



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Mariana Silva da Costa

Deficiência de vitamina B12 em receptores de transplante renal: frequência e associação com resistência à insulina, biomarcadores inflamatórios e função microvascular

Rio de Janeiro

2019

Mariana Silva da Costa

Deficiência de vitamina B12 em receptores de transplante renal: frequência e associação com resistência à insulina, biomarcadores inflamatórios e função microvascular

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein

Coorientadora: Prof.^a Dra. Maria Inês Barreto Silva

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

C837 Costa, Mariana Silva da.
Deficiência de vitamina B12 em receptores de transplante renal: frequência e associação com resistência à insulina, biomarcadores inflamatórios e função microvascular / Mariana Silva da Costa – 2019.
117 f.

Orientadora: Márcia Regina Simas Torres Klein.

Coorientadora: Maria Inês Barreto Silva.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Rins – Transplante – Aspectos nutricionais – Teses. 2. Deficiência de vitamina B12 – Teses. 3. Resistência à insulina – Teses. 4. Marcadores bioquímicos – Teses. I. Klein, Márcia Regina Simas Torres. II. Silva, Maria Inês Barreto. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 577.164.1: 616.61-089.843

Bibliotecária: Kalina Silva CRB7/4377

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Mariana Silva da Costa

Deficiência de vitamina B12 em receptores de transplante renal: frequência e associação com resistência à insulina, biomarcadores inflamatórios e função microvascular

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 21 de novembro de 2019.

Orientadora: Prof.^a Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein
Instituto de Nutrição – UERJ

Coorientadora: Prof.^a Dra. Maria Inês Barreto Silva
Instituto de Nutrição – UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Rachel Bregman
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Natália Alvarenga Borges
Instituto de Nutrição – UERJ

Prof.^a Dra. Thaís da Silva Ferreira
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

Aos que me deram o dom da vida, Ceris Silva da Costa e Paulo Rosário da Costa (*In Memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus por, desde sempre, colocar em meu caminho pessoas tão especiais.

À inigualável Prof^ª Dra Márcia Regina Simas Torres Klein, me faltam palavras para traduzir toda gratidão, não só pela finalização deste trabalho, mas por toda acolhida, paciência e suporte incondicional durante todos estes anos. Obrigada por tantos aprendizados, mas principalmente pela sua amizade e pelo exemplo de ser humano e profissional que és.

À querida Prof^ª Dra. Maria Inês Barreto Silva, sempre disposta a ensinar, seja onde for, incansavelmente. Obrigada por dividir tanto comigo, por me incentivar e por contribuir com este trabalho. Agradeço por ter tido a honra de contar com a sua orientação.

Ao Prof Dr Sérgio Kaiser, agradeço por ter me recebido na família CLINEX e pela revisão do presente trabalho.

À equipe da Nefrologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, em especial ao Dr Suassuna, Dr Edison e Dra Suzimar por tornarem possível a realização desta pesquisa.

Às biólogas Débora e Lourdes, para além do brilhante amparo técnico, agradeço por toda solicitude, momentos de descontração e palavras de carinho, que tanto tornavam o dia a dia mais leve.

Às secretárias Cristiane e Paula, pelo apoio e pelo auxílio com a logística operacional para a realização e conclusão desta pesquisa.

Às minhas companheiras de trabalho, Karine e Aninha, por sonharem este sonho comigo, terem acreditado em mim e segurado minhas mãos, durante toda esta caminhada. De verdade, sem vocês nada disto teria sido possível. Muito obrigada.

Aos alunos de iniciação científica: Bernardo, Caio, Fernanda, Jéssica e Stephanie, obrigada pelo comprometimento e ajuda imprescindíveis. Tenho certeza que vocês serão profissionais incríveis.

Aos meus colegas de pesquisa: Éridinha, Flavinha, Michelle, Fernanda, Samantha e demais integrantes do CHAMA. Muita luz e sucesso para todas vocês.

À minha mãe, por ser meu maior exemplo, por ser meu porto seguro e por repetir, desde quando eu era pequena, que o maior bem que poderia me deixar é a educação. Obrigada por toda entrega e pela mãe única que você é.

Ao meu saudoso e amado pai, que espero que lá de cima esteja olhando pra mim com orgulho.

Às minhas irmãs, que foram as minhas primeiras professoras, agradeço todo suporte emocional, e principalmente a dádiva que é dividir a minha história de vida com vocês.

Ao meu tio Celso, por investir em mim e suprir a figura paterna que precisei por tantas vezes.

Ao meu amável companheiro, amigo e agora, pai da Maria, Pedro Riccioppo por toda compreensão e apoio.

Às minhas amigas, minhas irmãs de alma, minhas inspirações: Marcella Guedes, Paula Normando, Gabriela Vianna. Obrigada por todo incentivo.

Aos membros da banca por terem aceitado o convite; e como não poderia deixar de ser, à Universidade do Estado do Rio de Janeiro por ter sido a minha casa por tantos anos e ter me feito crescer em tantos sentidos. Como disse Paulo Freire, “não se pode falar de educação sem amor”, portanto, obrigada a todos os docentes e demais funcionários desta instituição, por amarem e lutarem, em meio a tantas adversidades, por uma educação pública de qualidade.

Por fim, mas não com menor importância, agradeço àqueles que, sem a participação voluntária e a confiança em meu trabalho, esta dissertação não seria uma realidade. Meus sinceros agradecimentos, aos pacientes do Hospital Universitário Pedro Ernesto, por me ajudarem a contribuir com o saber científico. Que Deus os abençoe sempre.

Se a educação sozinha não pode transformar a sociedade, tampouco sem ela a sociedade muda.

Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas.

Pessoas transformam o mundo.

Paulo Freire

RESUMO

COSTA, Mariana Silva da. *Deficiência de vitamina B12 em receptores de transplante renal: frequência e associação com resistência à insulina, biomarcadores inflamatórios e função microvascular*. 2019. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

A deficiência de vitamina B12 (B12) está associada com o desenvolvimento da hiperhomocisteinemia (Hhcis), um fator de risco para as doenças cardiovasculares (DCV). Existem evidências de que a B12 pode auxiliar na prevenção da aterosclerose por apresentar efeito antioxidante e anti-inflamatório. As DCV representam importante causa de morte em receptores de transplante renal (RTR). Investigações longitudinais indicam relação entre níveis elevados de homocisteína (hcis) e risco de DCV em RTR. No entanto, a frequência de deficiência de B12 e sua associação com marcadores de risco cardiovascular nestes pacientes ainda não é conhecida. O objetivo do presente estudo foi avaliar a concentração sérica de B12, determinando a frequência de deficiência e sua associação com níveis séricos de hcis, resistência à insulina, marcadores inflamatórios, reatividade microvascular cutânea e diâmetros vasculares retinianos em RTR. Estudo observacional, transversal e longitudinal realizado com RTR adultos (18-65 anos) submetidos ao transplante renal (TxR) há pelo menos 6 meses. Foram excluídos pacientes com SIDA, câncer e doenças autoimunes, amputados, em terapia dialítica e em uso de suplementos de B12. No período basal foi realizada avaliação laboratorial: glicose, insulina, B12, hcis, adiponectina, fator de necrose tumoral- α , interleucina-8 e proteína C reativa (PCR). Após 2 anos os RTR foram submetidos a avaliação laboratorial: glicose, insulina, B12, hcis, leptina e PCR; da reatividade microvascular cutânea por *Laser Speckle Contrast Imaging*; e do diâmetro dos vasos retinianos por retinografia não miátrica. A taxa de filtração glomerular foi estimada (TFGe; ml/min) pela equação CKD- EPI. A concentração sérica de B12 no período basal foi utilizada para avaliar a associação com todas as demais variáveis, sendo definida deficiência quando $< 200\text{pg/mL}$. No período basal foram avaliados 218 RTR (121 homens), 49 (41–55) anos, tempo TxR 115 (26–171) meses e TFGe $52\pm 1,4$ ml/min. A frequência de deficiência de B12 foi de 14% (n=31). No período basal a B12 sérica: (1) se associou negativamente com a hcis, mesmo após ajuste para idade, sexo e tempo TxR nos pacientes com TFGe ≥ 60 (r=-0,54; p=0,01), porém após ajuste adicional para TFGe a associação deixou de ser significativa; (2) foi significativamente menor no grupo com Hhcis (428 vs. 246pg/mL, p <0,05); (3) não se associou com resistência à insulina e marcadores inflamatórios. Após 2 anos foram reavaliados 171 pacientes. As análises de associação B12 sérica do período basal com as variáveis obtidas após 2 anos revelaram: (1) associação negativa com insulina (r=-0,40; p=0,01) e HOMA-IR (r=-0,38; p=0,02) nos pacientes com TFGe < 60 após ajustes para idade, sexo, tempo de TxR e TFGe, porém após ajuste adicional para índice de massa corporal a associação deixou de ser significativa; (2) associação negativa, após ajustes para confundidores, com PCR nos RTR com TFGe ≥ 60 (r=-0,43; p=0,04); e com leptina no grupo total (r=-0,26; p=0,04) e naqueles com TFGe < 60 (r=-0,36; p=0,03); (4) ausência de associação com a hcis sérica, reatividade microvascular cutânea e diâmetros vasculares retinianos. O presente estudo sugere que em RTR a frequência de deficiência de B12 é elevada e a B12 sérica está inversamente associada com marcadores inflamatórios na análise longitudinal.

Palavras-chave: Transplante renal. Vitamina B12. Resistência à insulina. Marcadores inflamatórios. Reatividade microvascular cutânea. Diâmetros vasculares retinianos.

ABSTRACT

COSTA, Mariana Silva da. *Vitamin B12 deficiency in kidney transplant recipients: frequency and association with insulin resistance, inflammatory biomarkers and microvascular function*. 2019. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Vitamin B12 (B12) deficiency is associated with the development of hyperhomocysteinemia (Hhcs), a risk factor for cardiovascular disease (CVD). There is evidence that B12 may help prevent atherosclerosis due to antioxidant and anti-inflammatory effects. CVD is an important cause of death in kidney transplant recipients (KTR). Longitudinal investigations indicate a relationship between elevated homocysteine levels (hcys) and risk of CVD in KTR. However, the frequency of B12 deficiency and its association with cardiovascular risk markers in these patients is not yet known. The aim of the present study was to evaluate serum levels of B12, determining the frequency of deficiency, and its association with serum levels of hcys, insulin resistance, inflammatory markers, cutaneous microvascular reactivity and retinal vascular diameters in KTR. Observational, cross-sectional and longitudinal study conducted with adult KTR (18-65 years) at least 6 months after kidney transplantation (KTx). Were excluded patients with AIDS, cancer and autoimmune diseases, amputees, under dialysis therapy and using B12 supplements. Laboratory tests performed at baseline: glucose, insulin, B12, hcys, adiponectin, tumor necrosis factor- α , interleukin-8 and C-reactive protein (CRP). After 2 years the KTRs were submitted to the evaluation of laboratory parameters: glucose, insulin, B12, hcys, leptin and CRP; cutaneous microvascular reactivity by Laser Speckle Contrast Imaging; and the diameter of the retinal vessels by nonmidriatic retinography. Glomerular filtration rate was estimated (eGFR; ml/min) by the CKD-EPI equation. Serum B12 concentration at baseline was used to assess the association with all other variables, and deficiency was defined as $< 200\text{pg} / \text{mL}$. At baseline, 218 RTR (121 men), 49 (41–55) years, TxR time 115 (26–171) months and eGFR 52 ± 1.4 ml/min were evaluated. The frequency of B12 deficiency was 14% (n=31). At baseline serum B12: (1) was negatively associated with hcys, even after adjusting for age, sex and time from KTx in patients with eGFR ≥ 60 (r=-0.54; p=0.01), but after additional adjustment for eGFR the association was no longer significant; (2) was significantly lower in the Hhcs group (428 vs. 246pg / mL, p <0.05); (3) was not associated with insulin resistance and inflammatory markers. After 2 years, 171 patients were reevaluated. The analysis of the association between serum levels of B12 obtained at baseline with the variables obtained after 2 years revealed: (1) negative association with insulin (r=-0.40; p=0.01) and HOMA-IR (r=-0.38; p=0.02) in patients with eGFR < 60 after adjustments for age, sex, time of RTx and eGFR, but after additional adjustment for body mass index the association was no longer significant; (2) negative association, after adjustments for confounders, with CRP in KTR with eGFR ≥ 60 (r=-0.43; p=0.04) and with leptin in the total group (r=-0.26; p=0.04) and in those with eGFR < 60 (r=-0.36; p=0.03); (4) absence of association with serum hcys, cutaneous microvascular reactivity and retinal vascular diameters. The present study suggests that in KTR the frequency of B12 deficiency is high and serum levels of B12 are inversely associated with inflammatory markers in longitudinal analysis.

Keywords: Kidney transplant. Vitamin B12. Insulin resistance. Inflammatory markers.

Cutaneous microvascular reactivity. Retinal vascular diameters.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desenho do Estudo.....	43
Figura 2 – Representação esquemática do fluxo de participantes da 1ª fase do estudo.....	49
Gráfico 1 – Classificação do estado nutricional de vitamina B12 dos participantes do estudo.....	50
Gráfico 2 – Prevalência de hiperhomocisteinemia de acordo com a presença de deficiência de vitamina B12.....	56
Gráfico 3 – Concentração sérica de vitamina B12 de acordo com a presença de hiperhomocisteinemia.....	56
Figura 3 – Representação esquemática do fluxo de participantes da 2ª fase do estudo.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características demográficas, clínicas e do estilo de vida dos receptores de transplante renal, de acordo com o estado nutricional de vitamina B12.....	51
Tabela 2 –	Variáveis laboratoriais e medicações dos receptores de transplante renal, de acordo com o estado nutricional de vitamina B12.....	52
Tabela 3 –	Valores das variáveis antropométricas dos receptores de transplante renal, de acordo com o estado nutricional de vitamina B12.....	53
Tabela 4 –	Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da vitamina B12 de acordo com o estado nutricional de vitamina B12.....	54
Tabela 5 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 com parâmetros relacionados com o metabolismo da vitamina B12.....	55
Tabela 6 –	Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da glicose de acordo com o estado nutricional de vitamina B12.....	57
Tabela 7 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 com variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da glicose.....	58
Tabela 8 –	Biomarcadores inflamatórios de acordo com o estado nutricional de vitamina B12.....	59
Tabela 9 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 com biomarcadores inflamatórios.....	59
Tabela 10 –	Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da vitamina B12 avaliadas na segunda fase do estudo de acordo com o estado nutricional de vitamina B12 avaliado na primeira fase do estudo.....	61
Tabela 11 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com parâmetros relacionados com o metabolismo da vitamina B12 avaliados na segunda fase do estudo.....	62
Tabela 12 –	Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da glicose avaliados na segunda fase do estudo de acordo com o estado nutricional de vitamina B12 avaliado na primeira fase do estudo.....	63
Tabela 13 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo.....	64

Tabela 14 –	Biomarcadores inflamatórios avaliados na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 na primeira fase do estudo.....	65
Tabela 15 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com biomarcadores cinflamatórios avaliados na segunda fase do estudo.....	65
Tabela 16 –	Reatividade microvascular cutânea avaliada na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 na primeira fase do estudo.....	66
Tabela 17 –	Avaliação vascular da retina realizada na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 na primeira fase do estudo.....	66
Tabela 18 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com parâmetros da reatividade microvascular cutânea avaliada na segunda fase do estudo.....	67
Tabela 19 –	Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com parâmetros da avaliação vascular da retina realizada na segunda fase do estudo.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTO	Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos
AVE	Acidente vascular encefálico
B12	Vitamina B12
CAT	Catalase
Cbl	Cobalamina
PC	Perímetro da cintura
CHGM	Concentração de hemoglobina globular média
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration</i>
CNCbl	Cianocobalamina
PP	Perímetro do pescoço
PQ	Perímetro do quadril
CRAE	Equivalente da artéria retiniana central
CRVE	Equivalente da veia retiniana central
CsA	Ciclosporina A
CV	Cardiovascular
DCV	Doenças cardiovasculares
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
DMA	Dimetilarginina assimétrica
DMF	Dilatação fluxo mediada
DRC	Doença renal crônica
ECR	Ensaio clínico randomizado
Enos	Óxido nítrico sintase
EROS	Espécies reativas de oxigênio
EIMC	Espessura da íntima média da carótida
FI	Fator intrínseco
GPx	Glutathione peroxidase
HASHC	Hipertensão arterial sistêmica
hcis	Haptocorrina
Hhcis	Homocisteína Hiperhomocisteinemia
Holo-HC	Holohaptocorrina
Holo-TC	Holotranscobalamina II

HRPO	Hiperemia reativa pós-oclusiva
IAC	Índice de adiposidade corporal
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IBPs	Inibidores da bomba de prótons
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MCG	Micrograma
MCP-1	Proteína quimioatraente para monócitos-1
MMA	Ácidometilmalônico
MS	Metionina sintetase
MTHFR	Metilenotetrahidrofolato redutase
NF-κB	Fator de transcrição nuclear Kappa B
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Surveys</i>
NO	Óxido nítrico
PCR	Proteína C-reativa
RCE	Razão cintura estatura
RCQ	Razão cintura quadril
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i> Receptores
RTR	Receptores de transplante renal
SM	Síndrome metabólica
SOD	Superóxido dismutase
TC II	TranscobalaminaII
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TxR	Transplante renal
USRDS	<i>United States Renal Data System</i>
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular-1
VGB	Volume globular médio
VOP	Velocidade de onda de pulso
VRMH	Vitaminas relacionadas com o metabolismo da homocisteína

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	16
1	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
1.1	Metabolismo da vitamina B12.....	18
1.2	Deficiência de vitamina B12.....	21
1.3	Doenças cardiovasculares e vitamina B12.....	26
1.4	Transplante renal e doenças cardiovasculares.....	33
1.5	Transplante Renal e vitamina B12.....	37
2	JUSTIFICATIVA.....	39
3	OBJETIVOS.....	40
3.1	Objetivo geral.....	40
3.2	Objetivos específicos.....	40
4	MÉTODOS.....	41
4.1	Casuística.....	41
4.1.1	<u>Critérios de inclusão.....</u>	41
4.1.2	<u>Critérios de exclusão.....</u>	41
4.1.3	<u>Cálculo amostral.....</u>	42
4.2	Desenho do estudo.....	42
4.3	Procedimentos.....	43
4.3.1	<u>Avaliação das características clínicas e estilo de vida.....</u>	43
4.3.2	<u>Avaliação antropométrica.....</u>	44
4.3.3	<u>Avaliação do metabolismo de vitamina B12.....</u>	45
4.3.4	<u>Avaliação da resistência à insulina e marcadores inflamatórios.....</u>	45
4.3.5	<u>Avaliação da reatividade microvascular cutânea.....</u>	46
4.3.6	<u>Avaliação dos diâmetros vasculares retinianos.....</u>	47
4.3.7	<u>Avaliação da taxa de filtração glomerular estimada.....</u>	47
4.4	Análises estatísticas.....	48
5	RESULTADOS.....	49
5.1	Primeira fase do estudo.....	49
5.2	Segunda fase do estudo.....	60
6	DISCUSSÃO.....	68

6.1	Frequência de deficiência de vitamina B12.....	68
6.2	Deficiência de vitamina B12 e adiposidade corporal central.....	69
6.3	Associação da concentração sérica de vitamina B12 com os níveis de homocisteína.....	72
6.4	Deficiência de vitamina B12 e resistência à insulina.....	74
6.5	Deficiência de vitamina B12 e biomarcadores inflamatórios.....	76
6.6	Deficiência de vitamina B12 e função microvascular.....	78
6.7	Considerações finais.....	81
	CONCLUSÕES.....	83
	REFERÊNCIAS.....	84
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	107
	APÊNDICE B – Protocolo clínico do banco de dados do período basal e avaliação longitudinal.....	109
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	112
	ANEXO B – Questionário de Baecke.....	117

INTRODUÇÃO

A vitamina B12 (B12) ou cobalamina (Cbl) é um composto organometálico, classificada como hidrossolúvel, fotossensível e termoestável até 120°C; sendo sintetizada exclusivamente por organismos procariontes, como as bactérias (DANCHIN; BRAHAM, 2017; FANG et al., 2017; RANDACCIO et al., 2010; WATANABE; MIYAMOTO, 2003). As principais fontes alimentares de B12 são produtos de origem animal e sua absorção é complexa, dependendo do adequado funcionamento do estômago, pâncreas e íleo terminal (KOZYRAKI; CASES, 2013; WATANABE, 2007).

O papel relevante da B12 baseia-se em processos bioquímicos nos quais há transferência de grupos metil (-CH₃) entre compostos ou para compostos biológicos. Desta forma a Cbl é cofator indispensável para as enzimas metilmalonil-CoA redutase e metionina sintetase (MS), esta última com papel na remetilação da homocisteína (hcis) a metionina; etapa em que há a ligação entre o metabolismo do folato e da Cbl (BRIANI et al., 2013; CHANEY, 2007; VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010).

Os grupos de risco para deficiência de Cbl incluem: vegetarianos, idosos, pacientes submetidos à gastrectomia total ou parcial distal, indivíduos com diagnóstico de anemia perniciosa, doença de Crohn e doença Celíaca, gastrite atrófica, gastrite por *H. Pylori* e o uso de algumas drogas (ALLEN, 2008; BRIANI et al., 2013; CASES, 2013; GREEN et al., 2017a; HUNT et al., 2014; KOZYRAKI; NIELSEN et al., 2012; STABLER, 2013; WONG, 2015; VAN AMSTERDAM et al., 2015). As manifestações clínicas de deficiência são heterogêneas e podem variar de acordo com o grau e duração da deficiência, incluindo transtornos hematológicos, neurológicos e gastrointestinais (IOM, 2006; STABLER, 2013).

Os biomarcadores para avaliação do estado nutricional de B12 incluem: níveis séricos de B12, ácido metilmalônico (MMA), hcis e holotranscobalamina II (Holo-TC). Entretanto, nenhum marcador laboratorial de B12 isolado é adequado para o diagnóstico em todos os pacientes (HARRINGTON, 2016). Segundo uma diretriz britânica, publicada em 2014, o uso de mais de um biomarcador permite diagnósticos mais confiáveis em comparação com qualquer biomarcador único (DEVALIA et al, 2014).

De acordo com os dados do *National Health and Nutrition Examination Surveys* (NHANES) de 1999 a 2002, foi estimado que a prevalência de deficiência de B12 nos EUA varia por faixa etária afetando $\leq 3\%$ dos indivíduos com idade entre 20-39 anos,

aproximadamente 4% daqueles com idade entre 40-59 anos e 6% das pessoas com idade \geq 70 anos. Na população brasileira, a prevalência da deficiência de B12 foi estimada em 7,2% em indivíduos com idade entre 30 e 59 anos (XAVIER et al., 2010).

Existem evidências de que a hiperhomocisteinemia (Hhcis), que pode ser causada pela deficiência de B12, assim como de ácido fólico e vitamina B6, é um fator de risco independente para as doenças cardiovasculares (DCV) (CASAS et al., 2005; NI et al., 2007; SELHUB, 2006; TAHERAGHDAM et al., 2016; WU et al., 2013; YUSUF et al., 2001; ZHANG et al., 2016). E recentemente foi descrito na literatura que a deficiência de B12 pode estar ligada ao processo aterogênico, principalmente, mas não exclusivamente, através da Hhcis (MUELLER et al., 2001; TONELLI et al., 2008; ZHANG et al. 2017).

Estudos sugerem que a B12 pode atuar de forma protetora contra-regulando mecanismos patogênicos das DCV, através da sua atuação como agente antioxidante e anti-inflamatório, podendo modular as respostas inflamatórias no estresse oxidativo, através da reação direta com espécies reativas de oxigênio (EROS), além de parecer modificar moléculas de sinalização e reduzir indiretamente a expressão do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) (BIRCH et al., 2009; PERACCHI et al., 2001; SCALABRINO et al., 2004; SUAREZ- MOREIRA et al., 2009; VEBER et al., 2008;).

O transplante renal (TxR) é considerado o tratamento de escolha para pacientes apresentando doença renal crônica (DRC) em estágio terminal (GO et al., 2004; HILL et al., 2016; JHA et al., 2013; KDIGO, 2009; MAGEE; PASCUAL, 2004; MATSUSHITA et al., 2010, 2015; SESSO et al., 2016). Embora menor do que nos pacientes em diálise, a ocorrência de DCV segue sendo uma das principais causas de morte entre os receptores de TxR (RTR), representando 40-55% de todas as causas de mortalidade nestes pacientes (BRIGGS, 2001; MAGEE; PASCUAL, 2004; MORALES et al., 2012).

Até o presente momento, não há estudos que tenham avaliado a relação direta entre B12 e marcadores de risco intermediários de DCV em RTR. Desta forma, o conhecimento da frequência da deficiência de B12 em RTR e sua associação com marcadores de risco cardiovascular (CV), como resistência à insulina, inflamação e alterações microvasculares pode contribuir com a implementação de medidas terapêuticas e preventivas, como modificações na dieta e/ou suplementação medicamentosa, que poderiam contribuir para a redução do risco CV nestes pacientes.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Metabolismo da vitamina B12

A B12 ou Cbl é um composto organometálico, sendo a maior (peso molecular: 1.355,4g/mol) e mais complexa de todas as vitaminas (RANDACCIO et al., 2010; WATANABE, 2007). De acordo com as suas características físico-químicas é classificada como hidrossolúvel, fotossensível e termoestável até 120°C; sendo sintetizada exclusivamente por organismos procariontes, como as bactérias (DANCHIN; BRAHAM, 2017; FANG et al., 2017; WATANABE; MIYAMOTO, 2003).

O termo B12 é genérico e refere-se a todas as Cbl biologicamente ativas no homem, sendo estas constituídas por um átomo central de cobalto e um anel plano de corrina, formando um anel tetrapirrólico, onde o cobalto é a parte funcional da B12. As várias formas de Cbl se originam das diferentes moléculas que se ligam à parte superior do anel, incluindo os grupamentos hidroxil, metil, desoxiadenosil ou cianeto; sendo a cianocobalamina (CNCbl) a forma sintética da B12 mais comumente encontrada em suplementos nutricionais (GRÖBER et al., 2013; KOZYRAKI; CASES, 2013; VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010).

As principais fontes alimentares de B12 são produtos de origem animal, especialmente carnes, leites, ovos, peixes e mariscos; nos quais é obtida por meio de simbiose microbiana (GILLE; SCHMID, 2015; WATANABE, 2007; WONG, 2015). Alguns alimentos vegetais, como as algas verdes (*Enteromorpha* sp. e *Chlorella* sp.) e roxas (*Porphyra* sp.) parecem ser fontes de B12 biodisponível, enquanto outras algas, como as azul-verdes (*Spirulina* sp., *Aphanizomenon* sp., e *Nostoc* sp.) embora contenham grandes quantidades de pseudovitamina B12, esta parece ser biologicamente inativa em mamíferos. Uma alimentação não vegetariana nos países ocidentais contém em média 5 a 8 mcg de Cbl por dia (BRIANI et al. 2013; WATANABE et al., 2003, 2013, 2014).

A ingestão diária recomendada de B12 é de 2,4 mcg para adolescentes de 14 a 18 anos (ambos os sexos), homens e mulheres não grávidas; 2,6 mcg para as mulheres grávidas; 2,8 mcg para mulheres lactantes e varia de 0,9 a 1,8 mcg para crianças de 1 ano até jovens de 13 anos (IOM, 2006). É válido ressaltar que a biodisponibilidade da B12 varia de acordo com as condições do trato gastrointestinal dos indivíduos, além da quantidade total da B12 ingerida e suas fontes alimentares (GREEN et al., 2017a).

A absorção gastrointestinal de B12 é complexa e depende do adequado funcionamento do estômago, pâncreas e íleo terminal. O processo inicia-se no estômago, com a dissociação da Cbl das proteínas alimentares pela ação do ácido clorídrico e da pepsina, para ligar-se à haptocorrina (HC) ou transcobalamina I; uma glicoproteína com alta afinidade pela Cbl e seus análogos, presente na saliva e em fluidos gástricos, formando o complexo holohaptocorrina (Holo-HC) (CASES, 2013; QUADROS, 2010; KOZYRAKI; WATANABE, 2007).

Na segunda metade do duodeno, na presença de proteases pancreáticas ocorre a liberação da B12 do complexo Holo-HC, que livre liga-se ao fator intrínseco (FI); uma glicoproteína secretada pelas células parietais gástricas, que apresenta afinidade somente pela Cbl e é indispensável à sua absorção. A última etapa ocorre em íleo terminal, facilitada pelo pH básico, devido a presença do bicarbonato secretado pelo pâncreas, onde o complexo Cbl-FI interage com seu receptor específico, a cubilina, que juntamente com a amnionless, uma proteína de membrana envolvida na internalização da cubilina, formam o complexo -cubam; responsável pela absorção da B12 por endocitose, através de um mecanismo dependente de cálcio (KOZYRAKI; CASES, 2013; KOZYRAKI; GOFFLOT, 2007; QUADROS, 2010).

A absorção intestinal de B12 ocorre através de um mecanismo saturável que permite que aproximadamente 1 a 1,5 mcg de B12 por refeição, possa ser aproveitada. Se a ingestão pela dieta é próxima a níveis fisiológicos, a absorção pode chegar a 60% da quantidade total ingerida; podendo diminuir para menos de 10%, quando a ingestão é muito elevada. Além disto, uma pequena proporção de 1 a 5% de B12 é absorvida pelo intestino por difusão passiva, em um processo independente do FI (CARMEL, 2008; SHIPTON; THACHIL, 2015; VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010).

Após absorvida pela mucosa ileal, sob a ação das enzimas lisossômicas, a B12 dissocia-se do FI e é captada pela transcobalamina II (TCII), uma beta-globulina que faz o transporte sérico da vitamina até os tecidos, sendo rapidamente depurada pela interação com o seu receptor específico TCbII-CD320 (QUADROS; SEQUEIRA, 2013; NIELSEN et al., 2012; VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010). A B12 biologicamente disponível circula no plasma carregada pela TCII, na forma de Holo-TC, o que representa 20% do conteúdo corporal total de B12. Em contraste, aproximadamente 80% da Cbl circulante encontra-se carregada pela HC, que parece não possuir um papel relevante na entrega desta vitamina para os tecidos, mas sim para o fígado, após interação com os receptores de asialoglicoproteínas (QUADROS, 2010; NIELSEN et al., 2012; SHIPTON; THACHIL, 2015).

Uma vez no espaço intracelular, a TCII é degradada pelas enzimas lisossômicas provavelmente do mesmo modo descrito na liberação da B12 nos enterócitos e a Cbl livre é

submetida à ação de redutases. Na sua forma reduzida, pode tanto ser estocada, ou deixar as células, além de seguir duas vias: uma mitocondrial, onde origina a coenzima desoxiadenosilcobalamina, e uma citoplasmática, formando a coenzima metilcobalamina (BRIANI et al., 2013; KOZYRAKI; CASES, 2013; NIELSEN et al., 2012; VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010).

O papel relevante da B12 baseia-se em processos bioquímicos nos quais há transferência de grupos metil (-CH₃) entre compostos ou para compostos biológicos. Desta forma a Cbl é cofator indispensável para as enzimas MS e metilmalonil-CoA redutase. A primeira utiliza a forma metilcobalamina como cofator e participa da síntese de DNA, do metabolismo de neurotransmissores e da remetilação da h₂cis a metionina; etapa em que há a ligação entre o metabolismo do folato e da Cbl. E a segunda utiliza a forma desoxiadenosilcobalamina como cofator e está envolvida no metabolismo de aminoácidos (valina, isoleucina, metionina e treonina), colesterol, ácidos graxos de cadeia ímpar e na síntese de hemoglobina nos eritrócitos e da bainha de mielina no sistema nervoso central; onde na ausência de B12 ocorre um acúmulo de MMA. Tal condição pode acarretar uma diminuição na síntese normal de mielina e incorporação de ácidos graxos anormais em lipídios neuronais (BRIANI et al., 2013; CHANEY, 2007; HEMMER et al. 1998; VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010).

A adenosilcobalamina e a metilcobalamina são os derivados metabolicamente ativos da Cbl, e representam respectivamente 75 - 90% e 10 - 25% do seu conteúdo endógeno (KOZYRAKI; CASES, 2013). O conteúdo corporal de Cbl é estimado em 2,5 a 5,0 mcg, e o fígado e os rins são os principais sítios de armazenamento (BRIANI et al., 2013; HUNT et al., 2014; VANNUCCHI; MONTEIRO, 2010). Graças aos estoques corporais de Cbl e sua circulação êntero-hepática, onde cerca de 1,4 mcg de Cbl são secretadas pelo fígado na bile (com aproximadamente metade deste conteúdo sendo reabsorvido no intestino, no mesmo processo dependente do FI); uma interrupção completa na absorção parece levar de 3 a 5 anos para esgotar os estoques de Cbl (BRIANI et al., 2013; CARMEL, 2008;). Da mesma forma, embora ainda não exista um consenso, estudos experimentais sugerem que a reabsorção tubular e o armazenamento renal de B12, possam ser mecanismos importantes para a homeostase desta vitamina (BIRN et al., 2002, 2003, 2006; VERROUST et al., 2002).

