseau SC, Ritter JM, Chowienczyk PJ. Acute reduction of blood pressure by nitroglycerin does not normalize large artery stiffness in essential hypertension. Hypertension. 2006;48(3):404–10.
8. Whincup PH, Gilg JA, Donald AE, Katterhorn M, Oliver C, Cook DG, et al. Arterial distensibility in adolescents: the influence of adiposity, the metabolic syndrome, and classic risk factors. Circulation. 2005;112(12):1789–97.
9. American Diabetes association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2012;35(Suppl 1):S64–71.
10. Selvin F, Coresh J, Golden SH, Brancati FL, Folsom AR, Steffes MW. Glycemic control and coronary heart disease risk in persons with and without diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. Arch Intern Med. 2005;165(16):1910–6.
11. Chen Y, Huang Y, Li X, Xu M, Bi Y, Zhang Y, et al. Association of arterial stiffness with HbA1c in 1,000 type 2 diabetic patients with or without hypertension. Endocrine. 2009;36(2):262–7.
12. Liang J, Zhou N, Teng F, Zou C, Xue Y, Yang M, et al. Hemoglobin A1c levels and aortic arterial stiffness: the Cardiometabolic risk in Chinese (CRC) study. PLoS One. 2012;7(8):e38485.
13. Matsumae T, Abe Y, Murakami G, Ueda K, Saito T. Effects of glucose metabolism on aortic pulse wave velocity in hemodialysis patients with and without diabetes. Hypertens Res. 2008;31(7):1365–72.
14. de Oliveira CM, Pereira AC, de Andrade M, Soler JM, Krieger JE. Heritability of cardiovascular risk factors in a Brazilian population: Baependi Heart Study. BMC Med Genet. 2008;9:32.
15. World Health Organization. (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. J Hypertens. 2003;21:1983–92.
16. Pereira AC, Sposito AC, Mota GF, Cunha RS, Herkenhoff FL, Mill JG, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variant modulates the relationship between serum cholesterol levels and blood pressure in the general population: new evidence for a direct effect of lipids in arterial blood pressure. Atherosclerosis. 2006;184(1):193–200.
17. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. Hypertension. 1995;26(3):485–90.
18. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. J Hypertens. 2012;30(3):445–8.
19. Kairisto V, Poola A. Software for illustrative presentation of basic clinical characteristics of laboratory tests–GraphROC for Windows. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 1995;222:43–60.
20. Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. Ann Intern Med. 2004;141(6):421–31.
21. Teoh WL, Price JF, Williamson RM, Payne RA, Van Look LA, Reynolds RM, et al. Metabolic parameters associated with arterial stiffness in older adults with Type 2 diabetes: the Edinburgh Type 2 diabetes study. J Hypertens. 2013;31(5):1010–7.
22. Shirwany NA, Zou MH. Arterial stiffness: a brief review. Acta Pharmacol Sin. 2010;31(10):1267–76.
23. Wendt T, Bucciarelli L, Qu W, Lu Y, Yan SF, Stern DM, et al. Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) and vascular inflammation: insights into the pathogenesis of macrovascular complications in diabetes. Curr Atheroscler Rep. 2002;4(3):228–37.
24. Selvin E, Steffes MW, Zhu H, Matsushita K, Wagenknecht L, Pankow J, et al. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. N Engl J Med. 2010;362(9):800–11.
25. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem. 2002;48(3):436–72.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

BioMed Central