1.2 Deficiência de vitamina B12

Os grupos de risco para deficiência de Cbl incluem: vegetarianos pela exclusão de alimentos fontes; idosos pelo maior risco de má absorção; pacientes submetidos à gastrectomia total ou parcial distal, devido a redução no número de células parietais (o que leva a redução da síntese de FI); indivíduos com diagnóstico de: anemia perniciosa, pela destruição autoimune das células gástricas parietais, doença de Crohn e doença Celíaca por disfunção na mucosa ileal, gastrite atrófica e gastrite por *H. Pylori* por disfunção na mucosa gástrica ou insuficiência pancreática pelo comprometimento na secreção exógena. Desordens congênitas no metabolismo da B12, abuso de álcool e supercrescimento bacteriano também podem favorecer a deficiência de B12 (ALLEN, 2008; BRIANI et al., 2013; HUNT et al., 2014; KOZYRAKI; CASES, 2013; STABLER, 2013; WONG, 2015). O uso de algumas drogas, tais como inibidores da bomba de prótons (IBPs) e antagonistas de H₂ (omeprazol e ranitidina, respectivamente), são redutores da acidez gástrica e podem tanto reduzir a secreção de FI, quanto prejudicar a liberação da B12 das proteínas alimentares. A colchicina, um antiinflamatório utilizado no tratamento das crises de gota e alguns antibióticos como a neomicina, podem agir como inibidores da endocitose do complexo Cbl-FI. A colestiramina, um hipocolesteromante, pode agir como um quelante do FI e o óxido nitroso, um gás anestésico, inativa quimicamente a B12 através da oxidação irreversível do íon cobalto; podendo predispor a deficiência de Cbl (BRIANI et al., 2013; GREEN et al., 2017a; HUNT et al., 2014; VAN AMSTERDAM et al., 2015).

Outra medicação frequentemente associada à níveis séricos mais baixos de B12 é o hipoglicemiante da classe biguanidas, metformina. Um dos primeiros mecanismos propostos há pelo menos 40 anos, seria o supercrescimento bacteriano em intestino delgado, uma vez que a metformina retarda a absorção de glicose; o que poderia levar ao consumo de B12 na luz intestinal por estas bactérias (CASPARY et al., 1977; O' LEARY; SAMMAN, 2010) Um mecanismo proposto mais recentemente é a interferência na absorção intestinal dependente de cálcio do complexo Cbl-FI, sugerindo que a metformina poderia levar a uma alteração na estrutura morfológica ileal causando a redução da absorção de B12 (KIBIRIGE; MWEBAZE, 2013).

Bauman et al. (2000) demonstraram, em 2000, que a suplementação de carbonato de cálcio em indivíduos tratados com metformina melhorou os níveis de Holo-TC, mesmo sem aumentar os níveis de B12 sérica. Eles concluíram que a metformina poderia alterar o

potencial de membrana, agindo como um bloqueador dos canais de cálcio, causando má absorção de B12.

Por outro lado, estudos mais recentes sugerem que o nível sérico de B12 pode não refletir o seu estado funcional em indivíduos em uso de metformina. Leung et al. (2010) e Greibe et al. (2013a), demonstraram que embora os níveis séricos de B12 encontrem-se frequentemente reduzidos nestes indivíduos, não há comprometimento nos níveis de Holo-TC, a forma bioativa da B12. Outro estudo, desta vez experimental, demonstrou que o tratamento de ratos com metformina aumentou o acúmulo hepático de B12 (GREIBE et al., 2013b). Estes achados sugerem que a metformina pode alterar os níveis séricos desta vitamina, entretanto sem necessariamente significar deficiência funcional da mesma.

Em termos de prevenção, indivíduos tratados com metformina devem ser considerados como apresentando risco aumentado para alterações nos biomarcadores de B12, principalmente aqueles com maiores doses e em maior tempo de tratamento, uma vez que a deficiência parece estar presente quanto maior a dose e maior o tempo de uso da metformina, devendo estes passar por triagem e suplementação, se necessário (AKINLADE et al., 2015; KO et al., 2014).

Níveis falsamente baixos de Cbl podem ocorrer na gestação e lactação, o que parece ser um processo fisiológico adaptativo para aumentar a mobilização de B12 para o bebê através do leite materno; e também em pacientes em uso de contraceptivos orais, embora nestes últimos os níveis de hcis e MMA pareçam não sofrer alterações, podendo significar ausência de deficiência funcional de B12 (GREEN et al., 2017a; RIEDEL et al., 2005).

As manifestações clínicas de deficiência de B12 são heterogêneas, podem variar de acordo com o grau e duração da deficiência e incluem transtornos hematológicos, neurológicos e gastrointestinais. Como consequências hematológicas pode-se citar a anemia megaloblástica, devido à uma interferência na síntese normal de DNA, com a produção de eritrócitos maiores do que o normal (macrocitose). Pode ocorrer também algum grau de neutropenia e trombocitopenia, uma vez que o processo megaloblástico afeta todos os elementos da medula óssea que se dividem rapidamente. Os sintomas associados a estes transtornos hematológicos incluem: fraqueza, fadiga, falta de ar, palpitações e palidez (IOM, 2006; STABLER, 2013).

Pode haver também a ocorrência de complicações neurológicas como distúrbios sensoriais distais, formigamento em extremidades, distúrbios da marcha, má coordenação, equilíbrio e reflexos anormais; além da presença de declínios cognitivos, como perda de concentração, memória, desorientação e demência, com ou sem mudanças de humor.

Distúrbios visuais, delírios, insônia, depressão, irritabilidade e comprometimento do controle da bexiga também são relatados (DEVALIA et al., 2014; GREEN et al., 2017a; IOM, 2006; NIELSEN et al., 2012; STABLER, 2013).

As complicações neurológicas estão presentes em 75 - 90% dos indivíduos com deficiência clínica de B12 e pode em cerca de 25% dos casos, ser a única manifestação sintomática. Evidências mostram que a ocorrência de complicações neurológicas são inversamente correlacionadas com o grau de anemia; isto é, pacientes que cursam menos com sintomas hematológicos apresentam mais complicações neurológicas e vice versa. Por fim queixas gastrointestinais, incluindo glossite, perda de apetite, flatulência e constipação também podem ocorrer, além de infertilidade (IOM, 2006; STABLER, 2013).

A deficiência grave ou estágios avançados mostram evidências de supressão da medula óssea, importante comprometimento neurológico, além de poder ser um fator precipitante nas doenças cardiovasculares (DCV), uma vez que a deficiência de B12 está diretamente relacionada com a Hhcis, um fator de risco independente para as DCV. Há relato na literatura também de que a deficiência de B12 pode aumentar a mortalidade e morbidade por DCV devido a outros fatores que não a Hhcis, como anisocitose (*RDW - red cell distribution width*) e volume globular médio (VGM) elevados (GANGULY; ALAM, 2015; PAWLAK, 2015; ROMAIN et al., 2016).

Uma vez que as complicações da deficiência de B12 podem ser graves, fica nítida a necessidade de seu diagnóstico, principalmente a identificação de graus mais sutis de deficiência de B12. Por não existir um teste considerado padrão ouro na determinação da deficiência de B12, já que as possibilidades metodológicas disponíveis apresentam, entre outras coisas, problemas de sensibilidade e especificidade; o quadro clínico torna-se um fator importante na avaliação dos resultados dos testes utilizados para avaliar o estado corporal desta vitamina (DEVALIA et al., 2014, HANNIBAL et al., 2016).

Em geral, o primeiro teste realizado para triagem do diagnóstico de deficiência de B12 é a mensuração do seu nível sérico. Entretanto, um baixo nível sérico de B12 pode nem sempre indicar deficiência e um nível sérico dentro do intervalo de referência frequentemente não é capaz de refletir o estado celular de B12. Em parte isto pode ser explicado pela distribuição de B12 no organismo, onde a maior parte da B12 encontra-se carregada pela HC, não estando prontamente disponível para entrega imediata às células (GREEN, 2017b). Um problema adicional no estudo da B12 são as diferentes unidades para representar os níveis séricos, onde alguns estudos expressam os resultados em pmol/l e outros em pg/ml (DEVALIA et al., 2014).

Não há também um consenso sobre o ponto de corte para avaliação da B12 sérica, mas em geral os estudos utilizam valores que consideram níveis séricos normais de B12 acima de 221pmol/L (299pg/ml), estado marginal de deficiência, entre 148 – 221pmol/L (200 – 299pg/ml); e valores < 148pmol/L (< 200pg/ml), deficiência de B12. Outros testes utilizados e considerados de segunda linha como a determinação sérica da hcis e do MMA, podem ser úteis para esclarecer incertezas no diagnóstico, embora a disponibilidade deste último na prática clínica seja atualmente limitada (ALLEN, 2009; APARICIO-UGARRIZA et al., 2015; DEVALIA et al., 2014; HEIL et al., 2012).

Valores de hcis acima de 15 $\mu\text{mol/L}$ são classificados como Hhcis e valores ≥ 100 $\mu\text{mol/l}$ como Hhcis grave (APARICIO-UGARRIZA et al., 2015; JIANG et al., 2017; SHIPTON; THACHIL, 2015). Embora este seja um biomarcador sensível da deficiência de Cbl, aumentando no início da deficiência e às vezes precedendo os sintomas, a Hhcis não é específica da deficiência de B12, estando presente também na deficiência de folato, piridoxina, em pacientes com insuficiência renal, hipotireoidismo, e como resultado de certos polimorfismos genéticos; desta forma, sua utilização como único parâmetro para o diagnóstico, torna-se limitada (DEVALIA et al., 2014; PORTER et al., 2016).

Embora o MMA seja considerado um marcador mais específico da deficiência de B12, este também pode encontrar-se elevado em indivíduos com DRC, supercrescimento bacteriano e em condições de hemoconcentração. Entretanto, de acordo Iqbal et al. (2013) ao avaliarem idosos com DRC em estágio terminal, concluíram que o MMA segue sendo um marcador viável de deficiência de B12, principalmente quando associado à mensuração da Holo-TC. Valores > 0,27 $\mu\text{mol/l}$ indicam elevação deste metabólito, e valores >0,75 $\mu\text{mol/l}$ quase invariavelmente estão relacionados com a deficiência de B12. No entanto, a mensuração do MMA é feita por métodos complexos e especializados, que são relativamente caros (APARICIO-UGARRIZA et al., 2015; DEVALIA et al., 2014; HEIL et al., 2012; SHIPTON; THACHIL, 2015).

Nos últimos anos a Holo-TC vêm sendo considerada o marcador mais precoce de deficiência de B12 (CHATTHANAWAREE, 2011). Um estudo multicêntrico concluiu que a Holo-TC tem melhor precisão diagnóstica do que a B12 sérica e poderia substituí-la como um teste de triagem primária em pacientes com suspeita de deficiência de B12 (HEIL et al., 2012). De acordo com Loikas et al. (2007), a função renal definida tanto pela creatinina, quanto pela cistatina C correlaciona-se fortemente com hcis plasmática e MMA, mas não com a Cbl sérica e Holo-TC. Do mesmo modo, Valente et al. (2011) concluíram que a presença de disfunção renal compromete a acurácia do MMA, mas não da Holo-TC e da Cbl sérica.

Segundo Greibe et al. (2011), uma vantagem adicional atribuída ao uso deste teste diagnóstico, por exemplo, em gestantes, parece ser o fato deste biomarcador não estar sujeito à queda fisiológica observada na Cbl sérica total durante o curso da gravidez.

A concentração de Holo-TC < 25 pmol/L sugere fortemente deficiência de B12. Entretanto, não se pode excluir a ocorrência de deficiência em resultados na faixa de 25-70 pmol/L. Segundo Devalia et al (2014), embora a Holo-TC tenha um potencial de teste de primeira linha, uma "área cinzenta" indeterminada ainda pode existir, necessitando muitas vezes, de uma investigação adicional. Nestes casos, o MMA parece ser um teste complementar adequado aumentando em 18% a detecção dos casos de deficiência de B12 (HARRINGTON, 2016; HERRMANN; OBEID, 2013).

Embora a medição da Holo-TC esteja sendo gradualmente incorporada em laboratórios clínicos ao redor do mundo, estudos mais recentes questionam a sensibilidade e a capacidade de diagnóstico precoce deste marcador. Golding (2016a), em um estudo experimental feito com o próprio autor, que possuía um padrão alimentar vegetariano, após reduzir gradualmente até suspender o seu tratamento suplementar com CNCbl e dosar semanalmente os biomarcadores, concluiu que a Holo-TC é menos sensível que o MMA, decaindo somente a partir do dia 742 do experimento, enquanto o MMA aumentou acima do ponto de corte a partir do dia 428, 58 dias após o início da privação da suplementação de B12. Portanto, o autor contrariou o modelo de evolução da deficiência de B12 proposto por Herbert em 1987, e revisto em 1994, onde o primeiro estágio foi caracterizado como um balanço negativo da B12, marcado pela redução precoce da Holo-TC. Desta forma, o valor de diagnóstico da Holo-TC como teste de primeira linha aguarda novas investigações (HANNIBAL et al., 2016).

Em suma, nenhum marcador laboratorial de B12 isolado é adequado para a avaliação do estado de B12 em todos os pacientes (HARRINGTON, 2016). Em 2015, Fedosov et al. (2015), desenvolveram modelos matemáticos através de equações que combinam dois, três ou quatro biomarcadores em um único indicador para o diagnóstico dependente da idade. Chamado de indicador combinado de vitamina B12, este precisa de ajuste quando o folato sérico encontra-se inferior a 10 nmol/L. Além disto, os autores sugeriram uma classificação do estado de B12 como "vitamina B12 elevada", "vitamina B12 adequada", "vitamina B12 baixa", "possível deficiência", "provável deficiência", de acordo com os valores obtidos através do indicador combinado de vitamina B12 (FEDOSOV, 2015). Conforme recomendado pela diretriz publicada em 2014, o uso de mais de um biomarcador permite diagnósticos mais confiáveis em comparação com qualquer biomarcador único (DEVALIA et

al., 2014).

Dependendo do biomarcador escolhido, ou a combinação deles; e do ponto de corte adotado, é possível encontrar valores divergentes de prevalência de deficiência de B12 em todo o mundo. Utilizando-se os dados do *National Health and Nutrition Examination Surveys* (NHANES) de 1999 a 2002, estimou-se que a prevalência de deficiência de B12 nos EUA variou por faixa etária afetando $\leq 3\%$ dos indivíduos com idade entre 20-39 anos, aproximadamente 4% daqueles com idade entre 40-59 anos e 6% das pessoas com idade ≥ 70 anos. O estado marginal de B12 foi mais comum e ocorreu em aproximadamente 14-16% daqueles com idade entre 20-59 anos e $> 20\%$ naqueles com idade > 60 anos (ALLEN, 2009). Por outro lado, segundo Green et al. (2017a) estudos nacionais de diversos países demonstraram que a prevalência estimada para a deficiência e o estado marginal de B12 excedem em muito os valores encontrados nos EUA, particularmente na América do Sul, África e Ásia (aproximadamente 35%, 42% e 45%, respectivamente).

A alta prevalência de deficiência de B12 não se limita aos adultos mais velhos, com alguns países com mais de 40% de prevalência em diferentes subpopulações (crianças, jovens adultos e mulheres em idade fértil) (GREEN et al., 2017a). Segundo Wong (2015), em um estudo não publicado realizado pelo seu grupo de pesquisa em Hong Kong, com 2096 idosos institucionalizados com idade > 65 anos, a prevalência de deficiência foi de 34,9%. Em outro estudo também realizado nos EUA, foi identificado que a prevalência é maior nos indivíduos ainda mais idosos, com relatos de 23 a 35% de deficiência nos indivíduos com idade > 80 anos (JOHNSON et al., 2010). Na população brasileira, o estudo de Xavier et al. (2010) estimou prevalência de deficiência de B12 de 7,2% em indivíduos com idade entre 30 e 59 anos, enquanto Barnabé et al. (2015) identificaram deficiência de B12 de 4,9% dos indivíduos em diferentes estágios da vida (crianças, idosos, mulheres grávidas e lactantes). Em um estudo de revisão foi reportada prevalência de deficiência de B12 entre vegetarianos em diversas fases da vida e diversos países, variando de 11 a 90% (PAWLAK et al., 2013).

1.3 Doenças cardiovasculares e vitamina B12

As DCV são a principal causa de mortalidade em todo o mundo, sendo responsáveis por cerca de 30% de todas as mortes, correspondendo a 17,3 milhões de mortes por ano, com

a expectativa de aumento deste número para 23,6 milhões até o ano de 2030 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011, 2017; SMITH et al., 2012). A aterosclerose é o principal processo patológico que leva ao desenvolvimento das DCV, incluindo o infarto agudo do miocárdio (IAM), a insuficiência cardíaca e o acidente vascular encefálico (AVE) (FROSTEGÄRD, 2013). A identificação precoce dos fatores de risco para DCV é fundamental para que se possa prevenir o aparecimento e/ou a progressão da aterosclerose. Dentre os principais fatores de risco para a DCV pode-se destacar o tabagismo, a hipertensão arterial sistêmica (HAS), o diabetes *mellitus* (DM), a idade avançada, a história familiar de DCV e a dislipidemia (JELLINGER et al., 2017; PIEPOLI et al., 2016).

Existem evidências de que a Hhcs, que pode ser causada pela deficiência de B12, assim como de ácido fólico e vitamina B6, é um fator de risco independente para as DCV (CASAS et al., 2005; HEINZ et al., 2009; LIU et al., 2019; MARKAKI et al., 2017; NI et al., 2007; SELHUB, 2006; TAHERAGHDAM et al., 2016; WU et al., 2013, YUSUF et al., 2001; ZHANG et al., 2016). A Hhcs está diretamente relacionada à deficiência de B12, uma vez que a hcs é um metabólito derivado da metionina, e aproximadamente 50% é resintetizada a este aminoácido via transmetilação, em um processo dependente de B12 (MA et al., 2017). Outros fatores associados com a elevação nos níveis séricos de hcs incluem idade avançada, sexo masculino, tabagismo, consumo de café, redução da função renal e anormalidades genéticas nas enzimas responsáveis pelo metabolismo da hcs: MS, metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) e cistationina β sintase (DE BREE et al., 2002; DUYGU, 2017; STEED; TYAGI, 2011).

Uma meta-análise envolvendo 30 estudos longitudinais revelou que após ajustes para fatores de risco tradicionais para DCV a concentração sérica de hcs 25% menor (cerca de 3 mmol/L) se associou com um risco 11% menor de doença coronariana isquêmica e 19% menor de AVE (*Homocysteine Studies Collaboration*, 2002). De forma semelhante, em outra meta-análise foi observado que o aumento de 5 mmol/L na concentração de hcs se associou com aumento de cerca de 20% do risco de doença arterial coronariana independentemente dos fatores de risco tradicionais para DCV (HUMPHREY et al., 2008).

Em um estudo realizado por Shargorodsky et al. (2009) com indivíduos apresentando DM tipo 2, na análise de regressão linear múltipla, mesmo após ajustes para fatores de risco CV convencionais, a hcs permaneceu positivamente associada à velocidade de onda de pulso (VOP) ($p = 0,003$), uma medida simples, não invasiva, validada e reprodutível, para avaliar a rigidez arterial. Enquanto os níveis séricos de B12 apresentaram associação inversa significativa com hcs, e estiveram próximos de atingir significância estatística para

correlação independente com a VOP ($r = -0,212$, $p = 0,052$) (LAURENT et al., 2006).

A Hhcis se associou com doença dos pequenos vasos no cérebro e com aterosclerose dos grandes vasos no cérebro em pacientes com AVE (JEON et al., 2014). Kim et al. (2016) também observaram associação entre concentração sérica elevada de hcis e calcificação vascular intracraniana e aterosclerose cerebral.

Os mecanismos propostos para a Hhcis predispor a aterosclerose e as DCV incluem estresse oxidativo, disfunção endotelial, proliferação do músculo liso vascular, rigidez arterial, estado pró-trombótico e remodelação CV. A auto-oxidação da hcis resulta na produção de compostos associados com o início de processos aterogênicos, tais como EROS, levando ao estresse oxidativo com redução da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e disfunção endotelial (DEBRECINE, B.; DEBRECINE, L., 2014; STEED; TYAGI, 2011; PAWLAK, 2015; ZHAO et al., 2017a).

Nas células endoteliais, em resposta a lesão oxidativa ocorre a produção de uma série de mediadores pró-inflamatórios, incluindo a proteína quimioatraente para monócitos (MCP-1), moléculas de adesão (ex.: E-selecina, P-selectina, molécula de adesão intercelular (ICAM-1), molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1)), interleucinas e proteína C reativa (PCR). Existem evidências confirmando que a Hhcis induz inflamação e sugerindo que a ligação entre hcis e fatores inflamatórios parece ser ativada pelo NF- κ B (DEBRECINE, B.; DEBRECINE, L., 2014; ZHAO et al., 2017a).

Outros mecanismos propostos para a Hhcis aumentar o risco CV incluem a apoptose das células endoteliais e a alteração da hemostase. Já foi demonstrado que a Hhcis é acompanhada de um estado de hipercoagulabilidade com maior risco de trombose e com prejuízo na fibrinólise (DEBRECINE, B.; DEBRECINE, L., 2014; STEED; TYAGI, 2011).

Com base nos fatos expostos nos parágrafos anteriores, pode-se sugerir que intervenções com o objetivo de reduzir as concentrações séricas de hcis possam diminuir o risco de DCV. Portanto, uma série de estudos avaliou o efeito da suplementação de ácido fólico, B12, B6 ou o efeito da suplementação combinada dessas vitaminas sobre o risco CV tendo encontrado resultados inconsistentes. Em alguns estudos foi observada redução do risco CV: *The Swiss Heart Study* (SCHNYDER et al., 2002), SHEEP (HOLMQUIST et al., 2003), *US Health Professionals* (MERCHANT et al., 2003), BVAIT (HODIS et al., 2009) e *Swedish Mammography Cohort* (RAUTIAINEN et al., 2010). Entretanto, em outros apesar da suplementação vitamínica ter reduzido as concentrações de hcis não foi observada diminuição no risco de DCV: VISP (TOOLE et al., 2004), NORVIT (BONAA et al., 2006), HOPE-2 (LONN et al., 2006), HOST (JAMISON et al., 2007), WENBIT (EBBING et al.,

2008), WAFACS (ALBERT et al., 2008) e SEARCH (*SEARCH Collaborative Group*, 2010).

Os estudos que não observaram efeitos benéficos sobre o risco de DCV com a suplementação de vitaminas relacionadas como metabolismo da hcis (VRMH: ácido fólico, B12 e B6) podem gerar dúvidas em relação aos efeitos da hcis e conseqüentemente dessas vitaminas na DCV. Entretanto, vários fatores nesses estudos podem ser responsáveis pela ausência de efeitos benéficos, tendo mascarado o efeito dessas vitaminas. Dentre esses fatores pode-se citar: (1) a suplementação das VRMH apenas irá reduzir a incidência de DCV nos indivíduos com Hhcis causada pela deficiência de VRMH, enquanto as DCV induzidas pela Hhcis associada com níveis séricos normais de VRMH será refrataria a suplementação vitamínica (WU et al., 2013). (2) A maior parte desses estudos avaliou prevenção secundária (ou terciária), e as conclusões não podem ser extrapoladas para a prevenção primária da DCV. (3) Na maioria desses estudos, não foi considerado um fator essencial que é o uso concomitante de medicações (incluindo aspirina ou agentes antiplaquetários, drogas hipolipemiantes/estatinas e ocasionalmente suplementos multivitamínicos) pelos participantes tanto no grupo suplementado quanto no grupo placebo. O uso destas medicações pode ter afetado a morbidade e mortalidade CV e pode ter atenuado a habilidade em se detectar uma diferença significativa entre os grupos. Portanto, os resultados dos estudos podem ser considerados prejudicados por esses fatores de confundimento (DEBRECINE, B.; DEBRECINE, L., 2014;). Várias meta-análises e análises estratificadas de estudos com suplementação de VRMH revelaram que muitos estudos foram efetivos na redução do risco CV, principalmente redução no risco de AVE, apesar de terem sido considerados inicialmente como negativos (DONG et al., 2015; HUANG et al., 2012; HUO et al., 2012; JI et al., 2013; LEE et al., 2010; LI et al., 2016; SAPOSNIK et al., 2009; TIAN et al., 2017; WANG et al., 2007; WANG et al., 2017; YANG et al., 2012; ZENG et al., 2014; ZHAO et al., 2017b). A redução no risco de AVE com a terapia com vitaminas do complexo B em geral foi encontrada nos estudos nos quais a duração do tratamento foi maior do que 3 anos, a redução na concentração plasmática de hcis foi > 20%, a região onde os participantes foram recrutados não fortificava a dieta com folato e os pacientes não possuíam história prévia de AVE (MESCHIA et al., 2014).

Por exemplo, com relação ao uso de agentes antiplaquetários, Hankey et al. (2012) utilizaram dados do estudo VITATOPS e após *follow-up* médio de 3,4 anos, encontraram que dos participantes que não tomavam medicamentos antiplaquetários no início do estudo, a suplementação apresentou após ajustes, uma redução significativa no risco de AVE, IAM ou morte por causas vasculares (17% no grupo tratado vs. 21% no grupo placebo; RR: 0,71; IC

95%: 0,55–0,90; $p= 0,02$).

Recentemente foi publicada a terceira atualização da revisão da Cochrane sobre as intervenções de redução da hcis para prevenção de eventos CV (MARTÍ-CARVAJAL et al., 2017). Os autores concluíram que a suplementação das vitaminas B (ácido fólico, B12 e B6) isoladamente ou em combinação não se associou com redução no risco de IAM, morte por todas as causas ou evento adverso, mas se associou com menor risco de AVE (MARTÍ-CARVAJAL et al., 2017).

Atualmente, existem evidências de que a deficiência de B12 pode estar ligada ao processo aterogênico, principalmente, mas não exclusivamente, através da Hhcis. Valores elevados do VGM e RDW são consequências da deficiência de B12 e têm sido associados ao risco de DCV. Em um estudo foi relatado aumento de 8% no risco de doença coronária fatal e IAM não fatal, 20% no risco de AVE e 15% no risco de insuficiência cardíaca sintomática para cada 1% de aumento no RDW (TONELLI et al., 2008). Mueller et al. (2001) observaram um aumento no risco de doença arterial periférica entre os pacientes com valores elevados de VGM; enquanto os resultados de uma meta-análise recente sugerem que aumentos no RDW parecem aumentar o risco de mortalidade por todas as causas em pacientes com DRC (ZHANG et al., 2017).

Estudos sugerem que a B12 pode participar da patogênese das DCV, através da sua atuação como um agente antioxidante e anti-inflamatório, podendo modular as respostas inflamatórias no estresse oxidativo, através da reação direta com EROS como um efeito poupador da glutathiona peroxidase (GPx), e à uma taxa similar a enzima superóxido dismutase (SOD) (BIRCH et al., 2009; SUAREZ-MOREIRA et al., 2009). Estudos apontam que a B12 parece modificar moléculas de sinalização e reduzir indiretamente a expressão do NF- κ B, além da deficiência de B12 estar relacionada com níveis aumentados do TNF- α (PERACCHI et al., 2001, SCALABRINO et al., 2004, VEBER et al., 2008). Embora os mecanismos de imunorregulação da Cbl ainda não sejam totalmente compreendidos, foi demonstrado que a Cbl reduz indiretamente a expressão do NF- κ B um ativador da expressão de genes relacionados com inflamação (VEBER et al., 2008). Desta forma acredita-se que o papel da deficiência de B12 na gênese das DCV apresenta relevância não só através da hcis, mas também por parecer modular o estresse oxidativo e a inflamação.

Estudos experimentais (BIRCH et al., 2009; SUAREZ-MOREIRA et al., 2011), observacionais (AL-DAHGRI et al., 2016; GUEST et al., 2015; LEE et al., 2016; SOLOMON et al., 2015) e também com suplementação de B12 (PERACCHI et al., 2001) estão de acordo com a hipótese descrita no parágrafo anterior e alguns desses estudos serão descritos nos

próximos parágrafos.

Suarez-Moreira et al. (2011), em um estudo experimental, observaram que a Cbl protege as células endoteliais aórticas contra níveis elevados de superóxido, induzidos por exposição *in vitro* à hcis, além de prover proteção contra apoptose celular. A pré-incubação das células endoteliais aórticas com CNCbl impediu tanto o aumento de EROS dependente da hcis, quanto à diminuição da viabilidade celular dependente de hcis. Os dados mostrados por estes autores sugerem que Cbl atua como um eficiente eliminador do ânion superóxido intracelular.

Em outro estudo experimental, *in vitro*, o pré-tratamento de células Sk-Hep-1 com tiolatocobalaminas proporcionou proteção contra substâncias pró-oxidantes, com 90% de sobrevivência celular frente a exposição à hcis e peróxido de hidrogênio. Neste estudo as tiolatocobalaminas (potenciais precursores das formas cofadoras de Cbl encontrados em células de mamíferos), inibiram a produção de peróxido intracelular, mantiveram os níveis intracelulares de GPx e impediram a morte celular apoptótica e necrótica (BIRCH et al., 2009)

Solomon et al. (2015) observaram em um estudo com indivíduos jovens e idosos, que a incidência de deficiência funcional de Cbl estava associada com distúrbios caracterizados pelo aumento do estresse oxidativo principalmente em idosos. De forma semelhante, Lee et al. (2016) ao estudarem indivíduos diabéticos observaram que aqueles com concentração sérica mais baixa de B12, em comparação com aqueles apresentando níveis séricos mais elevados, apresentaram níveis maiores de inflamação avaliada pela PCR ($p=0,03$) e pela interleucina 6 (IL-6) ($p=0,02$); estresse oxidativo, avaliado por malonaldeído ($p=0,01$); além de menor atividade enzimática antioxidante estimada pelos níveis de catalase (CAT) e GPx ($p=0,02$ e $p<0,01$, respectivamente).

Do mesmo modo Guest et al. (2015), ao estudarem indivíduos saudáveis encontraram associação positiva entre Cbl plasmática e a capacidade antioxidante total ($r=0,38$, $p\leq 0,05$), que permaneceu significativa mesmo após ajustes para idade e sexo. Peracchi et al. (2001), relataram que indivíduos com manifestações hematológicas de deficiência grave de Cbl, quando comparados com indivíduos sem deficiência apresentaram níveis séricos significativamente elevados de TNF- α . Esses autores também observaram que os níveis séricos de TNF- α apresentaram redução significativa, comparando os valores antes ($31,4 \pm 17,8$ pg/mL), com os valores aos 3 e aos 6 meses após a terapia parenteral com Cbl ($23,3 \pm 11,06$ pg/mL e $22,7 \pm 7,87$ pg/mL, respectivamente). Além disto, Al-Dahgri et al. (2016), encontraram associação inversa entre os níveis séricos de Cbl e TNF- α ($r=-0,14$, $p<0,05$) em um estudo realizado com adultos e crianças.

Estudos com suplementação de B12 sugerem efeitos benéficos sobre marcadores intermediários de risco CV, incluindo melhora na função endotelial e/ou na espessura da íntima média da carótida (EIMC) (BLEIE et al., 2011; CHAMBERS et al., 2000; KOYAMA et al., 2010; KWOK et al., 2012; SETOLA et al., 2004; WOO et al., 2008; 2012; XIA et al., 2014). O estudo de intervenção realizado por Koyama et al. (2010), encontrou redução significativa da rigidez arterial associada a redução da dimetilarginina assimétrica (DMAA), um importante inibidor da enzima óxido nítrico sintase (eNOS); após suplementação oral de folato e intravenosa de B12 em indivíduos sob terapia hemodialítica. Da mesma forma, Xia et al. (2014), após suplementação oral de folato e B12 em indivíduos que sofreram AVE isquêmico, encontraram redução significativa nos níveis de DMAA e hcis, e aumento nos níveis de NO e da eNOS no grupo intervenção.

Setola et al. (2004) realizaram um ensaio clínico randomizado (ECR), duplo cego; no qual ambos os grupos receberam intervenção de dieta, e apenas um grupo recebeu suplementação oral de ácido fólico (5 mg/dia) e B12 (500 mcg/dia) durante 1 mês. Foi observada melhora significativa na disfunção endotelial, uma vez que a vasodilatação máxima pós-isquemia aumentou 29,8%, a guanosina-monofosfato cíclico (GMPc), um segundo mensageiro envolvido no relaxamento das células musculares lisas aumentou 13,6% e os níveis de DMAA diminuíram 21,7%, no grupo suplementado. De modo semelhante Bleie et al. (2011), após suplementar por 24 meses ácido fólico e B12, encontraram melhora significativa no fluxo sanguíneo coronariano basal e induzido por adenosina, em pacientes com doença arterial coronariana estável.

Em um ECR e cruzado, placebo controlado a suplementação de B12 (500 mcg/dia) melhorou a função endotelial e reduziu a EIMC em vegetarianos com estado sub ótimo de B12 (KWOK et al., 2012). Outros estudos também observaram melhora na função endotelial, avaliada através da dilatação fluxo mediada (DMF), com a suplementação de B12 (sem associação com outras vitaminas) (CHAMBERS et al., 2000; WOO et al., 2008; 2012). A relação entre níveis séricos de hcis e diâmetros vasculares retinianos já foi avaliada, tendo sido observada associação inversa com o calibre arteriolar em homens (GOPINATH et al., 2009). Hecke et al. (2008) observaram que a hcis plasmática total foi inversamente associada aos diâmetros arteriulares da retina, o que significou uma diminuição do equivalente da artéria retiniana central (CRAE) de 3,78µm para cada aumento de um desvio-padrão nos níveis de hcis (4,6 µmol/l). Com estes achados, os autores sugeriram que a hcis pode ser um fator de risco relevante para o estreitamento arteriolar da retina, o que representa um marcador de risco CV.

Há relatos na literatura também sobre associação negativa entre níveis de B12 e níveis de insulina e *Homeostatic Model Assessment* (HOMA-IR) (KAYA et al., 2009). Um estudo experimental demonstrou que a Hhcis promove resistência à insulina por induzir diretamente a expressão e liberação de TNF- α e resistina (LI et al., 2008). Tais achados foram confirmados por Li et al. (2018) que ao estudarem indivíduos obesos, observaram que níveis baixos de B12 ($p < 0,05$) e níveis altos de MMA ($p = 0,01$) associaram-se com maior resistência à insulina, avaliada por HOMA-IR. Outro estudo realizado com gestantes na Índia, observou que baixos níveis de B12 maternos ($p = 0,03$) resultam em crianças com valores mais elevados do HOMA-IR (YAJNIK et al., 2008). Da mesma forma, Krishnaveni et al. (2014) relataram que a deficiência de B12 na gestação também foi associada com aumento da adiposidade e com maior resistência à insulina e incidência de DM gestacional.

Evidências adicionais sobre o potencial efeito benéfico da B12 sobre o risco CV foram obtidas a partir de estudos caso controle comparando indivíduos com e sem DCV que observaram níveis séricos mais baixos de B12 no pacientes com DCV (BASAK et al., 2016; ZSÓRI et al., 2013). Zsóri et al. (2013) ao estudarem indivíduos com doença arterial periférica em comparação com um grupo controle, observaram que os níveis séricos de B12 eram menores nos casos do que nos controles ($p < 0,001$), mesmo após ajustes para os níveis séricos de folato e hcis ($p = 0,004$); enquanto os níveis séricos de PCR e hcis no grupo com doença arterial periférica foram maiores do que no controle ($p < 0,005$). Do mesmo modo, Basak et al. (2016) encontraram níveis médios de Holo-TC mais baixos em indivíduos portadores de doença arterial coronariana, quando comparado aos controles ($p < 0,001$), mesmo após ajuste para fatores de confundimento como idade, sexo, IMC, HAS, DM, tabagismo, colesterol total, lipoproteína de alta densidade, lipoproteína de baixa densidade (LDL), hcis e cisteína.

1.4 Transplante renal e doenças cardiovasculares

A DRC consiste em um importante problema de saúde pública em todo o mundo, apresentando elevada prevalência e alto custo de tratamento, além de ser um fator de risco independente para as DCV. Todos os estágios da DRC estão associados com aumento no risco de morbidade CV, mortalidade prematura e redução na qualidade de vida (GO et al., 2004; HILL et al., 2016; JHA et al., 2013; MATSUSHITA et al., 2010; 2015; SESSO et al., 2016).

O TxR é considerado o tratamento de escolha para pacientes apresentando DRC em estágio terminal (KDIGO, 2009; MAGEE;PASCUAL, 2004). No Brasil, o TxR é o terceiro tipo de transplante mais comum, perdendo apenas para o transplante de córnea e tecido ósseo; sendo o primeiro entre os transplantes de órgãos. Segundo a Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO), foram realizados 2.964 transplantes renais no primeiro semestre de 2019, o equivalente a um aumento de 8,1% quando comparado ao mesmo período no ano de 2018 (RBT, 2019).

O TxR bem sucedido permite o fim de grande parte das restrições e complicações relativas à diálise; permitindo melhor qualidade de vida (CAMERON et al., 2000; LEE et al., 2005; PAWAR et al., 2006), além de estar associado a menor custo (ABECASSIS et al., 2008; KENT et al., 2015; ROSSELI et al., 2015). Há relato na literatura que o TxR confere um benefício de sobrevida em quase todos os subgrupos, inclusive, em pacientes idosos, obesos e portadores de hepatite C; e que um transplante bem sucedido triplica a expectativa de vida de um paciente com DRC em estágio terminal (MAGEE; PASCUAL, 2004; ONISCU et al., 2005). Um estudo realizado utilizando os dados do *United States Renal Data System* (USRDS) que comparou pacientes em diálise na fila de espera para o TxR, com controles que receberam o TxR, constatou que após 3 a 4 anos de acompanhamento, o transplante reduziu o risco de morte em 68% (WOLFE et al., 1999).

Embora o TxR confira maior sobrevida em relação ao tratamento de diálise para pacientes com DRC em estágio terminal, esta é significativamente menor quando comparada aos controles pareados por idade na população geral (BRIGGS, 2001; PRAKASH et al., 2012). No início da década de 1980, a rejeição do enxerto e a infecção eram os principais desafios (GORLÉN et al., 1992; HILL et al., 1991; WASHER et al., 1983). Nos últimos anos houve um aumento na sobrevida tanto do enxerto quanto do paciente, devido aos progressos nas técnicas cirúrgicas e introdução de novos imunossuppressores, reduzindo a ocorrência de rejeições agudas. Entretanto, a sobrevida em longo prazo segue sendo um desafio devido ao risco aumentado de infecções, doenças malignas, rejeição crônica do enxerto e DCV (BAMOULID et al., 2016; MEIER-KRIESCHE, 2004; WANG et al., 2016; WEKERLE et al., 2017).

Da mesma forma que a taxa de mortalidade por todas as causas, a taxa de mortalidade por DCV em RTR embora menor do que nos pacientes em diálise, excede em muito a taxa da população em geral, sendo uma das principais causas de morte entre os RTR, representando 40-55% de todas as causas de mortalidade (BRIGGS, 2001; BOTTOMLEY; HARDEN et al., 2013; GLICKLICH;VOHRA, 2014; MAGEE; PASCUAL, 2004; MORALES et al., 2012;

NEALE;SMITH, 2015; RIBIC et al., 2017; STOUMPOS et al., 2015).

Os fatores de risco para DCV em RTR podem ser divididos em tradicionais e não tradicionais. Acredita-se que os fatores de risco tradicionais para DCV na população em geral atuam de forma similar em RTRs e incluem HAS, dislipidemia, DM e obesidade, assim como fatores relacionados ao estilo de vida como tabagismo e sedentarismo (FINDLAY et al., 2016; GILL, 2008; NEAL; SMITH, 2015). Os fatores de risco não tradicionais nesta população incluem medicação imunossupressora, proteinúria, rejeição do enxerto, anemia, inflamação e Hhcis (BOERNER et al., 2011; NEALE; SMITH, 2015; STOUMPOS et al., 2015).

Embora as medicações imunossupressoras sejam necessárias para a manutenção do enxerto funcionante, evitando a ocorrência de episódios de rejeição aguda, elas contribuem de forma significativa para a elevada prevalência dos fatores de risco para DCV nesta população (JARDINE et al., 2011; KDIGO, 2009;). A HAS apresenta prevalência entre 50 – 90% nos RTR (SOUZA et al., 2007; WADEI; TEXTOR, 2010). Vários fatores aumentam o risco de HAS pós- TxR incluindo HAS pré-existente, características do doador (diagnóstico de HAS), disfunção do enxerto e os imunossupressores (MANGRAY;VELLA, 2011).

Alguns estudos sugerem que os imunossupressores da classe de inibidores de calcineurina como ciclosporina A (CsA) e tacrolimo podem induzir HAS por vasoconstrição secundária ao aumento da endotelina-1, hiperatividade simpática e estimulação do sistema renina-angiotensina, enquanto outros sugerem que os mecanismos estão mais relacionados a redução da vasodilatação NO dependente do que a ocorrência de vasoconstrição, além de retenção de sódio e água; os glicocorticoides por sua vez, contribuem para a HAS pelo aumento da retenção de sódio e água (CHAKKERA et al.,2017; GILL, 2008; HOORN et al., 2012; MOES et al., 2014).

A ocorrência de DM após o TxR é comum (4 – 25%), principalmente nos primeiros 6 meses quando as doses dos imunossupressores estão elevadas (GHISDAL et al., 2012; PHAM et al., 2011; SOUZA et al., 2007). Os fatores de risco incluem obesidade, história de intolerância à glicose, infecções virais e as drogas imunossupressoras (ex. inibidores de calcineuria, glicocorticoides e imunossupressores classe da proteína alvo da rapamicina em mamíferos - mTOR) (STOUMPOS et al., 2015). Existem evidências de que o tacrolimo e a CsA prejudicam o crescimento e função das células β - pancreáticas, com direta toxicidade, além de prejudicar a expressão do gene da insulina; enquanto os glicocorticoides aumentam a produção hepática de glicose e interferem nos componentes da cascata de sinalização no fígado e músculo esquelético (CHAKKERA et al., 2017; MARCÉN, 2009; MUNTEAN;

LUCAN, 2013).

A prevalência de dislipidemia após o transplante é de 60 – 70%, e a causa geralmente é atribuída ao uso dos glicocorticoides através da sua ação em diversos mecanismos, incluindo resistência à insulina (CHAKKERA et al., 2017; MARCÉN, 2009;). A CsA também pode favorecer a dislipidemia por interferir na ligação da LDL ao seu receptor (CHAKKERA et al., 2017; OPELZ; DÖHLER, 2009). Os imunossupressores da classe da mTOR, como everolimos e rapamicina também podem alterar o metabolismo lipídico (CHAKKERA et al., 2017; MARCÉN, 2009; WEBSTER et al., 2006).

A proteinúria é um marcador de lesão renal, assim como um marcador de declínio da função renal, além de ser amplamente aceita como um fator de risco independente para as DCV (CURRIE; DELLES, 2014). A prevalência de proteinúria 1 ano após o TxR é de 11% a 45%, sendo ainda maior nos pacientes tratados com mTOR. No pós-TxR, a proteinúria tem sido associada com redução na sobrevida do enxerto e do paciente, assim como aumento do risco de eventos CV (HALIMI et al., 2007; HERNÁNDEZ et al., 2012; PONTICELLI; GRAZIANI, 2012; TSAMPALIEROS; KNOLL, 2015). Os mecanismos potenciais para o aumento no risco de DCV associado com a proteinúria são inflamação e disfunção endotelial (PONTICELLI; GRAZIANI, 2012; VAN REE et al., 2008).

A redução da função renal pós-TxR está significativamente correlacionada com risco de DCV (LIEFELDT; BUDDE, 2010). Meier-Kriesche et al. (2003) encontraram forte associação linear entre creatinina sérica no primeiro ano pós-TxR e o risco de óbito por DCV; fato semelhantemente observado por Fellstrom et al. (2005). Os inibidores de calcineurina são as principais medicações relacionadas com a presença de nefrotoxicidade (BOOTS et al., 2004; KDIGO, 2009; MATTOS et al., 2000).

A anemia é um conhecido efeito colateral tanto da azatioprina quanto do micofenolato sendo atribuída ao prejuízo na função medular (LIEFELDT; BUDDE, 2010). Outras causas de anemia pós-TxR são prejuízo na função renal, deficiência de ferro e outros nutrientes (NEALE; SMITH, 2015). A prevalência varia de acordo com o tempo de TxR, no período pós- operatório inicial pode ocorrer em até 76% dos pacientes (NEALE; SMITH, 2015). Posteriormente, estima-se uma prevalência entre 30 – 40% podendo chegar até 60% em crianças (AFZALI et al., 2006; YABU; WINKELMAYER, 2011). Evidências indicam que a anemia está associada com maior risco de mortalidade, provavelmente por favorecer a hipertrofia ventricular esquerda (BOOTS et al., 2004; KDIGO, 2009; MILLER, 2002).

Os RTR podem apresentar risco de inflamação sistêmica relacionadas às comorbidades presentes, podendo esta causar disfunção endotelial e ser um fator de risco

direto para o desenvolvimento de DCV (BOERNER et al., 2011). Citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e a PCR foram associadas de maneira independente com eventos CV e mortalidade por todas as causas após ajustes para fatores de risco tradicionais para DCV em RTR (ABEDINI et al., 2009). Ducloux et al. (2004) ao acompanharem RTR em uma coorte, relataram que a PCR elevada foi importante preditor de eventos coronarianos. Em outro estudo Kaisar et al. (2009), demonstraram associação significativa entre níveis mais baixos de adiponectina e aumento no risco de eventos CV em RTR do sexo masculino. Outro estudo com RTRs, que possuíam um genótipo de predisposição à produção excessiva de TNF- α foram considerados como apresentando um risco de DCV aumentado em mais 2,45 vezes (LA MANNA et al., 2010). Molnar et al. (2017) observaram que os níveis séricos de TNF- α e IL-6 também foram associados de forma independente com morte prematura com enxerto funcionante.

A Hhcis é considerada um preditor independente de eventos CV entre RTR (STOUMPOS et al., 2015). Em geral os níveis de hcis estão associados com a redução da função renal, entretanto estudos relatam uma prevalência de Hhcis de 70% -75% mesmo em RTR com enxerto funcionante (NEALE; SMITH, 2015). Segundo Conolly et al. (2010), RTR com níveis elevados de hcis, apresentam risco significativamente maior de mortalidade por todas as causas, mesmo após ajuste para a função renal. Do mesmo modo, Winkelmayr et al. (2005a) relatou que RTR com níveis elevados de hcis, possuem aumento de 2,44 vezes no risco de mortalidade por todas as causas, e aumento de 1,63 vezes no risco de perda do enxerto. Enquanto, Ducloux et al. (2000), relataram um aumento de 6% no risco de DCV para cada aumento de 1 μ mol/L de hcis em RTR. Embora o uso de CsA já tenha sido associado com a presença de Hhcis em RTR, outros estudos não encontraram tal relação e relataram como determinantes da Hhcis: a creatinina, a idade, polimorfismos genéticos na enzima MTHFR e as vitaminas B6, folato e B12 (ARNADOTTIR et al., 1998; BOSTOM et al., 1999; 2001; DUCLOUX et al., 1998; FÖDINGER et al., 2000; MACHADO et al., 2000; WINKELMAYER et al., 2005b).

1.5 Transplante Renal e vitamina B12

Até o presente momento, não há estudos que tenham avaliado a relação direta entre B12 e/ou marcadores de risco intermediários de DCV em RTR. Existem apenas poucos

estudos que avaliaram a prevalência de deficiência de B12. Karakus et al. (2004) ao estudarem as causas de anemia em RTR encontraram prevalência de deficiência de B12 de 40% (n= 12, amostra total: 30 pacientes que apresentavam anemia macrocítica). E o estudo realizado por Födinger et al. (2000) com 783 RTR, foi observado deficiência de B12 em 8,9% dos pacientes (n=65). Em um estudo piloto realizado por nosso grupo de pesquisa no ambulatório de pós-TxR do Hospital Universitário Pedro Ernesto, da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (HUPE/UERJ), foi observado que um percentual significativo dos RTR apresentavam deficiência de B12: 20% (n= 24, amostra total: 122 pacientes) (COSTA et al., 2015).

Alguns fatores podem contribuir para esta elevada frequência incluindo o ganho de peso excessivo que é comum após o TxR (CHAN et al., 2014), uma vez que estudos sugerem que a concentração sérica de B12 apresenta correlação negativa com o IMC na população em geral (AL-KHAWTANI; ABULMEATY et al., 2017; ALLIN et al., 2017; ARSHAD et al., 2016; BALTACI et al., 2012, 2013; 2017; KANER et al., 2016; NARANG et al., 2016). De acordo com Knight et al. (2015) para cada aumento de 1% no IMC, há uma redução de 0,6% na B12 circulante. Outro possível fator de risco é a baixa ingestão de alimentos de origem animal, fontes de B12, influenciada por recomendações recebidas antes do TxR durante o período de tempo em que os pacientes permaneceram com DRC em tratamento pré-dialítico (KALANTA-ZADER; FOUQUE, 2017).

Após revisão da literatura foi encontrado apenas um estudo que avaliou a relação entre B12 e estresse oxidativo em RTR. Campise et al. (2003), ao avaliarem a prevalência e a gravidade do estresse oxidativo em RTR, encontraram no modelo multivariado associação independente da B12 com estresse oxidativo (p= 0,01), o qual é um fator de risco para DCV (CSÁNYI; MILLER Jr., 2014).

2 JUSTIFICATIVA

Existem evidências de que na população em geral a deficiência de B12 está associada com maior risco de DCV, que constitui uma importante causa de morte após o TxR. Apesar de alguns estudos sugerirem que a deficiência de B12 seja comum em RTR, ainda não existem dados consistentes sobre a prevalência da deficiência de B12 nesses pacientes. Da mesma forma, não existem estudos avaliando a possível associação entre a deficiência de B12 com marcadores intermediários de risco CV. A investigação do estado nutricional de B12 e da sua associação com marcadores de risco CV é de extrema importância, uma vez que a deficiência desta vitamina pode ser prevenida ou mesmo tratada através de modificações na dieta ou através da suplementação medicamentosa.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar transversal e longitudinalmente a frequência da deficiência de vitamina B12 e a sua associação com marcadores de risco CV em RTR.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar transversal e longitudinalmente em RTR a associação das concentrações séricas de B12 com:

- a) concentração sérica de homocisteína;
- b) resistência à insulina;
- c) marcadores inflamatórios;
- d) reatividade microvascular cutânea;e
- e) diâmetros vasculares retinianos

4 MÉTODOS

O estudo consiste em uma análise transversal e longitudinal de dados envolvendo pacientes RTR, sem distinção de cor da pele ou sexo, acompanhados regularmente no ambulatório de pós-TxR do Hospital Universitário Pedro Ernesto/ Universidade Estadual do Rio de Janeiro (HUPE/UERJ). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE/UERJ (CAAE: 38268714.0.0000.5259) com número de parecer 870.719 e posterior emenda com número de parecer 1.866.066 (ANEXO A).

4.1 Casuística

4.1.1 Critérios de inclusão

Os pacientes incluídos nesse estudo preencheram os seguintes critérios: adultos (idade > 18 anos e \leq 65 anos), que foram submetidos ao TxR há minimamente 6 meses. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes da inclusão no estudo (APÊNDICE A).

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pacientes: que faziam uso de suplemento de B12, uso de polivitamínicos contendo B12, amputados, gestantes, lactantes; com diagnóstico de síndrome da imunodeficiência adquirida, câncer, doenças autoimunes, insuficiência hepática; em terapia dialítica; assim como os impossibilitados de se comunicar.

4.1.3 Cálculo amostral

O tamanho da amostra foi calculado com base em um estudo piloto realizado pelo nosso grupo de pesquisa (COSTA et al., 2015), no qual foi observado que 20% dos RTR apresentavam deficiência de B12. Nestas condições, considerando um número total de pacientes atendidos no ambulatório de pós-TxR de 450 e um intervalo de confiança de 95% o tamanho mínimo da amostra deveria ser de 160 pacientes.

4.2 **Desenho do estudo**

Os pacientes foram convidados a participar do estudo durante a consulta de rotina no ambulatório (visita de seleção – V0), com esclarecimento dos propósitos da pesquisa. Os indivíduos que aceitaram participar, assinaram o TCLE (APÊNDICE A) e foram submetidos a avaliação preliminar através de entrevista abordando os critérios de inclusão e exclusão. Os pacientes elegíveis para o estudo, em seguida, foram submetidos a avaliação da história clínica e estilo de vida, e todas estas informações foram registradas em protocolo específico (APÊNDICE B).

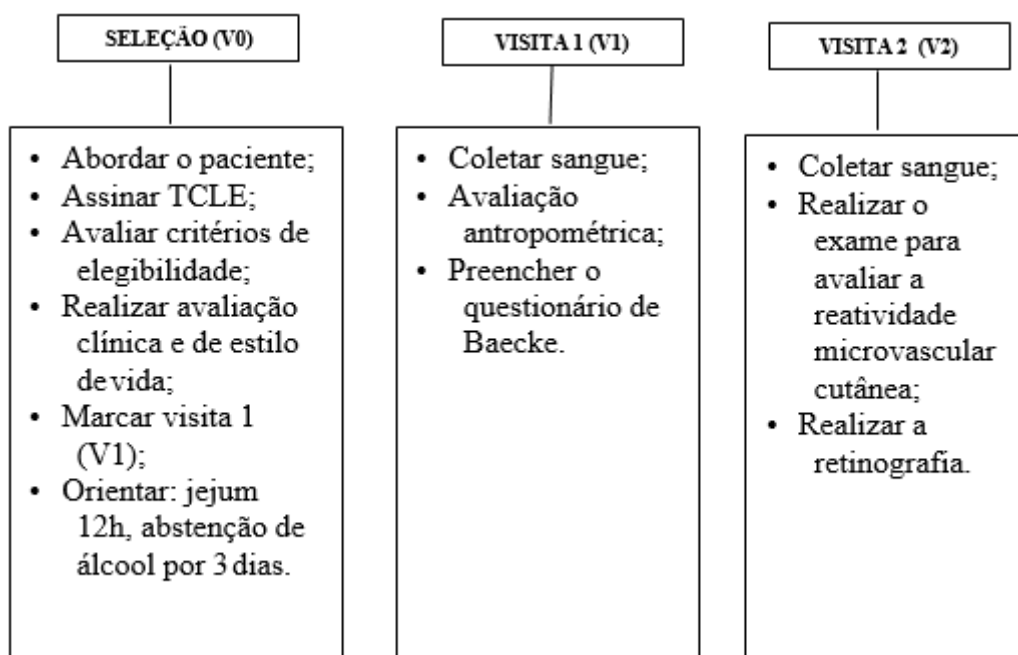
Ao retornarem ao HUPE para realizar os exames laboratoriais de rotina do ambulatório de TxR (visita 1 – V1), após 12h de jejum, alíquotas de soro foram obtidas e armazenadas a - 80°C no Laboratório da Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental da UERJ (CLINEX-UERJ). Nesta visita, os pacientes também foram submetidos a avaliação antropométrica e preencheram o questionário de avaliação da atividade física de Baecke (ANEXO B). Os exames laboratoriais referentes ao estudo incluíram avaliação dos níveis séricos de insulina, B12, hcis e de biomarcadores inflamatórios: TNF- α , IL-8, proteína C reativa ultra-sensível (PCR-us) e adiponectina. Os dados obtidos em V0 e V1 foram considerados os dados do período basal do estudo (ou primeira fase do estudo).

Após cerca de 2 anos (segunda fase do estudo) os pacientes foram submetidos a nova avaliação (visita 2 - V2). Neste momento (V2), quando os pacientes retornaram ao HUPE para realizar exames laboratoriais de rotina, novas alíquotas de soro foram obtidas e armazenadas a -80°C no Laboratório do CLINEX- UERJ para análise dos seguintes parâmetros laboratoriais: insulina, B12, hcis, PCR-us e leptina. Além disso, os pacientes

foram submetidos a avaliação da reatividade microvascular cutânea e do diâmetro dos vasos retinianos.

A Figura 1 apresenta o desenho do estudo em relação a seleção, visita 1 e visita 2.

Figura 1 – Desenho do Estudo



Legenda: Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1).

Fonte: A autora, 2023.

4.3 Procedimentos

4.3.1 Avaliação das características clínicas e estilo de vida

As características demográficas e clínicas avaliadas foram registradas em protocolo específico (APÊNDICE B) e incluíram: sexo, idade, tempo de TxR, tipo de doador, diagnóstico de comorbidades coexistentes e medicação imunossupressora e demais medicações em uso. Foram também avaliados alguns hábitos com relação ao estilo de vida, como: etilismo, e tabagismo na forma de variáveis categóricas. Foi considerada resposta positiva para etilismo quando o paciente referiu consumo de qualquer quantidade de álcool pelo menos uma vez por semana. Em relação ao tabagismo foram considerados apenas os

fumantes habituais, ou seja, aqueles que estavam fumando qualquer quantidade de cigarro, diariamente ou socialmente.

A atividade física habitual foi avaliada na V1 através do questionário de Baecke (BAECKE et al., 1982) (ANEXO B), que investiga a atividade física habitual dos últimos 12 meses. Este instrumento é composto por 16 questões e abrange desde a realização de atividades físicas ocupacionais até exercícios físicos praticados durante o tempo de lazer.

4.3.2 Avaliação antropométrica

A mensuração do peso corporal (precisão de 0,1 kg) foi realizada em balança digital da marca Filizola, estando os pacientes em jejum, sem sapatos, vestindo roupas leves em posição ereta e com os braços estendidos ao longo do corpo. A estatura foi avaliada com o estadiômetro da balança digital com precisão de 0,5 cm. Os pacientes ficaram descalços, com os braços estendidos ao longo do corpo e calcanhares juntos, tocando a haste vertical do estadiômetro. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela estatura (m²) e a classificação foi realizada segundo os critérios da Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Os perímetros da cintura, do quadril e do pescoço foram obtidos com fita métrica flexível e inextensível com o paciente de pé, ereto, com o abdome relaxado, braços estendidos ao longo do corpo e os pés unidos, com uma distância mínima para manter o equilíbrio. O perímetro da cintura (PC) foi determinado no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, no momento da expiração. A avaliação do perímetro do quadril (PQ) foi realizada no maior diâmetro da região glútea. A razão cintura quadril (RCQ) foi calculada pela divisão entre os valores de PC (cm) e PQ (cm). A razão cintura estatura (RCE) foi calculada através da divisão do PC (cm) pela estatura (cm) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008; PITANGA; LESSA, 2006).

O índice de adiposidade corporal (IAC) foi calculado segundo a descrição de Bergman et al. (2011). Este índice utiliza 2 medidas antropométricas (estatura e PQ) para estimar o percentual de gordura corporal de acordo com a seguinte equação:

$$\text{IAC (\%)} = \left[\frac{\text{Perímetro do quadril (cm)} - 18}{\text{estatura (m)}} \right]$$

O perímetro do pescoço (PP) foi mensurado segundo a descrição de Zhou et al. (2013), com o paciente em pé, com a cabeça posicionada no plano horizontal de Frankfurt e com o auxílio de uma fita métrica inextensível. A borda superior da fita métrica foi posicionada logo abaixo da proeminência laríngea e colocada perpendicularmente ao eixo do pescoço.

4.3.3 Avaliação do metabolismo de vitamina B12

A B12 sérica foi dosada através do método de quimioluminescência (*chemiluminescent microparticle intrinsic factor assay*) usando kit comercial (ABBOTT Laboratories Inc.) . Os pacientes foram considerados deficientes quanto à B12 utilizando-se o ponto de corte < 200pg/mL (APARICIO-UGARRIZA et al., 2015).

A hcis foi determinada pelo método enzimático utilizando o equipamento Cobas^R com kit comercial (Roche Diagnostics, In, USA). O ponto de corte para hcis plasmática considerada normal foi < 15 µmol/L (APARICIO-UGARRIZA et al., 2015).

4.3.4. Avaliação da resistência à insulina e marcadores inflamatórios

A glicemia de jejum foi determinada pelo método da glicose oxidase, por técnica automatizada. A insulina plasmática foi mensurada usando o ensaio de eletroquimioluminescência *Elecsys Insulin Modular Analytics E170 Cobas^R 411* (Roche Diagnostics, USA). O índice de resistência à insulina foi obtido utilizando-se a fórmula do HOMA-IR, na qual a resistência é determinada pelo produto da insulinemia de jejum (µU/mL) e da glicemia de jejum (mmol/L) dividido por 22,5 (MATTHEWS et al., 1985).

Os biomarcadores inflamatórios avaliados foram TNF- α , IL-8, PCR-us, leptina e adiponectina. As concentrações séricas de TNF- α e IL-8 foram determinadas por método ELISA, utilizando kits comerciais (DiaSource ImmunoAssays SA, Louvain-la-Neuve, Bélgica). A determinação da concentração sérica da PCR-us foi realizada por método de turbidimetria (Látex de alta sensibilidade), utilizando o *Kit C-reactive protein ELISA* (Helica Biosystems Inc, Fullerton, CA, USA). A leptina sérica foi determinada por método ELISA, utilizando o kit comercial (Merck Millipore) e a adiponectina sérica foi determinada por

método Luminex utilizando o *kit* comercial *Human Adipokine Magnetic HADK1MAG-61K-02* (MILLIPLEX®).

4.3.5 Avaliação da reatividade microvascular cutânea

A reatividade microvascular cutânea foi avaliada após um período de 20 minutos de repouso, com o paciente deitado em decúbito dorsal em uma sala com temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), por meio da técnica de *Laser Speckle Contrast Imaging* (fluxometria laser *speckle*). Esta técnica permite a avaliação não invasiva em tempo real de uma ampla área de tecido, com resolução espacial muito boa e excelente reprodutibilidade (HELLMANN et al., 2015; ROUSTIT et al., 2010). O equipamento utilizado foi o PeriCam PSI-NR (*Perimed AB, Järfälla, Suécia*) com comprimento de onda de 780 nm. As variações no fluxo microvascular (dependentes e independentes do endotélio) foram avaliadas através da hiperemia reativa pós-oclusiva (HRPO).

A oclusão arterial foi realizada no braço não dominante por meio da insuflação do manguito 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica por 3 minutos e posteriormente foi induzida a HRPO após a rápida deflação do manguito. O fluxo sanguíneo cutâneo foi avaliado no antebraço antes da oclusão arterial (período basal) e após a deflação do manguito. As imagens foram analisadas usando o software do fabricante (*PIMSoft, Perimed, Järfälla, Sweden*). As medidas do fluxo microvascular cutâneo foram expressas em unidades arbitrárias de perfusão (UAP), sendo divididas pela pressão arterial média para gerar dados de condutância vascular cutânea (CVC), expressa como UAP/mmHg.

Os parâmetros utilizados para quantificar a resposta do fluxo após a oclusão arterial foram:

- a) pico da hiperemia: valor máximo da CVC;
- b) amplitude da resposta a hiperemia expressa como CVC no pico menos a CVC no período basal; e
- c) a área sob a curva (AUC) pós- oclusão.

4.3.6 Avaliação dos diâmetros vasculares retinianos

As imagens foram obtidas por uma câmera de retinografia não-midriática Topcon TRC NW8 (*Topcon Corporation*, Tóquio, Japão), seguindo-se as orientações do fabricante para a obtenção de imagens. Em uma sala escura o paciente se sentou diante da câmera e apoiou seu queixo no suporte da máquina. Foi localizado o ponto de fixação de imagem, que no presente protocolo é no disco óptico. Após um período de repouso para a acomodação pupilar à baixa luminosidade, foi deflagrado o processo automático de foco e disparo da foto. Foram captadas duas imagens de cada olho, com definição de 12,3 MP e guardadas em arquivo TIFF. Foi utilizada a imagem de melhor qualidade para a análise.

A imagem digital foi processada pelo software VAMPIRE, que identifica de forma automática o disco óptico e seu diâmetro. Foram definidos dois círculos concêntricos a partir do disco que delimita uma área A, entre 0 e 0,5 diâmetro do disco e uma área B entre 0,5 e 1 diâmetro do disco. Foram utilizados para análise os vasos contidos na área B, onde é possível assegurar que os elementos vasculares já são arteríolas e vênulas. Para o cálculo do CRAE e do equivalente da veia retiniana central (CRVE) foram selecionados os seis pares mais representativos de arteríola e vênula. A relação A/V foi definida pela relação CRAE/CRVE. O ponto onde o software analisa o segmento será definido com o cursor. Após a escolha do local para análise, o processo seguiu de forma independente do avaliador e o resultado foi expresso em pixels, multiplicado por 3,8 para alcançar o valor em micrômetros (HUBBARD et al., 1999; KNUDTSON; LEE, 2003; PEREZ-ROVIRA et al., 2011).

4.3.7 Avaliação da taxa de filtração glomerular estimada

A avaliação da função renal foi realizada através da estimativa da taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) utilizando a equação *Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI) de 2009 (KDIGO, 2013).

4.4 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software STATA versão 12.0. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar se as variáveis contínuas apresentavam distribuição normal. As variáveis contínuas com distribuição normal foram expressas como médias aritméticas e seus respectivos erros padrão. Já as variáveis contínuas com distribuição não normal foram expressas como mediana e intervalo interquartil. A apresentação das variáveis categóricas foi realizada através do número absoluto e da frequência relativa.

Os participantes do estudo foram estratificados em dois grupos de acordo com a presença ou ausência de deficiência de B12 (diagnóstico de deficiência feito na primeira fase do estudo quando nível sérico de B12 <200 pg/mL). As comparações das variáveis contínuas entre os grupos de pacientes com e sem deficiência de B12 foi realizada com o teste t para amostras independentes (variáveis com distribuição normal) ou com o teste Mann Whitney (variáveis sem distribuição normal). A apreciação estatística da comparação de proporções entre os grupos foi realizada pelo teste qui-quadrado.

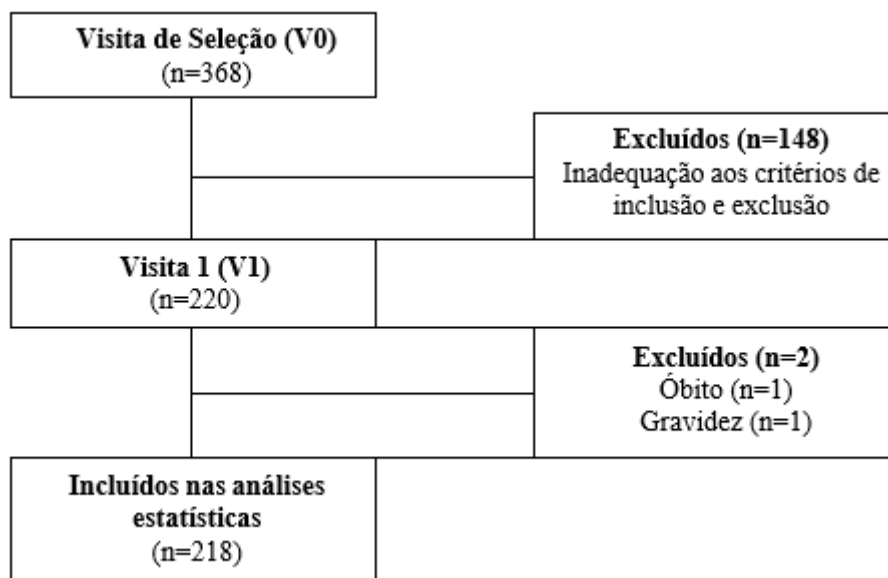
A análise de regressão logística multivariada foi utilizada com a finalidade de avaliar a associação da deficiência de B12 (variável categórica) com as variáveis de interesse do estudo, fazendo ajustes para fatores de confundimento. As correlações entre a concentração sérica de B12 (variável contínua) e variáveis de interesse foram realizadas pelo teste de correlação de Pearson ou Spearman conforme apropriado. Correlações parciais controladas para confundidores também foram utilizadas. O nível de significância estatística adotado foi $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Primeira fase do estudo

Na primeira fase do estudo, 368 pacientes participaram da visita de seleção (V0). Dentre estes, 148 não preencheram os critérios de elegibilidade. Dos 220 indivíduos agendados para a visita 1 (V1), houve um óbito e uma gestação, totalizando 218 pacientes incluídos nas análises estatísticas da primeira fase do estudo (Figura 2).

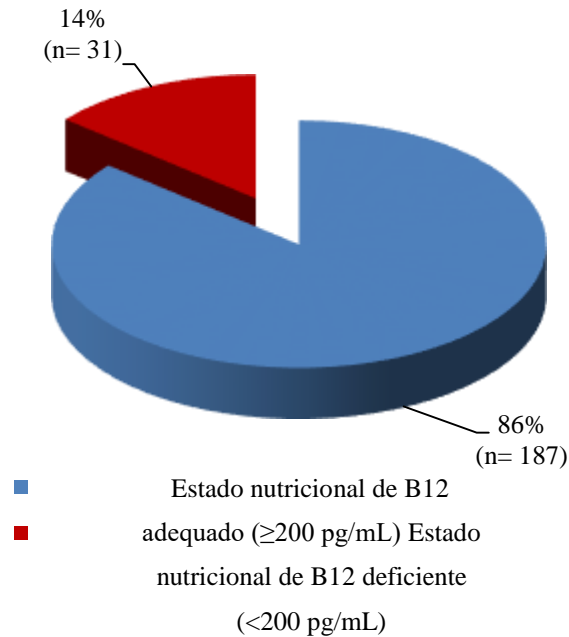
Figura 2 - Representação esquemática do fluxo de participantes da 1ª fase do estudo



Fonte: A autora, 2019.

No grupo total de participantes do estudo a média/mediana de idade foi de 49,0 (41,0 – 55,0) anos, do tempo pós-TxR foi de 115,0 (26,0 – 171,0) meses, da TFGe foi de $52,44 \pm 1,41$ ml/min e da concentração sérica de B12 foi de 320,0 (240,0 – 457,0) pg/mL. A análise da presença de deficiência de B12 revelou que 14% (n= 31) da amostra apresentavam deficiência de B12 (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Classificação do estado nutricional de vitamina B12 dos participantes do estudo



Legenda: vitamina B12 (B12).

Fonte: A autora, 2019.

As características demográficas, clínicas e do estilo de vida dos participantes do estudo, de acordo com o estado nutricional de B12 estão apresentadas na Tabela 1. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o grupo com estado nutricional de B12 adequado e o grupo com estado nutricional de B12 deficiente em relação à idade, sexo, tempo de TxR, estilo de vida, variáveis do questionário de atividade física habitual, tipo de doador, comorbidades atuais e doença de base para a DRC.

Tabela 1 – Características demográficas, clínicas e do estilo de vida dos receptores de transplante renal, de acordo com o estado nutricional de vitamina B12

Características	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n = 187)	Deficiente (n=31)	
Idade (anos)	49,0 (40,0-55,0)	50,0 (44,0-58,0)	0,25
Sexo masculino (n; %)	102 (55%)	19 (61%)	0,48
Tempo de transplante (meses)	116,0 (26,0-168,0)	61,0 (26,0-182,0)	0,96
Estilo de vida (n; %)			
Etilismo	15 (8%)	3 (10%)	0,76
Tabagismo	4 (2%)	0 (0%)	0,41
Variáveis do questionário de atividade física habitual			
Índice trabalho	2,79 ± 0,05	2,89 ± 0,13	0,49
Índice esporte	2,25 (1,75-2,75)	2,00 (1,75-2,50)	0,51
Índice lazer	2,63 ± 0,05	2,60 ± 0,13	0,80
Escore total	7,73 ± 0,11	7,66 ± 0,28	0,80
Tipo de doador (n; %)			
Vivo relacionado	88 (47%)	10 (32%)	0,25
Vivo não relacionado	14 (8%)	2 (7%)	
Falecido	85 (46%)	19 (61%)	
Comorbidades (n; %)			
Hipertensão	151 (81%)	26 (84%)	0,68
Diabetes	37 (20%)	8 (26%)	0,44
Dislipidemia	146 (79%)	24 (77%)	0,89
Doença de base para a DRC (n; %)			
Hipertensão	63 (35%)	13 (42%)	0,60
Diabetes	12 (7%)	1 (3%)	
Glomerulopatias	44 (24%)	7 (23%)	
Outras*	23 (13%)	6 (19%)	
Desconhecida/indeterminada	39 (22%)	4 (13%)	

Legenda: doença renal crônica (DRC); Doença renal policística, pielonefrite, nefrolitíase e uropatia obstrutiva (*); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12(p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição normal expressas como média ± erro padrão; variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil). Variáveis categóricas expressas como valor absoluto e percentual.

Fonte: A autora, 2019.

Não foram encontradas diferenças nas variáveis laboratoriais e nas medicações em uso, incluindo imunossupressores, metformina e IBPs, entre os grupos com estado nutricional de B12 adequado e deficiente (Tabela 2).

Tabela 2 – Variáveis laboratoriais e medicações dos receptores de transplante renal, de acordo com o estado nutricional de vitamina B12

Características	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n = 187)	Deficiente (n=31)	
Variáveis Laboratoriais			
Ureia (mg/dL)	46,5 (37,0 – 60,0)	47,0 (37,0 – 73,0)	0,43
Creatinina (mg/dL)	1,45 (1,10 – 1,90)	1,50 (1,29 – 1,80)	0,48
TFGe (mL/min/1,73m ²)	53,19 ± 1,58	47,94 ± 2,62	0,19
Ácido úrico (mg/dL)	6,4 (5,2 – 7,7)	6,9 (5,3 – 8,8)	0,26
Colesterol total (mg/dL)	193,0 (163,0 – 226,0)	182,0 (152,0 – 221,0)	0,32
HDL colesterol (mg/dL)	49,6 (42,0 – 61,0)	48,0 (40,0 – 58,0)	0,63
LDL colesterol (mg/dL)	110,7 (87,0 – 135,0)	101,4 (67,0 – 128,5)	0,14
Triglicerídeos (mg/dL)	143,0 (103,0 – 190,0)	177,0 (133,0 – 205,0)	0,11
Cálcio (mg/dL)	9,9 (9,5 – 10,3)	9,8 (9,0 – 10,2)	0,12
Fósforo (mg/dL)	3,37 ± 0,05	3,16 ± 0,16	0,15
Sódio (mEq/L)	139,95 ± 0,22	140,17 ± 0,57	0,72
Potássio (mEq/L)	4,4 (4,0 – 4,7)	4,3 (4,0 – 4,7)	0,69
Proteínas totais (g/dL)	7,2 (6,9 – 7,7)	7,2 (6,8 – 7,5)	0,32
Albumina (g/dL)	4,5 (4,3 – 4,8)	4,5 (4,2 – 4,7)	0,48
Hormônio da paratireoide (pg/mL)	78,9 (52,1 – 140,7)	105,8 (56,9 – 137,9)	0,23
Vitamina D (ng/mL)	28,1 (22,4 – 38,1)	32,3 (18,6 – 49,6)	0,50
Proteinúria (mg/g)	9,2 (5,0 – 21,1)	9,9 (3,9 – 22,0)	0,61
Medicação			
Imunossupressores (n; %)			
Prednisona	177 (97%)	31 (100%)	0,31
Tacrolimus	80 (43%)	13 (42%)	0,89
Micofenolato	96 (52%)	17 (55%)	0,76
Ciclosporina	29 (16%)	8 (26%)	0,17
Azatioprina	43 (23%)	4 (13%)	0,20
Rapamicina/Sirolimus/Everolimus	45 (24%)	4 (13%)	0,17
Outras medicações (n; %)			
Anti-hipertensivos	151 (81%)	26 (84%)	0,68
Hipolipemiantes	78 (43%)	14 (45%)	0,79
Hipoglicemiantes orais	20 (11%)	4 (13%)	0,76
Metformina	19 (10%)	4 (13%)	0,68
Insulina	11 (6%)	3 (10%)	0,43
Inibidores bomba de prótons	33 (18%)	7 (23%)	0,51

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição normal expressas como média ± erro padrão; variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Quanto às variáveis antropométricas apresentadas na Tabela 3, o PC foi significativamente maior no grupo com estado nutricional deficiente de B12; enquanto as demais variáveis não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupo com estado nutricional de B12 adequado e deficiente.

Tabela 3 – Valores das variáveis antropométricas dos receptores de transplante renal, de acordo com o estado nutricional de vitamina B12

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n = 187)	Deficiente (n=31)	
Índice de massa corporal (kg/m ²)	25,5 (22,8 – 29,2)	26,0 (23,9 – 30,1)	0,24
Índice de adiposidade corporal (%)	29,2 (25,6 – 33,7)	29,2 (26,0 – 36,4)	0,47
Perímetro da cintura (cm)	90,0 (82,0 – 100,0)	96,0 (88,0 – 102,5)	0,04
Perímetro do quadril (cm)	99,0 (93,0 – 106,0)	103,0 (93,8 – 108,5)	0,18
Razão cintura quadril	0,91 (0,84 – 0,97)	0,94 (0,89 – 0,98)	0,26
Razão cintura estatura	0,55 (0,50 – 0,62)	0,56 (0,54 – 0,63)	0,13
Perímetro do pescoço (cm)	36,83 ± 0,26	37,59 ± 0,52	0,27

Legenda: grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (pvalor).

Nota: Variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Devido a influência da função renal nas variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da B12, a resistência à insulina, os biomarcadores inflamatórios e os parâmetros vasculares, os dados a seguir serão apresentados no grupo total de participantes e também apenas nos indivíduos com TFG_e ≥ e < 60 ml/min.

Os valores das variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da B12 dos RTR, de acordo com o estado nutricional de B12 estão apresentados na Tabela 4. No grupo de indivíduos com estado nutricional de B12 deficiente, apenas 6 apresentavam TFG_e ≥ 60 ml/min e destes, apenas 1 possuía a dosagem de hcis, desta forma, não foi possível determinar a mediana e o intervalo interquartil desta variável neste grupo de participantes (Tabela 4). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em relação às seguintes variáveis: hcis, ácido fólico, hemoglobina, hematócrito e CHGM. Entretanto, o VGM e a HGM, foram significativamente maiores no grupo com deficiência de B12, tanto na análise incluindo o grupo total de participantes, quanto na análise incluindo só indivíduos com TFG_e < 60 mL/min.

Tabela 4 – Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da vitamina B12 de acordo o estado nutricional de vitamina B12

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		P
	Adequado (n = 187)	Deficiente (n=31)	
Vitamina B 12 (pg/ml)	361,0 (281,5 – 481,5)	158,0 (147,0 – 187,0)	<0,001
TFGe ≥ 60 mL/min	379,0 (290,0 – 481,0)	136,0 (111,0 – 187,0)	<0,001
TFGe < 60 mL/min	350,0 (269,0 – 482,0)	162,0 (152,0 – 186,0)	<0,001
Homocisteína (µmol/L)	16,74 (14,28 – 21,19)	18,16 (16,51 – 22,20)	0,29
TFGe ≥ 60 mL/min	15,56 (12,31 – 17,92)	*	---
TFGe < 60 mL/min	17,24 (14,77 – 22,9)	17,49 (16,51 – 22,20)	0,85
Ácido fólico (ng/mL)	8,4 (5,6 – 10,9)	7,90 (6,2 – 11,3)	0,83
TFGe ≥ 60 mL/min	8,85 (7,1 – 12,7)	7,65 (5,3 – 8,5)	0,09
TFGe < 60 mL/min	7,9 (5,4 – 10,3)	7,9 (6,3 – 12,4)	0,40
Hemoglobina (g/dL)	12,7 (11,7 – 14,1)	12,5 (10,3 – 13,6)	0,19
TFGe ≥ 60 mL/min	13,5 (12,4 – 14,3)	12,5 (8,6 – 14,0)	0,20
TFGe < 60 mL/min	12,4 (11,2 – 13,5)	12,5 (10,6 – 13,5)	0,80
Hematócrito (%)	38,7 (35,3 – 42,4)	37,5 (31,7 – 40,8)	0,17
TFGe ≥ 60 mL/min	40,7 (36,7 – 43,5)	37,1 (25,5 – 41,3)	0,19
TFGe < 60 mL/min	37,8 (34,0 – 41,2)	37,5 (32,4 – 40,7)	0,69
VGM (fl)	86,25 ± 0,66	90,30 ± 1,59	0,02
TFGe ≥ 60 mL/min	87,60 ± 0,85	89,93 ± 0,35	0,42
TFGe < 60 mL/min	85,58 ± 0,88	90,38 ± 1,91	0,02
HGM (pg)	28,32 ± 0,24	29,67 ± 0,54	0,03
TFGe ≥ 60 mL/min	29,11 ± 0,34	29,98 ± 0,53	0,45
TFGe < 60 mL/min	27,92 ± 0,31	29,61 ± 0,64	0,02
CHGM (g/dL)	32,82 ± 0,09	32,87 ± 0,21	0,83
TFGe ≥ 60 mL/min	33,21 ± 0,15	33,33 ± 0,64	0,83
TFGe < 60 mL/min	32,62 ± 0,12	32,78 ± 0,23	0,60

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); volume globular médio (VGM); hemoglobina globular média (HGM); concentração de hemoglobina globular média (CHGM); apenas 1 participante no grupo (*); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição normal expressas como média ± erro padrão; variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Tendo como objetivo verificar se a deficiência de B12 pode apresentar associação com a concentração sérica de hcis após ajustes para confundidores, foi realizada a análise de regressão logística utilizando a deficiência de B12 como variável categórica e a concentração de hcis como variável contínua. Não foi observada associação significativa da deficiência B12 com a concentração sérica de hcis após ajustes para idade, sexo, tempo TxR e TFGe (dados não apresentados).

Análises de correlação também foram utilizadas visando avaliar a concentração sérica de B12 como variável contínua. Nas análises de correlação foi observada associação

negativa entre B12 sérica e hcis considerando-se o grupo total de participantes e os participantes com TFGe \geq 60 ml/min. Entretanto, após ajustes para confundidores (idade, sexo, tempo pós TxRe TFGe) essa associação deixou de ser significativa. Nos pacientes com TFGe \geq 60 ml/min foi observada associação positiva da B12 com hemoglobina e hematócrito após ajustes para confundidores. Foram encontradas correlações negativas da concentração sérica de B12 com o VGM e o HGM no grupo total de participantes e também nos participantes com TFGe $<$ 60 ml/min nas análises sem ajustes para confundidores que foram mantidas após ajustes para tais fatores (Tabela 5).

Tabela 5 - Correlação da concentração sérica de vitamina B12 com parâmetros relacionados com o metabolismo da vitamina B12

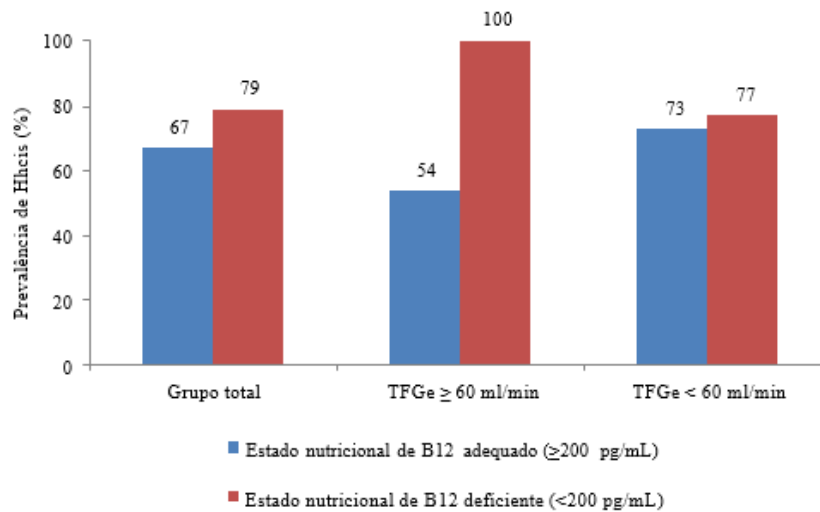
Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**	
	r	p	r	p	r	p
Homocisteína ($\mu\text{mol/L}$)	-0,25	0,02	-0,22	0,05	-0,15	0,17
TFGe \geq 60 ml/min	-0,47	0,02	-0,54	0,01	-0,42	0,05
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,13	0,33	-0,03	0,85	-0,11	0,43
Ácido fólico (ng/mL)	0,11	0,13	0,09	0,20	0,08	0,25
TFGe \geq 60 ml/min	0,22	0,08	0,23	0,06	0,25	0,05
TFGe $<$ 60 ml/min	0,02	0,77	-0,01	0,88	-0,02	0,85
Hemoglobina (g/dL)	0,01	0,91	0,13	0,05	0,11	0,13
TFGe \geq 60 ml/min	0,17	0,15	0,32	0,008	0,31	0,01
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,09	0,29	0,06	0,47	0,10	0,22
Hematócrito (%)	-0,01	0,87	0,13	0,05	0,11	0,12
TFGe \geq 60 ml/min	0,11	0,35	0,28	0,02	0,29	0,02
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,09	0,28	0,07	0,42	0,11	0,19
VGM (fl)	-0,19	0,02	-0,23	0,005	-0,23	0,005
TFGe \geq 60 ml/min	-0,09	0,55	-0,16	0,31	-0,13	0,39
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,26	0,008	-0,26	0,008	-0,27	0,008
HGM (pg)	-0,15	0,06	-0,20	0,01	-0,21	0,01
TFGe \geq 60 ml/min	-0,02	0,90	-0,09	0,54	-0,10	0,54
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,26	0,007	-0,25	0,01	-0,24	0,01
CHGM (g/dL)	0,002	0,98	0,01	0,92	0,006	0,94
TFGe \geq 60 ml/min	0,14	0,36	0,10	0,53	0,05	0,76
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,07	0,47	-0,03	0,79	0,004	0,97

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); volume globular médio (VGM); HGM = hemoglobina globular média (HGM); concentração de hemoglobina globular média (CHGM); após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**).

Fonte: A autora, 2019.

O percentual de pacientes apresentando Hhcis foi maior nos indivíduos com deficiência de B12 em comparação com aqueles sem deficiência, embora sem significância estatística (Gráfico 2). A concentração sérica de B12 foi significativamente menor no grupo com Hhcis (Gráfico 3).

Gráfico 2 – Prevalência de hiperhomocisteinemia de acordo com a presença de deficiência de vitamina B12

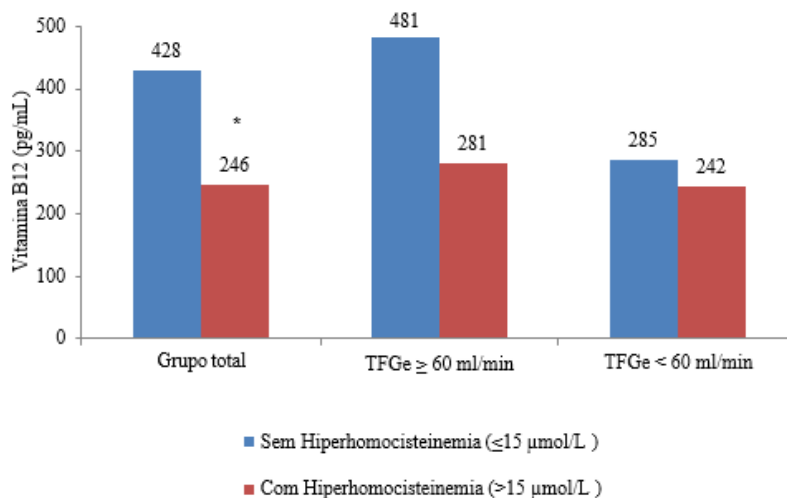


Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); vitamina B12 (B12).

Nota: Valor $p > 0,05$ para comparação grupo sem deficiência B12 vs. grupo com deficiência B12.

Fonte: A autora, 2019.

Gráfico 3 – Concentração sérica de vitamina B12 de acordo com a presença de hiperhomocisteinemia



Legenda: TFGe = taxa de filtração glomerular estimada

Nota: Valor $p < 0,05$ para comparação grupo sem hiperhomocisteinemia vs. grupo com hiperhomocisteinemia.

Fonte: A autora, 2019.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com estado nutricional de B12 adequado e deficiente, com relação às variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo de glicose, mesmo após a exclusão dos indivíduos em uso de hipoglicemiantes orais e/ou insulina (Tabela 6). Nas análises de regressão logística ajustadas para idade, sexo, tempo de TxR, TFG_e e IMC não foi observada associação da deficiência de B12 com glicose, insulina e HOMA-IR (dados não apresentados).

Tabela 6 – Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da glicose de acordo o estado nutricional de vitamina B12

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n= 187)	Deficiente (n= 31)	
Todos os pacientes			
Glicose (mg/dL)	93,0 (85,0 – 107,0)	95,0 (83,9 – 99,0)	0,74
TFG _e ≥ 60 ml/min	96,0 (86,0 – 113,0)	90,0 (83,0 – 95,0)	0,44
TFG _e < 60 ml/min	92,0 (83,0 – 105,0)	97,0 (85,0 – 99,0)	0,78
Insulina (μU/mL)	9,5 (6,89 – 15,33)	11,41 (8,54 – 15,21)	0,46
TFG _e ≥ 60 ml/min	11,64 (8,28 – 18,4)	8,97 (7,01 – 13,41)	0,40
TFG _e < 60 ml/min	8,72 (6,04 – 14,14)	12,20 (8,68–15,21)	0,13
HOMA-IR	2,35 (1,49 – 3,95)	2,69 (1,90 – 3,25)	0,69
TFG _e ≥ 60 ml/min	2,92 (1,82 – 4,31)	2,42 (2,00 – 2,86)	0,47
TFG _e < 60 ml/min	2,07 (1,48 – 3,41)	2,89 (1,90 – 3,48)	0,27
Pacientes que não usavam hipoglicemiante oral e/ou insulina			
Estado Nutricional de vitamina B12			
	Adequado (n= 150)	Deficiente (n= 23)	
Glicose (mg/dL)	91,0 (83,0 – 98,0)	92,0 (83,0 – 98,0)	0,86
TFG _e ≥ 60 ml/min	91,0 (85,0 – 103,0)	85,5 (80,0 – 90,0)	0,23
TFG _e < 60 ml/min	90,0 (83,0 – 97,0)	95,0 (85,0 – 98,0)	0,30
Insulina (μU/mL)	9,12 (6,88 – 15,15)	11,41 (8,68 – 14,37)	0,35
TFG _e ≥ 60 ml/min	11,69 (8,02 – 18,1)	13,41 (10,90 – 15,91)	0,74
TFG _e < 60 ml/min	8,43 (6,04 – 13,75)	11,25 (8,6 – 13,72)	0,20
HOMA-IR	2,07 (1,48 – 3,43)	2,69 (1,90 – 3,14)	0,38
TFG _e ≥ 60 ml/min	2,53 (1,74 – 4,29)	2,82 (2,37 – 3,26)	0,91
TFG _e < 60 ml/min	1,89 (1,38 – 2,97)	2,69 (1,76 – 3,02)	0,18

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFG_e); modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina (HOMA-IR); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Do mesmo modo, nas análises de correlação, mesmo após ajustes para idade, sexo, tempo pós TxR, TFG_e e IMC, não foram encontradas correlações significativas entre a concentração sérica de B12 e parâmetros laboratoriais relacionados com o metabolismo de glicose; inclusive após a exclusão dos indivíduos em uso de hipoglicemiantes orais e/ou insulina (Tabela 7).

Tabela 7 – Correlação da concentração sérica de vitamina B12 com variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da glicose

Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**		Correlação Parcial***	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Todos os pacientes								
Glicose (mg/dL)	-0,05	0,51	-0,002	0,98	-0,01	0,84	-0,001	0,99
TFGe \geq 60 ml/min	-0,05	0,66	-0,02	0,90	-0,04	0,76	-0,02	0,87
TFGe < 60 ml/min	-0,06	0,45	0,004	0,96	0,02	0,86	0,02	0,78
Insulina (μ U/mL)	-0,10	0,17	-0,10	0,21	-0,11	0,16	-0,08	0,26
TFGe \geq 60 ml/min	-0,11	0,39	-0,14	0,29	-0,11	0,44	-0,12	0,38
TFGe < 60 ml/min	-0,13	0,17	-0,10	0,28	-0,10	0,31	-0,08	0,43
HOMA-IR	-0,09	0,25	-0,08	0,31	-0,09	0,22	-0,07	0,36
TFGe \geq 60 ml/min	-0,10	0,46	-0,14	0,29	-0,11	0,41	-0,13	0,33
TFGe < 60 ml/min	-0,11	0,23	-0,08	0,41	-0,07	0,48	-0,04	0,66
Pacientes que não usavam hipoglicemiante oral e/ou insulina								
Glicose (mg/dL)	-0,05	0,50	-0,004	0,96	-0,009	0,91	0,02	0,85
TFGe \geq 60 ml/min	0,06	0,65	0,08	0,59	0,06	0,67	0,10	0,47
TFGe < 60 ml/min	-0,12	0,20	-0,06	0,54	-0,05	0,59	-0,03	0,71
Insulina (μ U/mL)	-0,15	0,07	-0,15	0,09	-0,16	0,07	-0,13	0,12
TFGe \geq 60 ml/min	-0,22	0,14	-0,26	0,09	-0,20	0,20	-0,21	0,20
TFGe < 60 ml/min	-0,17	0,09	-0,15	0,14	-0,15	0,15	-0,12	0,28
HOMA-IR	-0,12	0,17	-0,12	0,17	-0,13	0,13	-0,10	0,23
TFGe \geq 60 ml/min	-0,14	0,35	-0,21	0,18	-0,15	0,35	-0,16	0,34
TFGe < 60 ml/min	-0,16	0,12	-0,14	0,17	-0,14	0,19	-0,10	0,35

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); HOMA-IR= modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina (HOMA-IR); Após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante, taxa de filtração glomerular estimada e índice de massa corporal (***).

Fonte: A autora, 2019.

Em relação aos marcadores inflamatórios não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos com estado nutricional de B12 adequado e deficiente mesmo após estratificação de acordo com a TFGe. No grupo de indivíduos com estado nutricional de B12 deficiente, apenas 6 apresentavam TFGe \geq 60 ml/min e destes, apenas 1 possuía as dosagens de adiponectina, TNF- α e IL-8; desta forma, não foi possível determinar a mediana e o intervalo interquartil destas variáveis, neste grupo de participantes (Tabela 8). Na regressão logística ajustada para confundidores (idade, sexo, tempo TxR, TFGe e IMC) a deficiência de B12 não se associou com os biomarcadores inflamatórios (dados não apresentados).

Tabela 8 – Biomarcadores inflamatórios de acordo o estado nutricional de vitamina B12

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n = 187)	Deficiente (n=31)	
PCR-us (mg/dL)	0,26 (0,14 – 0,57)	0,20 (0,14 – 0,40)	0,47
TFGe ≥ 60 ml/min	0,27 (0,17 – 0,70)	0,19 (0,08 – 0,31)	0,24
TFGe < 60 ml/min	0,24 (0,14-0,50)	0,20 (0,14 – 0,41)	0,82
Adiponectina (mcg/mL)	22,49 (14,91 – 32,68)	25,51 (22,75 – 31,81)	0,28
TFGe ≥ 60 ml/min	19,2 (13,17 – 28,12)	*	---
TFGe < 60 ml/min	23,58 (15,70 – 33,64)	25,79 (22,75 – 31,81)	0,63
TNF-α (pg/mL)	4,32 (1,00 – 9,96)	3,55 (1,00 – 11,25)	0,89
TFGe ≥ 60 ml/min	2,78 (1,00 – 6,25)	*	---
TFGe < 60 ml/min	5,99 (2,27 – 10,99)	5,61 (1,00 – 11,25)	0,89
Interleucina-8 (pg/mL)	64,56 (36,8 – 103,2)	37,65 (7,37 – 94,83)	0,09
TFGe ≥ 60 ml/min	76,34 (44,37 – 133,1)	*	---
TFGe < 60 ml/min	59,51 (35,96 – 90,63)	39,75 (26,71 – 94,83)	0,38

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); proteína C reativa ultrasensível (PCR-us); fator de necrose tumoral alfa (TNF-α); Apenas 1 participante no grupo (*); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil);

Fonte: A autora, 2019.

Nas análises de correlação não foram observadas associações significativas da B12 séricacom biomarcadores inflamatórios, mesmo após ajustes para confundidores (Tabela 9).

Tabela 9 – Correlação da concentração sérica de vitamina B12 com biomarcadores inflamatórios

Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**		Correlação Parcial***	
	r	p	r	p	r	p	r	p
PCR-us (mg/dL)	-0,08	0,35	-0,09	0,28	-0,08	0,35	-0,05	0,56
TFGe ≥ 60 ml/min	-0,07	0,65	-0,05	0,74	0,03	0,83	0,008	0,96
TFGe < 60 ml/min	-0,09	0,36	-0,11	0,29	-0,12	0,27	-0,07	0,50
Adiponectina (mcg/mL)	0,004	0,97	0,04	0,77	0,07	0,60	0,08	0,54
TFGe ≥ 60 ml/min	0,08	0,70	0,14	0,53	0,18	0,44	0,28	0,24
TFGe < 60 ml/min	0,02	0,88	0,04	0,83	0,04	0,83	0,04	0,83
TNF-α (pg/mL)	-0,09	0,46	-0,09	0,45	-0,05	0,66	-0,06	0,64
TFGe ≥ 60 ml/min	-0,02	0,95	0,07	0,78	-0,14	0,59	-0,24	0,38
TFGe < 60 ml/min	-0,08	0,55	-0,07	0,64	-0,11	0,46	-0,12	0,41
Interleucina-8 (pg/mL)	0,10	0,40	0,10	0,41	0,08	0,51	0,08	0,49
TFGe ≥ 60 ml/min	0,16	0,48	-0,02	0,87	0,41	0,10	0,41	0,11
TFGe < 60 ml/min	0,05	0,72	-0,02	0,87	-0,06	0,66	-0,05	0,72

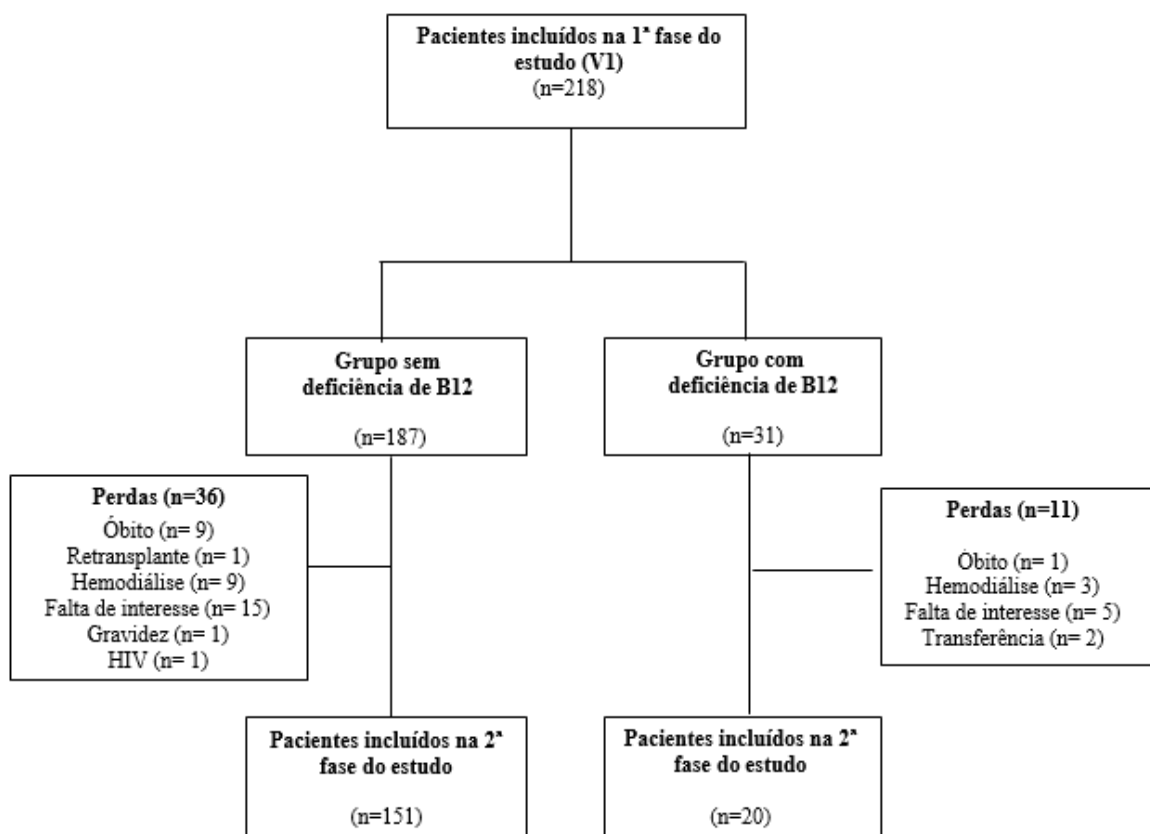
Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); proteína C reativa ultrasensível (PCR-us); fator de necrose tumoral alfa (TNF-α); Após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante, taxa de filtração glomerular estimada e índice de massa corporal (***)

Fonte: A autora, 2019.

5.2 Segunda fase do estudo

Após 20 a 30 meses (em média 25 meses) os participantes do estudo foram novamente avaliados. Participaram desta avaliação 171 pacientes, sendo 151 do grupo sem deficiência de B12 e 20 do grupo com deficiência de B12 (Figura 3). As causas para as perdas de acompanhamento incluíram óbito, hemodiálise, retransplante, gravidez, diagnóstico de HIV⁺, transferência para outro hospital, e falta de interesse em participar do estudo.

Figura 3 - Representação esquemática do fluxo de participantes da 2ª fase do estudo



Fonte: A autora, 2019.

Os resultados da segunda fase do estudo serão apresentados considerando-se o diagnóstico de deficiência de B12 e os níveis séricos de B12 obtidos na primeira fase do estudo em relação aos dados obtidos na segunda fase. Dentre os 171 pacientes avaliados na segunda fase do estudo, 164 realizaram nova avaliação da concentração sérica de B12, sendo observada uma frequência de deficiência de B12 de 4% (n=7). Destes sete participantes, com deficiência de B12 na segunda fase do estudo, quatro não apresentavam deficiência na

primeira fase.

Os valores das variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da B12 nos RTR, estão apresentados na Tabela 10. Foram encontrados valores significativamente menores de B12 (avaliada na segunda fase do estudo) no grupo com deficiência de B12, tanto nas análises do grupo total, quanto nas análises estratificadas pela TFGe. Com relação a HGM, foram encontrados valores significativamente maiores nos indivíduos com deficiência de B12, tanto no grupo total, quanto naqueles indivíduos com TFGe ≥ 60 mL/min. A concentração sérica de hcis não diferiu entre os grupos com e sem deficiência de B12. Na regressão logística com ajuste para confundidores (idade, sexo, tempo de TxR e TFGe) a deficiência de B12 não se associou com a concentração de hcis (dados não apresentados).

Tabela 10 – Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da vitamina B12 avaliadas na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 avaliado na primeira fase do estudo

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		P
	Adequado (n = 151)	Deficiente (n=20)	
Vitamina B12 (pg/ml)	393,2 (298,0 – 538,8)	234,45 (227,4 – 292,0)	<0,0001
TFGe ≥ 60 mL/min	382,6 (295,2 – 494,9)	228,0 (202,0 – 229,0)	0,0005
TFGe < 60 mL/min	414,8 (312,0 – 555,1)	240,4 (227,9 – 292,0)	0,003
Homocisteína ($\mu\text{mol/L}$)	17,44 (14,64 – 22,13)	20,79 (14,97 – 26,39)	0,35
TFGe ≥ 60 mL/min	14,82 (12,28 – 17,33)	18,25 (15,31 – 22,26)	0,17
TFGe < 60 mL/min	19,23 (16,57 – 23,61)	26,39 (14,97 – 30,61)	0,42
Hemoglobina (g/dL)	13,68 \pm 0,19	13,26 \pm 0,35	0,40
TFGe ≥ 60 mL/min	14,20 \pm 0,26	13,98 \pm 0,52	0,74
TFGe < 60 mL/min	13,32 \pm 0,25	12,70 \pm 0,42	0,37
Hematócrito (%)	41,39 \pm 0,54	39,82 \pm 1,03	0,27
TFGe ≥ 60 mL/min	42,69 \pm 0,74	41,95 \pm 1,53	0,70
TFGe < 60 mL/min	40,49 \pm 0,73	38,18 \pm 1,27	0,24
VGM (fl)	86,16 \pm 0,57	87,61 \pm 1,43	0,35
TFGe ≥ 60 mL/min	86,49 \pm 0,85	87,51 \pm 1,72	0,64
TFGe < 60 mL/min	85,92 \pm 0,77	87,69 \pm 2,22	0,41
HGM (pg)	28,32 \pm 0,24	29,67 \pm 0,54	0,03
TFGe ≥ 60 mL/min	28,24 \pm 0,34	30,35 \pm 0,77	0,01
TFGe < 60 mL/min	28,40 \pm 0,35	28,87 \pm 0,70	0,59
CHGM (g/dL)	33,0 (32,1 – 33,7)	33,3 (32,5 – 33,8)	0,24
TFGe ≥ 60 mL/min	33,1 (32,45 – 33,85)	33,4 (32,5 – 33,80)	0,66
TFGe < 60 mL/min	32,8 (31,9 – 33,6)	33,3 (32,6 – 33,7)	0,25

Legenda: volume globular médio (VGM); hemoglobina globular média (HGM); concentração de hemoglobina globular média (CHGM); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição normal expressas como média \pm erro padrão; variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Nas análises de correlação, foram encontradas associações positivas entre a

concentração sérica de B12 avaliada na primeira fase do estudo e a avaliada na segunda fase do estudo, tanto no grupo total, quanto nas análises estratificadas pela TFGe; as quais se mantiveram mesmo após ajustes para confundidores (Tabela 11). Considerando-se as análises ajustadas para todos os fatores de confundimento (idade, sexo, tempo de TxR e TFGe), a B12 sérica avaliada na primeira fase do estudo apresentou:

- a) associação positiva com hematócrito nos pacientes com TFGe < 60 ml/min;
- b) associação negativa com o VGM e a CHGM nos indivíduos com TFGe < 60 ml/min; e
- c) associação negativa com a HGM nos participantes com TFGe \geq 60 ml/min.

Tabela 11 - Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com parâmetros relacionados com o metabolismo da vitamina B12 avaliados na segunda fase do estudo

Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**	
	r	p	r	p	r	p
Vitamina B12 (pg/mL)	0,67	<0,0001	0,58	<0,0001	0,62	<0,0001
TFGe \geq 60 ml/min	0,66	<0,0001	0,61	<0,0001	0,70	<0,0001
TFGe < 60 ml/min	0,67	<0,0001	0,59	<0,0001	0,57	<0,0001
Homocisteína (μ mol/L)	-0,13	0,24	-0,10	0,37	-0,14	0,24
TFGe \geq 60 ml/min	-0,20	0,27	-0,27	0,16	-0,24	0,22
TFGe < 60 ml/min	-0,05	0,75	-0,01	0,95	-0,04	0,81
Hemoglobina (g/dL)	-0,02	0,78	0,04	0,62	0,05	0,50
TFGe \geq 60 ml/min	-0,09	0,45	-0,04	0,76	-0,05	0,69
TFGe < 60 ml/min	-0,01	0,92	0,08	0,44	0,15	0,16
Hematócrito (%)	0,003	0,97	0,08	0,34	0,09	0,26
TFGe \geq 60 ml/min	-0,09	0,47	-0,05	0,72	-0,06	0,64
TFGe < 60 ml/min	0,02	0,82	0,15	0,14	0,23	0,03
VGM (fl)	-0,09	0,24	-0,11	0,16	-0,11	0,16
TFGe \geq 60 ml/min	0,10	0,43	0,05	0,70	0,04	0,75
TFGe < 60 ml/min	-0,21	0,04	-0,23	0,03	-0,24	0,02
HGM (pg)	-0,15	0,06	-0,22	0,008	-0,15	0,12
TFGe \geq 60 ml/min	-0,22	0,05	-0,35	0,002	-0,34	0,03
TFGe < 60 ml/min	-0,10	0,44	-0,09	0,47	-0,07	0,57
CHGM (g/dL)	-0,17	0,03	-0,14	0,09	-0,13	0,11
TFGe \geq 60 ml/min	-0,02	0,90	0,03	0,83	0,02	0,86
TFGe < 60 ml/min	-0,30	0,005	-0,28	0,006	-0,28	0,007

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); volume globular médio (VGM); hemoglobina globular média (HGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM); *Após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**).

Fonte: A autora, 2019.

Com relação às variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo de glicose,

avaliados na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de B12 (primeira fase do estudo), mesmo após a exclusão dos indivíduos em uso de hipoglicemiantes orais e/ou insulina, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com estado nutricional de B12 adequado e deficiente (Tabela 12). Na regressão logística, ajustada para confundidores, também não foi encontrada associação da deficiência de B12 com glicose, insulina e HOMA-IR (dados não apresentados).

Tabela 12 - Variáveis laboratoriais relacionadas com o metabolismo da glicose avaliados na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 avaliado na primeira fase do estudo

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n= 151)	Deficiente (n= 20)	
Todos os pacientes			
Glicose (mg/dL)	94,0 (87,0 – 106,0)	94,0 (88,0 – 107,0)	0,90
TFGe ≥ 60 ml/min	97,0 (89,0 – 116,0)	94,0 (87,0 – 118,0)	0,52
TFGe < 60 ml/min	93,0 (85,0 – 106,0)	97,0 (89,0 – 107,0)	0,54
Insulina (μU/mL)	10,35 (6,5 – 13,45)	7,6 (5,3 – 11,5)	0,20
TFGe ≥ 60 ml/min	10,4 (6,85 – 12,8)	7,9 (4,8 – 12,0)	0,35
TFGe < 60 ml/min	9,2 (5,75 – 13,95)	7,3 (6 – 10,1)	0,36
HOMA-IR	2,36 (1,48 – 3,66)	1,83 (1,22 – 2,67)	0,35
TFGe ≥ 60 ml/min	2,45 (1,58 – 3,38)	1,89 (1,22 – 4,50)	0,74
TFGe < 60 ml/min	2,32 (1,32 – 3,73)	1,78 (1,21 – 2,67)	0,30
Pacientes que não usavam hipoglicemiante ora e/ou insulina			
	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n= 119)	Deficiente (n= 15)	
Glicose (mg/dL)	91,0 (85,0 – 98,5)	90,0 (87,0 – 97,0)	0,83
TFGe ≥ 60 ml/min	94,5 (88,0 – 104,0)	91,5 (87,0 – 94,0)	0,26
TFGe < 60 ml/min	89,0 (84,0 – 95,0)	90,0 (88,0 – 97,0)	0,57
Insulina (μU/mL)	9,2 (5,8 – 12,2)	7,3 (6,0 – 8,4)	0,16
TFGe ≥ 60 ml/min	10,4 (6,6 – 12,1)	8,5 (6,3 – 10,05)	0,49
TFGe < 60 ml/min	8,6 (5,5 – 13,1)	6,3 (6,0 – 7,3)	0,25
HOMA-IR	2,22 (1,29 – 3,03)	1,70 (1,21 – 1,89)	0,12
TFGe ≥ 60 ml/min	2,32 (1,55 – 3,19)	1,79 (1,39 – 2,22)	0,34
TFGe < 60 ml/min	2,01 (1,20 – 2,64)	1,32 (1,21 – 1,78)	0,24

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina (HOMA-IR); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Nas análises de correlação, após a exclusão dos indivíduos em uso de hipoglicemiantes orais e/ou insulina e após ajustes para idade, sexo, tempo de TxR e TFGe, foi encontrada correlação positiva da insulina e do HOMA-IR obtidos na segunda fase com a B12 avaliada na primeira fase, naqueles indivíduos com TFGe < 60 ml/min; a qual não se manteve após

ajuste adicional para o IMC (Tabela 13).

Tabela 13 – Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo

Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**		Correlação Parcial***	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Todos os pacientes								
Glicose (mg/dL)	-0,03	0,71	-0,004	0,96	0,01	0,95	-0,0002	0,99
TFGe ≥ 60 ml/min	0,16	0,18	0,20	0,12	0,18	0,15	0,13	0,31
TFGe < 60 ml/min	-0,18	0,09	-0,15	0,16	-0,14	0,18	-0,13	0,24
Insulina (μU/mL)	-0,06	0,48	-0,05	0,62	-0,07	0,47	-0,04	0,70
TFGe ≥ 60 ml/min	0,05	0,70	0,06	0,65	0,01	0,93	-0,01	0,92
TFGe < 60 ml/min	-0,18	0,15	-0,16	0,22	-0,19	0,15	-0,14	0,30
HOMA-IR	-0,05	0,62	-0,01	0,89	-0,01	0,92	0,01	0,88
TFGe ≥ 60 ml/min	0,06	0,69	0,13	0,36	0,13	0,37	0,11	0,50
TFGe < 60 ml/min	-0,15	0,24	-0,14	0,29	-0,17	0,21	-0,12	0,37
Pacientes que não usavam hipoglicemiante oral e/ou insulina								
Glicose (mg/dL)	-0,007	0,94	0,10	0,31	0,12	0,19	0,10	0,25
TFGe ≥ 60 ml/min	0,13	0,40	0,29	0,04	0,24	0,10	0,24	0,11
TFGe < 60 ml/min	-0,08	0,48	-0,13	0,29	-0,13	0,29	-0,17	0,19
Insulina (μU/mL)	-0,13	0,25	-0,12	0,31	-0,17	0,15	-0,07	0,55
TFGe ≥ 60 ml/min	-0,37	0,05	0,02	0,90	-0,03	0,87	0,01	0,97
TFGe < 60 ml/min	-0,14	0,29	-0,30	0,06	-0,40	0,01	-0,29	0,08
HOMA-IR	-0,12	0,29	-0,08	0,47	-0,08	0,48	0,007	0,95
TFGe ≥ 60 ml/min	-0,23	0,24	0,06	0,73	0,09	0,62	0,13	0,49
TFGe < 60 ml/min	-0,19	0,18	-0,28	0,08	-0,38	0,02	-0,28	0,18

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); HOMA-IR= modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina (HOMA-IR); Após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante, taxa de filtração glomerular IMC (***).

Fonte: A autora, 2019.

Os valores dos biomarcadores inflamatórios avaliados na segunda fase do estudo, de acordo com o estado nutricional de B12 avaliado na primeira fase do estudo, estratificados pela TFGe, estão apresentados na Tabela 14. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, mesmo após estratificação de acordo com a TFGe (Tabela 14). De modo similar, não foi observada associação da deficiência de B12 com os níveis séricos de PCR-us e leptina nas análises de regressão logística ajustadas para confundidores (dados não apresentados).

Por outro lado, nas análises de correlação foram encontradas correlações negativas da

B12 avaliada na primeira fase do estudo com o nível sérico de PCR-us (participantes com TFGe \geq 60 ml/min) e com a leptina (grupo total e indivíduos com TFGe $<$ 60 ml/min) após ajustes para idade, sexo, tempo TxR, TFGe e IMC (Tabela 15).

Tabela 14 – Biomarcadores inflamatórios avaliados na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 na primeira fase do estudo

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n = 151)	Deficiente (n=20)	
PCR-us (mg/dL)	0,18 (0,06 – 0,83)	0,22 (0,12 – 0,35)	0,57
TFGe \geq 60 ml/min	0,12 (0,05 – 0,42)	0,17 (0,10 – 2,90)	0,33
TFGe $<$ 60 ml/min	0,24 (0,06 – 0,96)	0,24 (0,17 – 0,35)	0,94
Leptina (ng/mL)	9,52 (2,91 – 31,43)	53,07 (9,89 – 104,51)	0,06
TFGe \geq 60 ml/min	7,59 (2,86 – 26,34)	36,14 (9,89 – 69,99)	0,18
TFGe $<$ 60 ml/min	10,49 (2,91 – 32,87)	104,51 (3,52 – 833,46)	0,16

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); proteína C reativa ultrasensível (PCR-us); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor)

Nota: Variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Tabela 15 – Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com biomarcadores inflamatórios avaliados na segunda fase do estudo

Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**		Correlação Parcial***	
	R	p	r	p	r	p	r	p
PCR-us (mg/dL)	-0,16	0,16	-0,14	0,21	-0,20	0,09	-0,17	0,16
TFGe \geq 60 ml/min	-0,15	0,40	-0,32	0,09	-0,40	0,06	-0,43	0,04
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,12	0,40	-0,07	0,66	-0,12	0,45	-0,07	0,64
Leptina (ng/mL)	-0,24	0,05	-0,29	0,02	-0,29	0,02	-0,26	0,04
TFGe \geq 60 ml/min	-0,24	0,26	-0,15	0,51	-0,21	0,39	-0,27	0,29
TFGe $<$ 60 ml/min	-0,26	0,08	-0,33	0,04	-0,36	0,02	-0,36	0,03

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) PCR-us = proteína C reativa ultrasensível. (PCR-us); Após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante, taxa de filtração glomerular estimada e índice de massa corporal.

Fonte: A autora, 2019.

Os grupos com e sem deficiência de B12 não apresentaram diferenças significativas em relação aos parâmetros de reatividade microvascular cutânea (Tabela 16) e aos parâmetros vasculares da retina (Tabela 17). Não houve associação da deficiência de B12 com esses parâmetros da microcirculação após ajustes para confundidores (dados não apresentados). De

modo similar, a concentração sérica de B12 não se associou com os parâmetros vasculares cutâneos e da retina (Tabelas 18 e 19).

Tabela 16 - Reatividade microvascular cutânea avaliada na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 na primeira fase do estudo

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n = 151)	Deficiente (n=20)	
Pico CVC (UAP/mmHg)	0,82 ± 0,03	1,01 ± 0,15	0,10
TFGe ≥ 60 ml/min	0,92 ± 0,05	1,26 ± 0,16	0,07
TFGe < 60 ml/min	0,75 ± 0,03	0,82 ± 0,21	0,60
Amplitude CVC (UAP/mmHg)	0,45 (0,37 – 0,62)	0,51 (0,25 – 0,89)	0,62
TFGe ≥ 60 ml/min	0,52 (0,41 – 0,70)	0,89 (0,24 – 0,93)	0,51
TFGe < 60 ml/min	0,43 (0,33 – 0,59)	0,46 (0,33 – 0,64)	0,84
AUC pós oclusão (UAP/segundo)	3123,15 ± 94,87	3622,05 ± 321,20	0,10
TFGe ≥ 60 ml/min	3218,84 ± 157,04	3742,29 ± 481,89	0,29
TFGe < 60 ml/min	3048,57 ± 116,53	3531,44 ± 456,27	0,20

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); condutância vascular cutânea (CVC); unidade arbitrária de perfusão (UAP); área sob a curva (AUC); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição normal expressas como média ± erro padrão; variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Tabela 17 – Avaliação vascular da retina realizada na segunda fase do estudo de acordo o estado nutricional de vitamina B12 na primeira fase do estudo

Variáveis	Estado Nutricional de vitamina B12		p
	Adequado (n = 151)	Deficiente (n=20)	
CRAE (µM)	110,00 ± 0,56	111,68 ± 1,35	0,31
TFGe ≥ 60 ml/min	109,78 ± 0,70	113,28 ± 1,94	0,06
TFGe < 60 ml/min	110,12 ± 0,78	109,54 ± 1,13	0,83
CRVE (µM)	154,40 (148,23 – 163,11)	154,51 (145,98 – 162,23)	0,91
TFGe ≥ 60 ml/min	151,83 (139,74 – 161,24)	152,63 (148,36 – 159,74)	0,52
TFGe < 60 ml/min	158,43 (149,60 – 163,34)	160,18 (132,37 – 162,23)	0,89
Relação CRAE / CRVE	0,71 (0,67 – 0,74)	0,72 (0,69 – 0,74)	0,69
TFGe ≥ 60 ml/min	0,72 (0,69 – 0,78)	0,74 (0,73 – 0,75)	0,29
TFGe < 60 ml/min	0,71 (0,67 – 0,73)	0,69 (0,66 – 0,71)	0,43

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); equivalente da artéria retiniana central (CRAE); equivalente da veia retiniana central (CRVE); grupo adequado vs. grupo deficiente em vitamina B12 (p-valor).

Nota: Variáveis com distribuição normal expressas como média ± erro padrão; variáveis com distribuição não normal expressas como mediana (intervalo interquartil).

Fonte: A autora, 2019.

Tabela 18 – Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com parâmetros da reatividade microvascular cutânea avaliada na segunda fase do estudo

Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**		Correlação Parcial***	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Pico CVC (UAP/mmHg)	-0,05	0,59	-0,07	0,43	-0,07	0,52	-0,08	0,43
TFGe ≥ 60 ml/min	0,05	0,71	-0,12	0,47	-0,18	0,32	-0,18	0,32
TFGe < 60 ml/min	-0,12	0,36	-0,12	0,36	-0,14	0,32	-0,16	0,24
Amplitude CVC (UAP/mmHg)	-0,01	0,90	-0,01	0,89	0,02	0,84	-0,10	0,33
TFGe ≥ 60 ml/min	0,16	0,29	0,05	0,76	0,05	0,76	0,08	0,66
TFGe < 60 ml/min	-0,13	0,33	-0,10	0,44	-0,10	0,44	-0,12	0,37
AUC pós oclusão (UAP/segundo)	0,001	1,00	-0,03	0,72	-0,05	0,58	-0,05	0,58
TFGe ≥ 60 ml/min	0,15	0,26	0,06	0,68	0,01	0,93	-0,02	0,89
TFGe < 60 ml/min	-0,12	0,30	-0,13	0,28	-0,14	0,25	-0,09	0,45

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); condutância vascular cutânea (CVC); unidade arbitrária de perfusão (UAP); área sob a curva (AUC); Após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**); Após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante, taxa de filtração glomerular estimada e índice de massa corporal (***).

Fonte: A autora, 2019.

Tabela 19 – Correlação da concentração sérica de vitamina B12 avaliada na primeira fase do estudo com parâmetros da avaliação vascular da retina realizada na segunda fase do estudo

Variáveis	Correlação		Correlação Parcial*		Correlação Parcial**		Correlação Parcial***	
	r	p	r	p	r	p	r	p
CRAE (μM)	-0,001	0,99	-0,004	0,77	-0,04	0,78	-0,04	0,75
TFGe ≥ 60 ml/min	-0,22	0,31	-0,30	0,20	-0,35	0,17	-0,29	0,28
TFGe < 60 ml/min	0,12	0,47	0,10	0,55	0,12	0,48	0,12	0,53
CRVE (μM)	-0,06	0,65	-0,13	0,31	-0,16	0,24	-0,16	0,26
TFGe ≥ 60 ml/min	-0,36	0,09	-0,44	0,05	-0,41	0,10	-0,38	0,15
TFGe < 60 ml/min	0,04	0,80	0,01	0,96	0,005	0,98	0,002	0,99
Relação CRAE / CRVE	0,10	0,45	0,14	0,28	0,17	0,21	0,18	0,21
TFGe ≥ 60 ml/min	0,14	0,53	0,17	0,47	0,13	0,62	0,16	0,56
TFGe < 60 ml/min	0,11	0,49	0,17	0,32	0,19	0,28	0,19	0,29

Legenda: taxa de filtração glomerular estimada (TFGe); equivalente da artéria retiniana central (CRAE); equivalente da veia retiniana central (CRVE); após ajustes para idade, sexo e tempo pós-transplante (*); após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante e taxa de filtração glomerular estimada (**); após ajustes para idade, sexo, tempo pós-transplante, taxa de filtração glomerular estimada e índice de massa corporal (***).

Fonte: A Autora, 2019.

6 DISCUSSÃO

Os principais achados do presente estudo realizado com RTR foram:

- a) elevada frequência de deficiência de B12;
- b) associação da deficiência de B12 com valores mais elevados do perímetro da cintura;
- c) associação inversa entre as concentrações séricas de B12 e de hcis nas análises sem ajustes para TFG_e;
- d) ausência de associação da deficiência de B12 com resistência à insulina;
- e) associação inversa da B12 sérica avaliada na primeira fase do estudo com a PCR-us (apenas nos indivíduos com TFG_e ≥ 60 ml/min) e com a leptina avaliadas na segunda fase do estudo; e
- f) ausência de associação da deficiência de B12 com parâmetros da reatividade microvascular cutânea e com os diâmetros vasculares retinianos.

6.1 Frequência de deficiência de vitamina B12

No presente estudo, utilizando-se o ponto de corte sugerido pelo Comitê Britânico de Padrões em Hematologia de 200 pg/mL (DEVALIA et al., 2014), foi encontrada frequência de deficiência de B12 de 14%. Até o momento, foram encontrados na literatura apenas três estudos que avaliaram a presença de deficiência de B12 em RTR, embora não possuíssem como objetivo principal avaliar a prevalência de deficiência de B12 (FÖDINGER et al., 2000; KARAKUŞ et al., 2004; SCOTT et al., 2017).

Födinger et al. (2000) ao estudarem 733 austríacos RTR que não usavam suplementos vitamínicos, observaram deficiência de B12 de 8,9%, utilizando ponto de corte de 160 pg/mL. Caso no presente estudo, tivesse sido utilizado o mesmo ponto de corte (160 pg/mL), a prevalência de deficiência de B12 seria de 7,1%. Karakus et al (2004), avaliando apenas RTR com anemia (n = 90), observaram deficiência de B12 em 40% e 8,3% dos pacientes com anemia macrocítica e normocítica, respectivamente. Entretanto, o ponto de corte utilizado para definir a deficiência de B12 não foi informado.

Recentemente, Scott et al. (2017) avaliaram em um ensaio clínico 584 RTR norte-americanos e canadenses e observaram que menos de 1% dos participantes apresentavam deficiência de B12 e ácido fólico, utilizando-se também o ponto de corte < 200 pg/mL para a B12. Como apenas o estudo de Fodinger et al. (2000) avaliou a prevalência isolada de deficiência de B12 em RTR, sem incluir especificamente participantes com anemia, nossos dados podem ser comparados apenas com esse estudo e pode-se concluir que a prevalência encontrada no presente estudo foi semelhante, caso tivéssemos adotado o mesmo ponto de corte (160 pg/mL).

No Brasil, alguns estudos realizados na população em geral avaliaram a prevalência de deficiência de B12. Barnabé et al. (2015) identificaram deficiência de B12 em 4,9% dos indivíduos em diferentes estágios da vida (crianças, idosos, mulheres grávidas e lactantes) utilizando o mesmo ponto de corte adotado no presente estudo. Xavier et al. (2010) observaram prevalência de 6,4% nos participantes de 30 a 59 anos recrutados em centros de saúde também do estado de São Paulo, utilizando o ponto de corte < 271 pg/mL. No presente estudo, se fosse utilizado este mesmo ponto de corte, a prevalência de deficiência de B12 seria de 33%. Na população geral dos Estados Unidos, a prevalência de deficiência de B12 (< 200 pg/mL) variou por faixa etária e afetou $< 3\%$ das pessoas de 20 a 39 anos, $\sim 4\%$ das pessoas de 40 a 59 anos e 6% de pessoas com idade ≥ 70 anos (ALLEN, 2009).

Conclui-se, portanto, que no presente estudo, a frequência de deficiência de B12 foi superior à observada na população em geral. Tal achado também pode ser corroborado com o que foi encontrado no estudo de Akbas et al. (2004), realizado na Turquia. Neste estudo RTR apresentavam valores de B12 significativamente mais baixos do que os controles pareados por idade e sexo (547,30 pg/mL vs. 448,94 pg/mL; $p = < 0,05$), sendo observado inclusive, redução significativa nos níveis de B12 após 3 meses de TxR (448,94 pg/mL vs. 334,38 pg/mL; $p = < 0,05$).

6.2 Deficiência de vitamina B12 e adiposidade corporal central

No presente estudo, a deficiência de B12 se associou com maior adiposidade corporal central. Até o presente momento apenas um estudo, que foi realizado pelo nosso grupo de pesquisa, avaliou a relação entre a deficiência de B12 e valores elevados de adiposidade corporal total e central em RTR, tendo encontrado associação significativa principalmente nas

mulheres (PONTES et al., 2019). O presente estudo não apresenta como objetivo avaliar essa relação. Entretanto, devido à associação da adiposidade corporal com os parâmetros que estão sendo estudados (resistência à insulina, inflamação e função microvascular), nós comparamos a adiposidade corporal entre os indivíduos com e sem deficiência de B12 e ajustamos as análises de regressão logística e de correlação pelo IMC.

Apesar de estudos avaliando a relação da B12 com adiposidade em RTR serem escassos, nos últimos anos foram realizados ao menos 15 estudos na população em geral, que compararam a adiposidade corporal entre indivíduos com ou sem a presença de deficiência de B12 ou compararam as concentrações séricas de B12 em indivíduos com ou sem excesso de peso (ALLIN et al., 2017; BALTACI et al., 2012; 2013; 2017; GEIKER et al., 2018; GUARNIZO-POMA et al., 2018; GUVEN et al., 2005; KANER et al., 2016; KNIGHT et al., 2015; KRISHNAVENI et al., 2009; NARANG et al., 2016; OZER et al., 2017; PINHAS - HAMIEL et al., 2006; SUKUMAR et al., 2016; SUN et al., 2019; SURENDRAN et al., 2019).

Sun et al. (2019), em um estudo transversal, avaliaram os dados de 9.075 americanos com idade ≥ 20 anos, presentes no banco do *National Health and Nutrition Examination Survey* 2011–2014. Após ajustes para idade, sexo, raça, educação, renda, ingestão de B12, energia e álcool, nível de atividade física, tabagismo, uso de metformina e IBPs, uso de suplementos e tempo de jejum, o risco de obesidade [OR, (IC 95%)] foi de 1,00 (referência), 0,95 (0,79-1,14), 0,86 (0,74-0,99) e 0,71 (0,60-0,84) (p para tendência $<0,001$) para os quartis crescentes de concentrações séricas de B12.

De modo similar, ao avaliarem a possível relação entre perfis adversos de saúde, incluindo a adiposidade, e concentrações mais baixas de B12, Allin et al. (2017) em um estudo populacional (n= 9.311) com duas coortes dinamarquesas (o estudo Inter99 e a coorte de saúde de 2006), utilizando o desenho de randomização mendeliana, apontaram que a diminuição da concentração de B12 associou-se com aumento do PC, do percentual de gordura corporal e do IMC, onde uma redução de 20% na concentração de B12 foi associada a um aumento no PC de 0,23 cm (0,11 – 0,35; p=0,0003) e 0,46 cm (0,24 – 0,69; p= 6×10^{-5}), no estudo Inter99 e na coorte de saúde, respectivamente.

Narang et al. (2016), em um estudo caso-controle, ao pesquisarem fatores que afetam as concentrações sanguíneas de hcis em pacientes adultos indianos com diagnóstico de síndrome metabólica (SM), encontraram que em comparação aos controles (n= 25; IMC= $23,04 \pm 0,83$ kg/m²), os pacientes com SM (n= 50; IMC= $29,32 \pm 1,65$ kg/m²), apresentaram concentrações mais elevadas de hcis ($16,77 \pm 6,6$ vs. $6,48 \pm 0,87$ $\mu\text{mol/L}$; p $<0,0001$) e mais

baixas de B12 ($183,7 \pm 37$ vs. $346,4 \pm 74,4$ pg/mL; $p < 0,0001$). Além disto, as concentrações séricas de hcis e B12 se correlacionaram com peso corporal (respectivamente, $r = 0,52$ e $r = -0,63$; $p < 0,0001$), PC (respectivamente, $r = 0,58$ e $r = -0,68$; $p < 0,0001$) e IMC (respectivamente, $r = 0,72$ e $r = -0,74$; $p < 0,0001$).

Os possíveis mecanismos pelos quais indivíduos com maior adiposidade podem apresentar concentrações séricas mais baixas de B12 vêm sendo investigados em alguns estudos, embora ainda não haja um consenso. Uma das hipóteses é o maior requerimento de B12 para atingir níveis séricos ideais em obesos, como observado no estudo de Geiker et al. (2018), realizado na Dinamarca com 85 adultos obesos. Após os autores intervirem com uma dieta formulada com baixa caloria (800 a 1000Kcal/dia) por 8 semanas, os participantes perderam 13% do peso corporal inicial e os valores séricos de B12 aumentaram de 197 ± 84 pg/mL para 245 ± 98 pg/mL ($p = < 0.001$), mesmo apresentando uma redução na ingestão diária de B12 (6,1mcg vs. 4,7mcg). Sendo sugerido, portanto, que seria mais apropriado diferenciar a recomendação de B12 para esta população.

Dentro do escopo genético, no estudo de Allin et al. (2017) foi sugerido que uma variante genética poderia explicar parte da associação observada entre obesidade e níveis mais baixos de B12. Os indivíduos com polimorfismo no alelo G do gene FUT2 (rs602662) seriam mais suscetíveis à infecção por *H. pylori*, podendo desenvolver gastrite crônica, cursando com redução da secreção de FI e prejuízo na absorção de B12. Entretanto, os autores reiteraram que embora tenham descoberto que o polimorfismo neste gene esteja associado com redução dos níveis séricos de B12 (-10% ; $p = 3 \times 10^{-37}$, na coorte 99inter e -6% ; $p = 1 \times 10^{-12}$, na coorte de saúde de 2006) e com aumento do IMC (efeito combinado das duas coortes de 0.19 kg/m²; $p = 4 \times 10^{-4}$), tais achados não suportam necessariamente um papel causal nesta relação.

Surendran et al. (2019) criaram um escore de risco baseado em dois polimorfismos de nucleotídeo único no gene FTO (rs8050136 e rs2388405), um *locus* estabelecido de suscetibilidade à obesidade, e observaram associação significativa entre o escore de risco do gene FTO e o IMC ($p = 0,009$). Eles também demonstraram que indivíduos portadores de mais de um alelo de risco para o escore do gene FTO apresentaram concentrações 13,1% mais baixas de B12, em comparação com indivíduos portadores de alelo de risco zero ($p = 0,018$).

Os autores discutiram ainda, que variantes de risco no *locus* do FTO desencadeiam uma superexpressão do mRNA da grelina, levando a elevação nos níveis do hormônio da fome, o que, por sua vez, pode levar os indivíduos a consumirem alimentos densos em energia, conforme relatado nos estudos de Karra et al. (2013) e Tanofsky-Kraff et al. (2009).

Inclusive, foi demonstrado no próprio estudo de Surendran et al. (2019), que indivíduos obesos consumiram maiores quantidades de carboidratos na dieta do que indivíduos não obesos ($p = 0,020$). Neste contexto, Pinhas – Hamiel et al. (2006) já haviam hipotetizado que os hábitos alimentares de adolescentes obesos poderiam influenciar nos níveis de B12, uma vez que a dieta desta população é rica em carboidratos e gorduras e pobre em proteína animal, fonte de B12.

Outros mecanismos sugeridos na literatura, incluem a conversão prejudicada de MMA para succinil-coA, um processo dependente de B12, o que pode estar associado ao acúmulo de MMA levando ao aumento da lipogênese (LI et al., 2018). Além disso, a deficiência de doadores de radical metil e cofatores envolvidos, como a B12, prejudicando a oxidação de ácidos graxos e reduzindo a expressão de sirtuína 1 (que possui papel chave em mecanismos moleculares da obesidade) (GARCIA et al., 2011; GUÉANT et al., 2013). Adaikalakoteswari et al. (2017) sugeriram que a B12 desempenha um papel na regulação epigenética por alterar os microRNA circulantes durante a diferenciação dos adipócitos o que resulta em adipogênese e fenótipo metabólico adverso.

Em contrapartida, ressalta-se que alguns estudos não encontraram relação entre a concentração sérica de B12 e a adiposidade corporal (AASHEIM et. al., 2008; MAHABIR et. al., 2008; MOEN et. al., 2018; REITMAN et. al., 2002; TUNGTRONGCHITR et.al., 2003).

6.3 Associação da concentração sérica de vitamina B12 com os níveis de homocisteína

No presente estudo, apesar da concentração sérica de hcis não ter sido diferente entre os pacientes com e sem deficiência de B12, na primeira fase do estudo a concentração sérica de B12 apresentou associação inversa com a hcis no grupo total de participantes e nos participantes com TFG_e ≥ 60 ml/min nas análises sem ajustes para fatores de confundimento. Após ajuste para TFG_e a associação entre B12 e hcis deixou de ser significativa. Além disso, no grupo total de participantes (sem estratificação pela TFG_e) foram observadas concentrações sérica significativamente mais baixas de B12 nos indivíduos com Hhcis.

A hcis é um metabólito do aminoácido essencial metionina, podendo ser degradada em cisteína através da via de transsulfuração e remetilada em metionina. Existem duas vias de remetilação; uma via menor (a qual ocorre principalmente no fígado e rins), em que a betaína é a doadora do radical metil na reação catalisada pela betaína-homocisteína metiltransferase,

formando N-dimetilglicina e metionina. É a mais expressiva, em que o 5-MTHF, é o doador do radical metil na reação catalisada pela enzima MS, em um processo dependente da vitamina B12. Desta forma, a concentração sérica deste aminoácido é considerada um biomarcador funcional sensível da deficiência de B12 (CASTRO et al., 2006; SAVAGE et al., 1995).

Na população em geral, os determinantes da Hhcis incluem a ingestão de folato, piridoxina, riboflavina e B12; a função renal; o consumo de álcool e cafeína; assim como a hipertensão, o tabagismo e polimorfismos no gene codificador da enzima MTHFR (JACQUES et al., 2001; WHAYNE, 2015). A Hhcis ocorre em cerca de 85% dos pacientes com DRC devido ao prejuízo no metabolismo renal e a redução na excreção renal (CIANCIOLO et al., 2017). No presente estudo, 69% dos participantes apresentavam Hhcis na primeira fase do estudo e 70% na segunda fase do estudo.

No presente estudo, a mediana da concentração sérica de hcis na primeira fase do estudo foi de 16,74 $\mu\text{mol/L}$ no grupo sem deficiência de B12 e de 18,16 $\mu\text{mol/L}$ no grupo com deficiência de B12. Outros estudos também encontraram valores similares, como o estudo transversal de Einollahi et al. (2011) com 159 RTR, onde a concentração média de hcis foi de 16,6 $\mu\text{mol/L}$, a coorte de Winkelmayr et al. (2005a) com 710 RTR, onde a concentração média de hcis foi de 17,2 $\mu\text{mol/L}$, e a coorte de Ducloux et al. (2000) com 207 RTR, onde a mediana de Hcis foi de 19 $\mu\text{mol/L}$.

A associação inversa entre B12 e hcis encontrada em algumas análises sem ajustes para fatores de confundimento (incluindo TFG_e) está de acordo com alguns dados da literatura. Por exemplo, Kaya et al. (2019) ao avaliarem 117 RTR turcos adultos encontraram correlação negativa entre níveis séricos de hcis e B12 ($p=0,001$) em uma análise sem ajustes para fatores de confundimento.

A existência de associação entre B12 e hcis independentemente da função renal em RTR é um tema controverso, pois os resultados dos estudos são divergentes. Monfared et al. (2014), ao estudarem 148 RTR iranianos adultos observaram correlação negativa entre níveis de hcis e B12 ($r=-0,18$, $p=0,02$); demonstrando também na análise de regressão multivariada que B12 ($p<0,05$) e creatinina ($p=0,003$) estão associados de forma independente com os níveis de hcis nesta população. Por outro lado, no estudo realizado por Bostom et al. (1999), os autores concluíram que a função renal é o principal determinante dos níveis de hcis em RTR e que em comparação com a função renal, os níveis séricos de B12 apresentam influência marginal nos níveis de hcis.

Ressalta-se ainda que Han et al. (2000) não encontraram associação independente,

enquanto Ducloux et al. (1998) não observaram associação da B12 com hcis, mesmo sem ajustes e outros estudos sequer avaliaram a B12 como determinante de Hhis em RTR (Sanja Simić-Ogrizović et al., 2009; Nouri-Majalan et al., 2009).

6.4 Deficiência de vitamina B12 e resistência à insulina

No presente estudo não foi observada associação significativa entre níveis séricos de B12 e resistência à insulina. Não foram encontrados estudos avaliando a associação do estado nutricional de B12 com resistência à insulina em RTR. Os estudos realizados na população em geral apresentaram achados conflitantes, pois apesar de alguns terem relacionado concentrações séricas mais baixas de B12 com resistência à insulina (ADAIKALAKOTESWARI et al., 2017; CIGERLI et al., 2016; IGLESIA et al., 2017; YAJNIK et al., 2008; KAYA et al., 2009; KNIGHT et al. 2015; KRISHNAVENI et al., 2009; LI et al., 2018; MOEN et. al., 2018; SUKUMARET al., 2016), outros não encontraram a mesma relação (BALTACI et. al., 2013; GAMMON et. al., 2012; KANER et al., 2016; MAHAMID et. al., 2018).

Krishnaveni et al. (2009), em uma coorte com 758 gestantes indianas observaram no *baseline* que aquelas com deficiência de B12 (43%), mesmo após ajustes para idade, nível socioeconômico, religião, número de gestações e história familiar de DM, apresentaram valores mais elevados de IMC e de resistência à insulina ($p= 0,03$) e maior incidência de DM gestacional (OR: 2,14 (1,11, 4,13); $p= 0,02$) quando comparadas com gestantes não deficientes. Além disto, ao analisarem os dados após *follow-up* de 5 anos, encontraram que o estado nutricional de B12 durante a gestação foi um preditor significativo de valores mais elevados de HOMA-IR ($p= 0,004$) e maior frequência de DM ($p= <0,003$).

Yajnik et al. (2008) em outra coorte indiana, ao acompanharem 700 gestantes, observaram prevalência de deficiência de B12 de 60% e após *follow-up* de 6 anos, observaram que os filhos das mães que tinham níveis reduzidos de B12 apresentavam valores mais elevados de HOMA-IR ($p=0,03$). Sukumar et al. (2016) em um estudo caso-controle retrospectivo com 332 gestantes, observaram que aquelas com deficiência de B12, após ajustes para idade, gestações, etnia, tabagismo e folato sérico, apresentaram risco mais de 2 vezes maior de cursar com DM gestacional (OR: 2,59 (1,35, 4,98), $p= 0,004$). Knight et al. (2015), em um estudo transversal, ao investigarem 995 gestantes inglesas com 28 semanas de

gestação encontraram correlação negativa entre níveis séricos de B12 e valores de HOMA-IR ($R = -0,22$; $p = <0,001$).

Li et al. (2018), ao estudarem 278 adultos franceses obesos mórbidos, com o objetivo de avaliar a influência da B12 e do folato no HOMA-IR e nos componentes da SM encontraram valores mais elevados de HOMA-IR nos pacientes no menor tercil de B12 sérica, tanto pré (<241 pmol/L; $p = <0,05$) quanto pós cirurgia bariátrica (<200 pmol/L; $p = <0,05$); observando também que pacientes com as concentrações mais elevadas de MMA apresentaram os valores mais elevados de HOMA-IR ($p = 0,011$).

Recentemente, Moen et al. (2018) ao avaliarem 11 polimorfismos de nucleotídeo único previamente associados de forma robusta com níveis séricos de B12, encontraram evidências sugestivas, através de randomização mendeliana, de relação causal da B12 sérica com a glicemia de jejum ($p = 0,05$) e a função das células β (HOMA- β) ($p = 0,01$). Considerando que a B12 está envolvida indiretamente com processos de metilação do DNA, os autores levantaram a hipótese de que um mecanismo potencial para tal relação poderia ser um possível papel da B12 no ciclo celular e na proliferação de células β pancreáticas, resultando em melhor secreção de insulina em indivíduos com concentrações mais elevadas de B12.

Baltaci et al. (2013) ao estudarem 976 adultos turcos e compararem aqueles com e sem resistência à insulina, observaram valores mais baixos de B12 nos que apresentaram RI, porém sem alcançar diferença estatisticamente significativa ($p = 0,058$). Enquanto Kaner et al. (2016), ao investigaram 384 mulheres com peso normal, sobrepeso e obesidade encontraram correlação negativa entre B12 e IMC ($R = -0,113$; $p = 0,028$), e não encontraram correlação entre B12, insulina de jejum e HOMA-IR.

Neste contexto, é válido ressaltar que em RTR, os medicamentos imunossupressores podem afetar o metabolismo da glicose, favorecendo a resistência à insulina (BOERNER et al., 2011; CHAKKERA et al., 2017; MUNTEAN; LUCAN, 2013), o que possivelmente pode se sobrepor ao efeito potencial da B12 nos parâmetros associados ao metabolismo da glicose. Outro fato que merece ser destacado, é que muitos dos estudos que encontram associação inversa entre B12 sérica e resistência à insulina, não realizaram ajustes para a adiposidade corporal. Como o excesso de tecido adiposo está diretamente associado com a resistência à insulina, tal achado pode simplesmente refletir a potencial associação negativa entre B12 e adiposidade.

6.5 Deficiência de vitamina B12 e biomarcadores inflamatórios

Recentemente alguns estudos experimentais e observacionais descreveram associações significativas entre níveis séricos de B12 e de biomarcadores inflamatórios/estresse oxidativo (AL-DAHGRI et al., 2016; 2019; BIRCH et al., 2009; GOSH et al., 2016; GUEST et al., 2015; LEE et al., 2016; PERACCHI et al., 2001; POLITIS et al., 2010; SCALABRINO et al., 2004, SOLOMON et al., 2015; SUAREZ-MOREIRA et al., 2009; TUUMINEN et al., 2019; VEBER et al., 2008;). Como o estresse oxidativo promove inflamação e concomitante produção de citocinas; o que, por sua vez, promove produção de EROS, neste trecho serão apresentados alguns estudos que avaliaram a relação da B12 não só com marcadores inflamatório, mas também com o estresse oxidativo (DI MEO et al., 2016).

Gosh et al. (2016) utilizaram um modelo experimental com 30 camundongos C57BL/6 fêmeas que foram alimentados por 4 semanas com dieta controle (n=10), dieta restrita em B12 com pectina (n=10; grupo com deficiência grave de B12, pois a pectina inibe a absorção de B12) e dieta restrita em B12 com celulose (n=10; grupo com deficiência moderada de B12). Foram avaliados os níveis séricos de B12, hcis, TNF- α , IL-6, leptina, MCP-1, SOD, CAT e composição corporal. Após a confirmação da deficiência de B12, as fêmeas foram colocadas para acasalar e mantidas em suas respectivas dietas por mais 12 semanas, quando foram novamente determinados os parâmetros avaliados após as 4 semanas iniciais.

No estudo descrito no parágrafo anterior (GOSH et al., 2016), após as primeiras 4 semanas, os níveis plasmáticos de TNF- α e IL-6 foram significativamente mais elevados nos camundongos com deficiência grave em comparação com os controles, enquanto as outras adipocinas não apresentaram diferença significativa (leptina e MCP-1). Após as 12 semanas de alimentação, apenas os camundongos com deficiência grave apresentaram níveis plasmáticos significativamente mais altos de TNF- α , leptina e IL-6 em comparação aos controles. Com relação ao potencial antioxidante, após 12 semanas de alimentação, a atividade da SOD foi significativamente menor no fígado de ambos os grupos deficientes em B12, enquanto a atividade da CAT foi significativamente menor no fígado de camundongos com deficiência grave, mas não nos moderadamente deficientes, em comparação aos controles.

Com relação aos estudos observacionais pode-se citar o transversal de Politis et al. (2010), no qual foram avaliados 55 idosos com Alzheimer, sendo observado que aqueles com deficiência de B12 apresentavam níveis mais elevados de IL-6 (1333,8 pg/mL vs. 976,1

pg/mL; $p \leq 0,01$). O estudo de caso-controle de Ozenoglu et al. (2008), com 32 turcas obesas em tratamento para distúrbios psiquiátricos, sendo encontrada, correlação positiva entre níveis séricos de adiponectina e B12 no grupo controle ($r = 0,652$; $p = 0,002$). E o estudo retrospectivo de Tuuminen et al. (2019), no qual foram avaliadas 18.800 amostras de sangue, sendo observada associação significativa entre níveis aumentados de PCR e níveis reduzidos de B12 nas mulheres ($p = 0,03$).

Recentemente, uma revisão sistemática publicada teve por objetivo verificar a relação entre as concentrações plasmáticas de micronutrientes e a resposta inflamatória sistêmica, evidenciada pelas concentrações de PCR (MCMILLAN et al., 2018). Os autores incluíram na revisão 37 estudos, e destes, seis examinaram as concentrações séricas de B12 em doenças crônicas (MAHALLE et al. 2013; NIX et al., 2015; TENFORDE et al., 2017; VAYÁ et al., 2012; VINHA et al., 2013), sendo observado que as concentrações de B12 foram significativamente menores com o aumento de aproximadamente 10% nas concentrações de PCR.

Outra revisão sistemática, também publicada recentemente, teve por objetivos, resumir os potenciais mecanismos antioxidantes da B12 e investigar a relação do estado nutricional de B12 com marcadores de estresse oxidativo. Os autores relataram que as propriedades antioxidantes da B12 incluem:

- a) eliminação direta de EROS, particularmente superóxido;
- b) estimulação indireta da eliminação de EROS por preservação de glutatona;
- c) modulação da produção de citocinas;
- d) redução da promoção de estresse oxidativo pela hciis; e
- e) redução do estresse oxidativo causado pelos produtos finais da glicação avançada. Os autores também concluíram que existem algumas evidências que parecem sugerir que valores baixos de B12 estão associados com aumento estado pró-oxidante e redução do estado antioxidante (VAN DE LAGEMAAT et al., 2019).

Estudos apontam que a B12 parece modificar moléculas de sinalização e reduzir indiretamente a expressão do NF- κ B, além da deficiência de B12 estar relacionada com níveis aumentados do TNF- α (PERACCHI et al., 2001, SCALABRINO et al., 2004, VEBER et al., 2008). Embora os mecanismos de imunorregulação da B12 ainda não sejam totalmente compreendidos, foi demonstrado que esta vitamina reduz indiretamente a expressão do NF- κ B um ativador da expressão de genes relacionados com inflamação (VEBER et al., 2008).

Na primeira fase do presente estudo não foram encontradas associações entre as

concentrações séricas de B12 e os biomarcadores inflamatórios avaliados: adiponectina, TNF- α , IL-8 e PCR. Entretanto, na segunda fase do estudo foi observada associação inversa da B12 sérica com a PCR-us (nos indivíduos com TFG \geq 60 ml/min) e com a leptina. Essas associações se mantiveram significativas mesmo após os ajustes para fatores de confundimento, incluindo o IMC que se associa de forma direta tanto com os níveis séricos de PCR quanto de leptina. A observação de associação da B12 apenas com 2 biomarcadores e apenas na segunda fase do estudo não é capaz de confirmar associação da B12 com estado inflamatório, porém não descarta tal associação. Vários estudos observacionais avaliando associação de biomarcadores inflamatórios com B12 também observaram associação significativa apenas com alguns marcadores (AL-DAHGRI et al., 2016; LEE et al., 2016; POLITIS et al., 2010).

Apesar dos estudos observacionais e experimentais indicarem associação entre B12 e marcadores inflamatórios, os estudos de intervenção com suplementação de B12, associada com outras vitaminas do complexo B, não indicam redução destes marcadores (CHRISTEN et al., 2018; PEETERS et al., 2007; SCHERNTHANER et al., 2006; VAN DIJK et al., 2016). É válido ressaltar que até o momento, não foram encontrados estudos que avaliassem a associação entre a deficiência de B12 e biomarcadores inflamatórios em RTR. Além disto, ressalta-se que o uso de imunossupressores e a terapia renal substitutiva antes do TxR podem interferir na relação entre B12 e biomarcadores inflamatórios (ABEDINE et al., 2009).

6.6. Deficiência de vitamina B12 e função microvascular

No presente estudo não foi observada associação da B12 sérica com a função vascular que foi avaliada na microcirculação da pele (vasodilatação dependente e independente do endotélio) e da retina (diâmetros dos vasos retinianos). A relação entre B12 e função vascular tem sido investigada nos últimos anos. Dentre os estudos disponíveis destacam-se os ECR com suplementação de B12 tanto na forma isolada quanto associada, principalmente com ácido fólico e B6, nos quais foram avaliados os efeitos sobre a função endotelial determinada com maior frequência por meio da DMF (macrocirculação) e/ou biomarcadores circulantes (CHRISTEN et al., 2018; KWOK et al., 2012; WOO et al., 2012). Existem também alguns estudos em número muito reduzido que avaliaram a relação da B12 sérica com os diâmetros dos vasos da retina (GOPINATH et al., 2009; VAN HECKE et al., 2008).

Vários estudos de intervenção com suplementação de B12 (isolada ou com outras vitaminas do complexo B) observaram melhora significativa da função endotelial (ANDERSSON et al., 2005; CHAMBERS et al., 2000; CHAO et al., 1999; KWOK et al., 2012; POTTER et al., 2008; WOO et al., 2008; 2012; XU et al., 2008). Um desses ECR foi realizado com RTR, tendo sido incluídos 36 RTR com Hhcis os quais foram randomicamente alocados no grupo controle ou no grupo tratado com doses diárias de VRMH (5 mg de ácido fólico, 50 mg de piridoxina e 1000 mcg de B12) por 6 meses. O grupo tratado com VRMH apresentou aumento significativo na vasodilatação dependente e independente do endotélio (12,2% vs. 8,8%; $p < 0,01$ e 17,6% vs. 12,2%; $p < 0,01$, respectivamente) enquanto nenhuma mudança significativa foi observada nos controles (XU et al., 2008).

Um outro ECR avaliou a função vascular através da reatividade vascular cutânea. Andersson et al. (2005) demonstraram em um ensaio clínico sem grupo controle, que 14 idosos suecos com insuficiência cardíaca e Hhcis, tratados por 6 semanas com dose diária de 3 mg de piridoxina, 0,8 mg de folato e 0,5 mg de CNCbl apresentaram melhora significativa da hiperemia induzida pela acetilcolina. Chao et al. (1999) realizaram um ensaio clínico com 16 adultos saudáveis e observaram que após uma carga de metionina, os níveis de hcis apresentaram um aumento significativamente menor ($p = 0,001$) nos indivíduos que receberam suplementação diária de VRMH (5 mg de ácido fólico, 100mg de piridoxina e 0,5 mg de B12) por 5 semanas. A DMF após a carga de metionina foi significativamente maior nos indivíduos que receberam a suplementação (8,6% vs. 13,8%; $p = 0,001$), sendo concluído que a administração em curto prazo de VRMH melhora a vasodilatação fluxo mediada dependente do endotélio. Similarmente, Potter et al. (2008), em uma meta-análise sugeriram que a suplementação com vitaminas do complexo B aumenta a DMF (RR: 1,4%; IC 95%: 0,7 a 2,1%; $p < 0,0001$) em curto prazo, mas não em longo prazo.

Apesar dos estudos citados anteriormente terem observado melhora da função endotelial com a suplementação de B12 outros estudos não encontraram efeitos positivos (CARLSSON et al., 2004; DUSITANOND et al., 2005; HIRSCH et al., 2002; JONASSON et al., 2005; PEETERS et al., 2004; POTTER et al., 2008). Potter et al. (2008) utilizaram dados do estudo VITATOPS, um ensaio clínico multicêntrico, randomizado, duplo-cego e placebo controlado, realizado com 8.072 indivíduos com histórico recente (7 meses) de AVE ou acidente isquêmico transitório. O objetivo do estudo foi determinar se a adição de suplementos vitamínicos (500 µg de B12, 25 mg de B6 e 2 mg de folato) ao tratamento médico/cirúrgico reduziria a incidência de eventos CV e morte CV. Após um *follow-up* médio de 3,9 anos, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos com relação a

DMF (p= 0,48).

De forma similar, Dusitanond et al. (2009), em um subestudo que utilizou dados de 285 participantes do estudo VITATOPS, observou que após 6 meses de tratamento com VRMH não foram encontradas diferenças significativas com relação aos biomarcadores de disfunção endotelial (VCAM-1, p= 0,27; ICAM-1, p= 0,08; fator de von Willebrand, p= 0,92) e hipercoagulabilidade (p-selectina, p= 0,33; fragmento de protrombina 1 e 2, p= 0,81, D-dímero, p= 0,88) em comparação com o placebo, apesar da redução de 3,7 $\mu\text{mol/L}$ na hcis (p= <0,001).

Em um ECR duplo-cego, com 40 chilenos adultos, foi observado que a suplementação de VRMH (0,6 mg de ácido fólico, 0,8 mg de B12 e 2,0 mg de piridoxina) por 8 semanas, não resultou em melhora na dilatação endotélio-dependente, mesmo naqueles com Hhcis no *baseline*, que apresentaram redução significativa da hcis ao final do *follow-up* (p= <0,001) (HIRSCH et al., 2002).

Maruyama et al. (2019), em um ECR controlado e cruzado, investigaram se a suplementação de uma bebida contendo doses baixas de vitaminas do complexo B, por 2 meses melhoraria a disfunção endotelial em 127 adultos japoneses com pelo menos um fator de risco para SM e que não faziam uso de medicações para hipertensão, diabetes ou dislipidemia. Como resultado, foi apontado que apesar da redução significativa nos níveis de hcis (p= 0,01) e o aumento significativo nos níveis séricos de vitamina B6, B12, C e folato (p= <0,001) após a intervenção, não foram encontradas alterações significativas na DMF (p= 0,48).

Conforme pode ser evidenciado nos parágrafos anteriores não existe um consenso em relação aos efeitos da suplementação de B12 sobre a função endotelial. A inconsistência dos resultados pode ser atribuídos a diversos fatores, incluindo diferenças entre os estudos em relação a dose de B12, associação ou não de B12 com outras vitaminas, tempo de duração dos estudos e características dos participantes do estudo. Cabe ressaltar que nos estudos nos quais a B12 foi suplementada em associação com ácido fólico e B6 não é possível afirmar que o efeito sobre a função endotelial tenha sido mediado pela B12.

A comparação do resultado do nosso estudo em relação à ausência de associação da concentração sérica de B12 com a reatividade microvascular cutânea (vasodilatação dependente e independente do endotélio) com os dados da literatura é difícil, pois não foi possível encontrar estudos observacionais avaliando tal associação. O que existe na literatura são os estudos com suplementação de B12, conforme descrito nos parágrafos anteriores. Acreditamos que a ausência de associação observada no presente estudo pode apresentar

várias causas, em especial o fato da função vascular poder ser influenciada por inúmeros fatores incluindo vários componentes da dieta, do estilo de vida e por medicações.

Em relação à associação da B12 com os diâmetros dos vasos da retina não existem estudos realizados com RTR e através de ampla busca bibliográfica encontramos apenas 2 estudos na população em geral. Esses estudos são observacionais e transversais tendo avaliados apenas a relação entre B12 sérica e os vasos da retina (GOPINATH et al., 2019; VAN HECKE et al., 2008). van Hecke et al. (2008) utilizaram dados de 256 participantes da coorte *Hoorn Study*, com o objetivo de determinar se componentes do metabolismo da hcis estão envolvidos na patogênese da doença microvascular avaliada pelos parâmetros vasculares da retina. Os autores observaram que embora os níveis de hcis tenham se associado inversamente com os diâmetros arteriolares da retina (β , $-0,20$; 95% IC: $-0,33 - -0,07$; $p=0,01$), os níveis de B12 não apresentaram associações significativas.

De modo similar, Gopinath et al. (2009), utilizaram dados de 1.700 participantes da coorte *Blue Mountains Eye Study*, com o objetivo de avaliar a associação dos níveis séricos totais de hcis, folato e B12 com os diâmetros vasculares da retina em adultos mais velhos. Os níveis de hcis se associaram inversamente com o diâmetro arteriolar apenas em homens ($p=0,03$) e níveis de hcis acima de $17 \mu\text{mol/L}$. O estreitamento do diâmetro arteriolar se associou linearmente com o aumento da hcis (redução de $0,86 \mu\text{m}$ por aumento de $1,0 \mu\text{mol/L}$ de hcis) porém não se associou com os níveis séricos de folato e B12.

Os achados desses estudos citados nos dois parágrafos anteriores estão de acordo com o nosso estudo no qual não encontramos associação da B12 sérica com os diâmetros vasculares retinianos.

6.7 Considerações finais

A principal limitação do presente estudo é o seu desenho observacional, o qual se limita a avaliar associações entre as variáveis, não permitindo fazer inferências causais; ou seja, os achados não traduzem papéis de causa/efeito entre a deficiência de vitamina B12 e os parâmetros avaliados.

No entanto, o presente estudo representa uma importante colaboração para a temática do estado nutricional de B12 na população estudada, uma vez que utilizou um tamanho

amostral relevante e identificou a frequência de deficiência de B12 através da utilização de um ponto de corte adequado, seguindo a recomendação do Comitê Britânico de Padrões em Hematologia. Além disso, a associação da B12 com as variáveis de interesse também foi investigada considerando a concentração sérica de B12 como variável contínua.

Apesar do estudo ser observacional ele não se limitou a avaliação transversal dos dados, tendo incluído um acompanhamento de cerca de 2 anos. Adicionalmente, sua originalidade em abordar a deficiência de B12 por outra perspectiva em RTR, investigando sua associação com parâmetros associados com a DCV, sabidamente uma importante causa de mortalidade nesta população. Outro aspecto a ser ressaltado, foi a realização de ajustes estatísticos para vários potenciais fatores de confundimento, que podem interferir não só na concentração sérica da B12 como também nas variáveis avaliadas, proporcionando maior confiabilidade nos resultados encontrados.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo, realizado com RTR, sugerem:

- a) elevada frequência de deficiência de B12;
- b) concentração sérica de vitamina B12 mais baixa na presença de Hhcis;
- c) ausência de associação da deficiência de B12 com resistência à insulina;
- d) associação inversa da concentração sérica de B12 com os níveis séricos de PCR-us e com aleptina na análise longitudinal; e
- e) ausência de associação da B12 com a função microvascular.

REFERÊNCIAS

- ABECASSIS, M. et al. Kidney transplantation as primary therapy for end-stage renal disease: A National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/KDOQI™) Conference. **Clin J Am Soc Nephrol.**, v.3, n.2, p.471–480, 2008.
- ABEDINI, S. et al. Inflammation in renal transplantation. **Clin J Am Soc Nephrol.**, v.4, n.7, p.1246–1254, 2009.
- ADAIKALAKOTESWARI, A. et al. Low vitamin B12 in pregnancy is associated with adipose-derived circulating miRNAs targeting pparγ and insulin resistance. **J Clin Endocrinol Metab.**, v.102, n.11, p.4200–4209, 2017.
- AFZALI, B. et al. Anemia after renal transplantation. **Am J Kidney Dis.**, v.48, n.4, p.519–536, 2006.
- AKBAS, S. et al. Plasma homocysteine levels in renal transplant patients on tacrolimus therapy. **Transplant Proc.**, v.36, n.1, p.159–160, 2004.
- AKINLADE, K. S. et al. Vitamin B12 levels in patients with type 2 diabetes mellitus on metformin. **Ann Ib Postgrad Med.**, v.13, n.2, p.79–83, 2015.
- AL-DAGHRI, N. M. et al. Association of vitamin B12 with pro-inflammatory cytokines and biochemical markers related to cardiometabolic risk in Saudi subjects. **Nutrients**, v.8, n.460, 2016. DOI:10.3390/nu8090460
- AL-DAGHRI, N. et al. Strong parent-child correlation in circulating vitamin B12 levels and its association with inflammatory markers in Saudi families. **Int J Vitam Nutr Res.**, v.90, p.430–438, 2019. DOI: 10.1024/0300-9831/a000585.
- AL-KHAWTANI, D. A.; ABULMEATY, M. M. A. Assessment of vitamin B12 status in patients with morbid obesity. **Adv Obes Weight Manag Control.**, v. 6, n.6, p.205–207, 2017.
- ALBERT, C. M. et al. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. **JAMA**, v.299, n.17, p.2027–2036, 2008.
- ALLIN, K. H. et al. Genetic determinants of serum vitamin B12 and their relation to body mass index. **Eur J Epidemiol.**, v.32, n.2, p.125–134, 2017.
- ALLEN, L. H. Causes of vitamin B12 and folate deficiency. **Food Nutr Bull.**, v. 29, n.2, p.30–34, 2008.
- ALLEN, L. H. How common is vitamin B-12 deficiency? **Am J Clin Nutr.**, v.89, n.2, p.693–696, 2009.
- ANDERSSON, S. E. Reduction of homocysteine in elderly with heart failure improved vascular function and blood pressure control but did not affect inflammatory activity. **Clin Pharmacol Toxicol Básico.**, v.97, n.5, p.306–310, 2005.

APARICIO–UGARRIZA, R. et al. A review of the cut–off points for the diagnosis of vitamin B12 deficiency in the general population. **Clin Chem LabMed.**, v.53, n.8, p.1149–1159, 2015.

ARNADOTTIR, M. et al. Serum total homocysteine concentration before and after renal transplantation. **Kidney Int.**, v.54, n.4, 1380–1384, 1998.

ARSHAD, M. et al. Assessment of these serum levels of hemoglobin, ferritin, and vitamin b12 in a sample of iranian population with morbid obesity. **Minim Invasive Surg Sci.**, v.5, n.2, p.100-110, 2016.

AASHEIM, et al. Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. **Am J Clin Nutr.**, v.87, n.2, p.362-369, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS. **Registro Brasileiro de Transplantes.** São Paulo: ABTO, 2019.

BAECKE, J. A. et al. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. **Am J Clin Nutr.**, v.36, n.5, p.936–942, 1982.

BALTACI, D. et al. Evaluation of vitamin B12 level in middle-aged obese women with metabolic and nonmetabolic syndrome: case-control study. **Turk J Med Sci.**, v.42, n.5, p.802–809, 2012

BALTACI, D. et al. Association of vitamin B12 with obesity, overweight, insulin resistance and metabolic syndrome, and body fat composition; primary care-based study. **Med Glas (Zenica)**, v.10, n.2, p.203–210, 2013.

BALTACI, D. et al. Evaluation of serum Vitamin B12 level and related nutritional status among apparently healthy obese female individuals. **Niger J Clin Pract.**, v.20, n.1, p. 99–105, 2017.

BAMOULID, J. et al. Immunosuppression and results in renal transplantation. **Eur Urol.**, v.15, n.9, p.415–429, 2016.

BARNABÉ, A. et al. Folate, Vitamin B12 and Homocysteine status in the post-folic acid fortification era in different subgroups of the Brazilian population attended to at a public health care center. **Nutr J.**, v. 14, p.1-10, 2015. DOI 10.1186/s12937-015-0006-3

BASAK, T. et al. Low holo- transcobalamin levels are prevalent in vegetarians and is associated with coronary artery disease in Indian population. **Biomarkers**, v. 21, n.5, p.436-40, 2016.

BAUMAN, W. A. et al. increased intake of calcium reverses vitamin b12 malabsorption induced by metformin. **Diabetes Care.**, v.23, n.9, p.1227–1231, 2000.

BERGMAN, R. N. et al. A better index of body adiposity. **Obesity**, v.19, n.5, p.1083-1089, 2011.

BOOTS, J. M. M. et al. Effect of immunosuppressive agents on long- termsurvival of renal transplant recipients. **Drugs**, v.6, n. 18, p.2047–2073, 2004.

BOTTOMLEY, M. J.; HARDEN, P. N. Update on the long-term complications of renal transplantation. **Br Med Bull**, v. 106, p.117–134, 2013. DOI: 10.1093/bmb/ldt012

BIRCH, C. S. et al. A novel role for vitamin B12: Cobalaminsare intracellular antioxidants in vitro. *Free Radic. Biol. Med.*, v.47, n.2, p.184–188, 2009.

BIRN, H. et al. Megalin is essential for renal proximal tubule reabsorption and accumulation of transcobalamin–B12. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 282, n.3, p.408–416, 2002

BIRN, H. et al. Diversity in rat tissue accumulation of vitaminB12 supports a distinct role for the kidney in vitamin B12 homeostasis. **Nephrol Dial Transplant**, v.18, n.6, p.1095–1100, 2003.

BIRN, H. The kidney in vitamin B12 and folate homeostasis: characterization of receptors for tubular uptake of vitamins and carrier proteins. **Am J Physiol Renal Physiol**, v.291, n.1, p.22–36, 2006.

BLEIE, O. et al. Coronary blood flow in patients with stable coronary artery disease treated long term with folic acid and vitamin B12. **Coron Artery Dis**, v.22, n.4, p.270–278, 2011.

BLOM, H. J.; DE VRIESE, A. S. Why are homocysteine levels increased in kidney failure? A metabolic approach. **J Lab Clin Med**, v.139, n.5, p. 262–268, 2000.

BOERNER, B. P. et al. Diabetes and cardiovascular diseasefollowing kidney transplantation. **Curr Diabetes Rev**, v.7, n.4, p.221–234, 2011.

BONAA, K. H. et al. Homocysteinelowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. **N Engl J Med**, v.354, n.15, p.1578–88, 2006.

BOSTOM, A. G. et al. Determinants offasting plasma total homocysteine levels among chronic stable renal transplant recipients. **Transplantation**, v. 68, n.2, p.257–261, 1999.

BOSTOM, A. G. et al. Chronic renaltransplantation: a model for the hyperhomocysteinemia of renal insufficiency. **Atherosclerosis**, v.156, n.1, p.227–230, 2001.

BOTTOMLEY MJ, HARDEN PN. Update on the long-term complications of renal transplantation. **Br Med Bull**, v.106, p.117–134, 2013.

BRIANI. C. et al. Cobalamin Deficiency: Clinical Picture and Radiological Findings. **Nutrients**, v.5, n.11, p.4521–4539, 2003.

BRIGGS, J. Causes of death after renal transplantation. **Nephrol Dial Transplantn**, v.16, n.8, p.1545–1549, 2001.

CAMERON, J. I. et al. Differences in quality of life across renal replacement therapies: a meta-analytic comparison. **Am J Kidney Dis**. v.35, n.4, p.629–637, 2000.

- CAMPISE, M. R. et al. Oxidative stress in kidney transplant patients. **Transplantation.**, v.76, n.10, p.1474–1478, 2003.
- CARLSSON, C. M. et al. Effects of multivitamins and low-dose folic acid supplements on flow-mediated vasodilation and plasma homocysteine levels in older adults. **Am Heart J.**, v.148, e11, 2004. DOI: 10.1016/j.ahj.2004.01.023
- CARMEL, R. How I treat cobalamin (vitamin B12) deficiency. **Blood.**, v.112, n.6, p. 2214–2221, 2008.
- CASAS, J. Homocysteine and stroke: evidence on a causal link from mendelian randomisation. **Lancet.**, v.365, n.9455, p. 224–232, 2005.
- Caspary W, Zavada I, Reimold W, Deuticke U, Emrich D, Willms B. Alteration of bile acid metabolism and vitamin-B12-absorption in diabetics on biguanides. **Diabetologia**, v.13, n.3, p.187–193, 1977.
- CASTRO, R. et al. Homocysteine metabolism, hyperhomocysteinaemia and vascular disease: an overview. **J Inherit Metab Dis.**, v.29, n.1, p.3–20, 2006.
- CHAKKERA, H. A.; SHARIF, A.; KAPLAN, B. Negative Cardiovascular Consequences of Small Molecule Immunosuppressants. **Clin Pharmacol Ther.**, v.102, n.2, p.269–276, 2017.
- CHAMBERS, J. C. et al. Improved vascular endothelial function after oral B vitamins: An effect mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine. **Circulation**, v.102, n.20, p.2479–2483, 2000.
- CHAN, W. et al. Obesity in Kidney Transplantation. **J Ren Nutr.** v.24, n.1, p.1–12, 2014.
- CHANEY, S. G. Princípios de Nutrição II: Micronutrientes - Vitaminas Hidrossolúveis Hematopoiéticas. In: DEVLIN, T. M. **Manual de Bioquímica com Correlações Clínicas**. 6. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2007.
- CHAO, C. L.; CHIEN, K. L.; LEE, Y. T. Effect of short-term vitamin (folic acid, vitamins B6 and B12) administration on endothelial dysfunction induced by post-Methionine load hyperhomocysteinemia. **Am J Cardiol.**, v.84, n.11, p.1359–1361, 1999.
- CHATTHANAWAREE, W. Biomarkers of cobalamin (vitamin b12) deficiency and its application. **J Nutr Health Aging.**, v.15, n.3, p.227–231, 2011.
- CHRISTEN, W. G. et al. Effect of combined treatment with folic acid, vitamin b6, and vitamin b12 on plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction in women. **J Am Heart Assoc.**, v. 7, n.11, e008517, 2018. DOI: 10.1161/JAHA.117.008517
- CIANCIOLO, G. et al. Folic acid and homocysteine in chronic kidney disease and cardiovascular disease progression: which comes first? **Cardiorenal Med.**, v. 7, n.4, p.255-266, 2017.

CIGERLI, O. et al. vitamin deficiency and insulin resistance in nondiabetic obese patients. **Acta Endo.**, v.12, n. 3, p.319- 327, 2016.

CONNOLLY, G. M. et al. Elevated homocysteine is a predictor of all-cause mortality in a prospective cohort of renal transplant recipients. **Nephron Clin Pract.**, v.114, n.1, p.5–11, 2010.

COSTA, M. S. et al. Deficiência de vitamina b12 e sua relação com a ingestão alimentar e adiposidade corporal em receptores de transplante renal. **Rev Hipertens.**, v.2, n. 89, 2015.

CSÁNYI, G.; MILLER, F. J. Jr. Oxidative Stress in Cardiovascular Disease. **Int. J. Mol. Sci.**, v.15, n.2, p. 6002-6008, 2014.

CURRIE G, DELLES C. Proteinuria and its relation to cardiovascular disease. **Int J Nephrol Renovasc Dis.**, v. 7, p.13–24, 2014. DOI: 10.2147/IJNRD.S40522

DANCHIN, A.; BRAHAM, S. Coenzyme B12 synthesis as a baseline to study metabolite contribution of animal microbiota. **Microb Biotechnol.**, v.10, n.4, p.688–701, 2017.

DE BREE, A. et al. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. **Pharmacol Rev.**, v.54, n.4, p.599–618, 2002.

DEBRECENI, B.; DEBRECENI, L. The role of homocysteine–lowering B vitamins in the primary prevention of cardiovascular disease. **Cardiovasc Ther.**, v.32, n.3, p. 130–138, 2014.

DEVALIA, V.; HAMILTON, M.; MOLLOY, A. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. **Br J Haematol.**, v.166, n.4, p. 496–513, 2014.

DI MEO, S. et al. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. **Oxid Med Cell Longev.**, v.2016, e1245049, 2016. DOI: 10.1155/2016/1245049

DONG, H. et al. efficacy of supplementation with b vitamins for stroke prevention: a network meta-analysis of randomized controlled trials. **PLoS One**, v.10, n.9, e0137533, 2015.

DUCLOUX, D. Prevalence, determinants, and clinical significance of hyperhomocyst(e)inemia in renal transplant recipients. **Nephrol Dial Transplant.**, v.13, n.11, p. 2890–2893, 1998.

DUCLOUX, D. Serum total homocysteine and cardiovascular disease occurrence in chronic, stable renal transplant recipients: a prospective study. **J Am Soc Nephrol.**, v.11, n.1, p.134–137, 2000.

DUCLOUX, D.; KAZORY, A.; CHALOPIN, J. Predicting coronary heart disease in renal transplant recipients: A prospective study. **Kidney Int.**, 66, n.1, p. 441–447, 2004.

DUSITANOND, P. et al. Homocysteine-lowering treatment with folic acid, cobalamin, and pyridoxine does not reduce blood markers of inflammation, endothelial dysfunction, or hypercoagulability in patients with previous transient ischemic attack or stroke: a randomized substudy of the VITATOPS trial. **Stroke**, v.36, n.1, p.144–146, 2005.

DUYGU, H. Is there any link between homocysteine and atherosclerosis? **J Geriatr Cardiol.**, v.4, n.3, e222, 2017. DOI: 10.11909/j.issn.1671-5411.2017.03.001

EBBING, M. et al. Mortality and cardiovascular events in patients treated with homocysteine-lowering B vitamins after coronary angiography: a randomized controlled trial. **JAMA**, v.300, n.7, p. 795–804, 2008.

EINOLLAHI, B. et al. Hyperhomocysteinemia after kidney transplantation. **Transplant Proc.**, v.43, n.2, p.586–587, 2011.

FANG, H.; KANG, J.; ZHANG, D. Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives. **Microb Cell Fact.**, v.16, n.1, 15, 2017. DOI: 10.1186/s12934-017-0631-y

FEDOSOV, S. N. Combined indicator of vitamin B12 status: modification for missing biomarkers and folate status and recommendations for revised cut-points. **Clin Chem Lab Med.**, v.53, n.8, p.1215–1225, 2015.

FELLSTRÖM, B. et al. Renal dysfunction is a strong and independent risk factor for mortality and cardiovascular complications in renal transplantation. **Am J Transplant.**, v.5, n.8, p.1986–1991, 2005.

FINDLAY, M. D. et al. Risk factors and outcome of stroke in renal transplant recipients. **Clin Transplant.**, v.30, n.8, p.918–924, 2016.

FÖDINGER, M. et al. Effect of MTHFR 1298A→C and MTHFR677C→T genotypes on total homocysteine, folate, and vitamin B12 plasma concentrations in kidney graft recipients. **J Am Soc Nephrol.**, v.11, n.10, p.1918–1925, 2000.

FROSTEGÄRD, J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. **Medicine.**, v.11, n.117, 2013. DOI: 10.1186/1741-7015-11-117

GAMMON, C. S. et al. Vegetarianism, vitamin B12 status, and insulin resistance in a group of predominantly overweight/obese South Asian women. **Nutrition**, v. 28, n.1, p.20-24, 2012.

GANGULY, P.; ALAM, S. F. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. **Nutr J.**, v.14, n.6, p. 1-10, 2015.

GARCIA, M. M. et al. Methyl donor deficiency induces cardiomyopathy through altered methylation/acetylation of PGC-1 α by PRMT1 and SIRT1. **J Pathol.**, v.225, n.3, p.324-335, 2011.

GEIKER, N. R. W. et al. Effect of low energy diet for eight weeks to adults with overweight or obesity on folate, retinol, vitamin B12, D and E status and the degree of inflammation: a post hoc analysis of a randomized intervention trial. **Nutr Metab.**, v.15, n. 24, p.1-9, 2018.

GILL, J. S. Cardiovascular disease in transplant recipients: current and future treatment strategies. **Clin J Am Soc Nephrol.**, v.3, n.2, p.29–37, 2008.

GILLE, D.; SCHMID, A. Vitamin B12 in meat and dairy products. **Nutr Rev.**, v.73, n.2, p.106–115, 2015.

GHISDAL, L. et al. New-onset diabetes after renal transplantation risk assessment and management. **Diabetes Care.**, v.35, n.1, p.181–188, 2012.

GLICKLICH, D.; VOHRA, P. Cardiovascular risk assessment before and after kidney transplantation. **Cardiol Rev.**, v.22, n.4, p.153–162, 2014.

GO, A. et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. **N Engl J Med.**, v.351, p.1296–305, 2004. DOI: 10.1056/NEJMoa041031

GOLDING, P. H. Experimental vitamin B12 deficiency in a human subject: a longitudinal investigation of the performance of the holotranscobalamin (HoloTC, Active-B12) immunoassay. **Springerplus**, v.5, n.184, p.1-17, 2016a.

GOLDING, P. H. Holotranscobalamin (HoloTC, Active-B12) and Herbert's model for the development of vitamin B12 deficiency: a review and alternative hypothesis. **Springerplus**, v.5, n.1, p.1-20, 2016b.

GOPINATH, B. et al. The associations between blood levels of homocysteine, folate, vitamin B12, and retinal vascular caliber. **Am J Ophthalmol.**, v.148, n.6, p.902–909, 2009.

GORLÉN, T. et al. Long term morbidity and mortality after kidney transplantation. **Scand J Urol Nephrol.**, v.26, n.4, p.397-401, 1992.

GHOSH, S. et al. Severe but Not Moderate Vitamin B12 Deficiency Impairs Lipid Profile, Induces Adiposity, and Leads to Adverse Gestational Outcome in Female C57BL/6 Mice. **Front Nutr.**, v.22, n.3, n.1, p.1-10, 2016.

GREEN, R. et al. Vitamin B12 deficiency. **Nat. Rev. Dis. Primers.**, v.3, n.17040, 2017a. DOI: 10.1038/nrdp.2017.40

GREEN, R. Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. **Blood.**, v.129, n.19, p.2603–2611, 2017b.

GREIBE, E. et al. Uptake of cobalamin and markers of cobalamin status: a longitudinal study of healthy pregnant women. **Clin Chem LabMed.**, v.49, n.11, p.1877-1882, 2011.

GREIBE, E. et al. Metformin lowers serum cobalamin without changing other markers of cobalamin status: a study on women with polycystic ovary syndrome. **Nutrients.**, v.5, n.7, p.2475–2482, 2013a.

GREIBE, E. et al. Metformin increases liver accumulation of vitamin B12—An experimental study in rats. **Biochimie.**, v.95, n.5, p.1062–1065, 2013b.

GRÖBER, U.; KISTERS, K.; SCHMIDT, J. Neuroenhancement with vitamin B12—underestimated neurological significance. **Nutrients**, v.5, n.12, p.5031–5045, 2013.

GUARNIZO-POMA, M. et al. Association between serum vitamin B12 levels and metabolic 108 syndrome in a euthyroid population. **Diabetes Metab Syndr.**, v.12, n.6, p.943-948, 2018.

GUÉANT, J. L. et al. Folate and fetal programming: a play in epigenomics? **Trends Endocrinol Metab.**, v.24, n.6, p.279-289, 2013.

GUEST, J. et al. Novel relationships between B12, folate and markers of inflammation, oxidative stress and NAD(H) levels, systemically and in the CNS of a healthy human cohort. **Nutr Neurosci.**, v.18, n.8, p.355–364, 2015.

GUVEN, A. et al. Plasma homocysteine and lipoprotein (a) levels in Turkish patients with metabolic syndrome. **Heart Vessels.**, v.20, n.6, p.290-295, 2005.

HALIMI, J. M. Urinary albumin excretion and the risk of graft loss and death in proteinuric and non-proteinuric renal transplant recipients. **Am J Transplant.**, v.7, n.3, p.618–25, 2007.

HAN, H. et al. Determinants of plasma total homocysteine levels in Korean chronic renal transplant recipients. **J Ren Nutr.**, v.10, n.4, p.202-207, 2000.

HANKEY, G. J. et al. Antiplatelet therapy and the effects of B vitamins in patients with previous stroke or transient ischaemic attack: a post-hoc subanalysis of VITATOPS, a randomized, placebo-controlled trial. **Lancet Neurol.**, v.11, n.6, p.512-520, 2012.

HANNIBAL, L. et al. Biomarkers and Algorithms for the Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency. **Front Mol Biosci.**, v.3, n.27, p.1-16, 2016.

HARRINGTON, D. Laboratory assessment of vitamin B12 status. **J Clin Pathol.**, v.70, n.2, p.168–173, 2016.

HEIL, S. et al. Screening for metabolic vitamin B12 deficiency by holotranscobalamin in patients suspected of vitamin B12 deficiency: a multicentre study. **Ann Clin Biochem.**, v.49, n.2, p.184–189, 2012.

HEINZ, J. et al. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease in patients treated by dialysis: a meta-analysis. **Am J Kidney Dis.**, v.54, n.3, p.478-489, 2009.

HELLMANN, M.; ROUSTIT, M.; CRACOWSKI, J. L. Skin microvascular endothelial function as a biomarker in cardiovascular diseases? **Pharmacol.**, v.67, n.4, p.803–810, 2015.

HEMMER, B. et al. Subacute combined degeneration: clinical, electrophysiological, and magnetic resonance imaging findings. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v.65, n.6, p.822–827, 1998.

HERNÁNDEZ, D. et al. Early association of low-grade albuminuria and allograft dysfunction predicts renal transplant outcomes. **Transplantation.**, v.93, n.3, p.297–303, 2012.

HERRMANN, W.; OBEID, R. Utility and limitations of biochemical markers of vitamin B12 deficiency. **Eur J Clin Invest.**, v.43, n.3, p.231–237, 2013.

HILL, M. N. Changes in causes of death after renal transplantation, 1966 to 1987. **Am J Kidney Dis.**, v.17, n.5, p.512–518, 1991.

- HILL, N. R. et al. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS One**, v.11. n.7, e0158765, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0158765
- HIRSCH, S. et al. Hyperhomocysteinemia and endothelial function in young subjects: effects of vitaminsupplementation. **Clin. Cardiol.**, v.25, n.11, p.495–501, 2002.
- HODIS, H. N. et al. High-dose B vitamin supplementation and progression of subclinical atherosclerosis:a randomized controlled trial. **Stroke**, v.40, n.3, p.730-736, 2009.
- HOLMQUIST, C. et al. Multivitamin supplements are inverselyassociated with risk of myocardial infarction in men and women—Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP). **J Nutr.**, v.133, n.8, p.2650-2654, 2003.
- HOMOCYSTEINE STUDIES COLLABORATION. Homocysteine and risk of ischemic heart disease andstroke: a meta-analysis. **JAMA**, v.288. n.16, p.2015-2022, 2002.
- HOORN, E. J. et al. Pathogenesis ofcalcineurin inhibitor–induced hypertension. **J Nephrol.** v.25, n.3, p.269–275, 2012.
- HUANG, T. et al. Meta-analysis of B vitamin supplementation on plasma homocysteine, cardiovascular and all-cause mortality.**Clin Nutr.**, v.31, n.4, p.448–454, 2012.
- HUBBARD, L. D. Methods for evaluationof retinal microvascular abnormalities associated with hypertension/sclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. **Ophthalmology**, v.106, n.16, p.2269–2280, 1999.
- HUMPHREY, L. L. et al. Homocysteine level and coronaryheart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. **Mayo Clin Proc.**, v.83, n.11, p.1203–1212, 2008.
- HUNT, A.; HARRINGTON, D.; ROBINSON, S. Vitamin B12 deficiency. **BMJ**, v.349, g5226, 2014. DOI: 10.1136/bmj.g5226
- HUO, Y. et al. Efficacy of folic acid supplementation instroke prevention: new insight from a meta-analysis. **Int J Clin Pract**, v.66, n.6, p.544–551, 2012.
- IGLESIA, I. et al. Associations between insulin resistance and three B-vitamins in European adolescents: theHELENA study. **Nutr Hosp.**, v.34, n.3, p.568-577, 2017.
- INSTITUTE OF MEDICINE; FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline.** Washington: National Academies Press, 1998.
- INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements.** Washington: National Academies Press, 2006.
- IQBAL, N. et al. Serum Methylmalonic Acid and Holotranscobalamin–II as Markers for Vitamin B12 Deficiency in End–Stage Renal DiseasePatients. **Ann Clin Lab Sci.**, v.43, n.3, p.243–249, 2013.

JACQUES, P. F. et al. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. **Am J Clin Nutr.**, v.73, n.3, p.613-621, 2001.

JAMISON, R. L. et al. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. **JAMA**, v.298, n.10, p.1163-1170, 2007.

JARDINE, A. G. Prevention of cardiovascular disease in adult recipients of kidney transplants. **Lancet.**, v.378, n.9800, p.1419-1427, 2011.

JELLINGER, P. S. et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology guidelines for management of dyslipidemia and a prevention of atherosclerosis. **Endocr Pract.**, v. 23, n. 2, p.1-87, 2017.

JEON, S. B. et al. Homocysteine, small-vessel disease, and atherosclerosis: an MRI study of 825 stroke patients. **Neurology.**, v.83, n.8, p.695-701, 2014.

JHA, V. et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. **Lancet**, v.382, n. 9888, p.260-272, 2013.

JI, Y. et al. Vitamin B supplementation, homocysteine levels, and the risk of cerebrovascular disease: a meta-analysis. **Neurology**, v.81, n.15, p.1298-1307, 2013.

JIANG, Y. et al. Simultaneous determination of plasma total homocysteine and methionine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Clin Chim Acta.**, 2017; 464: 93-97, 2017

JOHNSON, M. et al. Vitamin B12 deficiency in African American and white octogenarians and centenarians in Georgia. **J Nutr Health Aging.**, v.14, n.5, p.339-345, 2010.

JONASSON, T. et al. Plasma homocysteine and markers for oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease—a prospective randomized study of vitamin supplementation. **Clin Chem Lab Med.**, v.43, n.6, p.628-634, 2005.

KAISAR, M. et al. Adiponectin is associated with cardiovascular disease in male renal transplant recipients: baseline results from the LANDMARK 2 study. **Nephrology**, v.10, n.1, p.1-9, 2009.

KALANTAR-ZADEH, K.; FOUQUE, D. Nutritional Management of Chronic Kidney Disease. **N Engl J Med.**, v.377, n.18, p.1765-1776, 2017.

KANER, G.; ADIGUZEL, K. T.; KURKLU, N. S. Are obese women a risk group for vitamin B12 and folic acid deficiencies? **Rom J Diabetes Nutr Metab Dis.**, v.23, n.3, p.299-306, 2016.

KARAKUS, S. et al. Causes of Anemia in Renal Transplant Recipients. **Transplant. Proc.** v.36, n.1, p.164-165, 2004.

KARRA, E. et al. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. **J Clin Invest.**, v.123, n.8, p.3539-3551, 2013.

KAYA C. Obesity and insulin resistance associated with lower plasma vitamin B12 in PCOS. **Reprod Biomed Online.**, v.19, n.5, p.721–726, 2009.

KAYA, B. et al. Evaluation of the relationship between homocysteine, parathormone, vitamin D3, and bone mineral densitometry in recipients of kidney transplant. **Transplant Proc.**, v.51, n.7, p.2324-2329, 2019.

KENT, S. et al. What is the impact of chronic kidney disease stage and cardiovascular disease on the annual cost of hospital care in moderate-to-severe kidney disease? **Nephrology**, v.16, n.65, p.1-8, 2015.

KIBIRIGE, D.; MWEBAZE, R. Vitamin B12 deficiency among patients with diabetes mellitus: is routine screening and supplementation justified? **J Diabetes Metab Disord.**, v.12, n.1, 17, p.1-6, 2013.

KIDNEY DISEASE IMPROVING GLOBAL OUTCOMES. Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. **Am. J. Transplant.**, v.9, n.3, p.1–157, 2009.

KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. **Kidney Inter.**, v.3, n. p.1–150, 2013.

KIM, J. M. et al. Relation of serum homocysteine levels to cerebral artery calcification and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v.254, p.200–204, 2016. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.023

KNIGHT, B. A. et al. Lower circulating B12 is associated with higher obesity and insulin resistance during pregnancy in a non-diabetic white British population. **PLoS One**, v.10, n.8, e0135268, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0135268

KNUDTSON, M. D. et al. Revised formulas for summarizing retinal vessel diameters. **Curr Eye.**, v.27, n.3, p.143–149, 2003.

KO, S. H. et al. Association of vitamin B12 deficiency and metformin use in patients with type 2 diabetes. **J Korean Med Sci.**, v.29, n.7, p.965–972, 2014.

KOYAMA, K. et al. Randomized controlled trial of the effect of short-term coadministration of methylcobalamin and folate on serum ADMA concentration in patients receiving long-term hemodialysis. **Am J Kidney Dis.**, v.55, n.6, p.1069-1078, 2010.

KOZYRAKI, R. G. Multiligand endocytosis and congenital defects: roles of cubilin, megalin and amnionless. **Curr Pharm Des.**, v.13, p.3038–3046, 2007. DOI:10.2174/138161207782110507

KOZYRAKI, R.; CASES, O. Vitamin B12 absorption: Mammalian physiology and acquired and inherited disorders. **Biochimie.**, v.95, n.5, p.1002–1007, 2013.

KRISHNAVENI, G. V. et al. Low plasma vitamin B12 and high folate concentrations in pregnancy are associated with gestational diabetes and incident diabetes. **Diabetologia**, v.52, n.11, p.2350–2358, 2009.

KRISHNAVENI, G. et al. Association between maternal folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in Indian children. **Diabetologia**, v.57, n.1, p.110–121, 2014.

KWOK, T. et al. Vitamin B-12 supplementation improves arterial function in vegetarians with subnormal vitamin B-12 status. **J Nutr Health Aging**, v.16, n.6, p.569–573, 2012.

LA MANNA, G. et al. Cardiovascular Disease in Kidney Transplant Recipients: The Prognostic Value of Inflammatory Cytokine Genotypes. **Transplantation**, v.89, n.8, p.1001–1008, 2010.

LAURENT, S. et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. **Eur Heart J**, v. 27, n.21, p.2588–2605, 2006.

LEE, A. J. et al. Characterisation and comparison of health-related quality of life for patients with renal failure. **Curr Med Res Opin**, v.21, n.11, p.1777–1783, 2005.

LEE, M. Efficacy of homocysteine-lowering therapy with folic acid in stroke prevention: a meta-analysis. **Stroke**, v.41, n.6, p.1205–1212, 2010

LEE, Y. J. Associations between Vitamin B-12 Status and Oxidative Stress and Inflammation in Diabetic Vegetarians and Omnivores. **Nutrients**, v.26, n.8, e118, 2016. DOI: 10.3390/nu8030118.

LEUNG, S. et al. Metformin induces reductions in plasma cobalamin and haptocorrin bound cobalamin levels in elderly diabetic patients. **Clin Chem**, v.43, n.9, p.759–760, 2010.

LI, Y. et al. Homocysteine Upregulates Resistin Production From Adipocytes In Vivo and In Vitro. **Diabetes**, v.57, n.4, p.817–827, 2008.

LI, Y. et al. Folic Acid Supplementation and the Risk of Cardiovascular Diseases: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **J Am Heart Assoc**, v. 5, n.8, e003768, 2016. DOI: 10.1161/JAHA.116.003768

LI, Z. et al. Folate and vitamin B12 status is associated with insulin resistance and metabolic syndrome in morbid obesity. **Clin Nutr**, v.37, n.5, p.1700–1706, 2018.

LIEFELDT, L.; BUDDE, K. Risk factors for cardiovascular disease in renal transplant recipients and strategies to minimize risk. **Transpl Int**, v.23, n.12, p.1191–1204, 2010.

LIU, Y. et al. Elevated homocysteine as an independent risk for intracranial atherosclerotic stenosis. **Aging**, v.11, n.11, p.3824–3831, 2019.

LOIKAS, S. et al. Renal impairment compromises the use of total homocysteine and methylmalonic acid but not total vitamin B12 and holotranscobalamin in screening for vitamin B12 deficiency in the aged. **Clin Chem Lab Med**, v.45, n.2, p.197–201, 2007.

LONN, E. et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. **N Engl J Med.**, v.354, n.15, p.567–1577, 2006.

MA, Y. et al. Serum high concentrations of homocysteine and low levels of folic acid and vitamin B12 are significantly correlated with the categories of coronary artery diseases. **Cardiovasc Disord.**, v.17, n.1, 2017. DOI: 10.1186/s12872-017-0475-8

MACHADO, D. J. B. et al.. Hyperhomocyst(e)inemia in chronic stable renal transplant patients. **Rev Hosp Clín Fac Med São Paulo.**, v.55, n.5, p.161–168, 2000.

MAGEE, C.; PASCUAL, M. Update in Renal Transplantation. **Arch Intern Med.**, v.164, n.13, p.1373–1388, 2004.

MAHABIR, S. et al. Measures of adiposity and body fat distribution in relation to serum folate levels in postmenopausal women in a feeding study. **Eur J Clin Nutr.**, v. 62, n.5, p.644-650, 2008.

MAHALLE, N. et al. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia as correlates of cardiovascular risk factors in Indian subjects with coronary artery disease. **J Cardiol.**, v.61, n.4, p.289-294, 2013.

MAHAMID, M. et al. Folate and B12 levels correlate with histological severity in NASH Patients. **Nutrients**, v.10, n.4, e440, 2018. DOI: 10.3390/nu10040440.

MANGRAY, M.; VELLA, J. P. Hypertension after kidney transplant. **Am J Kidney Dis.**, v.57, n.2, p.331-341, 2011.

MARCÉN, R. Immunosuppressive drugs in kidney transplantation: impact on patient survival, and incidence of cardiovascular disease, malignancy and infection. **Drugs.**, v.69, n.16, p.2227–2243, 2009.

MARKAKI, I. et al. Elevated plasma homocysteine upon ischemic stroke is associated with increased long-term mortality in women. **PLoS One**, v.2, n.8, e0183571, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0183571

MARTÍ-CARVAJAL, A. J, et al. Homocysteine–lowering interventions for preventing cardiovascular events. **Cochrane Database Syst Rev.**, v.8, CD006612, 2017. DOI: 10.1002/14651858.CD006612.pub5

MATSUSHITA, K. et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all–cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta–analysis. **Lancet**, v.375, n.9731, p.2073–2081, 2010.

MATSUSHITA, K. et al. Estimated glomerular filtration rate and albuminuria for prediction of cardiovascular outcomes: a collaborative meta–analysis of individual participant data. **Lancet Diabetes Endocrinol.**, v.3, n.7, p.514–525, 2015.

MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetol.**, v.28, n.7, p.412– 419, 1985.

MATTOS, A.; OLYAEI, A.; BENNETT, W. Nephrotoxicity of Immunosuppressive Drugs: Long-Term Consequences and Challenges for the Future. **Am J Kidney Dis.**, v.35, n.2, p.333–346, 2000.

MCMILLAN, D. C.; MAGUIRE, D.; TALWAR, D. Relationship between nutritional status and the systemic inflammatory response: micronutrientes. **Proc Nutr Soc.**, v.78, n.1, p.56-67, 2019.

MEIER-KRIESCHE, H.; BALIGA, R.; KAPLAN, B. Decreased renal function is a strong risk factor for cardiovascular death after renal transplantation. **Transplantation**, v.75, n.8, p.1291–1295, 2003.

MEIER-KRIESCHE, H. et al. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. **Am J Transplante**, v.4, n.3, p.378–383, 2004.

MERCHANT, A. T. The use of B vitamin supplements and peripheral arterial disease risk in men are inversely related. **J Nutr.**, v.133, n.9, p.2863–2867, 2003.

MESCHIA, J. F. et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. **Stroke**, v. 45, n.12, p.3754–3832, 2014.

MILLER, M. Cardiovascular Toxicities of Immunosuppressive Agents. **Am. J. Transplant.**, v.2, n.9, p.807–818, 2002.

MOEN, G. H. Are serum concentrations of vitamin B-12 causally related to cardiometabolic risk factors and disease? A Mendelian randomization study. **Am J Clin Nutr.**, v.108, n.2, p.398-404, 2018.

MOES, A. D. Hesselink DE, Robert Zietse, Schaik RHN, Gelder T, Hoorn EJ. Calcineurin inhibitors and hypertension: a role for pharmacogenetics? **Pharmacogenomics J.**, v.15, n.9, p. 243–1251, 2014.

MOLNAR, M. et al. Association between the malnutrition–inflammation score and post-transplant anaemia. **Nephrol Dial Transplant.**, v.26, n.6, p.2000–2006, 2010.

MOLNAR, M. et al. Inflammatory Markers and Outcomes in Kidney Transplant Recipients. **Transplantation**, v.101, n.9, p.2152–2164, 2017.

MONFARED, A. et al. Hyperhomocysteinemia and assessment of its associated factors in renal transplant recipients: a single-center study in northern Iran. **Transplantation**, v.98, n.1, p.66-71, 2014.

MORALES, J. et al. Risk factors for graft loss and mortality after renal transplantation according to recipient age: a prospective multicentre study. **Nephrol Dial Transplant.**, v.27, n. 4, p.39–46, 2012.

- MUELLER, T. et al. Association between erythrocyte mean corpuscular volume and peripheral arterial disease in male subjects: a casecontrol study. **Angiology**, v.52, n.9, p.605–613, 2001.
- MUNTEAN, A.; LUCAN, M. Immunosuppression in kidney transplantation. **Clujul Med.**,v.86, n.3, p. 177–180, 2013.
- NARANG, M.; SINGH, M.; DANGE, S. Serum Homocysteine, Vitamin B12 and Folic Acid Levels in Patients with Metabolic Syndrome. **J Assoc Physicians India**, v.64, n.7, p.22–26, 2016.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. NHANES 1999–2000. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes/nhanes99_00.htm>. Acesso em: 10 set. 2017.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. NHANES 2001–2002. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes/nhanes01_02.htm>. Acesso em: 10 set.2017.
- NEALE, J.; SMITH, A. C. Cardiovascular risk factors following renal transplant. **World J Transplant.**, v.5, n.4, p.183–195, 2015.
- NI, M. et al.Homocystinemia as an independent risk factor in the chinese population at a high risk of coronary artery disease. **Am J Cardiol.**, v.100, n.3, p.455–458, 2007.
- NIELSEN, M. et al.Vitamin B12 transport from food to the body's cells—a sophisticated, multistep pathway. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol.**, v.9, n.6, p.345–354, 2012.
- NIX, W. A. et al. Vitamin B status inpatients with type 2 diabetes mellitus with and without incipient nephropathy. **Diabetes Res Clin Pract.**, v.107, n.1, p.157-165, 2015.
- NOURI-MAJALAN, N. et al. Relationship between serum homocysteine and other parameters in renal transplant patients. **TransplantProc.**, v.41, n.7, p.2826 –2828, 2009.
- O'LEARY, F.; SAMMAN, S. Vitamin B12 in health and disease. **Nutrients**, v.2, n.3, p.299–316, 2010.
- ONISCU, G. C.; BROWN, H.; FORSYTHE, J. L. Impact of cadaveric renal transplantation on survival inpatients listed for transplantation. **J Am Soc Nephrol.**, v.16, n.6, p.1859–1865, 2005.
- OPELZ, G.; DÖHLER, B. Influence of immunosuppressive regimens on graft survival and secondary outcomes after kidney transplantation. **Transplantation**. v.87, n.6, p.795–802, 2009.
- OZENOGLU, A. et al. The relationships of leptin, adiponectin levels and paraoxonase activity with metabolic and cardiovascular riskfactors in females treated with psychiatric drugs. **Clinics.**, v.63, n.5, p.651–660, 2008.
- OZER, S.; SONMEZGOZ, E.; DEMIR, O. Negative correlation among vitamin B12 levels, obesity severity and metabolic syndrome in obese children: A case control study. **J Pak Med Assoc.**, v.67, n.11, p.1648-1653, 2017.

- PAWAR, A. A. et al. Cognitive and emotional effects of renal transplantation. **Indian J Psychiatry.**, v. 48, n.1, p.21–26, 2006.
- PAWLAK, R. et al. How prevalent is vitamin B12 deficiency among vegetarians? **Nutr. Rev.**, v.71, n.2, p.110–117, 2013.
- PAWLAK, R. Is Vitamin B12 deficiency a risk factor for cardiovascular disease in vegetarians? **Am J Prev Med.**, v.48, n.6, p.11–26, 2015.
- PEETERS, A. C. et al. The effect of homocysteine reduction by B- vitamin supplementation on markers of endothelial dysfunction. **Thromb Haemost.**, v.92, n.5, p. 1086–1091, 2004.
- PEETERS, A. et al. The effect of homocysteine reduction by B vitamin supplementation on inflammatory markers. **Clin Chem Lab Med.**, v.45, n.1, p.54–58, 2007.
- PERACCHI, M. et al. Human cobalamin deficiency: alterations in serum tumour necrosis factor- α and epidermal growth factor. **Eur J Haematol.**, v.67, n.2, p.123–127, 2001.
- PEREZ-ROVIRA, A. VAMPIRE: Vessel assessment and measurement platform for images of the retina. **Eng Med Biol Soc.**, p.3391–3394, 2011. DOI: 10.1109/IEMBS.2011.6090918
- PFEIFFER, C. M. et al. Biochemical indicators of B vitamin status in the US population after folic acid fortification: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2000. **Am J Clin Nutr.**, v.82, n.2, p.442–450, 2005.
- PFEIFFER, C. M. et al. Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988–2004. **Am J Clin Nutr.**, v.86, n.3, p.718–727, 2007.
- PHAM, P. T. New onset diabetes after transplantation (NODAT): an overview. **Diabetes Metab Syndr Obes.**, v.4, p.175–186, 2011. DOI:10.2147/DMSO.S19027
- PIEPOLI, M. F. et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. **Eur Heart.**, v.37, n.29, p.2315–2381, 2016.
- PINHAS-HAMIEL, O. et al. Obese Children and Adolescents: a risk group for low vitamin B12 concentration. **Arch Pediatr Adolesc Med.**, v.160, n.9, p.930–936, 2006.
- PITANGA, F. J. G.; LESSA, I. Waist-to-Height Ratio as a Coronary Risk Predictor among adults. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.52, n.3, p. 157–161, 2006.
- POLITIS, A. et al. Vitamin B12 Levels in Alzheimer's Disease: Association with Clinical Features and Cytokine Production. **J Alzheimers Dis.**, v.19, n.2, p.481–488, 2010.
- PONTES, K. S. D. S. et al. Vitamin B12 status in kidney transplant recipients: association with dietary intake, body adiposity and immunosuppression. **Br J Nutr.**, v.122, n.4, p.450–458, 2019.
- PONTICELLI, C.; GRAZIANI, G. Proteinuria after kidney transplantation. **Transpl Int.**, v.25, n.9, p.909–917, 2012.

- PORTER, K. et al. Causes, Consequences and Public Health Implications of Low B-Vitamin Status in Ageing. **Nutrients.**, v.8, n.11, p.725, 2016. DOI:10.3390/nu8110725
- POTTER, K. et al. The effect of long-term homocysteine-lowering on carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilation in stroke patients: a randomized controlled trial and meta-analysis. **BMC Cardiovasc Disord.**, v.8, n. 24, p.1-14, 2008.
- PRAKASH J. et al. Causes of death in renal transplant recipients with functioning allograft. **Indian J Nephrol.**, v.22, n.4, p.264–268, 2012.
- QUADROS, E. Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. **Br J Haematol.**, v.148, n.2, p.195–204, 2010.
- QUADROS, E.; SEQUEIRA, J. Cellular Uptake of Cobalamin: Transcobalamin and the TCblR/CD320 Receptor. **Biochimie.**, v.95, n.5, p.1008–1018, 2013.
- RANDACCIO, L. et al. Vitamin B12: unique metalorganic compounds and the most complex vitamins. **Molecules**, v.15, n.5, p.3228–3259, 2010.
- RAUTIAINEN, S. et al. Multivitamin use and the risk of myocardial infarction: a population-based cohort of Swedish women. **Am J Clin Nutr.**, v.92, n.5, p.1251–1256, 2010.
- REITMAN, A. et al. Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and homocysteine in patients with severe obesity. **Isr Med Assoc J.**, v.4, n.8, p.590-593, 2002.
- RIBIC, C. M. et al. Study of cardiovascular outcomes in renal transplantation: a prospective, multicenter study to determine the incidence of cardiovascular events in renal transplant recipients in Ontario, Canada. **Can J Kidney Health Dis.**, v. 14, n.4, e2054358117713729, 2017. DOI:10.1177/2054358117713729.
- RIEDEL, B. et al. Replacement therapy on markers of cobalamin status. **Clin Chem.**, v. 51, n.4, p.778–781, 2005.
- ROMAIN, M. et al. The role of Vitamin B12 in the critically ill—a review. **Anaesth Intensive Care**, v.44, n.4, 447–452, 2016.
- ROSSELLI, D.; RUEDA, J.; DIAZ, C. E. Cost-effectiveness of kidney transplantation compared with chronic dialysis in end-stage renal disease. **Saudi J Kidney Dis Transpl.**, v.26, n.4, p.733–738, 2015.
- ROUSTIT, M. et al. Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. **Microvasc Res.**, v.80, n.3, p.505–511, 2010.
- SAPOSNIK, G. Homocysteine-lowering therapy and stroke risk, severity, and disability: additional findings from the HOPE 2 trial. **Stroke**, v. 40, n.4, p.1365–1372, 2009.
- SAVAGE, D. G. et al. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. **Am J Med.**, v.96, p.239-246, 1994.

SCALABRINO G. et al. High tumornecrosis factor- α in levels in cerebrospinal fluid of cobalamin-deficient patients. **Ann. Neurol.**, v.56, n.6, p.886-890, 2004.

SCHERNTHANER, G. H. et al. No effect of homocysteine-lowering therapy on vascular inflammation and haemostasis in peripheral arterial occlusive disease. **Eur J Clin Invest.**, v. 36, n.5, p.333-339, 2006.

SCHNYDER, G. et al. Effect of homocysteine- lowering therapy with folic acid, vitamin B12, and vitamin B6 on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled trial. **JAMA**, v.288, n.8, p. 973-979, 2002.

SCOTT, T. M. et al. B-Vitamin therapy for kidney transplant recipients lowers homocysteine and improves selective cognitive outcomes in the randomized FAVORIT Ancillary Cognitive Trial. **J Prev Alzheimers Dis.**, v.4, n.3, p.174-182, 2017

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF ADDITIONAL REDUCTIONS IN CHOLESTEROL AND HOMOCYSTEINE (SEARCH). Effects of homocysteine-lowering with folic acid plus vitamin B12 vs placebo on mortality and major morbidity in myocardial infarction survivors: a randomized trial. **JAMA**, v. 303, n.24, p.2486-2494, 2010.

SELHUB, J. The many facets of hyperhomocysteinemia: studies from the Framingham cohorts. **J Nutr.**, v.136, n.6, p.1726-1730, 2006.

SESSO, R. C. et al. Brazilian Chronic Dialysis Census 2014. **J Bras Nefrol.**, v.38, n.1, p.54-61, 2016.

SETOLA, E. et al. Insulin resistance and endothelial function are improved after folate and vitamin B12 therapy in patients with metabolic syndrome: relationship between homocysteine levels and hyperinsulinemia. **Eur J Endocrinol.**, v.151, n.4, p.483-489, 2004.

SHARGORODSKY, M. et al. Serum homocysteine, folate, vitamin B12 levels and arterial stiffness in diabetic patients: which of them is really important in atherogenesis? **Diabetes Metab Res Rev.**, v.25, n.1, p.70-75, 2009.

SHIPTON, J. M. THACHIL, J. Vitamin B12 deficiency – A 21st century perspective. **Clin. Med.**, v.15, n.2, p.145-150, 2015.

SIMIĆ-OGRIZOVIĆ, S. et al. Factors Associated with Hyperhomocysteinemia After Renal Transplantation. **Ren Fail.**, v.28, n.1, p.57-62, 2006.

SMITH, S. C. JR. et al. Our time: a call to save preventable death from cardiovascular disease (heart disease and stroke). **J Am Coll Cardiol.**, v. 60, n.22, p.2343-2348, 2012.

SOLOMON, L. R. Functional cobalamin (vitamin B12) deficiency: role of advanced age and disorders associated with increased oxidative stress. **Eur J Clin Nutr.**, v. 69, n.6, p.687-692, 2015.

SOUZA, F. C. et al. Prevalence of risk factors for cardiovascular disease in Brazilian renal transplant recipients. **Transplant Proc.**, v.39, n.2, p.446-448, 2007.

- STABLER, S. Vitamin B12 Deficiency. **N Engl J Med.**, v.368, n.2, p.149–160, 2013.
- STEED, M. M.; TYAGI, S. C. Mechanisms of cardiovascular remodeling in hyperhomocysteinemia. **Antioxid Redox Signal**, v.15, n.7, p.1927–1943, 2011.
- STOUMPOS, S.; JARDINE, A. G.; MARK, P. B. Cardiovascular morbidity and mortality after kidney transplantation. **Transpl Int.**, v.28, n.1, p.10–21, 2015.
- SUAREZ-MOREIRA, E. et al. Vitamin B12 and redox homeostasis: cob(II)alamin reacts with superoxide at rates approaching superoxide dismutase (SOD). **J. Am. Chem. Soc.**, v.131, n.42, p.15078–15079, 2009.
- SUAREZ-MOREIRA, E.; BRASCH, N.; YUN, J. Vitamin B12 protects against superoxide-induced cell injury in human aortic endothelial cells. **Free Radic Biol Med.**, v.51, n.4, p.876–883, 2011.
- SUN, Y. et al. Inverse association between serum vitamin B12 concentration and obesity among adults in the United States. **Front Endocrinol.**, v.27, n.10, e.414, 2019. DOI: 10.3389/fendo.2019.00414
- SUKUMAR, N. et al. Vitamin B12 status among pregnant women in the UK and its association with obesity and gestational diabetes. **Nutrients.**, v.8, n.12, p.768–778, 2016.
- SURENDRAN, S. et al. Evidence for the association between FTO gene variants and vitamin B12 concentrations in an Asian Indian population. **Genes Nutr.**, v.14, n.26, p.1–19, 2019.
- TAHERAGHDAM, A. et al. Hyperhomocysteinemia, low vitamin B12, and low folic acid: Are risk factors of cerebral vascular thrombosis in northwest Iran? **J Res Med Sci.** v.21, n.1, e16, 2016. DOI: 10.4103/1735-1995.178755
- TANOFSKY-KRAFF, M. et al. The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele and loss of control over eating. **Am J Clin Nutr.**, v.90, n.6, p.1483–1488, 2009.
- TENFORDE, M. W. et al. Vitamin A and D deficiencies associated with incident tuberculosis in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy in multinational case-cohort study. **J Acquir Immune Defic Syndr.**, v.75, n.3, p.71–79, 2017.
- TIAN, T. et al. Folic acid supplementation for stroke prevention in patients with cardiovascular disease. **Am J Med Sci.**, v.354, n.4, p.379–387, 2017.
- TONELLI, M. et al. Relation Between Red Blood Cell Distribution Width and Cardiovascular Event Rate in People With Coronary Disease. **Circulation**, v.117, n.2, p.163–168, 2008.
- TOOLE, J. F. et al. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. **JAMA**, v.291, n.5, p.565–575, 2004.
- TSAMPALIEROS, A.; KNOLL, G. A. Evaluation and management of proteinuria after kidney transplantation. **Transplantation**, v.99, n.10, p.2049–2060, 2015.

TUUMINEN, T. The association between high sensitivity C-reactive protein and micronutrient levels: A cross-sectional analysis based on a laboratory database. **Clin Nutr ESPEN**, v.33, p.283-289, 2019

TUNGTRONGCHITR, R. et al. Serum homocysteine, B12 and folic acid concentration in Thai overweight and obese subjects. **Int J Vitam Nutr Res.**, v.73, n.1, p.8-14, 2003.

VALENTE, E. Diagnostic accuracy of holotranscobalamin, methylmalonic acid, serum cobalamin, and other indicators of tissue vitamin B12 status in the elderly. **Clin Chem.**, v.57, n.6, p.856-863, 2011

VAN AMSTERDAM, J.; NABBEN, T.; BRINK, W. Recreational nitrous oxide use: Prevalence and risks. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, v.73, n.3, p.790-796, 2015.

VAN DE LAGEMAAT, E. E. et al. Vitamin B12 in relation to oxidative stress: a systematic review. **Nutrients**, v.11, n.2, e482, 2019. DOI: 10.3390/nu11020482.

VAN DIJK, S. C. et al. Effect of vitamin B12 and folic acid supplementation on biomarkers of endothelial function and inflammation among elderly individuals with hyperhomocysteinemia. **Vasc Med.**, v.21, n.2, p.91-98, 2016.

VAN HECKE, M. V. et al. Homocysteine, S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine are associated with retinal microvascular abnormalities: the Hoorn Study. **Clin Sci**, v. 114, n.7, p.479-487, 2008.

VANNUCCHI, H.; MONTEIRO, T. Cobalamina (Vitamina B12). São Paulo: ILSI, 2010. (Série de Publicações ILSI Brasil: funções plenamente reconhecidas de nutrientes, v.13)

VAN REE, R. M. et al. Circulating markers of endothelial dysfunction interact with proteinuria in predicting mortality in renal transplant recipients. **Transplantation**, v.86, n.12, p.1713-1719, 2008.

VAYÁ, A. et al. Homocysteine levels in morbidly obese patients: its association with waist circumference and insulin resistance. **Clin Hemorheol Microcirc.**, v.52, n.1, p.49-56, 2012.

VEBER, D. et al. Indirect down-regulation of nuclear NF- κ B levels by cobalamin in the spinal cord and liver of the rat. **J. Neurosci. Res.**, v.86, n.6, p.1380-1387, 2008

VERROUST, P. et al. The tandem endocytic receptors megalin and cubilin are important proteins in renal pathology. **Kidney Int.**, v.62, n.3, p.745-756, 2002.

VINHA, P. P. et al. Effect of acute thermal injury in status of serum vitamins, inflammatory markers, and oxidative stress markers: preliminary data. **J Burn Care Res.**, v.34, n.2, p.87-91, 2013.

WADEI, H. M.; TEXTOR, S. C. Hypertension in the kidney transplant recipient. **Transplant Rev.**, v.24, n.3, p.105-120, 2010.

WANG, X. et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. **Lancet**, v.369, n. 9576, p.1876-1882, 2007.

WANG, J. H.; SKEANS, M. A.; ISRANI, A. K. Current Status of Kidney Transplant Outcomes: Dying to Survive. **Adv Chronic Kidney Dis.**, v. 23, n.5, p.281–286, 2016.

WANG, W. W. et al. A meta-analysis of folic acid in combination with anti-hypertension drugs in patients with hypertension and hyperhomocysteinemia. **Front Pharmacol.**, v. 8, n. 585, 2018. DOI: 10.3389/fphar.2017.00585

WASHER, G. F. et al.. Causes of death after kidney transplantation. **JAMA**, v.250, n.1, p. 49–54, 1983.

WATANABE, F.; MIYAMOTO, E. Hydrophilic vitamins. In: SHERMA, J.; FRIED, B. **Handbook of Thin-Layer Chromatography**. 3. ed. New York: Editora Dekker, 2003. p.770-792.

WATANABE, F. Vitamin B12 Sources and Bioavailability. **Exp. Biol. and Medicine**, v.232, n.10, p.1266–1274, 2007.

WATANABE, F. et al. Biologically Active Vitamin B12 Compounds in Foods for Preventing Deficiency among Vegetarians and Elderly Subjects. **J. Agric. Food Chem.**, v.61, n.28, p.6769-6775, 2013.

WATANABE, F. et al. Vitamin B12-Containing Plant Food Sources for Vegetarians. **Nutrients**, v.6, n.5, p.1861-1873, 2014.

WEBSTER, A. C. et al. Target of rapamycin inhibitors (TOR-I; sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression in kidney transplant recipients. **Transplantation**, v.81, n.9, 2006. DOI: 10.1002/14651858.CD004290.pub2

WEKERLE, T. et al. Strategies for long-term preservation of kidney graft function. **Lancet.**, v.389, n.10084, p.2152–2162, 2017.

WHAYNE, T. F. Jr. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, venous thrombosis, cardiovascular risk, and other effects. **Angiology**, v.66, n.5, p.401–404, 2015.

WINKELMAYER, W. C. et al. Fasting plasma total homocysteine levels and mortality and allograft loss in kidney transplant recipients: a prospective study. **J Am Soc Nephrol.**, v.16, n.1, p.255–60, 2005a.

WINKELMAYER, W. C. et al. Effects of TCN2 776C>G on vitamin B, folate, and total homocysteine levels in kidney transplant patients. **Kidney Int.**, v.65, n.5, p.1980–1985, 2005b.

WOLFE, R. A. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. **N Engl J Med.**, v.341, n.23, p.1725–1730, 1999.

WONG, C. Vitamin B12 deficiency in the elderly: is it worth screening? **Hong Kong Med J.**, v.21, n.2, p.155–164, 2015.

WOO, K. S. et al. Folic acid and vitamin B12 supplementation improves arterial function and structure in subjects with subnormal intake. **Heart Lung Circ.**, v.17, suppl. 2, p.S33–S33, 2008. DOI:10.1016/j.hlc.2008.03.077

WOO, K. S. Et al. Vitamins B12 and C Supplementation Improves Arterial Reactivity and Structure in Passive Smokers. **Heart Lung Circ.**, v.21, n.8, p.524, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cardiovascular Diseases (CVDs)**. Geneva: WHO, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control**. Geneva: WHO, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva: WHO, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Waist circumference and waist–hip ratio: report of a WHO expert consultation**. Geneva: WHO, 2008.

WU, Y. et al. Hyperhomocysteinemia is an independent risk factor in young patients with coronary artery disease in southern China. **Herz**, v.38, n.7, p.779–784, 2013.

XAVIER, J. et al. High frequency of vitamin B12 deficiency in a Brazilian population. **Public Health Nutr.** v.13, n.8, p.1191–1197, 2010.

XIA, X. S. Supplementation of folic acid and vitamin B12 reduces plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with acute ischemic stroke. **J Clin Neurosci.**, v. 21, n.9, p.1586–1590, 2014

XU, T. et al. Treatment of hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in renal transplant recipients with B vitamins in the Chinese population. **J Urol.**, v.179, n.3, p.1190–1194, 2008.

YABU, J. M.; WINKELMAYER, W. C. Posttransplantation Anemia: Mechanisms and Management. **Clin J Am Soc Nephrol.**, v.6, n.7, p.1794–1801, 2011.

YAJNIK, C. S. et al. Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. **Diabetologia**, v.51, n.1, p.29–38, 2008.

YANG, H. T. Efficacy of folic acid supplementation in cardiovascular disease prevention: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. **Eur J Intern Med.**, v.23, n.8, p.745–754, 2012.

YUSUF, S. et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases: Part I: General Considerations, the Epidemiologic Transition, Risk Factors, and Impact of Urbanization. **Circulation**, v.104, n.22, p.2746–2753, 2001.

ZENG, R. et al. The effect of folate fortification on folic acid-based homocysteine-lowering intervention and stroke risk: a meta-analysis. **Public Health Nutr.**, v.18, n.8, p.1514–1521, 2014.

ZHANG, Z. et al. Combined Effect of Hyperhomocysteinemia and Hypertension on the Presence of Early Carotid Artery Atherosclerosis. **J Stroke Cerebrovasc Dis.**, v.25, n.5, p.1254–1262, 2016.

ZHANG, T. et al. Association Between Red Blood Cell Distribution Width and All-cause Mortality in Chronic Kidney Disease Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. **Arch Med Res.**, v.48, n.4, p.378-385, 2017.

ZHAO, J. et al. Role of Hyperhomocysteinemia and Hyperuricemia in Pathogenesis of Atherosclerosis. **J Stroke Cerebrovasc Dis.**, v.26, n.12, p.2695-2699, 2017.

ZHAO, M. et al. Meta-analysis of folic acid efficacy trials in stroke prevention: Insight into effect modifiers. **Neurology**, v.88, n.19, p.1830–1838, 2017b.

ZHOU, J. et al. Neck circumference as an independent predictive contributor to cardio-metabolic syndrome. **Cardiovasc Diabetol.**, v.12, n.76, 2013. DOI: 10.1186/1475-2840-12-76

ZSÓRI, K. S. Vitamin B12 level in peripheral arterial disease. **J Thromb Thrombolysis**, v.36, n.1, p. 77–83, 2013..

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título do Estudo: *DEFICIÊNCIA DE VITAMINA B12 E SUA RELAÇÃO COM A INGESTÃO ALIMENTAR E ADIPOSIDADE CORPORAL EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL.*

Instituição: Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Local: Ambulatório de Transplante Renal do Hospital Universitário Pedro Ernesto **Endereço:** Av. 28 de Setembro, 87. Vila Isabel. CEP 20.551-030 **Telefone:** (21) 2334-2063

Pesquisadores: Mariana S. da Costa, Karine Scanci da Silva Pontes, Maria Inês Barreto Silva, Márcia Regina Simas Torres Klein.

Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE: (21) 2868-8253

O Sr (a) está sendo convidado a participar da pesquisa que tem como objetivo avaliara prevalência de deficiência de vitamina B12 e sua relação com a ingestão alimentar e a gordura corporal, massa muscular, inflamação, alterações metabólicas e vasculares em pacientes transplantados renais.

O Sr (a) será submetido a avaliação do estado nutricional, da ingestão alimentar, do estilo de vida, da função cognitiva e de alguns vasos sanguíneos, além da coleta de sangue. O estado nutricional será avaliado através da determinação do peso, altura e perímetros, além de exames que avaliam o percentual de gordura e de musculo no corpo. Também será avaliada a sua força do aperto de mão, e o tempo em que caminha 6 metros. Os demais dados necessários para o estudo serão coletados em meu prontuário clínico.

Para participar deste estudo você não precisará ficar internado (a) e todos os exames serão realizados, no Hospital Universitário Pedro Ernesto ou no Campus da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, por profissionais habilitados e não são invasivos. A coleta do sangue será realizada com material descartável e acompanhada pelo pesquisador responsável.

O benefício do estudo é saber se a deficiência de vitamina B12 é comum em indivíduos transplantados renais e identificar os fatores relacionados com o seu desenvolvimento. A sua participação é voluntária, sendo livre para interrompê-la a qualquer momento, sem que isso afete meu tratamento. Você receberá todos os esclarecimentos necessários sobre este estudo antes e durante a pesquisa. Não será necessário comparecer ao Hospital com frequência maior

do que suas consultas habituais.

Todas as informações obtidas em relação a este estudo permanecerão em sigilo, assegurando a proteção da sua imagem e respeitando valores morais, culturais, religiosos, sociais e éticos. Você receberá informações sobre os resultados de todos os exames realizados. Os resultados dessa pesquisa poderão ser apresentados em congressos ou publicações científicas, porém sua identidade não será divulgada.

Declaro que li e entendi o que me foi explicado e estou disposto a participar do estudo.

_____	_____	____/____/____
Nome do paciente	Assinatura	Data
_____	_____	____/____/____
Nome do pesquisador	Assinatura	Data

APÊNDICE B – Protocolo clínico do banco de dados do período basal e avaliação longitudinal

PROTOCOLO CLÍNICO DO BANCO DE DADOS – PERÍODO BASAL

1. Identificação:

Nome: _____ Registro: _____

Telefone: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Data tx: ____/____/____ Doador: () Vivo relacionado () Vivo não relacionado () Cadáver

Doença de base: _____ Etilismo? () Sim () Não

Tabagismo? () Sim () Não - Atividade Física: _____

Acompanhamento Nutricional? () Sim () Não Nº Consultas nos últimos 2 anos: _____

2. Comorbidades atuais: () HAS - () DM1 - () DM2 - () Dislipidemia -
Outras? _____

3. História ginecológica (se mulher):

Fluxo menstrual ativo? () Sim () Não Pós Menopausa? () Sim () Não

4. Medicação:

Imunossuppressores: () Prednisona _____ mg/dia - () Ciclosporina _____ mg/dia

() Tacrolimus, FK _____ mg/dia - () Azatioprina _____ mg/dia - () Cellcept, MMF _____ mg/dia

() Rapamicina/Sirolimus _____ mg/dia Hipoglicemiantes: _____ () Metformina

Insulina: _____ Hipolipemiantes: _____

Anti-hipertensivos: _____ Outras: _____

Uso de: () Suplem B12? () Anticoncepcional?

4. Avaliação antropométrica: Data: ____/____/____ Altura (m): _____ Peso atual (kg): _____

Peso pré-Tx (kg): _____ Pcintura (cm): _____ Pquadril (cm): _____ Ppescoço (cm): _____

5. Exames Laboratoriais: Data: ____/____/____

Glicemia (mg/dl):		Ptn total (g/dl):	
Creatinina (mg/dl):		Albumina (g/dl):	
TFG (CKD Epi):		Ptn urinaria (mg/dl):	
Uréia (mg/dl):		Creat urinaria (mg/dl):	
Acido Úrico (mg/dl):		Vit B12:	
Na (mg/dl):		Ac fólico:	
K (mg/dl):		Vit D (ng/ml):	
Ca (mg/dl):		PTH:	
P (mg/dl):		Hb (mg/dl):	
Colesterol total (mg/dl):		Hto (%):	
HDL colesterol (mg/dl):		VGM:	
LDL colesterol (mg/dl):		HGM:	
Triglicerídeos (mg/dl)		CHGM	

PROTOCOLO CLÍNICO DO BANCO DE DADOS – AVALIAÇÃO LONGITUDINAL

Nome: _____

Prontuário: _____

Data: ___/___/___

1- Medicações

Imunossuppressores:

() Prednisona: _____ mg/dia () Azatioprina: _____ mg/dia

() Celcept/MMF: _____ mg/dia () Micofenolato de sódio: _____ mg/dia

() Ciclosporina: _____ mg/dia () Tracolimus/FK: _____ mg/dia

() Rapamicina/Sirolimus: _____ mg/dia

Outros: _____

Metformina: _____

Suplementação vitamínica: SIM () QUAL: _____ NÃO ()

2 - Avaliação Nutricional:

Data:	
Peso corporal (kg)	
Estatura (m)	
Perímetro cintura (cm)	
Perímetro quadril (cm)	
Perímetro pescoço (cm)	
Perímetro do braço (cm)	
Dobra cutânea tricipital (mm)	
BIA	
Ângulo de fase (°)	
Capacitância (pF)	
Resistência (Ω)	
Reactância (Ω)	
Massa magra (kg)	
Massa gorda (kg)	
Massa celular corporal (kg)	
Massa extracelular (kg)	
ME/MCC	
Água corporal total (L)	
Água intracelular (L)	
Água extracelular (L)	
TMB (Kcal/dia)	

3- Avaliação da Função Muscular:

Data: _____ / _____ / _____	1ª tentativa	2ª tentativa	3ª tentativa
Dinamômetro em pé:			
Braço esquerdo (kg)			
Braço direito (kg)			
Dinamômetro sentado:			
Braço esquerdo (kg)			
Braço direito (kg)			
Caminhada em 6 metros (sec)			

4- Avaliação dos Diâmetros Vasculares Retinianos:

Data:	
Equivalente da artéria retiniana central	
Equivalente da veia retiniana central	
CRAE/CRVE	

5- Avaliação da Reatividade Microvascular Cutânea:

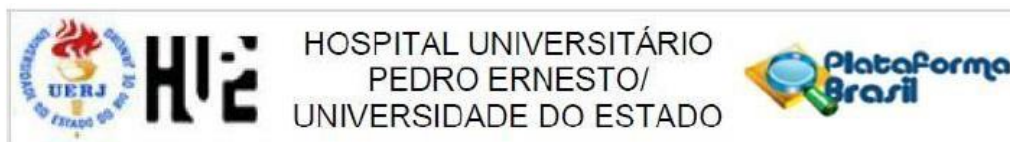
Data:	
Fluxo cutâneo basal (UAP)	
Fluxo cutâneo 1 min (UAP)	
Fluxo cutâneo pico (UAP)	
Pressão arterial média (mmHg)	
Condutância vascular cutânea basal (UAP/mmHg)	
Condutância vascular cutânea 1 min (UAP/mmHg)	
Condutância vascular cutânea pico (UAP/mmHg)	
Amplitude CVC (pico – basal) (UAP/mmHg)	
AUC basal	
AUC 1 min	
AUC pico	

UAP = unidade arbitrária de perfusão, CVC = condutância vascular cutânea, AUC = área sob a curva

6- Avaliação da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca em repouso

Data: _____ / _____ / _____	1ª tentativa	2ª tentativa	3ª tentativa
Pressão Arterial (mmHg)			
Frequência Cardíaca (bpm)			

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da prevalência de deficiência de vitamina B12 e sua relação com ingestão alimentar e adiposidade corporal em pacientes transplantados renais.

Pesquisador: Mariana Silva da Costa

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 38268714.0.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 870.719

Data da Relatoria: 11/11/2014

Apresentação do Projeto:

Adequada, com texto em linguagem científica. Projeto apresenta todas informações necessárias para avaliação ética.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a prevalência de deficiência de vitamina B12 e o estado nutricional em pacientes transplantados renais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem riscos evidentes, projeto baseado em entrevistas e análise de prontuários.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trabalho de conclusão de curso de Residência em Nutrição Clínica

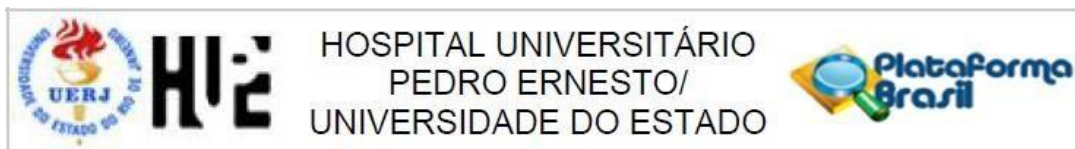
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE apropriado, termo de ciência assinado pela Chefe da Nefrologia.

Recomendações:**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Foram analisadas as documentações e as mesmas se encontram dentro das normas

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2866-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 870.719

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 13 de Novembro de 2014

Assinado por:
WILLE OIGMAN
 (Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2868-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação da prevalência de deficiência de vitamina B12 e sua relação com ingestão alimentar e adiposidade corporal em pacientes transplantados renais.

Pesquisador: Mariana Silva da Costa

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 38268714.0.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.866.066

Apresentação do Projeto:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Objetivo da Pesquisa:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Justificativa da Emenda: Foram incluídas novas avaliações não invasivas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os Termos de apresentação obrigatória estão de acordo com a legislação pertinente e devidamente assinados pelos responsáveis.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A emenda apresenta todas informações necessárias para avaliação ética. Diante do exposto e à

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 1.866.066

luz da Resolução CNS nº466/2012, a Emenda pode ser enquadrada na categoria – APROVADO

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_701885_E1.pdf	22/11/2016 13:18:18		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	22/11/2016 12:58:57	Márcia Regina Simas Torres Klein	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	22/11/2016 12:58:12	Márcia Regina Simas Torres Klein	Aceito
Outros	Autorização Suassuna.pdf	28/10/2014 14:53:24		Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto.pdf	17/10/2014 10:42:15		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2868-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 1.866.066

RIO DE JANEIRO, 12 de Dezembro de 2016

Assinado por:
MARIO FRITSCH TOROS NEVES
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

ANEXO B – Questionário de Baecke

QUESTIONÁRIO DE BAECKE

1. Qual a sua ocupação principal? _____ 1 - 3 - 5
2. No trabalho eu fico sentado
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/sempre 1 - 2 - 3 - 4 - 5
3. No trabalho eu fico de pé
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/sempre 1 - 2 - 3 - 4 - 5
4. No trabalho eu ando (caminho)
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/sempre 1 - 2 - 3 - 4 - 5
5. No trabalho eu levanto/transporto cargas pesadas
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/muito freqüentemente 1 - 2 - 3 - 4 - 5
6. No trabalho eu fico cansado
Muito freqüentemente/freqüentemente/às vezes/raramente/nunca 5 - 4 - 3 - 2 - 1
7. No trabalho eu transpiro
muito freqüentemente/freqüentemente/às vezes/raramente/nunca 5 - 4 - 3 - 2 - 1
8. Em comparação com outras pessoas de minha idade, creio que meu trabalho é fisicamente
muito mais pesado/mais pesado/igual/mais leve/muito mais leve 5 - 4 - 3 - 2 - 1
9. Você pratica esporte? Sim/Não
Em caso positivo:
- Qual o esporte que você pratica mais freqüentemente? _____ Intensidade 0,76 - 1,26 - 1,76
- Quantas horas por semana? _____ < 1 / 1-2 / 2-3 / 3-4 / > 4 Tempo: 0,5 - 1,5 - 2,5 - 3,5 - 4,5
- Quantos meses por ano? _____ < 1 / 1-3 / 4-6 / 7-9 / > 9 Proporção 0,04-0,17-0,42-0,67-0,92
Se você pratica um segundo esporte:
- Qual é este esporte? _____ Intensidade 0,76 - 1,26 - 1,76
- Quantas horas por semana? _____ < 1 / 1-2 / 2-3 / 3-4 / > 4 Tempo: 0,5 - 1,5 - 2,5 - 3,5 - 4,5
- Quantos meses por ano? _____ < 1 / 1-3 / 4-6 / 7-9 / > 9 Proporção 0,04-0,17-0,42-0,67-0,92
10. Em comparação com outros da minha idade, creio que minha atividade física no tempo de lazer é
muito maior/maior/a mesma/menor/muito menor 5 - 4 - 3 - 2 - 1
11. Durante minhas atividades de lazer eu transpiro
muito freqüentemente/freqüentemente/às vezes/raramente/nunca 5 - 4 - 3 - 2 - 1
12. Durante meu tempo de lazer eu pratico esporte
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/muito freqüentemente 1 - 2 - 3 - 4 - 5
13. Durante meu tempo de lazer eu assisto televisão
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/muito freqüentemente 1 - 2 - 3 - 4 - 5
14. Durante meu tempo de lazer eu caminho
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/muito freqüentemente 1 - 2 - 3 - 4 - 5
15. Durante meu tempo de lazer eu ando de bicicleta
nunca/raramente/às vezes/freqüentemente/muito freqüentemente 1 - 2 - 3 - 4 - 5
16. Quantos minutos você caminha ou pedala por dia para ir ao trabalho, escola ou às compras?
<5 / 5-15 / 15-30 / 30-45 / > 45 1 - 2 - 3 - 4 - 5